



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN ALIMENTACIÓN Y
DESAROLLO, A. C.

ANÁLISIS DE LA CONDICIÓN REPRODUCTIVA DEL MEJILLÓN
DE MANGLE, *Mytella strigata*, EN SISTEMAS COSTEROS DE
SINALOA CON DIFERENTES ESCENARIOS DE
CONTAMINACIÓN

Por

BEATRIZ ADRIANA LEAL TARIN

Tesis aprobada por la

UNIDAD MAZATLÁN EN ACUICULTURA Y MANEJO AMBIENTAL

Como requisito parcial para obtener el grado de

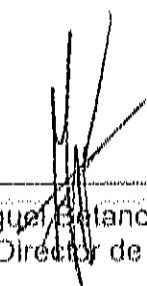
MAESTRO EN CIENCIAS

MAZATLÁN, SINALOA, MÉX.

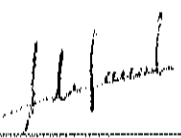
FEBRERO DE 2007

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para revisar la tesis de Beatriz Adriana Leal Tarín la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias, con especialidad en Manejo Ambiental.



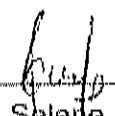
Dr. Miguel Betancourt Lozano
Director de Tesis



Dra. Alejandra Garcia Gasca



Dra. Luz Maria Garcia de la Parra



M. en C. Selerie Abad Rosales

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permite citas breves sin permiso especial de autor, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente. Se podrá solicitar al Director del Centro o Jefe del Área correspondiente del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. apartado postal 1735, Hermosillo, Sonora CP 83000 México, para citas o consultas mas completas con fines académicos. En otras circunstancias, se deberá solicitar permiso del autor.

La publicación en comunidades científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa aprobación escrita del director.

Dr. Alfonso Antero Gardea Béjar
Director General del Ciad, A. C.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente al Dr. Miguel Betancourt Lozano por la dirección de este trabajo, por ser uno de los principales pilares de apoyo tanto en mi formación profesional como personal, así como por la constante paciencia y estímulo que siempre me brindo.

A los miembros de mi comité de tesis formado por la Dra. Alejandra García Gasca, Dra. Luz María García de la Parra y M. en C. Selene Abad Rosales, por sus valiosas sugerencias, así como por su invaluable ayuda y paciencia aportada a este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca de mis estudios de maestría, así como el apoyo otorgado al Proyecto FOSEMARNAT-2004-01-199 que me permitió realizar este trabajo.

Al proyecto "Calidad ambiental en ecosistemas litorales mediante el uso de biomarcadores moleculares en peces" por el apoyo económico en las salidas a campo.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. por la beca otorgada durante un semestre de mis estudios de maestría.

A la Unidad Académica Mazatlán, del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM por permitirme el uso del acervo bibliográfico y equipo de computo.

Al Ing. Epifanio Tarín Valdez, Ma. Dolores Tarín Valdez y especialmente al Dr. Rafael Quiñónez Lagarda por el apoyo económico y moral cuando lo necesite.

Al Laboratorio de Ecotoxicología, al Laboratorio de Biología Molecular, al Laboratorio de Histología y al Laboratorio de Cromatografía, por abrirme las puertas y por todo el apoyo recibido.

A Julián Ríos Sicarios por el apoyo en técnicas de laboratorio y campo durante el transcurso de este trabajo.

A la M. en C. Rubí Hernández Comejo, M. en C. Gabriela Aguilar, y la M. en C. Roxana Alondo Mejía, por todo el apoyo brindado en las técnicas de laboratorio y en algunas salidas a campo.

A Cecilia Bastidas, Karen, Yesy, David Herrera, Gamaliel, por el apoyo en las salidas a campo.

A mis amigos y compañeros de maestría y de laboratorio por su apoyo y amistad incondicional, Edgar, Zohar, Rafa, Pablo, Ricardo, Julián, Cecy, Karen, Yesy, David, Karlita, Jesús, Oscar, Adrián, Caro, Alicia, Aimee, mudo, Roxana, Rubí, Francis, Juan José, Carlitos, Guillermo Bojorquez y muchos más...

DEDICATORIA

A MIS PADRES
Dolores y Jesús

A MIS HERMANOS
Mario, Omar y Susana

A MIS ABUELOS
Manuela e Hipólito Tarín y Bertha y Gilberto Leal

A MIS TÍOS
Silvia (nena), Guillermo, Epifanio, Margarita, Lita, Dora y Mauricio,
Cesario, Baltasar, Guadalupe, Lita, Elena y Adela.

Y

A MI AMOR
Rafael Quiñónez Lagarda

Por ser una persona muy importante en mi vida, por apoyarme profesionalmente, por tenerme paciencia, por hacerme sentir amada, feliz, segura, protegida, respetada y como una sencilla mujer, por todo eso y muchas cosas más, te amo.

CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
RESUMEN.....	xi
1.- Introducción.....	1
2.- Antecedentes.....	3
2.1.- Contaminación en lagunas costeras.....	3
2.2.- Área de estudio.....	4
2.2.1.- Bahía Ensenada del Pabellón.....	4
2.2.2.- Estero de Urias.....	6
2.2.3.- Estero de Teacapán.....	8
2.4.- Generalidades de los moluscos.....	10
2.5.-Estrategias reproductivas respecto a condiciones ambientales.....	11
2.5.1.- Reproducción en vertebrados e invertebrados.....	11
2.5.2.- Reproducción en mejillones.....	12
2.6.- Condición reproductiva como biomarcador.....	16
2.6.1.- Índices Biológicos.....	18
2.6.1.1.- Índice Gonadosomático.....	18
2.6.1.2.- Porcentaje de humedad.....	18
2.6.1.3.- Índice de condición.....	19
2.6.1.4.- Índice de Glándula Digestiva.....	20
2.6.1.5.- Proporción de sexos.....	20
2.6.2.- Vitelogenina.....	20
2.6.3.- Apoptosis.....	21
2.6.4.- Organismos centinelas.....	23
2.7.-Descripción de la especie.....	24
3.- Hipótesis.....	26
4.- Objetivo general.....	26
4.1.- Objetivos específicos.....	26
5.- Materiales y Métodos.....	27
5.1.- Muestreo y áreas de estudio.....	27
5.2.- Trabajo de campo.....	31

5.3.- Trabajo de laboratorio.....	32
5.3.1.- Histología.....	32
5.3.2.- Apoptosis.....	32
5.3.3.- Índices biológicos.....	35
5.4.- Análisis estadísticos.....	36
6.- Resultados y Discusiones.....	37
6.1.- Condiciones ambientales y muestreo.....	37
6.2.- Índices Biológicos.....	40
6.2.1.- Porcentajes de Humedad.....	40
6.2.2.- Índices de Condición.....	43
6.2.3.- Índices de Glándula Digestiva.....	45
6.2.4.- Índice Gonadosomático.....	47
6.2.5.- Relaciones entre índices.....	49
6.3.- Descripción de estadios gonádicos.....	55
6.4.- Proporción de sexos.....	60
6.5.- Desarrollo Gonádico.....	63
6.6.- Índice Apoptótico.....	69
6.7.- Discusión general.....	74
7.- Conclusiones.....	81
8.- Recomendaciones.....	82
9.- Bibliografía.....	83
10.- Anexos.....	95

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1:** Diagrama de la metodología empleada para evaluar los aspectos reproductivos de *Mytella strigata* en tres sistemas costeros..... 27
- Figura 2:** En el estado de Sinaloa (A) se seleccionaron tres sistemas costeros cada uno con dos estaciones; (B) Bahía Ensenada del Pabellón, (b1) Mapachera, (b2) Guamuchilera, (C) Estero de Urias, (c1) Juárez, (c2) Sirena y (D) Estero de Teacapán, (d1) Las Cruces (d2) Boca.....28
- Figura 3:** Gónada en desove. Se indican los folículos, ovocitos y células foliculares en apoptosis. Esta fotografía tiene un aumento de 50 X es por ello que las células foliculares en apoptosis no se pueden identificar claramente. En los cuadros que indican las células en apoptosis, la reacción enzimática de la peroxidasa (HRP) con el sustrato (DAB) produce una coloración café. El colorante de contraste utilizado fue el verde de metilo.....33
- Figura 4:** Cuantificación de células foliculares en apoptosis, las células foliculares normales no pueden contarse con precisión debido a que no se tiñen bien con el verde de metilo (400X)..... 34
- Figura 5:** Gónada madura iniciando desove. La fotografía muestra un folículo del cual se cuantificaron las células foliculares; esto se realizó en varios folículos para obtener un número aproximado de células foliculares que componen cada folículo. Tinción con hematoxilina-eosina. (100X).....34
- Figura 6:** Morfología interna de *Mytella strigata* indicando los órganos que se usaron para el presente estudio.....36
- Figura 7:** Variación de los valores de oxígeno disuelto durante el periodo de estudio (2005-2006), en las seis estaciones de muestreo. ND: significa no determinado.....39
- Figura 8:** Variación de los valores de salinidad registrados en las seis estaciones de muestreo durante el periodo de estudio (2005-2006).....39
- Figura 9:** Variación de los valores de temperatura, en las seis estaciones de muestreo durante el periodo de estudio (2005-2006).....39
- Figura 10:** Longitud de mejillones *Mytella strigata*, recolectados en cada una de las estaciones por muestreo. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas entre estaciones para el mismo mes. Ensenada de Pabellón (Map: Mapachera y Gua: Guamuchilera), Urias (Jua: Juárez y Sir: Sirena) y Teacapán (Boc: Boca y Cru: Cruces). //: Ausencia de organismos. Las líneas horizontales representan el intervalo de talla buscado..... 40
- Figura 11:** Porcentaje de Humedad (%H) y Porcentaje de Humedad excluyendo la gónada (%H-g) de *Mytella strigata* presente en cada una de las estaciones de muestreo. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas entre estaciones para el mismo mes. Letras mayúsculas diferentes en grupos homogéneos representan diferencias significativas en los meses para la misma estación. Ensenada de Pabellón (Map: Mapachera y Gua: Guamuchilera), Urias (Jua: Juárez y Sir: Sirena) y Teacapán (Boc: Boca y Cru: Cruces). //: Ausencia de organismos. ND: no determinado..... 42

Figura 12: Índice de Condición (IC) e Índice de Condición corporal (IC-g) de *Mytella strigata* presente en cada una de las estaciones por muestreo. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas (ANOVA $P \leq 0.05$) entre estaciones para el mismo mes. Letras mayúsculas diferentes en grupos homogéneos representan diferencias significativas (ANOVA $P \leq 0.05$) en los meses para la misma estación. Ensenada de Pabellón (Map: Mapachera y Gua: Guamuchilera), Urias (Jua: Juárez y Sir: Sirena) y Teacapán (Boc: Boca y Cru: Cruces). //: Ausencia de organismos..... 44

Figura 13: Índice de Glándula Digestiva (IGD) e Índice de Glándula Digestiva excluyendo la gónada (IGD-g) de *Mytella strigata* presente en cada una de las estaciones por muestreo. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas (ANOVA $P \leq 0.05$) entre estaciones para el mismo mes. Letras mayúsculas diferentes en grupos homogéneos representan diferencias significativas (ANOVA $P \leq 0.05$) en los meses para la misma estación. Ensenada de Pabellón (Map: Mapachera y Gua: Guamuchilera), Urias (Jua: Juárez y Sir: Sirena) y Teacapán (Boc: Boca y Cru: Cruces). //: Ausencia de organismos..... 46

Figura 14: Índice Gonadosomático (IGS) de *Mytella strigata* presente en cada una de las estaciones por muestreo. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas entre estaciones para el mismo mes. Letras mayúsculas diferentes en grupos homogéneos representan diferencias significativas en los meses para la misma estación. Ensenada de Pabellón (Map: Mapachera y Gua: Guamuchilera), Urias (Jua: Juárez y Sir: Sirena) y Teacapán (Boc: Boca y Cru: Cruces). //: Ausencia de organismos..... 48

Figura 15: Correspondencia global entre la longitud (cm) de valvas de *Mytella* con el Índice Gonadosomático (IGS) en todas las estaciones de muestreo. Ensenada de Pabellón (Map: Mapachera y Gua: Guamuchilera), Urias (Jua: Juárez y Sir: Sirena) y Teacapán (Boc: Boca y Cru: Cruces)..... 49

Figura 16: Correspondencia global entre el Porcentaje de Humedad (%H) y el Porcentaje de Humedad excluyendo la gónada (%H-g) con el Índice Gonadosomático (IGS) en todas las estaciones de muestreo. Ensenada de Pabellón (Map: Mapachera y Gua: Guamuchilera), Urias (Jua: Juárez y Sir: Sirena) y Teacapán (Boc: Boca y Cru: Cruces)..... 52

Figura 17: Correspondencia global entre el Índice de Glándula Digestiva (IGD) y el Índice de Glándula Digestiva excluyendo la gónada (IGD-g) con el Índice de Gonadosomático (IGS) en todas las estaciones. Ensenada de Pabellón (Map: Mapachera y Gua: Guamuchilera), Urias (Jua: Juárez y Sir: Sirena) y Teacapán (Boc: Boca y Cru: Cruces)..... 53

Figura 18: Correspondencia global entre el Índice de Condición (IC) y el Índice de Condición corporal (IC-g) con el Índice Gonadosomático (IGS) en todas las estaciones de muestreo. Ensenada de Pabellón (Map: Mapachera y Gua: Guamuchilera), Urias (Jua: Juárez y Sir: Sirena) y Teacapán (Boc: Boca y Cru: Cruces)..... 54

Figura 19: Fotomicrografías de un organismo indiferenciado de *Mytella strigata*. Hematoxilina - Eosina (50 y 100X)..... 56

Figura 20: Fotografías de estadios gonádicos de macho de *Mytella strigata*. a) Espermagénesis (40 y 100X); b) Maduro (40 y 100X); c) Eyaculado (40X); d) Posteyaculado (40X). Hematoxilina - Eosina..... 58

Figura 21: Fotografías de estadios gonádicos de hembra de <i>Mytella strigata</i> . a) Gametogénesis inicial (40 y 100X); b) Gametogénesis avanzada (40 y 100X); c) Madura (40 y 100X); d) Desove (40 y 100X); e) Postdesove (40 y 100X). Hematoxilina – Eosina.....	59
Figura 22: Proporción de sexos en <i>Mytella strigata</i> por cada una de las estaciones durante el periodo de estudio. Números sobre las barras representan el "n" analizado. * Diferencias significativas entre hembras y machos en el mismo mes. //; Ausencia de organismos.....	62
Figura 23: Proporción de sexos global (acumulado) en <i>Mytella strigata</i> en las diferentes estaciones de muestreo durante el periodo de estudio. Los números sobre las barras representan el "n" analizado. * diferencias significativas entre estaciones del mismo sistema.....	62
Figura 24: Desarrollo gonádico de hembras de <i>Mytella strigata</i> en las estaciones de muestreo a través del tiempo. //; Ausencia de organismos.....	64
Figura 25: Desarrollo gonádico de machos de <i>Mytella strigata</i> en las estaciones de muestreo a través del tiempo. //; Ausencia de organismos.....	65
Figura 26: Porcentaje global (acumulado) de estadios gonádicos de hembras de <i>Mytella strigata</i> por estaciones durante el periodo de estudio.....	66
Figura 27: Porcentaje global (acumulado) de estadios gonádicos de machos de <i>Mytella strigata</i> por estaciones durante el periodo de estudio.....	66
Figura 28: Índice Apoptótico por Folículo (IAF) por estadio gonádico en cada una de las estaciones. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas entre estaciones. //; Ausencia de organismos.....	71
Figura 29: Índice Apoptótico por Células foliculares totales (IAC) por estadio gonádico en cada una de las estaciones. Letras mayúsculas diferentes representan diferencias significativas entre estaciones. //; Ausencia de organismos.....	72
Figura 30: Relación entre los Índices Apoptóticos IAF e IAC. Los coeficientes de regresión lineal se indican para cada estadio.....	73
Figura 31: Caracterización de escenarios de estrés antropogénico por sistema donde el tamaño de las flechas indica la magnitud del estresor (alta, media y baja). M.O. – materia orgánica, NyP – nitrógeno y fósforo, Estróg. – estrógeno, HAPs – hidrocarburos policíclicos aromáticos, T°C – temperatura en grados centígrados, S‰ – salinidad.....	75

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Escenarios de contaminación de los sistemas estudiados. Teacapán (Cru: Cruces, Boc: Boca), Pabellón (Map: Mapachera, Gua: Guamuchilera) y Urias (Jua: Juárez, Sir: Sirena).....30

Tabla 2: Fórmulas para determinar índices biológicos. IGS: Índice Gonadosomático, IGD: Índice de Glándula Digestiva, IGD-g: Índice de Glándula Digestiva menos gónada, %H: Porcentaje de Humedad, %H-g: Porcentaje de Humedad menos gónada, IC: Índice de Condición, IC-g: Índice de Condición menos gónada.....35

Tabla 3: Correlación de Pearson entre índices biológicos en las estaciones de muestreo indicando valores de R y P. Números en negrita indican correspondencias significativas ($P \leq 0.05$). Valores de n entre 68 y 70, con excepción de Boca donde fue de 48.....50

Tabla 4: Resultado de pruebas pareadas en machos de *Mytella strigata* (valores de Z) entre estaciones, por cada estadio gonádico. * Diferencias significativas entre estaciones.....67

Tabla 5: Resultado de pruebas pareadas en hembras de *Mytella strigata* (valores de Z) entre estaciones, por cada estadio gonádico. * Diferencias significativas entre estaciones.....68

Tabla 6: Número (y porcentaje) de hembras de mejillón analizadas en cada estadio gonádico para determinar los IAF e IAC por cada estación.....70

RESUMEN

En el estado de Sinaloa existen varios sistemas lagunares que presentan diferentes actividades antropogénicas. Entre estos sistemas se pueden mencionar Bahía Ensenada del Pabellón, Estero de Urias y Estero de Teacapán, que se localizan en áreas sometidas a presiones ambientales por actividades agrícolas e industriales, desarrollo urbano y turístico, minería, actividad portuaria, entre otras. En el presente estudio, se planteó realizar un análisis comparativo de la condición reproductiva del mejillón de mangle, *Mytella strigata*, para evaluar la posible influencia de los distintos escenarios de estrés antropogénico sobre las poblaciones de mejillones presentes en dichos sistemas. La condición reproductiva se evaluó a través de la estimación de índices biológicos como índices de condición (IC, IC-g), índices de glándula digestiva (IDG, IDG-g) índice gonadosomático (IGS), porcentaje de humedad, monitoreo de ciclos gonádicos, proporción de sexos e índices apoptóticos gonádicos (IAF, IAC). Para tal efecto, se realizaron 4 muestreos durante julio y octubre 2005, y enero y abril 2006 en dos estaciones de cada sistema: Guamuchilera y Mapachera en Ensenada del Pabellón, Juárez y Sirena en Estero de Urias y Boca y Cruces en Estero de Teacapán.

El estero de Urias presentó el mayor esfuerzo reproductivo observado, caracterizándose por presentar una alta proporción de mejillones en estadios de maduración o desove (70 %), un alto IGS, niveles de IC-g bajos, mientras el IDG-g se mantuvo constante a través del tiempo. Sin embargo, las poblaciones de mejillones de este sistema también presentaron evidencias de alteraciones potencialmente provocadas por contaminantes, como pueden ser altos niveles de apoptosis (en gametogénesis y maduración) en la estación Juárez y Sirena, así como una tendencia hacia predominancia de hembras (1.5:1 H:M) en la estación Sirena. Los mejillones del sistema Pabellón mostraron un esfuerzo reproductivo moderado (55% de la población en maduración o desove) en donde el IC-g y el IGS fueron altos y el IDG-g se mantuvo constante a través del tiempo, indicando que una porción significativa de las reservas energéticas se canalizaban al crecimiento y/o supervivencia además de la reproducción. En Guamuchilera se presentaron niveles de apoptosis, que aunque bajos, fueron constantes en los 4 estadios gonádicos. El sistema Teacapán presentó el menor esfuerzo reproductivo observado (45 % de la población en maduración o desove) en donde el IC-g y el IDG-g fueron los más altos en todo el muestreo. En la estación Cruces, la señalización de apoptosis en la gónada de los mejillones fue la más alta en el estadio desove, donde a pesar que en dicho estadio es normal encontrar células apoptóticas, el alto nivel de apoptosis puede tener relevancia en términos reproductivos. En la estación Boca se observó una proporción de sexos de 1.9:1 H:M, la cual es la proporción más desigual de todo el estudio, aunque en esta estación se presentaron problemas de muestreo lo cual pudo haber influenciando este resultado. Este es el primer estudio que identifica apoptosis en moluscos bivalvos como mecanismo de atresia folicular y que evalúa el proceso de apoptosis en conjunto con índices biológicos como biomarcador de estrés celular en mejillones como respuesta a condiciones ambientales adversas. Los resultados en conjunto nos indican que el análisis de la condición reproductiva en poblaciones de mejillones, si bien no detecta o discrimina entre contaminantes específicos, si es útil para detectar alteraciones producidas por estrés antropogénico con consecuencias ecológicamente relevantes.

1.- Introducción

En ecotoxicología, los estudios de los efectos de la contaminación están enfocados a las posibles alteraciones de elementos tóxicos sobre parámetros ecológicamente relevantes, como puede ser la capacidad reproductiva en poblaciones naturales. La capacidad reproductiva se aplica para ambos sexos y esta en función de cuatro factores: (1) tasa de fertilización de un individuo en el apareamiento; (2) frecuencia, oportunidad y tiempo que dura el apareamiento; (3) estrategias reproductivas; (4) habilidad del embrión para terminar de formarse. Estos factores, sumados a los efectos de contaminantes, dan como resultado que muchos organismos mueran sin haber pasado con éxito su material genético a otra generación (Peakall, 1992).

Los estudios para entender los efectos de químicos durante el ciclo reproductivo son más frecuentes en especies de invertebrados, ya que en vertebrados puede existir gran variación inter-específica, tienen ciclos de vida largos, por lo que para un estudio el número de organismos viables de una población puede ser reducido. En vertebrados, los estudios experimentales requieren que los animales estén expuestos a químicos tóxicos por periodos prolongados, bajo estudios multigeneracionales y son extensos en términos de tiempo y costos. En cambio, las especies de invertebrados por lo general presentan un ciclo de vida corto, el número de organismos disponibles para el estudio es alto, por lo cual es posible obtener resultados en un lapso de tiempo corto y los costos no son muy elevados (Mihaich *et al.*, 1999; Defur *et al.*, 1999; Peakall, 1992).

Los estudios sobre condición reproductiva normalmente presentan poca sensibilidad dado que el tiempo para obtener una respuesta es largo, además es difícil relacionar esta respuesta con un contaminante específico ya que es una respuesta general a un conjunto de parámetros. Sin embargo los estudios sobre parámetros reproductivos permiten evaluar el nivel de afectación en relación a la contaminación a nivel organismo (parámetros fisiológicos, factores de condición, crecimiento, fertilidad y maduración) y población (variabilidad genotípica, estructura de tallas y edad), siendo la reproducción una respuesta

con alta relevancia ecológica, que proporciona elementos para predecir un posible riesgo de la viabilidad de las poblaciones naturales de una especie (Schlenk, 1999; Defur *et al.*, 1999).

Los mejillones son organismos comúnmente empleados para monitorear la salud de ecosistemas acuáticos ya que presentan características que permiten evaluar posibles efectos de contaminantes en el ambiente (Pampanin *et al.*, 2005). Los mejillones son organismos sésiles, que filtran grandes cantidades de agua para su alimentación y respiración; lo cual se relaciona con la característica de bioacumular altos niveles de contaminantes orgánicos e inorgánicos en sus tejidos, de tal forma que pueden indicar los efectos negativos provocados por contaminantes en el sitio de muestreo a lo largo de un determinado tiempo (Smolders *et al.*, 2004). Aunado a esto, la facilidad de manejo y transporte ha permitido que los mejillones hayan sido propuestos en programas conocidos como "*Mussel watch*" que desde 1986 han monitoreado concentraciones de cobre y químicos en tejidos de mejillones y ostiones en ecosistemas acuáticos (Soto *et al.*, 2000).

En Sinaloa se localizan varios sistemas costeros con diferente grado de impacto antropogénico, entre los cuales se pueden mencionar: Bahía Ensenada del Pabellón que tiene constantes descargas de aguas residuales provenientes de la agricultura (p. ej. agroquímicos) (Páez-Osuna *et al.*, 1992), Estero de Urdías que tiene descargas de actividades urbanas e industriales (p. ej. detergentes, organoclorados e hidrocarburos) (Álvarez, 1980; Ruelas-Inzunza y Páez-Osuna, 2000) y Estero de Teacapán que se caracteriza por tener poca actividad urbana pero con una probable influencia de actividades mineras en la región (Galindo, 2000; Álvarez *et al.*, 1986; Amescua *et al.*, 1987).

En estudios prospectivos en los tres sistemas costeros mencionados se encontraron poblaciones del mejillón de mangle *Mytella strigata*. Con base a lo anterior, el presente estudio permitirá identificar la proporción de sexos y caracterizar el desarrollo gonádico en tiempo y espacio en esta especie para

establecer la condición biológica y reproductiva a diferentes niveles de organización biológica en los sistemas costeros (Pabellón, Urias y Teacapán) e interpretar si existe un posible efecto de estresores ambientales y/o contaminantes en la condición reproductiva en términos de relevancia ecológica.

2.- Antecedentes

2.1.- Contaminación en lagunas costeras

Las lagunas costeras constituyen alrededor del 13% del ambiente costero global, siendo el resultado del levantamiento del nivel del mar, cuando las olas regresan sedimentos para formar una barrera, creando un cuerpo de agua semi-cerrado con una conexión al mar abierto (Oliveira y Kjerfve, 1993). Una laguna costera es considerada toda depresión de la zona litoral debajo de la altura media de las mareas más altas, que posea una comunicación efímera o permanente con el océano, y que se encuentre protegida de este por algún tipo de barrera (Lankford, 1977).

El estudio de las lagunas costeras es relevante debido a que poseen una alta productividad por la variedad de productos primarios que en ellas se presentan, como el aporte de energía en forma de materia orgánica de áreas adyacentes, como manglares que son unos de los principales aportadores de materia orgánica a las lagunas. Además, México cuenta con más 123 lagunas que abarcan el 33% de sus litorales y cubren una superficie aproximada de 12,600 km². Estos ecosistemas representan un gran potencial y el hombre los ha utilizado desde tiempos ancestrales para la construcción de puertos, como áreas de recreación, y también, para la explotación de recursos renovables y no renovables. (González- Farias y Hernández-Garza, 1989).

Por su naturaleza costera, muchas lagunas costeras, reciben una variedad de contaminantes provenientes de actividades urbanas, industriales y agrícolas. Estos contaminantes se distribuyen en la columna de agua y en el fondo asociándose principalmente a los sedimentos, afectando la productividad del ecosistema y al estar en contacto y/o biodisponibles para los organismos,

pueden provocar efectos a lo largo de la vida de estos, así como alteraciones en su desarrollo, crecimiento, alimentación, rutas de migración y reproducción (Chapman y Wang, 2001).

2.2.- Área de estudio

Sinaloa se ubica en el Noroeste de México, presentando actividades turísticas, agrícolas, ganaderas, pesqueras e industriales, además de tener una diversidad de recursos minerales. El estado cuenta con una extensa franja costera, donde la pesca, la agricultura y el turismo son las actividades principales. En la región norte predominan la agricultura, ganadería y minería como principales fuentes de trabajo e ingresos. En los valles se desarrolla una intensa actividad agrícola y ganadera, además del comercio y la industria. El clima es diverso de cálido sub-húmedo a semi-seco. Los sistemas acuáticos costeros, caracterizados por su alta productividad, reciben descargas de diversas fuentes desde ríos y arroyos que fluyen a través de tierras agrícolas y drenaje de aguas residuales domésticas, industriales y agropecuarias (Osuna *et al.*, 2001; Galindo *et al.*, 1992). Entre estos sistemas se encuentran Bahía Ensenada del Pabellón, Estero de Urtas y Estero de Teacapán, los que probablemente presentan, distintos grados de deterioro ecológico.

2.2.1.- Bahía Ensenada del Pabellón

El sistema estuarino Bahía de Allata-Ensenada del Pabellón es de forma alargada y relativamente estrecha, se encuentra en la parte central del estado de Sinaloa entre los 24°15'-25°15' latitud norte y 107°20'-108°20' longitud oeste, con una extensión de 360 km², en donde desemboca el Río Culiacán y tiene comunicación con el mar mediante la boca de la Tonina. Es una laguna somera con menos de 8 m de profundidad, los sedimentos son finos y ocasionalmente fétidos, en los canales de las llanuras de inundación se deposita grava, arena, limo y arcilla por los procesos fluviales, y por la acción de las mareas (Soto-Jimenez *et al.*, 2003).

El sistema está conectado con varios esteros y lagunas interiores, de las cuales, destacan Bataoto, Caimanero y Chiricahueto (2, 3 y 18 km² de

superficie, respectivamente) (Páez-Osuna *et al.*, 1992); el clima de la región es húmedo, en épocas de lluvia en verano y parte del otoño y en épocas de sequía en invierno y primavera, (Soto-Jimenez *et al.*, 2003) con una temperatura media anual mayor a 18°C y una precipitación media anual de 472 mm (Páez-Osuna *et al.*, 1992).

Este sistema es considerado como uno de los más productivos de la región debido a su diversidad de peces, moluscos y camarones peneidos, además, poliquetos, equinodermos, crustáceos, tortugas, aves residentes y migratorias, mamíferos marinos, y cocodrilos (Galindo *et al.*, 1999; Galindo, 2000). La laguna está bordeada por vegetación litoral constituida principalmente por mangle rojo (*Rhizophora mangle*), mangle negro (*Avicennia germinans*) y mangle blanco (*Laguncularia recemosa*) así como también de pastos marinos y plantas halófitas (Galindo, 2000);

Este sistema se localiza entre los municipios de Culiacán (con 745,532 habitantes) y Navolato (con 145,622 habitantes) donde se localiza la actividad agrícola más intensa y mecanizada del país, con un total de 270,000 hectáreas dedicadas al cultivo de hortalizas como jitomate, chile, pepino, berenjena, además de soya, cártamo y arroz; los desechos de estas actividades son drenados en el sistema (Páez-Osuna *et al.*, 1992), así como las aguas residuales de los ingenios azucareros "Antonio Rosales", de Costa Rica y "La Primavera" de Navolato, efluentes de granjas camaroneras, aguas residuales urbanas (Páez-Osuna *et al.*, 1998) y la Cuenca de drenaje agrícola con una superficie de 17,195 km² (Páez-Osuna *et al.*, 1992; INEGI, 1987).

En 1988 en este sistema se evaluaron los niveles de Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn en músculo y vísceras de *Mugil curema* y *Tilapia mossambica* encontrando concentraciones de Cu más elevados con respecto a los demás metales (Izaguirre *et al.*, 1992). En la zona agrícola se reporta la utilización de productos agroquímicos donde destacan los compuestos metamidofos, monocrotofos, clorpirifos, malatión, endosulfán, aldrín BHC α , y metil paratión que se utilizan como plaguicidas, además de sales y óxidos con alto contenido

de fósforo que se utilizan como fertilizantes. Los niveles de nitritos, fosfatos y concentración de clorofila fueron relativamente altos en 1997 probablemente debido a los fertilizantes usados en la agricultura que influencia el cuerpo de agua (Galindo *et al.*, 1999; Páez-Osuna *et al.*, 1992). En sedimentos, mejillones, almejas, ostiones, peces y aves se encontraron concentraciones de plaguicidas organoclorados persistentes (OC), como el DDT, endosulfan, aldrín, dieldrín, endrin, y lindano, además de plaguicidas organofosforados como clorpirifos, metil-clorpirifos paration y malation. Valores altos de endosulfa-sulfato fueron encontrados en tejidos del mejillón *Mytella strigata* (Carvalho *et al.*, 1996).

Ruiz *et al.*, (2003) reporta que las descargas de fuentes urbanas y residuos agrícolas en el sistema han aumentando a través del tiempo, observándose una acumulación de metales traza (Cd, Co, Cu, Ni, Pb y Zn) en sedimento arenoso y profundo del Río Culiacán. Esta observación se relaciona con el rápido desarrollo demográfico de la población de Culiacán y otras ciudades vecinas, así como desarrollo de actividades agrícolas en la zona.

2.2.2.- Estero de Urfas

El Estero de Urias se encuentra en el puerto de Mazatlán (con 380,509 habitantes; INEGI, 2000), Sinaloa, entre los 23°09'-23°13' latitud norte, y los 106°18'-106°25' longitud oeste en la entrada del golfo de California, tiene una extensión aproximada de 16 km², el clima es tropical sub-húmedo con una temperatura promedio de 19.7°C en febrero a 28.0°C en agosto, con una precipitación anual promedio de 850 mm. En el borde del sistema se observa la presencia de tres especies de mangle (*Rhizophora mangle*, *Laguncularia racemosa* y *Avicennia germinans*) (Soto-Jiménez y Páez-Osuna, 2001) donde la densidad de estas especies aumenta considerablemente a medida que disminuye la infraestructura portuaria. Se ha identificado zooplancton compuesto por 28 taxa, 24 familias, 21 géneros y 5 especies; necton, 2 taxa, 11 familias, 14 géneros, y 14 especies; bentos, 17 taxa, 86 familias, 97 géneros y 69 especies. Entre las especies fitoplanctónicas predominan diatomeas y dinoflagelados, así como microalgas bentónicas: *Rhizoclonium* sp., *Hydrocoleum*

sp. y *Chaetomorpha* sp. Durante el siglo pasado, eran abundantes en el sistema de Urlas diferentes especies de importancia comercial como callo de hacha (*Atrina Maura* y *Pinna rugosa*), ostiones (*Crassostrea corteziensis* y *C. iridescens*), pata de mula (*Arca grandis* y *A. tuberculosa*), camarones (*Penaeus stylirostris* y *P. vannamei*), jalbas (*Callinectes arcutus*), calman (*Cocodilus acutus*), huachinangos (*Luljanus argentiventris* y *L. guttatus*), lisas (*Mugil curema* y *M. cephalus*) y robalos (*Centropomus nigrecens* y *C. robalito*). Álvarez-León (1977) reportó una mayor fauna ictica y carcinológica en la cabeza del sistema ya que ahí es donde se conservan en buen estado los bosques de manglar.

El crecimiento acelerado de Mazatlán ha modificado condiciones físicas importantes del sistema, producto de la construcción de obras portuarias (construcción de dos rompeolas para protección del puerto e implementación de trabajos de dragado para garantizar la navegación, así como la construcción de muelles) y del crecimiento urbano (construcción ocupacional paulatina y desordenada del vaso del Estero del Infiernillo sobre rellenos no controlados, lo que ha acelerado los procesos de sedimentación natural, asolvando parte de este estero (Garay-Velázquez, 1986) e industrial (bodegas, congeladoras y plantas empacadoras de mariscos) en el sistema (Álvarez-León, 1977). El sistema tiene aportes naturales de agua durante la época de lluvias a través del Arrollo Jabalines y por una serie de arroyos pequeños localizados en la cabeza del sistema (Álvarez- León, 1977).

Urlas presenta una alta productividad comparada con otros sistemas similares; esta productividad es de aproximadamente $2.36 \text{ gCm}^{-3}\text{d}^{-1}$ por día. Lo cual se puede atribuir al exceso de material orgánico de origen antropogénico que recibe el sistema, y que conduce elevados niveles de nutrientes durante la remineralización de la materia orgánica (Páez-Osuna y Marmolejo-Rivas, 1990).

El sistema de Urlas recibe descargas de diversas fuentes: flota pesquera, militar, petrolera, mercante y cruceros turísticos, presentando en sus márgenes

desarrollo urbano e industrial, agricultura, granjas camaronícolas, construcción de obras portuarias, desechos de actividades industriales; descargas de aguas negras domésticas, aguas residuales de la industria de empaquetado de mariscos, aguas residuales del rastro, aguas residuales con hidrocarburos de PEMEX y ferrocarriles, aguas residuales de la cervecería y aguas de enfriamiento de la termoeléctrica, que son agentes estresores potenciales del sistema. Además, debido al acelerado crecimiento urbano, turístico e industrial del puerto, se descargan aproximadamente 28,000 m³/h de aguas negras. La termoeléctrica por su parte sobrecalienta el agua aumentando la temperatura entre 2 y 6°C sobre la temperatura máxima del agua del estero; debido a las altas temperaturas y a la acumulación de materia orgánica de diverso origen se encuentran áreas eutróficas (Álvarez, 1980).

En este estero se han realizado varios estudios de ecología, y los relacionados a contaminación son aquellos que miden los niveles de metales en varios organismos filtradores, principalmente mejillones (*Mytella strigata*) y ostiones (*Crassostrea corteziensis*), así como la concentración de Cd, Cu, Pb, y Zn en sedimento. Entre *Mytella strigata* y *Crassostrea corteziensis* existe una relación de acumulación de Cd, Fe y Zn en los tejidos blandos; *Crassostrea corteziensis* acumuló nueve metales (Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn), encontrando una alta correlación entre los niveles de cobalto, cromo y níquel en las partículas de agua y los tejidos del ostión (Ruelas-Inzunza y Páez-Osuna, 2000; Páez-Osuna y Marmolejo-Rivas, 1990).

2.2.3.- Estero de Teacapán

El Estero de Teacapán se encuentra en el extremo sur de la costa de Sinaloa, entre los 22°04'-22°35' latitud norte y 105°20'-150°50' longitud oeste (Amezcuca *et al.*, 1987). El estero es parte del sistema lagunar Teacapán-Agua Brava-Marismas Nacionales, con una extensión de 1500 Km² (Kovacs, 1999), donde desembocan los ríos Acajoneta, Cañas, Bejuco y Rosamorada; las lagunas Cerritos, Grande, Las Cañas y Agua Grande; y los esteros de Agua Grande, el Maíz y Teacapán en el sur de Sinaloa; las lagunas Agua Brava, el Valle, la Graza, el Pescadero, los Pericos, de Auta, Grande de Mexcallitán y Toluca, los

esteros El Salado, El Indio, Cuautla, Grande y El Gavilán en el norte de Nayarit. También se encuentran los humedales del sistema litoral Majahual y los del sistema Agua Brava. El clima es cálido-subhúmedo, con una temperatura media anual de entre 21 a 30°C, con una precipitación promedio anual de 1,039 mm (Acosta, 2003).

El sistema lagunar Teacapán-Agua Brava-Marismas Nacionales tiene a su alrededor siete municipios que corresponden a Nayarit (Acaponeta, Huajicori, Rosamorada, Ruiz, Santiago Ixcuintla, Tecuala y Tuxpan) y solo un municipio correspondiente a Sinaloa (Escuinapa con 50,283 habitantes), presentando un total de 321,912 habitantes asentados alrededor del sistema (INEGI, 2000). La región soporta indirectamente una de las más importantes y ricas pescas de peces y tiburones en México (De la Lanza-Espino *et al.*, 2003), además en este sistema es donde se ubica el bosque de manglar más extenso de la costa del Pacífico mexicano donde predomina *Rizophora mangle*, principalmente en la región sur, con una extensión aproximada de 83,000 hectáreas, lo que representa un importante valor económico, social y biológico ya que es fuente de alimento, refugio y crecimiento de una gran diversidad de organismos acuáticos (Álvarez *et al.*, 1990; Acosta, 2003).

En el sistema se desarrolla la ganadería, camaronicultura, pesca ribereña principalmente de camarón y ostión y agricultura de temporal (practicada principalmente en el ciclo otoño- invierno), a nivel de granos básicos se cultiva frijol, maíz, sorgo y tabaco y como plantaciones más relevantes la caña de azúcar, plátano y árboles frutales como el mango-círcuela, aguacate, limón-naranja-aguacate y coco (INEGI, 1995).

En el Estero de Teacapán se han reportado residuos de plaguicidas como lindano en agua, sedimentos y tejidos de almejas (*Anadara* sp) y camarones (*Penaeus* sp) debido a la agricultura de temporal (Galindo *et al.*, 1992), además de metales pesados, principalmente el mercurio (Galindo, 2000; Álvarez *et al.*, 1986).

2.4 - Generalidades de los moluscos

Después de los insectos, los moluscos son el grupo de animales más extenso, del cual se han clasificado 200 000 especies (Cifuentes *et. al.*, 1990). Los moluscos se encuentran en una amplia variedad de hábitats, desde los trópicos a los mares polares, en altitudes que superan los 7000 m, en charcas, lagos, aguas corrientes, etc. La mayoría de ellos viven en el mar y presentan una gran variedad de formas de vida, que incluyen a los bentónicos, rastreadores del fondo, excavadores, perforadores, y a los de hábitat pelágico, donde únicamente los bivalvos y gasterópodos se presentan en hábitats salobres y dulceacuícolas (Ruppert y Barnes, 1996).

La mayor parte de los moluscos son dioicos, aunque hay algunos hermafroditas. La larva libre y nadadora que sale del huevo en los moluscos primitivos es la trocófora, que es también un tipo larvario primordial de los anélidos. La metamorfosis directa de la trocófora en un juvenil diminuto, como en los quitones, se considera como un carácter primitivo, pero la intervención de otro estadio larvario nadador, la velígera, como sucede en muchos gasterópodos y bivalvos se considera un carácter derivado. La velígera tiene un esbozo de pie de concha y de manto. En muchos moluscos el estadio de trocófora se desarrolla dentro del huevo, del que ya sale una velígera que es, por tanto, el único estadio libre nadador (Ruppert y Barnes, 1996).

Algunos bivalvos de agua dulce, carecen de larva nadadora libre y del huevo sale un individuo joven. Las dos gónadas que poseen se encuentran rodeando las asas intestinales y están tan próximas entre sí que resulta complicado reconocer su condición pareada. Los gonodutos son sencillos en todos los casos, ya que no hay copula. En los protobranquios y en los lamelibranquios más primitivos, el corto gonoducto desemboca en el nefrío, de forma que los óvulos y los espermatozoides salen al exterior por los nefridioporos. En la mayoría de los bivalvos la fecundación se produce en el agua circundante; los gametos se expulsan en la cámara suprabranquial de la que salen con la corriente exhalante. Algunos bivalvos incuban sus huevos dentro de la cámara suprabranquial (Ruppert y Barnes, 1996).

Las aproximadamente 8000 especies de bivalvos incluyen animales tan comunes como las almejas, las ostras, las vieiras y los mejillones. Derivan su nombre de las valvas en que se divide la concha (Curtis *et al.*, 2000). En los mejillones, la gónada se encuentra extendida de forma difusa en el manto y está constituida por una multitud de folículos donde se forman, según el sexo, los óvulos o los espermatozoides. Los canales excretores se reagrupan formando troncos principales que convergen, por debajo del pericardio, hacia los gonoconductos terminales, uno a cada lado del cuerpo, que desembocan en dos papilas genitales situadas cerca del músculo aductor posterior. Los mejillones son animales en los que los sexos están separados, siendo el número de machos normalmente igual al de hembras. La edad de reproducción se alcanza rápidamente. Si las condiciones son favorables, los mejillones nacidos en primavera emiten sus productos genitales en otoño, y los nacidos en otoño pueden estar maduros al final del invierno o en la primavera del año siguiente (Bussani, 1990).

2.5.-Estrategias reproductivas respecto a condiciones ambientales

2.5.1.- Reproducción en vertebrados e invertebrados

Las alteraciones ambientales pueden causar efectos adversos en poblaciones de vertebrados silvestres, como la mortalidad a largo plazo o cambios en funciones reproductivas, desarrollo y crecimiento a corto plazo (Mihaich *et al.*, 1999). Los contaminantes químicos pueden causar intensos daños neurológicos que pueden provocar la muerte en horas o días, daño en las funciones reproductivas o alteraciones en el desarrollo de los huevos o embriones en muchos meses o generaciones. Los estresores ambientales, contaminación química, enfermedades, estrés térmico y degradación del hábitat, también pueden dañar la reproducción, crecimiento y desarrollo de los organismos (Mihaich *et al.*, 1999).

La fisiología de vertebrados ovíparos como las aves, peces, reptiles y anfibios es muy diversa ya que existe la fertilización externa con la producción de huevos con vitelo y la fertilización interna con la producción de huevos sin vitelo

que requieren de maternidad y nutrición antes del nacimiento. Los vertebrados presentan diferentes estrategias de vida donde son vulnerables a las alteraciones ambientales y algunas especies pueden ser más vulnerables y/o sensibles que otras. Algunos vertebrados presentan un solo desarrollo y crecimiento durante toda su vida, otros presentan metamorfosis con un impulso al agua para una respiración bimodal, donde hay cambios en estados reproductivos como una función en la talla y edad. Estas estrategias de vida y patrones de desarrollo son adaptaciones que permiten a las especies sobrevivir en condiciones ambientales o prosperar en hábitats específicos (Blazer *et al.*, 1987; Mihaich *et al.*, 1999). En vertebrados la reproducción es un proceso complejo que incluye la diferenciación sexual, desarrollo embriológico, nacimiento o incubación, maduración sexual, gametogénesis, apareamiento y fertilización. En general los organismos de vida silvestre presentan diversidad de estrategias reproductivas; sin embargo la regulación hormonal y el ambiente son factores requeridos para los procesos reproductivos de todas las especies (Blazer *et al.*, 1987).

Los invertebrados constituyen una clase importante de organismos para pruebas ecotoxicológicas y monitoreo ambiental. La abundancia y ciclo de vida corto de invertebrados es un elemento importante por el cual muchos estudios se han enfocado a utilizarlos para monitoreo ambiental en lugar de utilizar vertebrados. Sin embargo, a pesar de que la regulación hormonal es similar en vertebrados e invertebrados y que varios tipos de hormonas de vertebrados son detectadas en invertebrados, el funcionamiento del sistema endocrino en invertebrados es todavía en su mayoría desconocido. Una posible explicación del poco entendimiento de procesos endocrinos en invertebrados es la diversidad de estadios (metamorfosis, diapausa, pupa, crecimiento, desarrollo, reproducción, hermafroditismo, etc.) tanto en invertebrados terrestres como en acuáticos (Defur *et al.*, 1999)

2.5.2.- Reproducción en mejillones

Los estudios de ciclos reproductivos son descriptivos y proporcionan información cuando se han hecho por varios años, acerca del inicio y duración

de gametogénesis y desove. Diversos factores exógenos y endógenos regulan el ciclo reproductivo en moluscos bivalvos como el mejillón, ostras y pectínidos. Los factores más importantes son temperatura, salinidad, fotoperíodo y alimento (Cáceres-Martínez y Figueras, 1998). La salinidad y la posición con respecto al fondo parecen no tener influencia directa en la elaboración de los productos sexuales o gametogénesis (Hatcher *et al.*, 1997), aunque según Stuardo y Villarreal (1976) pueden influenciar indirectamente, ya que el intervalo de salinidad entre 5 y 40 ‰ permite la existencia de mejillones en las lagunas costeras. Por su parte, Stuardo y Martínez (1975) concluyen que a extremos mayores o menores no pueden existir las poblaciones de *Mytella strigata* durante largos periodos de tiempo, así pues esta especie está ausente en ambientes dulceacuícolas o en ambientes hipersalinos.

En otras especies de la familia Mytilidae, como *Mytilus edulis* la resistencia a amplios rangos de salinidad no es muy diferente a los mencionados para *Mytella strigata* (Estévez y Stuardo, 1977). Por otro lado, existe una clara relación entre la temperatura y la gametogénesis. Si la temperatura está por debajo de cierto límite, menor a 5 o 7 °C, la gametogénesis no procede, o bien sólo se presenta durante un corto periodo reproductivo en aguas frías, mientras que varios desoves durante un largo periodo reproductivo son comunes en aguas cálidas (Bussani, 1990; Hatcher *et al.*, 1997).

Las temperaturas bajas también tienen influencia sobre el metabolismo y crecimiento, en varios estudios de climas nórdicos está documentado que las tasas metabólicas y de crecimiento en mejillones son bajas en invierno comparadas con otras estaciones del año (Hatcher *et al.*, 1997). Cuando ya se ha iniciado la gametogénesis, la maduración mantiene un ritmo paralelo al del aumento de la temperatura. La duración del periodo de reproducción depende también de la temperatura, abarcando un mayor o menor periodo de tiempo según aumente o disminuya la media térmica anual (Bussani, 1990), por ejemplo después del primer desove, una gametogénesis rápida puede ocurrir restaurando las condiciones para un nuevo desove. Los desoves masivos en la mayoría de los mejillones ocurren en primavera coincidiendo con el aumento de

temperatura y la concentración de clorofila en el área, lo que asegura condiciones favorables para el crecimiento de larvas (Cáceres-Martínez y Figueras, 1998).

El alimento ejerce también su papel sobre la gametogénesis. Los animales sometidos experimentalmente al ayuno sufren un retraso en la maduración sexual y la cantidad de gametos emitidos es menor (Bussani, 1990). Las bajas temperaturas y/o inadecuada fuente de alimento (baja producción primaria) son factores limitantes tanto para la reproducción como para el crecimiento (Hatcher *et al.*, 1997). Mallet *et al.* (1987), estudiaron el crecimiento de *Mytilus edulis* en Nueva Escocia y sugirieron que la disminución del crecimiento de estos organismos fue debida a la baja disponibilidad de alimento ya que las bahías se encuentran continuamente cubiertas de hielo durante el invierno. Los autores proponen que, si la bahía esta cubierta por hielo, el desarrollo del fitoplancton en primavera es inhibido.

También son importantes las reservas de nutrientes, ciclos hormonales y el genotipo. Las diferencias entre ciclos reproductivos de mejillones localizados en diferentes condiciones ambientales pueden explicar estos factores. Un incremento en la concentración de clorofila provoca la disponibilidad de alimento para los mejillones y este aumento puede favorecer la acumulación de reservas (Cáceres-Martínez y Figueras, 1998). El mantenimiento del metabolismo es representado por la tasa metabólica cuando el animal se alimenta activamente, aunque en ocasiones este metabolismo es adecuado para mantener la vida pero no es suficiente para la alimentación, digestión, crecimiento y reproducción (Hatcher *et al.*, 1997).

El cuerpo de los mejillones se divide en dos partes, masa estructural y masa de almacenamiento, donde la masa estructural es la masa del cuerpo mínima para una vida normal pero no hay reservas disponibles para el crecimiento o reproducción. Sin embargo, la parte estructural contiene algunas reservas que pueden ser usadas en periodos de inanición. Si la masa corporal es mayor que

la estructural, la masa extra puede ser considerada como reservas disponibles para la reproducción (Honkoop *et al.*, 1999).

Entre los factores ecológicos, la temperatura es sin lugar a dudas el más importante. Interviene sobre el desarrollo del huevo, que no comienza sino entre 8 y 18° C, y en el de la larva. Esta última se desarrolla a partir de 10° C. De 10 a 15° C aproximadamente, la velocidad de crecimiento aumenta considerablemente con la temperatura, así como de 15 a 20° C; mientras que por encima de 20-25° C disminuye y existe riesgo de mortalidad. Para las larvas en condiciones óptimas de alimentación, la metamorfosis se produce al cabo de 16 a 20 días a una temperatura de 16° C, y de 34 a 38 días a 22,5° C (Bussani, 1990). El 25% de larvas de bivalvos que habitan en áreas templadas pueden ser completamente dependientes de su propio almacenamiento de nutrientes para la metamorfosis, mientras que el resto son principalmente dependientes del plancton aunque también se alimentan del almacenamiento de nutrientes (Honkoop *et al.*, 1999). La temperatura también influye en la duración de la metamorfosis, que es de dos días a 20-22° C y de 43 a 46 días a 10-11° C. La vida de la larva, desde la fecundación hasta su transformación en un joven mejillón, duraría, por lo tanto, de 18 a 84 días (Bussani, 1990).

En los adultos la principal fuente de energía son los carbohidratos, especialmente el glucógeno, mientras que en larvas son los lípidos. Para algunas especies, una considerable proporción (mayor del 94%) de energía ingerida puede ser transferida a los gametos durante la gametogénesis. Durante este periodo, los carbohidratos son convertidos en lípidos en la gónada, manto o en los huevos y almacenados en los gametos maduros, aunque el costo de síntesis de lípidos es alto debido al alto contenido energético de estos compuestos. (Honkoop *et al.*, 1999).

Las condiciones ambientales y de hábitat tienen influencia directa en la reproducción de los mejillones Franz (1996) reporta que los mejillones que viven en la playa o cerca la orilla de los esteros se vuelven sexualmente maduros con un menor tamaño de concha que los mejillones que viven a 15 metros lejos de la orilla. La talla y edad de la primera reproducción son

importantes componentes en la condición reproductiva. El peso del cuerpo en la primera maduración es casi el mismo en cada población, pero el periodo de crecimiento requerido para conseguir este umbral de peso es mayor en mejillones que viven en sitios más lejanos a la orilla. Como consecuencia para los mejillones de los sitios lejos de la orilla la primera reproducción puede ocurrir hasta un año después que los mejillones que habitan en la orilla. Esto es debido a la competencia por espacio, además, de la abundancia y disponibilidad de alimento.

Los mejillones que habitan en puertos pesqueros presentan una variedad de tipos de parásitos y enfermedades; en algunos casos estos parásitos y enfermedades pueden afectar significativamente la salud y fecundidad (Pérez *et al.*, 1997). El incremento de la susceptibilidad de una carga de parásitos y enfermedades en moluscos es provocada por la reducción de la salud por contaminantes, limitaciones de alimento disponible y otros estresores. Recientes trabajos se han enfocado a estudiar el efecto de supresión inmune en mejillones, donde al inicio y final de enfermedades relacionan la exposición a contaminantes y la inducción de enfermedades por parásitos, así como la influencia de cambios ambientales. Los modelos proporcionan un sustento teórico para determinar si pequeños cambios en el ambiente que pueden producir grandes cambios en el predominio e intensidad de parásitos (como trematodos) y enfermedades. El predominio e intensidad de parásitos, enfermedades y patología de tejidos pueden constituir una importante herramienta para comparar la salud de poblaciones con variaciones en sitios contaminados y pueden ser utilizados como alerta temprana de cambios a largo plazo en la salud de comunidades filtradoras, como mejillones que pueden eventualmente extinguirse localmente (Powell *et al.*, 1999).

2.6.- Condición reproductiva como biomarcador

Los biomarcadores o indicadores reproductivos proporcionan mediciones cuantificables de cambios químicos, fisiológicos o histológicos que ocurren en un ciclo reproductivo completo (Schmitt *et al.*, 2000). Estos indicadores pueden ser alterados por factores exógenos que pueden reflejar alteraciones

reproductivas. Los biomarcadores reproductivos son una herramienta para examinar los efectos de estresores ambientales, como contaminantes químicos, eutroficación y fluctuaciones de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto, en un individuo o población, prediciendo tendencias reproductivas futuras y tamaño poblacional, además de indicar tempranamente efectos subletales o las razones por las cuales fracasa la reproducción (Schmitt *et al.*, 2000).

Para predecir el potencial de un organismo o población que permanece en un ecosistema es necesario evaluar la salud y capacidad reproductiva de los individuos en la población. Para medir el éxito reproductivo se utiliza el número de huevos en un apareamiento, número de progenie viable, o el número de descendientes viables capaces de reproducirse. Considerando que los eventos reproductivos pueden ser un importante indicador de una población potencialmente reproductiva, esto es frecuentemente difícil de evaluar, especialmente en ambientes acuáticos donde la fauna no es fácil de mantener en cautiverio para su monitoreo en condiciones de laboratorio. Se han desarrollado técnicas para medir otros indicadores reproductivos (huevos, hormonas sexuales, vitelogenina, histopatología gonadal e índices gonadosomáticos) y con la ayuda de estos indicadores se puede predecir la salud reproductiva de muchas especies de organismos. Estos indicadores proporcionan importante información de los cambios químicos, fisiológicos, o histológicos que ocurren naturalmente en un ciclo reproductivo (Schmitt *et al.*, 2000; Norris, 1997; van der Kraak *et al.*, 1998).

Algunos efectos significativos de ambientes contaminados por DDT en la reproducción, es la vulnerabilidad de los procesos reproductivos que demuestran mortalidad y fracaso reproductivo en los organismos expuestos al DDT (Peakall, 1992).

Los métodos histopatológicos se utilizan para evaluar el estrés y contaminación ambiental, observando alteraciones en la gónada y modificaciones en las fases reproductivas debido a alteradores endocrinos como el DDT. La exposición de

organismos sexualmente maduros a estrógenos ambientales ha mostrado una posible desviación de la secuencia normal de eventos hacia la producción de gametos y/o actividad normal de los órganos reproductivos (Binelli *et al.*, 2004).

2.6.1.- Índices Biológicos

2.6.1.1.- Índice Gonadosomático

Entre los biomarcadores mas usados para estudiar los efectos de exposición a contaminantes ambientales están los índices biológicos y las alteraciones histológicas que son particularmente efectivas porque las respuestas morfológicas afectan todos los niveles de organización biológica (Binelli *et al.*, 2004). El índice gonadosomático (IGS) y la histopatología gonadal están dentro de la categoría de indicadores que proporcionan información acerca de la salud gonadal y estado de maduración. El IGS es un índice importante, que establece una poderosa relación entre la gónada y el cuerpo completo del organismo [(peso de la gónada/peso del cuerpo) * 100]. Muchas especies presentan variaciones dramáticas en el tamaño de la gónada en sus ciclos reproductivos; consecuentemente, el cálculo del peso de la gónada es un porcentaje del peso del cuerpo que puede ser usado para determinar la maduración reproductiva y valorar los cambios gonadales en respuesta a la dinámica ambiental (cambios estacionales) o estresores exógenos (exposición a contaminantes). La histopatología gonadal es utilizada para determinar el fenotipo gonadal o sexo, estado de desarrollo sexual e investigar alteraciones reproductivas (Blazer *et al.*, 1987), así como la valoración de estrés ambiental. Las alteraciones en la gónada y modificaciones en las fases reproductivas son indicadores válidos de alteradores endocrinos debido a contaminación ambiental. La exposición de organismos sexualmente maduros a alteradores endocrinos pueden alterar la secuencia normal de producción de gametos y/o la actividad normal de los órganos reproductivos (Binelli *et al.*, 2004).

2.6.1.2.- Porcentaje de humedad

El porcentaje de humedad puede ser usado para indicar el balance energético del tejido en un animal (Lucas y Beningerl, 1985). El incremento en la proporción de agua en tejidos de organismos puede ser útil para indicar un

período de consumo de reservas energéticas, lo cual normalmente puede ser observado en experimentos de inanición o en condiciones de invierno. Un alto porcentaje de humedad puede relacionarse con bajos índices de condición en ambientes con pocos nutrientes (nitrógeno inorgánico y fósforo) donde los bivalvos tienen la necesidad de incrementar el bombeo de agua, obteniendo pocos nutrientes y un alto porcentaje de agua (Braley *et al.*, 1992).

2.6.1.3.- Índice de condición

El índice de condición en bivalvos ha sido utilizado para estimar el valor del organismo para su explotación y consumo siendo por lo general proporcional a la talla, esto, es establecido en términos comerciales, donde la determinación del tamaño es de gran importancia, para la explotación racional y manejo sustentable de las poblaciones naturales, así como para establecer los costos de producción en cultivo. En términos biológicos, el índice de condición permite conocer como responde internamente el organismo ante las variaciones ambientales, y ha sido asociado intrínsecamente a la reproducción, ciclos de utilización y almacenamiento de energía y extrínsecamente esta influenciado por la disponibilidad de alimento y variación de la temperatura (Acosta *et al.*, 2006). Así, tenemos que el índice de condición es ampliamente usado para dos propósitos, el primero, como estándar de la calidad de la carne para su comercialización y el segundo, como una medida ecofisiológica del estado de salud de los animales. Esto es sumado a la actividad fisiológica de los organismos (crecimiento, reproducción, secreción, etc.) bajo determinadas condiciones ambientales (Pampanin *et al.*, 2005).

El peso de la gónada ejerce una marcada influencia sobre el índice de condición. En este sentido se señala que el comportamiento reproductivo de los bivalvos es un factor determinante en la estimación de la condición del organismo, por lo que los valores más bajos del índice de condición coinciden con la ocurrencia de gametogénesis y valores más altos generalmente se combinan con la madurez (Acosta *et al.*, 2006).

2.6.1.4.- Índice de Glándula Digestiva

El índice de glándula digestiva es utilizado para determinar el almacenamiento de reservas energéticas y observar los cambios estacionales de la composición bioquímica de la glándula digestiva de bivalvos. Durante periodos de estrés, como la inanición o almacenamiento de energía y/o periodos de alta demanda energética como la gametogénesis, el almacenamiento de energías metabólicas en la glándula digestiva y otros tejidos del cuerpo son movilizados para su mantenimiento (Cartier *et al.*, 2004).

2.6.1.5.- Proporción de sexos

Se sabe que cuando las poblaciones de animales son sometidas a un régimen de explotación, sus parámetros biológicos pueden sufrir cambios, reflejándose normalmente en la estructura de tallas, la velocidad de crecimiento y la capacidad de reproducción, afectando el número y biomasa de sus integrantes, así como la proporción de sexos. Esta última es importante, ya que la perpetuación de la población depende de los reproductores (hembras) y estos constituyen la mitad de la población, por lo que debe existir un número suficiente de machos para la fertilización (Guzmán *et al.*, 1999).

2.6.2.- Vitelogenina

La vitelogenina (vtg) es una proteína estrógeno-inducible que es normalmente sintetizada en el hígado de vertebrados, en el hepatopáncreas y/o gónada en crustáceos y en la gónada en mejillones durante el desarrollo de ovocitos. La vitelogénesis en mejillones usualmente ocurre durante el estadio de gametogénesis (Redding y Patino, 1993). El proceso de vitelogénesis ha sido mejor estudiado en vertebrados; las hormonas gonadotropinas son liberadas de la pituitaria, estimulando la producción de 17β -estradiol en los ovarios (Redding y Patino, 1993). Altos niveles de circulación de 17β -estradiol estimulan al hígado a sintetizar y liberar vtg glicolipofosfoproteína que es precursora del vitelo del huevo. Después de ser liberada por el hígado, la vtg entra al torrente sanguíneo, para luego ser captada por los ovarios donde es internalizada por un receptor de alta afinidad en la superficie de los ovocitos y entra al ovocito por endocitosis. Por último la vtg es enzimáticamente separada dentro del

ovocito para formar las proteínas del vitelo que servirán de alimento durante el desarrollo del embrión. Se ha descubierto que diversos químicos como el clorobenceno y diclorodifenil-tricloroelileno (DDT), liberados al ambiente provocan alteraciones estrogénicas. El hecho de que la síntesis de vtg es regulada principalmente por estrógenos, la hacen un atractivo indicador de acción estrogénica. La vitelogenina como respuesta es dependiente de un número de factores intrínsecos, incluyendo especies, sexo y estado de maduración reproductiva, así como la temperatura del agua, estación, ciclos circadianos, fotoperíodo y composición química del ambiente acuático (Redding y Patino, 1993, Schmitt *et al.*, 2000).

La vtg como biomarcador proporciona información sobre el estado de maduración, valoración de la salud reproductiva y ayuda a determinar si algún compuesto tiene propiedades estrogénicas. Los machos no producen vtg en cantidades que pueden ser medibles, sin embargo presentan receptores de vtg en testículos, músculo y espermatozoides. Se ha establecido que los machos que llegan a producir vtg presentan alteraciones endocrinas o un posible proceso de feminización (Schmitt *et al.*, 2000).

2.6.3.- Apoptosis

La apoptosis se refiere a la muerte celular programada, que resulta en la fragmentación de DNA y puede inducirse por sustancias químicas o radiación (genotoxicidad) (Steinert, 1996). La apoptosis juega un papel importante en procesos como desarrollo y homeostasis de los organismos. Bajo condiciones fisiológicas normales, las células mueren por apoptosis en el embrión durante el desarrollo y morfogénesis, y en adultos durante la remodelación de tejidos y respuestas inmunes; el balance entre proliferación celular, diferenciación y apoptosis, es de gran importancia para el control de la gametogénesis y espermatogénesis (Giampietri *et al.*, 2005). Sin embargo existen muy pocos trabajos sobre apoptosis en sistema reproductivo.

Se han propuesto diferentes hipótesis para determinar las posibles causas de apoptosis y atresia gonadal sin tener claro su significado fisiológico, entre estas

hipótesis está la sobremaduración de los ovocitos por una permanencia excesiva en el folículo, reutilización de los ovocitos no emitidos como fuente de energía para restaurar nuevamente el tejido gonadal, situaciones de estrés por contaminación ambiental, déficit nutricional y/o bajas de temperaturas (Suárez *et al.*, 2004). La atresia es un proceso degenerativo por el cual los folículos ováricos pierden su integridad y son eliminados antes de la ovulación. En mamíferos y posiblemente otros vertebrados, el mecanismo molecular responsable de la atresia folicular ovárica es la apoptosis (Janz *et al.*, 1997).

Apoptosis es caracterizada por un número de fenómenos intracelulares como membranas "blebbing", condensación de la cromatina y fragmentación DNA nuclear. La detección de la fragmentación de DNA nuclear es un método ampliamente aceptado para apoptosis y puede ser realizado *in situ* por incorporación de dUTP-HRP en los fragmentos 3' OH libres de DNA usando la enzima deoxinucleotidil transferasa (TdT). Los fragmentos marcados se visualizan mediante la reacción de la HRP con su sustrato DAB, la cual produce un precipitado café. Este tipo de ensayo con frecuencia se refiere al ensayo TUNEL que permite el monitoreo de muestras de células o tejidos en apoptosis proporcionando la localización histológica de eventos apoptóticos.

En los últimos años se han utilizado diversos métodos para la detección de apoptosis provocada por la exposición a contaminantes. Entre estos métodos se encuentra el ensayo TUNEL, en el cual se utilizan laminillas histológicas y se puede evaluar la fragmentación de DNA por apoptosis *in situ*, es decir, en uno o varios tejidos (Steinert, 1996; Navarrete *et al.*, 2005).

Apoptosis es caracterizada por un número de fenómenos intracelulares como membranas "blebbing", condensación de la cromatina y fragmentación DNA nuclear. La detección de la fragmentación de DNA nuclear es un método ampliamente aceptado para apoptosis y puede ser realizado *in situ* por incorporación de marcaje de nucleótidos sobre los fragmentos libres 3' OH de DNA usando la enzima deoxinucleotidil transferasa (TdT). Este tipo de ensayo con frecuencia se refiere al ensayo TUNEL que permite el monitoreo de

muestras de células o tejidos en apoptosis proporcionando la localización histológica de eventos apoptóticos.

2.6.4- Organismos centinelas

Entre los organismos centinelas más utilizados se encuentran los mejillones ya que por su naturaleza sésil normalmente están disponibles y accesibles para su estudio. Cuando estos organismos se encuentran cerca de la fuente de contaminación, su característica de filtrador permite estudiarlos para relacionarlos con las fuentes de contaminantes. Instituciones internacionales y nacionales bajo el concepto de "Mussel Watch" han utilizado a *Mytilus galloprovincialis* y *Mytilus edulis* como organismos centinelas o bioindicadores de contaminación en ecosistemas acuáticos utilizando parámetros relacionados con diferentes niveles de contaminantes encontrados en los tejidos de estos bivalvos (Goldberg *et al.*, 2000; Soto *et al.*, 2000). El uso de organismos centinelas provee información de la distribución espacial y temporal de los contaminantes, así como y asociación de los efectos en estas especies (Soto *et al.*, 2000).

Una gran diversidad de organismos están expuestos a contaminantes urbanos, industriales y agrícolas que representan un riesgo para la salud, ya que estos contaminantes pueden provocar alteraciones en la estructura y función de los organismos expuestos. Para demostrar la presencia y el grado de exposición a contaminantes en el medio acuático se han determinado las concentraciones de hierro, manganeso y níquel en *Mytilus galloprovincialis* y *Mytilus edulis* (Machado *et al.*, 1999), así como de cadmio, cobre y zinc para predecir y/o evaluar el impacto ambiental por estos tóxicos (Bat *et al.*, 1999). Por otro lado, *Mytilopsis sallei* y *Brachidontes exustus* han sido utilizados como bioindicadores de enriquecimiento de materia orgánica (Llanes y Gonzáles, 2002), mientras que *Mytilus californianus* se empleó para evaluar su utilidad como bioindicador de contaminantes como plata, cadmio y cobre (Gutiérrez-Galindo y Muñoz-Barbosa, 2001) y *Mytella strigata* se ha propuesto como bioindicador para evaluar los niveles de metales en tejidos (Ag, Cr, Co, Ni, Mn, Fe, Cu, Zn, Pb y Cd) (Carvalho *et al.*, 2000; Szefer *et al.*, 1998).

En ambientes dulceacuícolas se ha utilizado ampliamente como organismo centinela al mejillón zebra (*Dreissena polymorfa*) para la valoración de contaminantes orgánicos persistentes ("POPs" por su siglas en inglés), metales pesados y otros compuestos orgánicos, así como la evaluación de bioacumulación de DDT. La concentración de POP en tejidos blandos depende de varios factores como periodo reproductivo, edad, tasa metabólica y variables ambientales como temperatura, condiciones tróficas, meteorología y variaciones hidrológicas (Binelli *et al.*, 2004).

2.7.-Descripción de la especie

Mytella strigata es una especie, dioica, con una proporción de sexos 1:1 (Estévez y Stuardo, 1977). En los esteros de Chautengo y Nuxco, Guerrero, se observo que *Mytella* presenta una época reproductiva relacionada al aumento de temperatura durante los meses de junio, julio y agosto (Estévez y Stuardo, 1977). *M. strigata* habita en sitios con fondo lodoso y someros compuestos de arena, limo y arcilla, formando nidos bisales en ralcos de mangle rojo (*Rizophora mangle*) (Páez-Osuna, 1994).

La distribución de *Mytella strigata* se extiende en el Pacífico desde Guaymas Sonora, México a el Salvador y las Islas Galápagos, y en el Atlántico desde Venezuela a Brasil y Argentina (Keen, 1971). Stuardo *et al.*, (1974) reconocen a esta especie formando bancos abundantes en lagunas costeras de la costa de Guerrero, sobre todo en las de Chautengo y Nuxco.

Los intervalos eurihalinos de resistencia de *Mytella strigata* no son muy diferentes de los de otras especies de la familia Mytilidae, sin embargo, se desconoce con exactitud la influencia de la salinidad y de sus variaciones sobre su comportamiento fisiológico, no sólo en los adultos sino en etapas más importantes de su ciclo vital, como son los estados larvarios. Es posible que las variaciones muy grandes de salinidad, o su descenso a valores bajos por periodos prolongados de tiempo actúen negativamente sobre la reproducción, capacidad de filtración (alimentación) o aspectos diversos de su metabolismo,

aunque no será posible detectarlo sino a través de estudios adecuados y observaciones continuas. No hay observaciones directas de depredación constatadas que no sean las de aves alimentándose de los bancos que quedan expuestos por completo al bajar las mareas o que quedan en aguas muy someras. (Estévez y Stuardo, 1977).

3.- Hipótesis

La condición reproductiva de poblaciones del mejillón de mangle, *Mytella strigata* en Bahía Ensenada del Pabellón, Estero de Urias y Estero de Teacapán, reflejará los niveles de estrés antropogénico prevaletes en cada sistema costero.

4.- Objetivo general

Realizar un análisis comparativo de la condición reproductiva de *Mytella strigata* presente en tres lagunas costeras con diferentes escenarios de estrés antropogénico.

4.1.- Objetivos específicos

4.1.1.- Determinar la condición biológica de *Mytella strigata* en espacio y tiempo por medio de características morfométricas: índice gonadosomático (IGS), índice de glándula digestiva (IGD), porcentaje de humedad (%H) e índice de condición (IC).

4.1.2.- Evaluar el desarrollo gonádico y determinar la proporción de sexos de *Mytella strigata* por medio de histología.

4.1.3.- Determinar si existe apoptosis folicular en ovarios de *Mytella strigata*, y si ésta puede ser indicador de estrés celular.

4.1.4.- Integrar la información de los índices biológicos, desarrollo gonádico, proporción de sexos e índices apoptóticos para evaluar la condición reproductiva.

5.- Materiales y Métodos

5.1.- Muestreo y áreas de estudio

En Sinaloa existen varios sistemas lagunares de los cuales se eligieron tres. Bahía Ensenada del Pabellón, que se encuentra en el centro de Sinaloa; Estero de Urias es el más pequeño y se encuentra en el puerto de Mazatlán y por último Teacapán que se encuentra en el sur de Sinaloa y pertenece al sistema lagunar Teacapán-Agua Brava-Marismas Nacionales. Con el objetivo de conocer los sistemas y establecer dos estaciones en cada sitio de estudio con diferentes distancias a fuentes de contaminantes, se realizaron estudios prospectivos para conocer los sistemas y comprobar que existen poblaciones de *Mytella strigata*. Dichas estaciones se seleccionaron en base a la distancia de las fuentes puntuales de contaminación. En la figura 1 se muestra un diagrama general de la metodología utilizada en este trabajo.

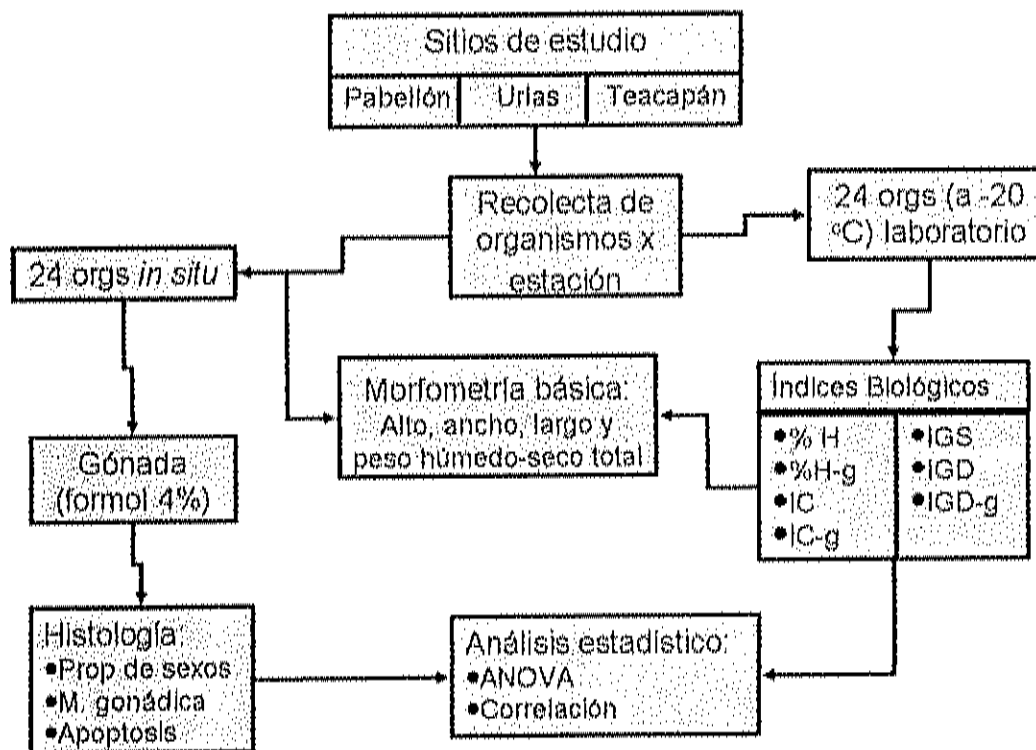
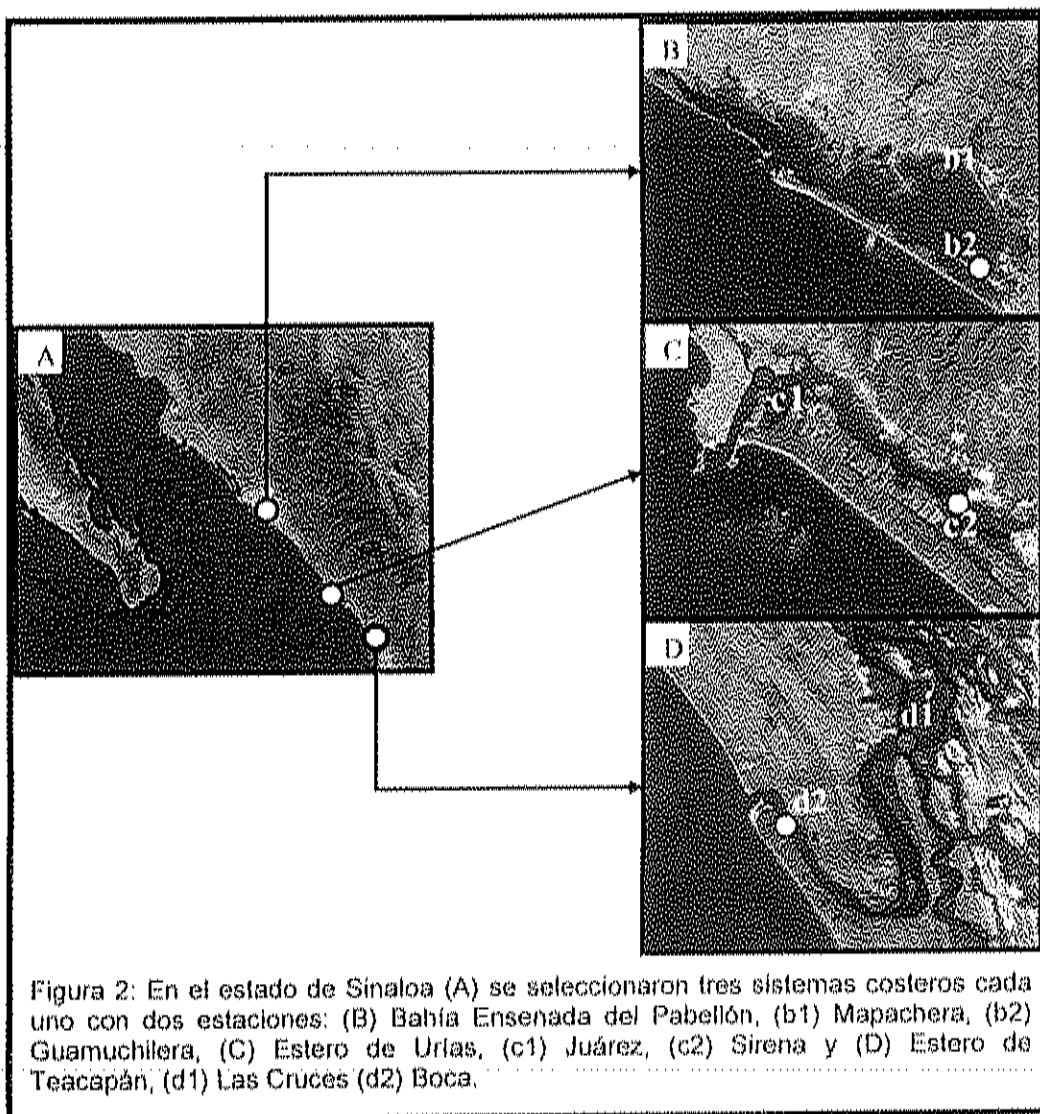


Figura 1. Diagrama de la metodología empleada para evaluar los aspectos reproductivos de *Mytella strigata* en tres sistemas costeros.

En el sitio de estudio Bahía Ensenada del Pabellón se establecieron las estaciones Mapachera (24°30'-08.03" latitud norte y 107°35'-13.67" longitud oeste) y Guamuchilera (24°22'-55.29" latitud norte y 107°30'-55.10" longitud

oeste), en el Estero de Urias se establecieron Juárez (23°12'-43.97" latitud norte y 106°24'-20.29" longitud oeste) y Sirena (23°10'-02.05" latitud norte : 106°20'-20.07" longitud oeste) y en el estero de Teacapán se establecieron Las Cruces (22°34'-18.86" latitud norte y 105°40'-19.06" longitud oeste) y Boca (23°30'-57.61 latitud norte y 105°44'-18.50" longitud oeste), siendo la primera estación de cada sitio aparentemente la más cercana y la segunda la más alejada de las principales fuentes de contaminación (Figura 2). En este trabajo se realizaron cuatro muestreos en los meses julio y octubre en el 2005 y en enero y abril del 2006. Se efectuaron dos muestreos más en junio y julio que no fueron analizados para este trabajo.



Con la finalidad de caracterizar el grado relativo de estrés antropogénico prevaeciente en cada sistema lagunar estudiado, se realizó una recopilación bibliográfica sobre los reportes de contaminantes y se realizó un ejercicio con base a esta información, visitas prospectivas y las opiniones de los participantes en el proyecto de investigación (FOSEMARNAT-CONACYT-2004-01-199), dando como resultado los escenarios comparativos de agentes estresores presentados en la Tabla 1.

Tabla 1: Cuadro comparativo de potenciales agentes estresores presentes en los sistemas costeros: Estero de Teacapán (Cru: Cruces, Boc: Boca), Bahía Ensenada del Pabellón (Map: Mapachera, Gua: Guamuchilera) y Estero de Urias (Jua: Juárez, Sir: Sirena). El comparativo de contaminantes en los tres sistemas está indicado por ⁺, ⁺⁺ y ⁺⁺⁺. Hg – mercurio, Met – metales, Plag – plaguicidas, NyP – nitrógeno y fósforo, Antib – antibióticos, MO – Materia orgánica, NaCl – cloruro de sodio, PAHs – hidrocarburos policíclicos aromáticos, Org dom – materia orgánica domestica, O₂ – oxígeno y PCBs – bifenilos policlorados.

Sistema	Sitio	Estresor	Contaminante
Teacapán	Cru	Minería	(3)Hg ⁺⁺ , (1)Met ⁺⁺
		Agri-Ganad	(1) Plag ⁺⁺⁺ , (2) Met ⁺⁺ , NyP ⁺⁺
		Acuicultura	Antib ⁺ , NyP ⁺ , MO ⁺
		Salinidad	NaCl ⁺⁺⁺
	Boc	Minería	(3) Hg ⁺ , Met ⁺
		Urbano	PAHs ⁺ , Met ⁺ , Org dom ⁺ , MO ⁺ , NyP ⁺
Pabellón	Map	Agri-Ganad	(5) Plag ⁺⁺⁺ , (4) Met ⁺⁺ , (5) NyP ⁺⁺⁺
		Acuicultura	Antib ⁺ , NyP ⁺ , (7) MO ⁺
		Ingenio azucarero	(7) MO ⁺
		Urbano	PAHs ⁺⁺ , (6) Met ⁺⁺ , Org dom ⁺⁺ , (7) MO ⁺⁺ , NyP ⁺
	Gua	Agri-Ganad	(5) Plag ⁺ , (4) Met ⁺ , (5) NyP ⁺
		Acuic	Antib ⁺ , NyP ⁺ , (7) MO ⁺
Urias	Jua	Urbano	PAHs ⁺⁺ , Met ⁺ , (8) Org dom ⁺⁺⁺ , MO ⁺⁺⁺ , Plag ⁺ , NyP ⁺
		Industria (PEMEX-enlatad)	(10) PAHs ⁺⁺⁺ , (9) Met ⁺⁺
		Flotas pesq	PAHs ⁺⁺ , (9) Met ⁺⁺⁺
		DBO	O ₂ ⁺⁺⁺
	Sir	Acui	Antib ⁺ , NyP ⁺ , MO ⁺
		Agri	Plag ⁺ , (9) Met ⁺ , NyP ⁺
		Deposicion	(10) PAHs ⁺⁺ , (9) Met ⁺⁺ , Plag ⁺ , MO ⁺⁺ , (8) Org dom ⁺⁺
		Termo	T ^o C ⁺⁺⁺ , Biocidas ⁺⁺ , (9) Met ⁺⁺ , (10) PAHs ⁺⁺ , PCBs ⁺
		DBO	O ₂ ⁺⁺

(1) Galindo, *et al.*, 1992; (2) Galindo, 2000, Álvarez, *et al.*, 1988, Amescua, *et al.*, 1987; (3) Rodríguez, 2004; (4) Izaguirre *et al.*, 1992; (5) Galindo *et al.*, 1999; Páez-Osuna *et al.*, 1992; (6) Ruiz *et al.*, 2002; (7) Páez-Osuna *et al.*, 1998; (8) Páez-Osuna y Marmolejo-Rivas, 1990; (9) Ruelas-Inzunza y Páez-Osuna, 2000; Páez-Osuna y Marmolejo-Rivas, 1990; (10) Álvarez, 1980.

5.2 - Trabajo de campo

En cada una de las estaciones establecidas para cada sistema (Bahía Ensenada del Pabellón, Estero de Urlas y Estero de Teacapán), se midió el oxígeno disuelto, salinidad y temperatura durante el periodo de estudio (2005-2006).

Con el fin de poder realizar un análisis comparativo de la condición reproductiva de *Mytella strigata* en los tres sistemas costeros elegidos se recolectó un grupo de 24 organismos para histología y técnica TUNEL y otro grupo de 24 organismos para índices biológicos en cada muestreo (con excepción del mes de Julio 2005 donde solamente se muestreo para índice de condición). Los mejillones colectados en Mapachera, Guamuchilera, Sirena, Boca (sólo julio de 2005) y Cruces provinieron de nidos bisales en raíces de mangle, mientras que los mejillones de Juárez y Boca (enero y abril 2006) fueron colectados en los pilotes de un puente y sedimento respectivamente. Durante las colectas se buscó que los mejillones estuvieran en un intervalo de talla de entre los 3 y 5 centímetros de longitud y sólo que se colectaron tallas más pequeñas cuando se presentaron eventos puntuales de mortalidad y/o reclutamiento poblacional.

Al grupo de organismos para histología y técnica TUNEL se les midió en campo la longitud, altura, ancho, peso total y peso de las conchas para determinar el índice de condición biológica, para posteriormente diseccionar la gónada, la cual se fijó en formol al 4% para histología y técnica TUNEL. El grupo de organismos para índices biológicos se transportaron en hielo para congelarse en el laboratorio a -20 °C para su posterior análisis. Estudios paralelos a este trabajo consistieron en obtener muestras de branquias, músculo aductor y glándula digestiva para realizar análisis bioquímicos, mientras que una parte de la glándula digestiva fue destinada a análisis moleculares. En cada muestreo también se colectaron sedimentos y grupos de organismos para la determinación analítica de niveles de metales pesados y contaminantes orgánicos (resultados no mostrados en este trabajo).

5.3.- Trabajo de laboratorio

5.3.1.- Histología

Las muestras de gónada se mantuvieron en formol durante 24 horas, y posteriormente fueron lavadas en agua corriente y sumergidas en alcohol al 70%. Las muestras se procesaron histológicamente según Bell (1984) y Lightner (1992), y se tiñeron con Hematoxilina-Eosina-Floxina (Anexo 1). Para la observación de las láminas se utilizó un microscopio Olympus Optical CD LTD., modelo CH3ORF100 con aumentos de 40X y 100X, para identificar el sexo, evaluar el desarrollo y la maduración gonádica de los organismos.

5.3.2.- Apoptosis

Se utilizó la técnica TUNEL (marcaje mediante terminal deoxinucleotidyl transferase TdT dUTP) (TUNEL=TDT-mediated dUTP nick and labeling) para determinar si existe apoptosis folicular en ovarios de *Mytella strigata*, así como para evaluar la posible existencia de estrés celular.

Para la realización de esta técnica, se eligieron seis hembras por estación de las mismas muestras destinadas para histología, procurando que coincidieran en estadio gonádico. Se obtuvieron cortes de 5 µm de grosor, se montaron en portaobjetos y se desparafinaron y rehidrataron con xilol, alcohol a diferentes concentraciones (100%, 90%, 80%, y 50%), agua destilada y PBS 1X; posteriormente se siguieron las instrucciones del sistema comercial "TREVIGEN, TACS•XL® DAB *In Situ* Apoptosis Detection Kit" (Anexo 2) para la detección *in situ* de apoptosis en cortes de tejidos. Por último, los cortes se lavaron con agua destilada y deshidrataron con alcohol a diferentes concentraciones (50%, 80%, 90% y absoluto) y xilol para finalmente ser montadas en resina sintética. Las muestras fueron observadas en el microscopio con un aumento de 400X, para realizar los conteos e identificación de las células TUNEL-positivas, ovocitos y folículos. En la figura 3 se indica la diferencia entre los folículos, ovocitos y células foliculares en apoptosis.

El índice apoptótico se refiere al número de células TUNEL-positivas o células en apoptosis por 1000 células foliculares: IAC = (# de células TUNEL-positivas

/ 1000 células foliculares) (Tanaka *et al.*, 1999; Losa *et al.*, 2000; Navarrete *et al.*, 2005). Debido a la dificultad para identificar las células foliculares normales (Fig. 3) con la técnica TUNEL, se realizó un conteo de células foliculares en muestras teñidas con hematoxilina-eosina-Floxina, calculando el promedio de células foliculares por folículo de acuerdo al estadio gonádico (Fig. 4 y 5). Posteriormente el índice apoptótico también se calculó mediante el número de células TUNEL-positivas por folículo: IAF = (# de células TUNEL-positivas / # de folículos contados * 100).

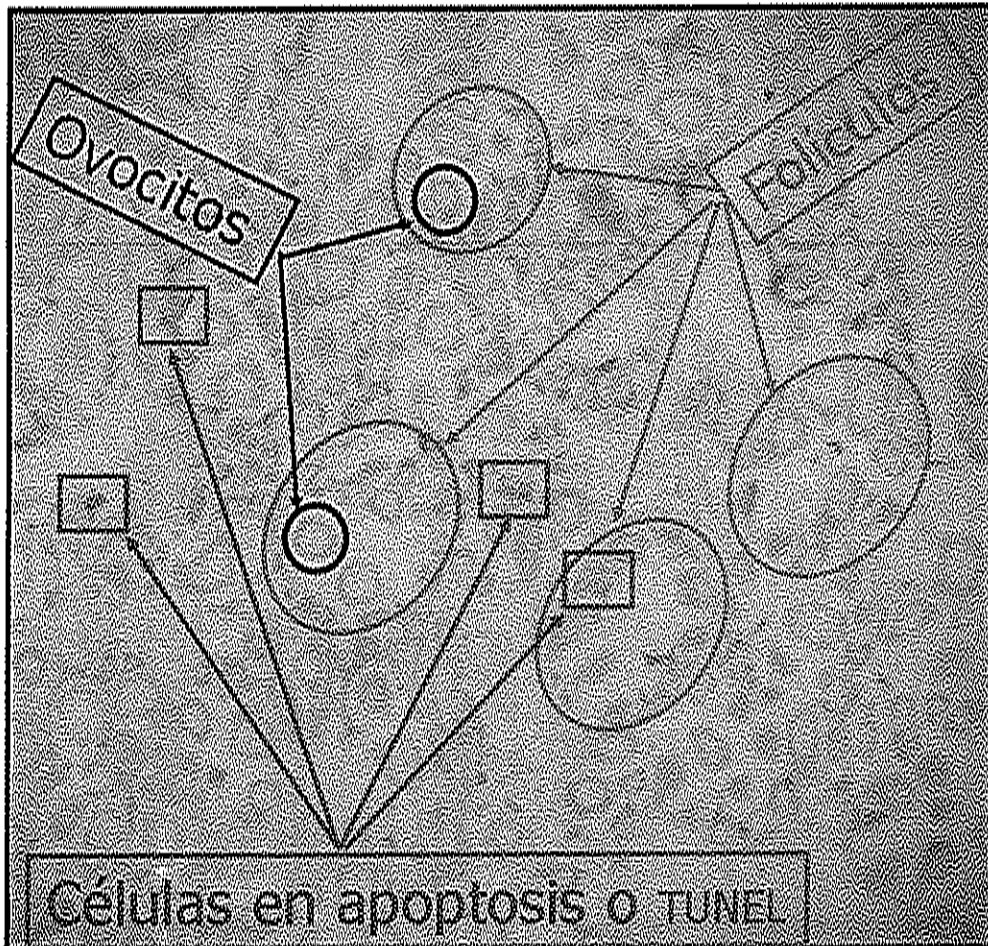


Figura 3: Gónada en desove. Se indican los folículos, ovocitos y células foliculares en apoptosis. Esta fotografía tiene un aumento de 50 X es por ello que las células foliculares en apoptosis no se pueden identificar claramente. En los cuadros que indican las células en apoptosis, la reacción enzimática de la peroxidasa (HRP) con el sustrato (DAB) produce una coloración café. El colorante de contraste utilizado fue el verde de metilo.

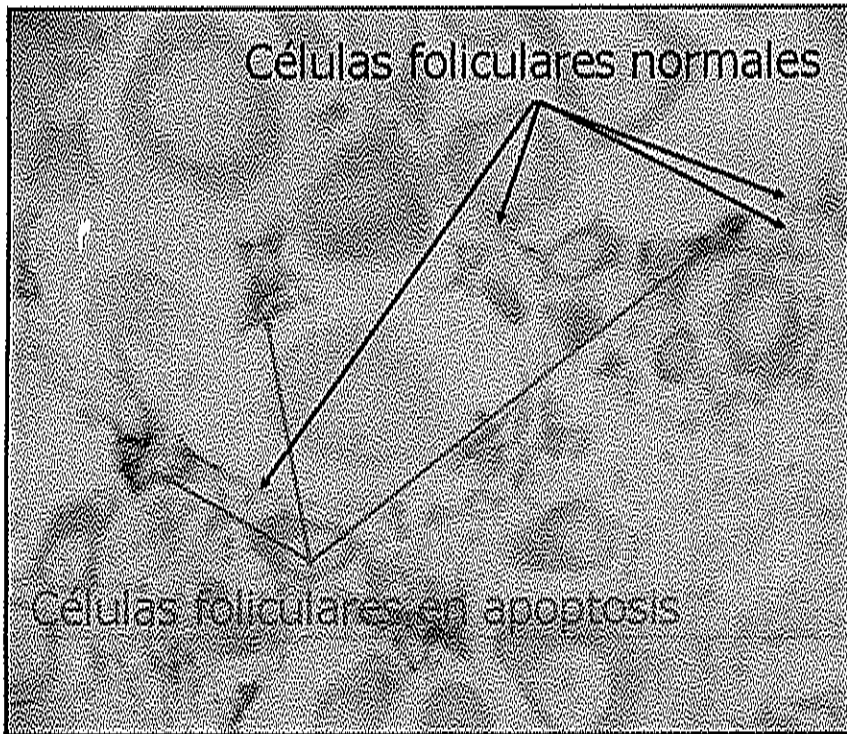


Figura 4: Cuantificación de células foliculares en apoptosis, las células foliculares normales no pueden contarse con precisión debido a que no se tiñen bien con el verde de metilo (400X).

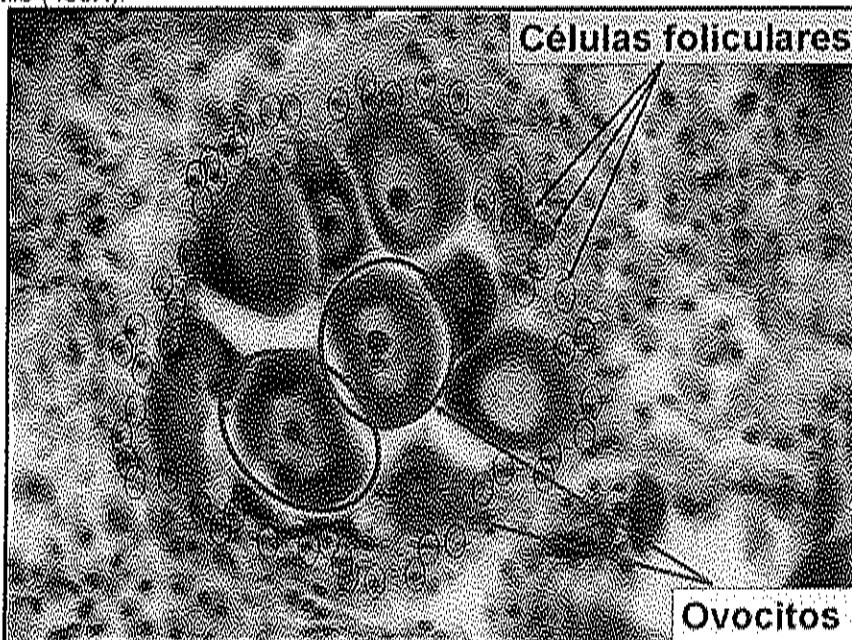


Figura 5: Gónada madura iniciando desove. La fotografía muestra un folículo del cual se cuantificaron las células foliculares; esto se realizó en varios folículos para obtener un número aproximado de células foliculares que componen cada folículo. Tinción con hematoxilina-eosina. (100X).

5.3.3.- Índices biológicos

Para determinar los Índices biológicos, el grupo de 24 organismos congelados se utilizaron para registrar las siguientes medidas morfométricas: longitud, altura, ancho, peso húmedo total, peso húmedo del cuerpo y peso húmedo de valvas (Anexo 3). Posteriormente se disectaron la gónada y la glándula digestiva (Fig. 6) para pesarlas por separado. Las valvas, gónada, glándula digestiva y el resto de tejidos se colocaran por separado en crisoles (previamente secados en un horno a 105° C y pesados sin tejido). Los crisoles con tejido fueron secados a 70° C en un horno por 24 h para determinar el peso seco por diferencia de peso. En la tabla 2 se describen las fórmulas utilizadas para calcular los índices biológicos.

Tabla 2: Fórmulas para determinar índices biológicos, IGS: Índice Gonadosomático, IGD: Índice de Glándula Digestiva, IGD-g: Índice de Glándula Digestiva menos gónada, %H: Porcentaje de Humedad, %H-g: Porcentaje de Humedad menos gónada, IC: Índice de Condición, IC-g: Índice de Condición menos gónada.

Índices	Fórmulas	Definición		Referencias
IGS	$= (P_{sg}/P_{sorg}) \times 100$	P _{sg} : Peso seco de la gónada	P _{sorg} : Peso seco del resto del tejido visceral	Pampanin <i>et al.</i> , 2005
IGD	$= (P_{sgd}/P_{sorg}) \times 100$	P _{sgd} : Peso seco de la glándula digestiva	P _{sorg} : Peso seco del resto del tejido visceral	Cartier <i>et al.</i> , 2004
IGD-g	$= (P_{sgd}/P_{sorg-g}) \times 100$	P _{sgd} : Peso seco de la glándula digestiva	P _{sorg} : Peso seco del resto del tejido visceral menos gónada	
%H	$= ((P_{ht}/P_{st}) \times 100) / P_{ht}$	P _{ht} : Peso húmedo de todo el tejido visceral	P _{st} : Peso seco de todo el tejido visceral	
%H-g	$= ((P_{ht-g}/P_{st-g}) \times 100) / P_{ht-g}$	P _{ht-g} : Peso húmedo de todo el tejido visceral menos gónada	P _{st-g} : Peso seco de todo el tejido visceral menos la gónada	
IC	$= (P_{st}/P_{sv}) \times 100$	P _{st} : Peso seco del tejido visceral	P _{sv} : Peso seco de las valvas	Lundebye <i>et al.</i> , 1997 ; Cartier <i>et al.</i> , 2004)
IC-g	$= (P_{st-g}/P_{sv}) \times 100$	P _{st-g} : Peso seco del tejido visceral menos la gónada	P _{sv} : Peso seco de las valvas.	Acosta <i>et al.</i> , 2006

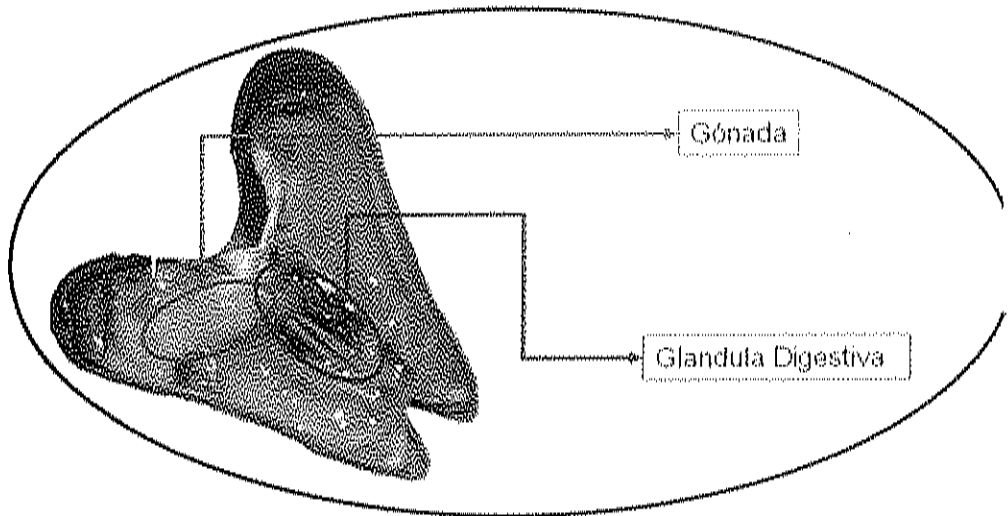


Figura 6: Morfología interna de *Mytella strigata* indicando los órganos que se usaron para el presente estudio

5.4 - Análisis estadísticos

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de homoscedasticidad con la prueba de Kolmogorov-Smirnov para determinar la normalidad de los datos. Posteriormente a los datos de cada uno de los índices biológicos (IGS, IGD, IGD-g, %H, %H-g, IC, IC-g, IAF, IAC, y Longitud) se les aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías con el método de Holm-Sidak ($P \leq 0.05$) para comparar entre estaciones de los sistemas a lo largo del tiempo. Para determinar el grado de correspondencia entre índices biológicos se aplicó el análisis de correlación de Pearson. Los datos de proporción de sexos y proporción de estadios de desarrollo gonádico fueron analizados con las pruebas pareadas de Z, determinando el número de muestra y la proporción por grupo. Los IAF e IAC fueron también comparados mediante una regresión lineal simple para los distintos estadios de maduración gonádica.

6.- Resultados y Discusiones

6.1.- Condiciones ambientales y muestreo

Los parámetros como salinidad, oxígeno disuelto y temperatura presentaron patrones similares en las estaciones a lo largo del periodo de estudio (Fig.7-9). Por ejemplo, el oxígeno disuelto (Fig. 7) durante el mes de julio se presentó en valores intermedios entre 3.7 y 6.8 mg/L. para disminuir en promedio de 2.1 mg/L durante el mes de octubre, e incrementar en enero a los niveles más altos, alcanzando valores entre 6 y 9.5 mg/L (durante el mes de abril el oxígeno disuelto no fue determinado).

En el mes de julio se presentó la mayor diferencia de salinidad, con valores entre 30 y 42 ppm (Guamuchilera y Cruces respectivamente), posiblemente debido a que en este mes se da la transición entre la época de secas y la época de lluvias. El mes de octubre presentó la menor fluctuación entre estaciones. Sin embargo, también en octubre la estación Boca registró el valor mínimo de salinidad en todo el muestreo (19 ppm), lo cual posiblemente indica un evento puntual de precipitación pluvial en dicho sistema. El promedio global de salinidad en todo el estudio fue de 34.7 ppm (Fig. 8).

El promedio general de temperatura fue de 26.3 °C. La tendencia general es que las fluctuaciones de temperatura entre estaciones de muestreo tuvieron un patron similar (Fig. 9), con valores entre 30 y 34 °C en julio, disminuyendo hasta 18 y 25 °C en enero y mostrando un ligero aumento en abril con valores entre 23 y 27 °C. Se puede observar que en general existe un gradiente de temperatura donde Teacapán es el sistema mas caliente (promedio 27.1 °C), seguido de Urias (promedio 26.5 °C) y Pabellón (promedio 25 °C).

Como se describió en metodología, el intervalo de tallas buscado en el presente estudio fue entre 3 y 5 centímetros de longitud (Fig. 10). En general la mayoría de los especímenes recolectados se obtuvieron dentro del intervalo de tallas establecido. Sin embargo, es importante notar que la población de mejillones en Boca desapareció en el mes de octubre, posiblemente asociado a

la baja salinidad registrada en ese mes, lo cual coincide con la alta mortalidad observada de mejillones adultos en la otra estación del sistema Teacapán, denominada Cruces. Kyung (1999) reporta que el cambio de aclimatación gradual o brusco es un factor importante para la tolerancia a la salinidad y los límites salinos críticos. *Mytella* es considerado un mejillón estenohalino, de manera que si sus poblaciones son sometidas a cambios bruscos de salinidad se pueden presentar eventos de mortalidad parcial o total. La salinidad es considerada uno de los factores limitantes más importantes para el crecimiento, reproducción y sobrevivencia de los mejillones. En este estudio la desaparición total de la población por la aparente disminución de salinidad en la estación Boca obligó a cambiar el sitio de muestreo. Posteriormente, el muestreo en enero y abril correspondió a mejillones de tallas pequeñas incrustados en el lecho rocoso en forma de lapete en el malecón del puerto de Teacapán. De esta forma, se observa una recuperación de las tallas tanto para Boca como para Cruces del mes de enero a abril, aunque en general las tallas fueron menores en relación a los recolectados en los otros sistemas (Fig. 10).

La temperatura es uno de los parámetros que más influyen en el periodo reproductivo. Según varios autores, la gametogénesis inicia cuando la temperatura es mayor a 7 u 8° C y existe una sincronía entre el aumento de la temperatura y la producción de gametos, iniciando los primeros desoves en primavera (Hatcher *et al.*, 1997; Bussani, 1990; Cáceres-Martínez y Figueras, 1998). Esto indica que si la temperatura es adecuada y el alimento es abundante y está disponible, el esfuerzo reproductivo puede ser continuo.

En el presente estudio, las diferencias de temperatura entre sitios en el mismo mes se dieron entre 2 y 6° C, principalmente por el gradiente latitudinal descrito anteriormente, pero se mantuvo arriba de los 18° C, por lo cual el esfuerzo reproductivo fue continuo a lo largo del año en todas las estaciones, a diferencia de regiones de climas nórdicos donde sólo ocurre un pico reproductivo (Hatcher *et al.*, 1997).

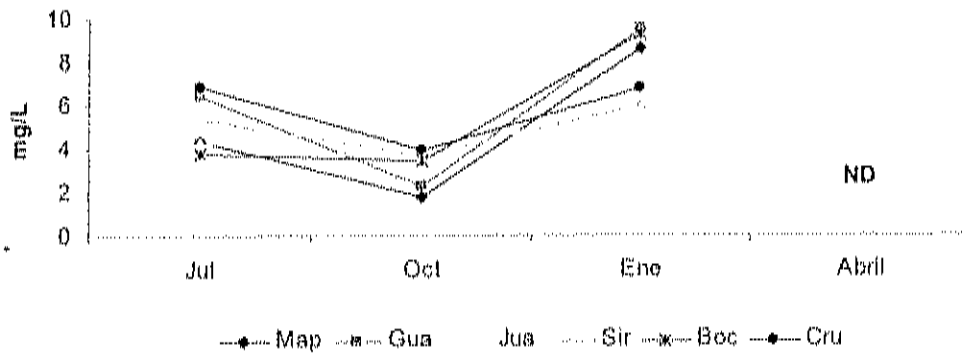


Figura 7: Variación de los valores de oxígeno disuelto durante el período de estudio (2005-2006), en las seis estaciones de muestreo. ND: significa no determinado.

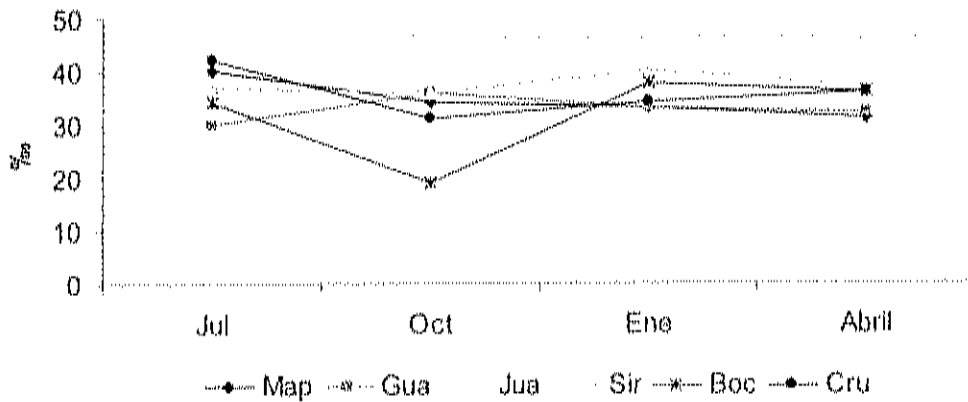


Figura 8: Variación de los valores de salinidad registrados en las seis estaciones de muestreo durante el período de estudio (2005-2006).

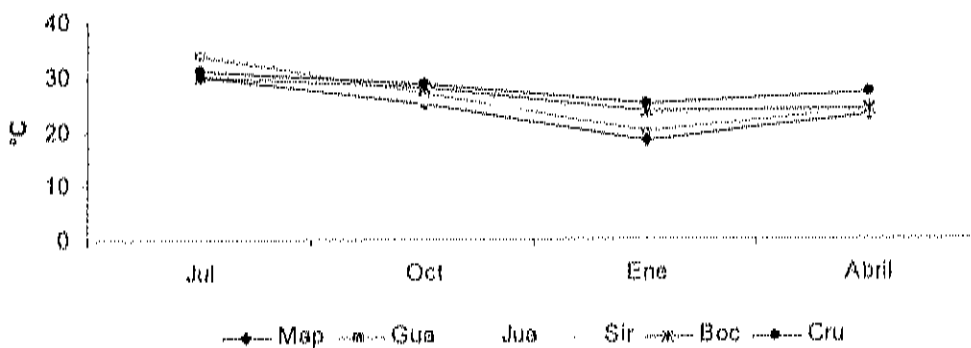


Figura 9: Variación de los valores de temperatura, en las seis estaciones de muestreo durante el período de estudio (2005-2006).

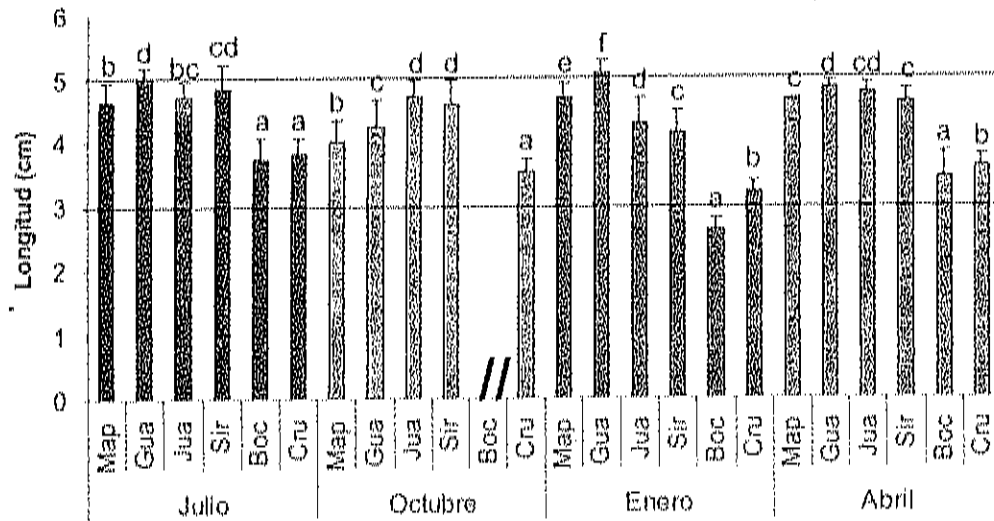


Figura 10: Longitud de mejillones *Mytella strigata*, recolectados en cada una de las estaciones por muestreo. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas entre estaciones para el mismo mes. Ensenada de Pabellón (Map: Mapachera y Gua: Guamuchilera), Urias (Jua: Juárez y Sir: Sirena) y Teacapán (Boc: Boca y Cru: Cruces). //: Ausencia de organismos. Las líneas horizontales representan el intervalo de talla buscado.

6.2 - Índices Biológicos

6.2.1.- Porcentaje de Humedad

El Porcentaje de Humedad (%H) y el Porcentaje de Humedad descartando la gónada (%H-g) en mejillones, puede ser usado para indicar el balance energético del tejido en un animal. Estos porcentajes de humedad mostraron tendencias similares durante todo el muestreo (Fig. 11).

El Porcentaje de Humedad en la estación Mapachera fue menor en los meses de octubre y enero y mayor en julio y abril, este patrón es invertido en las estaciones de Guamuchilera y Cruces donde el %H es menor en julio y abril y es mayor en los meses de octubre y enero, mientras que en las estaciones Juárez, Sirena y Boca no se aprecia una tendencia. El sistema de Pabellón presentó diferencias significativas entre sus estaciones en todos los meses menos en julio. El sistema de Urias presentó diferencias significativas en los meses de octubre, enero y abril. El sistema Teacapán presentó diferencias significativas en los meses de julio, enero y abril. El menor %H se registró en la estación Boca en el mes de enero, y el mayor %H de todo el muestreo se

presentó en el mes de octubre en la estación Cruces. En general el %H más alto se presentó en el sistema Teacapán con un promedio de 85.4% (Boc:83.88%; Cru:86.96%), seguido por Urias con un promedio de 84.2% (Jua:84.82%; Sir:83.51%) y Pabellón con un promedio de 83.8% (Map:83%.41; Gua:84.14%). Descartando la gónada la tendencia de %H-g cambia, siendo mayor Urias con un promedio de 81.91% (Jua:82.71%; Sir:81.10%), seguido por Pabellón con un promedio de 81.79% (Map:81.41%; Gua:82.17%) y Teacapán con un promedio de 80.89% (Boc:77.04%; Cru:84.73%) (Fig. 11).

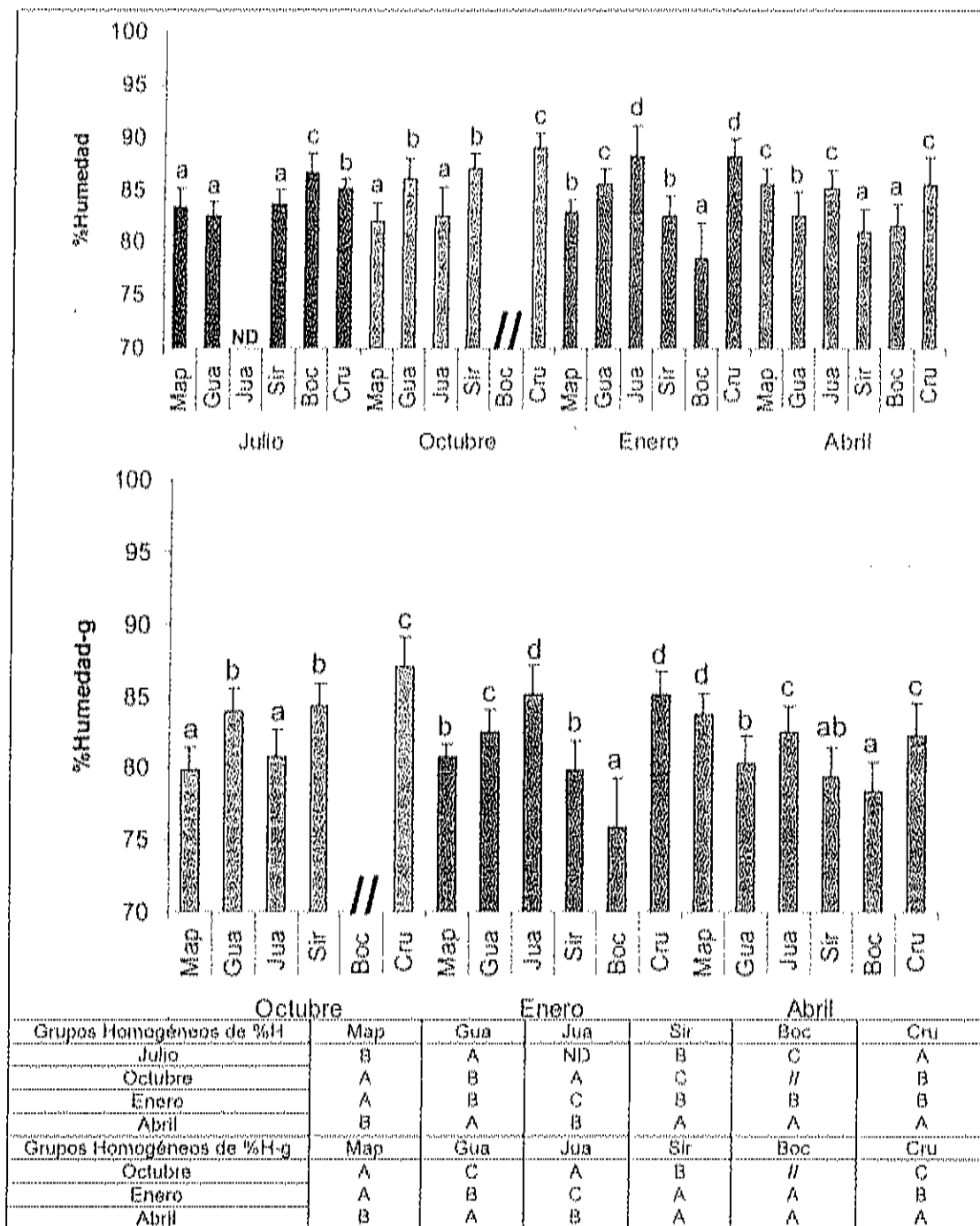


Figura 11: Porcentaje de Humedad (%H) y Porcentaje de Humedad excluyendo la gónada (%H-g) de *Mytella strigata* presente en cada una de las estaciones de muestreo. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas entre estaciones para el mismo mes. Letras mayúsculas diferentes en grupos homogéneos representan diferencias significativas en los meses para la misma estación. Enseñada de Pabellón (Map: Mapachera y Gua; Guamuchilera), Urias (Jua: Juárez y Sir; Sirena) y Teacapán (Boc: Boca y Cru; Cruces), //: Ausencia de organismos, ND: no determinado.

6.2.2.- Índices de Condición

El Índice de Condición (IC) y el Índice de Condición excluyendo la gónada, también llamado Índice de Condición corporal (IC-g) presentan un patrón semejante a lo largo del estudio (Fig. 12). Ambos índices (IC y IC-g) reflejan ecofisiológicamente el estado de salud de los mejillones y permiten conocer como responden los organismos a los cambios ambientales.

En el análisis del IC entre estaciones del mismo sistema, Urias y Teacapán presentaron diferencias significativas entre estaciones en todos los meses de muestreo. Pabellón no presentó diferencias significativas (ANOVA $P \leq 0.05$) en el mes de julio pero sí en el resto de los meses. La estación Boca en el mes de julio fue la que presentó menor IC con respecto al resto de las estaciones, sin embargo esta misma estación presentó el mayor IC en los meses de enero y abril, siendo la estación con mayor IC del estudio. El IC en la estación Cruces se mantuvo constante en los meses de julio, octubre y enero pero en abril aumentó.

El sistema Pabellón fue el que presentó mayor IC con un promedio de 13.14 (Map:14.26; Gua:12.03), seguido de Urias con un promedio de 12.00 (Jua:11.85; Sir:12.15) y Teacapán con un promedio de 11.60 (Boc:14.06; Cru:9.14). Esta tendencia de promedios cambia en el IC-g siendo mayor Teacapán con un promedio de 11.92 (Boc:15.27; Cru:8.58) seguido de pabellón con un promedio de 11.14 (Map:12.21; Gua:9.92) y Urias con un promedio de 10.18 (Jua:9.64; Sir:10.72), solo que esta tendencia no puede ser completamente comparable ya que el IC-g no se determinó en el mes de julio (Fig. 12).

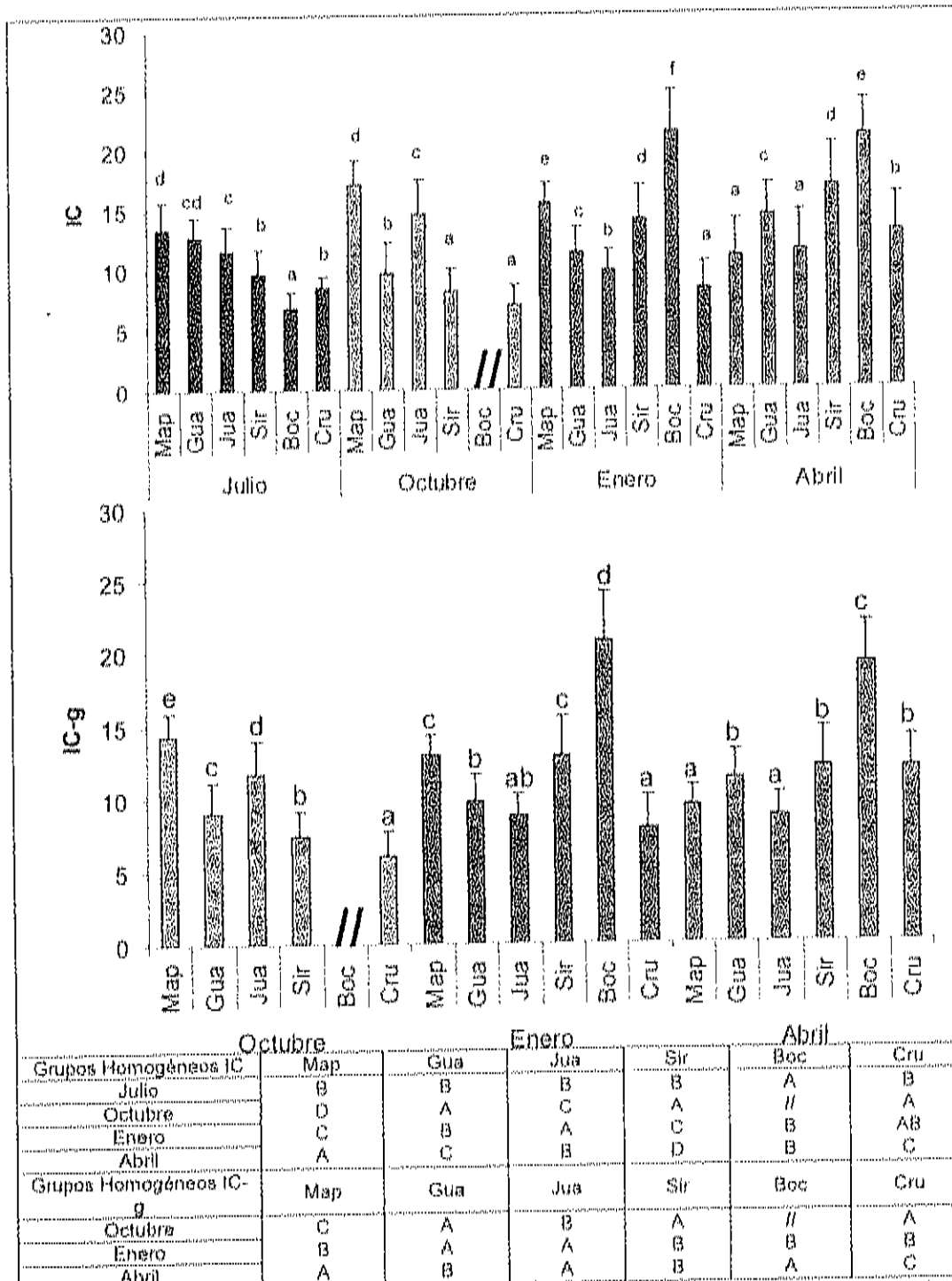


Figura 12: Índice de Condición (IC) e Índice de Condición corporal (IC-g) de *Mytella strigata* presente en cada una de las estaciones por muestreo. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas (ANOVA $P \leq 0.05$) entre estaciones para el mismo mes. Letras mayúsculas diferentes en grupos homogéneos representan diferencias significativas (ANOVA $P \leq 0.05$) en los meses para la misma estación. Ensenada de Pabellón (Map: Mapachera y Gua: Guamuchilera), Urias (Jua: Juárez y Sir: Sirena) y Teacapán (Boc: Boca y Cru: Cruces). //: Ausencia de organismos.

6.2.3.- Índices de Glándula Digestiva

El Índice de Glándula Digestiva (IGD) y el Índice de Glándula Digestiva excluyendo la gónada (IGD-g) reflejan los cambios estacionales de las reservas energéticas almacenadas a través del tiempo, aunque tal vez la glándula digestiva no sea el principal órgano de almacenamiento de energía. Ambos índices (IGD y IGD-g) presentan general tendencias muy similares a lo largo del estudio (Fig. 13). El IGD en la estación Mapachera se mantuvo constante en los tres muestreos (octubre, enero y abril). Guamuchilera, Juárez y Sirena se mantuvieron constantes en octubre y enero, pero aumentaron en abril. En Cruces ocurre lo contrario, siendo menor el IGD en octubre y manteniéndose sin cambio significativo en los dos últimos meses de muestreo, enero y abril. El sistema Pabellón sólo registró diferencias significativas entre Mapachera y Guamuchilera en el mes de octubre, mientras el sistema de Urlas presentó diferencias significativas entre estaciones en los meses de octubre y abril. Teacapán presentó diferencias significativas en los meses de enero y abril entre Boca y Cruces. El sistema Teacapán presentó los mayores valores de IGD con un promedio de 19.99 (Boc:19.97; Cru:20.01), seguido por Urlas con un promedio de 14.38 (Jua:14.71; Sir:14.10) y Pabellón con un promedio de 14.22 (Map:13.41; Gua:15.04).

Al excluir la gónada, el IGD-g resaltan aquellas estaciones que presentaron un mayor esfuerzo reproductivo, como se puede observar en las estaciones de Urlas, donde Juárez en octubre y Sirena en abril alcanzan valores mayores en relación a las estaciones de Pabellón, aunque las estaciones de Teacapán siguieron presentando los mayores valores de IGD-g con un promedio de 24.16 (Boc:26.70; Cru:21.64), seguido por Urlas con un promedio de 21.76 (Jua: 22.31; Sir:21.21) y Pabellón con un promedio de 20.40 (Map:19.21; Gua:21.60) (Fig. 13).

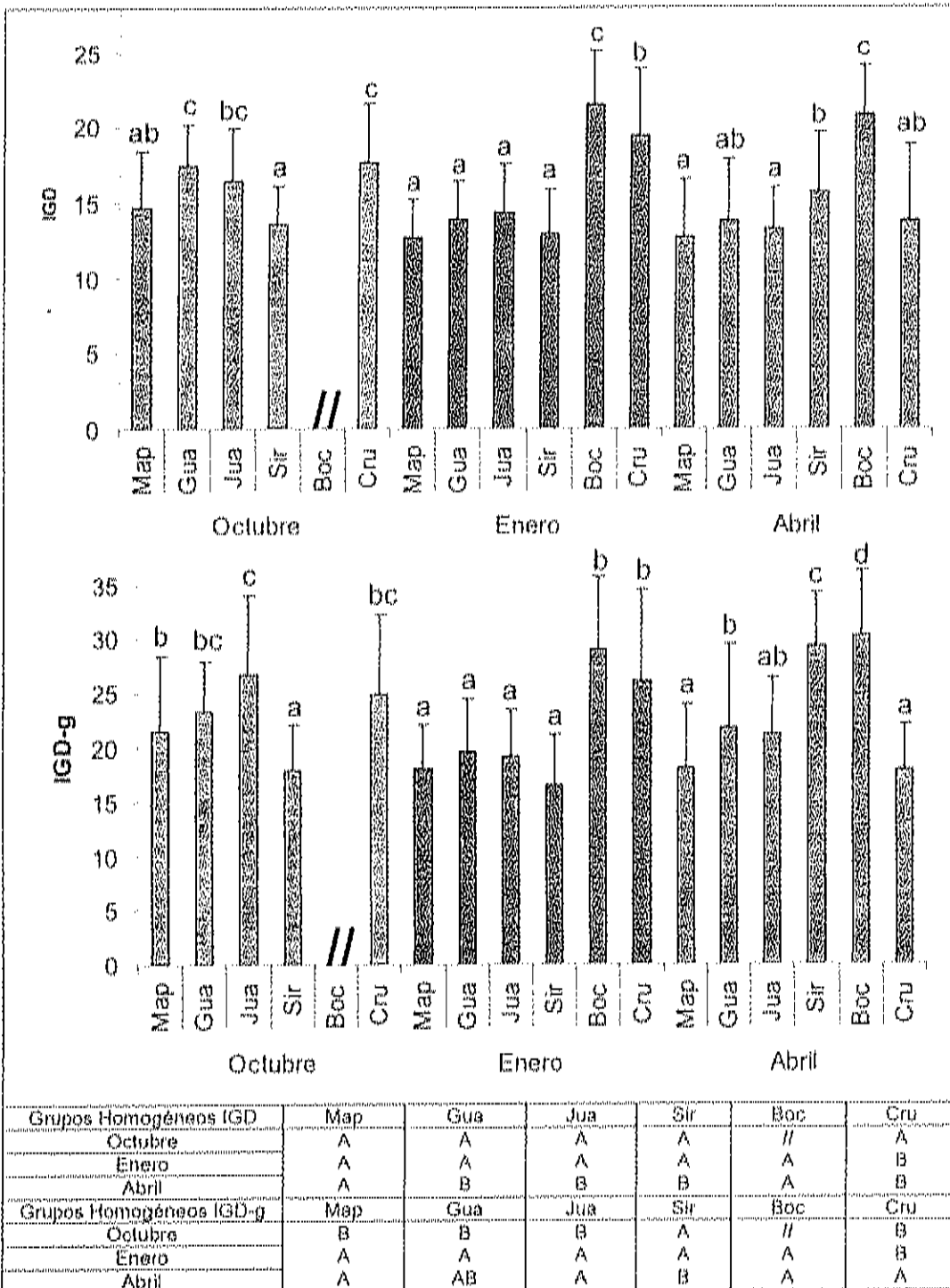


Figura 13: Índice de Glándula Digestiva (IGD) e Índice de Glándula Digestiva excluyendo la gónada (IGD-g) de *Mytella strigata* presente en cada una de las estaciones por muestreo. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas (ANOVA $P \leq 0.05$) entre estaciones para el mismo mes. Letras mayúsculas diferentes en grupos homogéneos representan diferencias significativas (ANOVA $P \leq 0.05$) en los meses para la misma estación. Ensenada de Pabollón (Map: Mapachera y Gua: Guamuchilera), Urfas (Jua: Juárez y Sir: Sirena) y Teacapán (Boc: Boca y Cru: Cruces). //: Ausencia de organismos.

6.2.4.- Índice Gonadosomático

El Índice Gonadosomático (IGS) refleja la condición reproductiva de los organismos. El IGS índice registró variaciones significativas temporal y espacialmente (Fig. 14). En la estación Mapachera, el IGS se mantuvo constante durante todos los meses, aunque en la estación Guamuchilera fue diferente en los tres muestreos, mostrando una tendencia significativa a aumentar en el tiempo. Las estaciones Juárez y Cruces siguieron el mismo patrón siendo mayor en octubre, disminuyendo en enero y de nuevo aumentando en abril. Sirena se mantiene constante en los meses de octubre y enero, pero aumentó en abril. Los mejillones de Pabellón y Urias presentaron diferencias significativas entre estaciones en los meses octubre y abril, mientras en Teacapán no presentaron diferencias significativas entre estaciones en ningún mes. Sirena registró en el mes de abril el mayor IGS de todo el estudio, pero en promedio general Juárez es la estación con mayor IGS.

Los menores valores de IGS se presentaron en el sistema Teacapán con un promedio de 7.73 (Boc:7.71; Cru:7.76), seguido de Pabellón con un promedio de 14.91 (Map:15.35; Gua:14.48) y Urias con el promedio de 16.47 mas alto (Jua:17.60; Sir:15.34). En general durante en el mes se abril se mostró el mayor IGS en todas las estaciones lo cual podría indicar el pico reproductivo para la especie en esta zona del litoral Pacífico (Fig. 14).

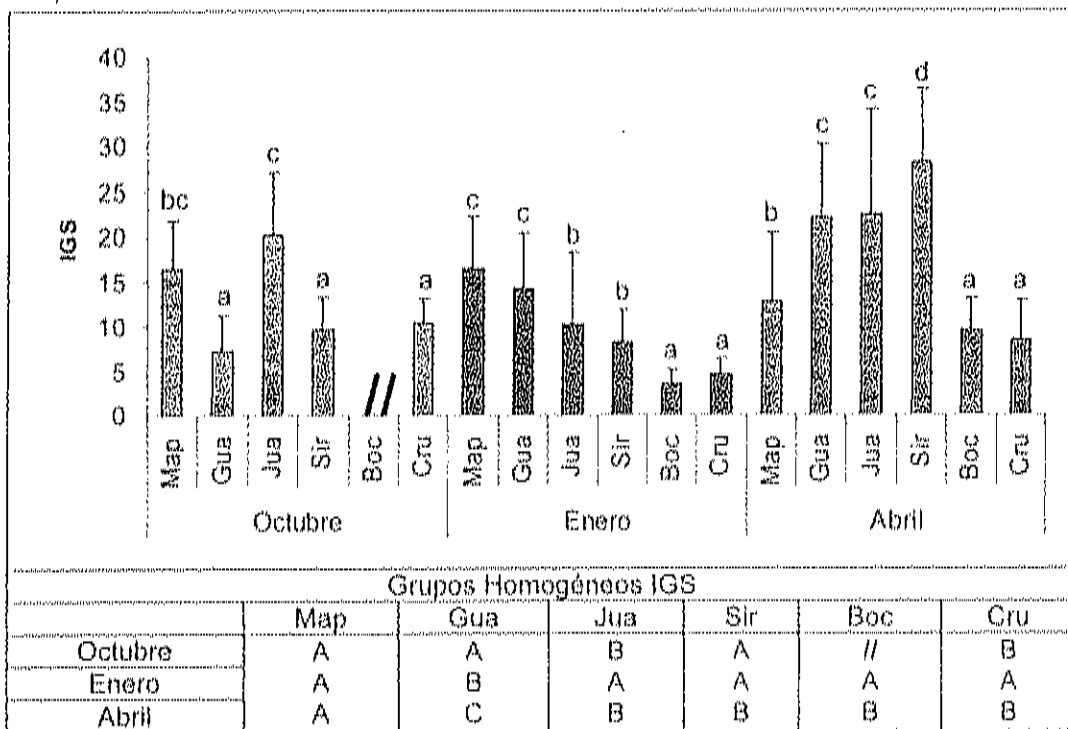


Figura 14: Índice Gonadosomático (IGS) de *Mytella strigata* presente en cada una de las estaciones por muestreo. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas entre estaciones para el mismo mes. Letras mayúsculas diferentes en grupos homogéneos representan diferencias significativas en los meses para la misma estación. Ensenada de Pabellón (Map: Mapachera y Gua: Guamuchilera), Urias (Jua: Juárez y Sir: Sirena) y Teacapan (Boc: Boca y Cru: Cruces). //: Ausencia de organismos.

6.2.5.- Relaciones entre Índices

Los resultados de correlación de Pearson se muestran en la Tabla 3. El punto de referencia para las comparaciones entre los Índices fue el IGS dado que este índice es el que refleja primordialmente la condición reproductiva de los mejillones. La longitud registró una correlación positiva moderada con el IGS en la estación Boca (R:0.54), lo cual se explica por el crecimiento observado en organismos colectados de enero a abril (aproximadamente 1 cm de incremento de longitud). El resto de las estaciones no presentaron correspondencias significativas entre longitud e IGS (Fig. 15 y Tabla 3).

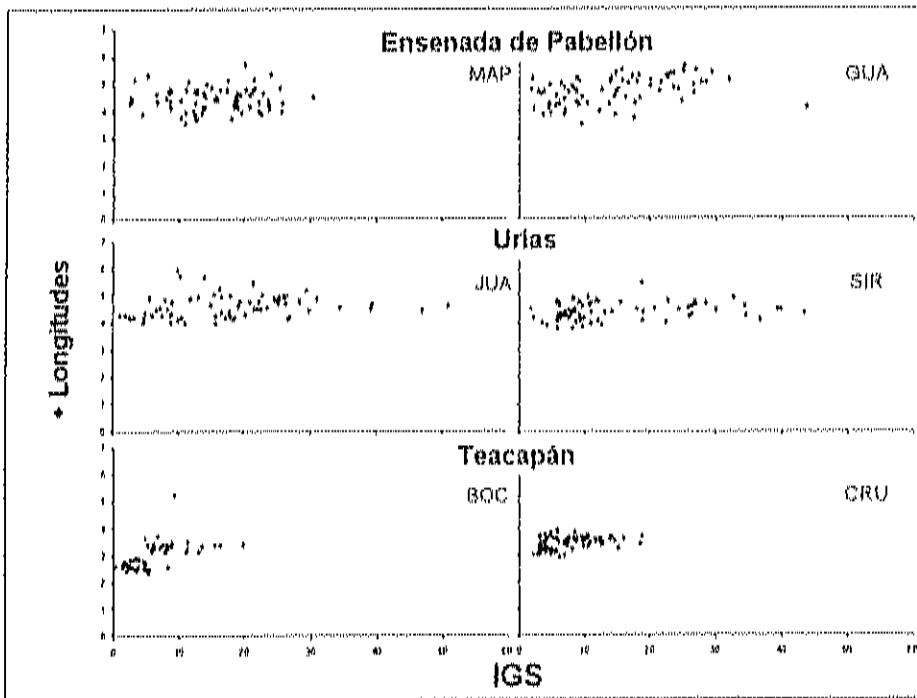


Figura 15: Correspondencia global entre la longitud (cm) de valvas de *Mytella* con el Índice Gonadosomático (IGS) en todas las estaciones de muestreo. Ensenada de Pabellón (Map: Mapachera y Gua: Guamuchilera), Urias (Jua: Juárez y Sir: Strena) y Teacapán (Boc: Boca y Cru: Cruces).

Tabla 3: Correlación de Pearson entre índices biológicos en las estaciones de muestreo indicando valores de R y P. Números en negrita indican correspondencias significativas ($P \leq 0.05$). Valores de n entre 68 y 70, con excepción de Boca donde fue de 48.

Mapachera (Pabellón)							
	IGS	IGD	%H	Longitud cm	IC-g	IGD-g	%H-g
IC	0.525 0.00000308	0.136 0.26	-7.00E-01 4.18E-16	-0.342 0.00372	9.46E-01 6.46E-35	0.268 0.0243	-0.823 2.15E-18
IGS	-	-0.12 0.321	-0.306 0.01	0.0423 0.728	0.232 0.0532	0.168 0.165	-0.29 0.015
IGD	-	-	-0.365 0.00189	-0.0906 0.456	0.217 0.0711	9.48E-01 1.45E-35	-0.346 0.0033
%H	-	-	-	0.289 0.0152	-7.98E-01 1.27E-16	-0.433 0.000182	0.073 3.84E-45
Longitud cm	-	-	-	-	-0.404 0.000519	-0.079 0.516	0.309 0.00833
IC-g	-	-	-	-	-	0.259 0.0306	-0.84 1.92E-20
IGD-g	-	-	-	-	-	-	-0.409 0.000441
Guamuchilera (Pabellón)							
	IGS	IGD	%H	Longitud cm	IC-g	IGD-g	%H-g
IC	0.676 1.38E-10	-0.261 0.0293	-7.71E-01 6.22E-15	0.112 0.355	8.92E-01 3.38E-25	0.0748 0.539	-0.785 9.19E-16
IGS	-	-0.488 0.0000183	-0.588 8.44E-08	0.391 0.000811	0.295 0.0131	0.00753 0.951	-0.546 9.02E-07
IGD	-	-	0.209 0.0832	-0.47 0.0000397	-0.0535 0.66	8.63E-01 6.97E-22	0.255 0.0335
%H	-	-	-	-0.107 0.38	-8.40E-01 2.53E-09	-0.0775 0.523	0.803 5.14E-24
Longitud cm	-	-	-	-	-0.0365 0.764	-0.304 0.0106	-0.216 0.0727
IC-g	-	-	-	-	-	0.0908 0.455	-0.725 1.24E-12
IGD-g	-	-	-	-	-	-	0.00438 0.971
Jubrez (Urías)							
	IGS	IGD	%H	Longitud cm	IC-g	IGD-g	%H-g
IC	0.816 2.20E-08	0.0967 0.433	-0.691 6.96E-11	0.0328 0.791	0.863 3.30E-21	0.449 0.000124	-0.723 3.20E-12
IGS	-	-0.261 0.0313	-0.522 0.00000509	0.193 0.114	0.153 0.213	0.315 0.00884	-0.55 0.00000118
IGD	-	-	-0.0568 0.645	0.0169 0.891	0.275 0.0231	0.82 1.23E-17	-0.0301 0.807
%H	-	-	-	-0.335 0.00524	-0.564 6.34E-07	-0.346 0.00385	0.735 9.87E-13
Longitud cm	-	-	-	-	-0.064 0.604	0.1 0.417	-0.222 0.069
IC-g	-	-	-	-	-	0.353 0.00312	-0.589 0.00000013
IGD-g	-	-	-	-	-	-	-0.335 0.00523
Sirena (Urías)							
	IGS	IGD	%H	Longitud cm	IC-g	IGD-g	%H-g
IC	0.513 0.00000666	0.0492 0.688	-0.823 3.81E-18	-0.268 0.032	0.908 4.67E-27	0.336 0.0048	-0.812 2.63E-17
IGS	-	0.0511 0.677	-0.459 0.0000732	0.184 0.129	0.119 0.329	0.579 1.82E-07	-0.33 0.00569
IGD	-	-	-0.146 0.232	0.228 0.0591	0.0335 0.785	0.827 2.03E-18	-0.0835 0.495
%H	-	-	-	0.19	-0.754	-0.361	0.955

Análisis de la condición reproductiva del mejillón de manglar, *Mytella striata*, en sistemas costeros de Sinaloa con diferentes escenarios de contaminación.
Leal-Tarín, B.A. (2007)

	-	-	-	0.117	7.27E-14	0.0023	3.13E-37
Longitud cm	-	-	-	-	-0.395	0.274	0.278
	-	-	-	-	0.000786	0.0227	0.0209
IC-g	-	-	-	-	-	0.112	-0.803
	-	-	-	-	-	0.369	1.01E-16
IGD-g	-	-	-	-	-	-	-0.258
	-	-	-	-	-	-	0.0323
Boca (Teacapán)							
	IGS	IGD	%H	Longitud cm	IC-g	IGD-g	%H-g
IC	-0.0426 0.774	0.0916 0.536	-0.49 0.000409	0.0683 0.645	0.96 4.12E-27	0.0741 0.617	-0.519 0.000155
IGS	-	-0.153 0.3	0.496 0.000337	0.542 0.0000704	-0.316 0.0284	0.121 0.411	0.47 0.000746
IGD	-	-	-0.303 0.00727	-0.215 0.142	0.133 0.367	0.961 3.10E-27	-0.379 0.00791
%H	-	-	-	0.436 0.00195	-0.611 0.00000399	-0.237 0.105	0.938 7.63E-23
Longitud cm	-	-	-	-	-0.0883 0.551	-0.0676 0.646	0.336 0.0196
IC-g	-	-	-	-	-	0.0403 0.786	-0.632 0.00000148
IGD-g	-	-	-	-	-	-	-0.237 0.104
Cruces (Teacapán)							
	IGS	IGD	%H	Longitud cm	IC-g	IGD-g	%H-g
IC	0.192 0.117	-0.2 0.102	-0.848 7.83E-20	0.166 0.176	0.99 1.03E-57	-0.164 0.18	-0.817 2.13E-17
IGS	-	-0.0862 0.485	-0.184 0.132	0.328 0.00632	0.0626 0.612	0.0659 0.503	-0.1 0.415
IGD	-	-	0.135 0.271	-0.308 0.0106	-0.193 0.115	0.982 1.02E-49	0.207 0.0905
%H	-	-	-	-0.127 0.3	-0.844 1.66E-19	0.1 0.416	0.892 2.11E-24
Longitud cm	-	-	-	-	0.139 0.259	-0.239 0.0501	-0.064 0.604
IC-g	-	-	-	-	-	-0.176 0.151	-0.823 7.28E-18
IGD-g	-	-	-	-	-	-	0.182 0.138

El %H y el %H-g presentaron una correlación moderada significativa negativa con el IGS en las estaciones de Guamuchilera (R:-0.59 y -0.55 para %H y %H-g respectivamente) y Juárez (R:-0.52 y -0.55 para %H y %H-g respectivamente), registrándose ligeras correlaciones significativas en Mapachera (R:-0.31 y -0.29 para %H y %H-g respectivamente) y en Sirena (R:-0.46 y -0.33 para %H y %H-g respectivamente), mientras que en Boca se presentó una correlación moderada positiva (R:0.49 y 0.47 para %H y %H-g

respectivamente). La única estación que no presentó correlación significativa fue Cruces (R:0.16 y -0.1 para %H y %H-g respectivamente) (Fig. 16 y Tabla 3).

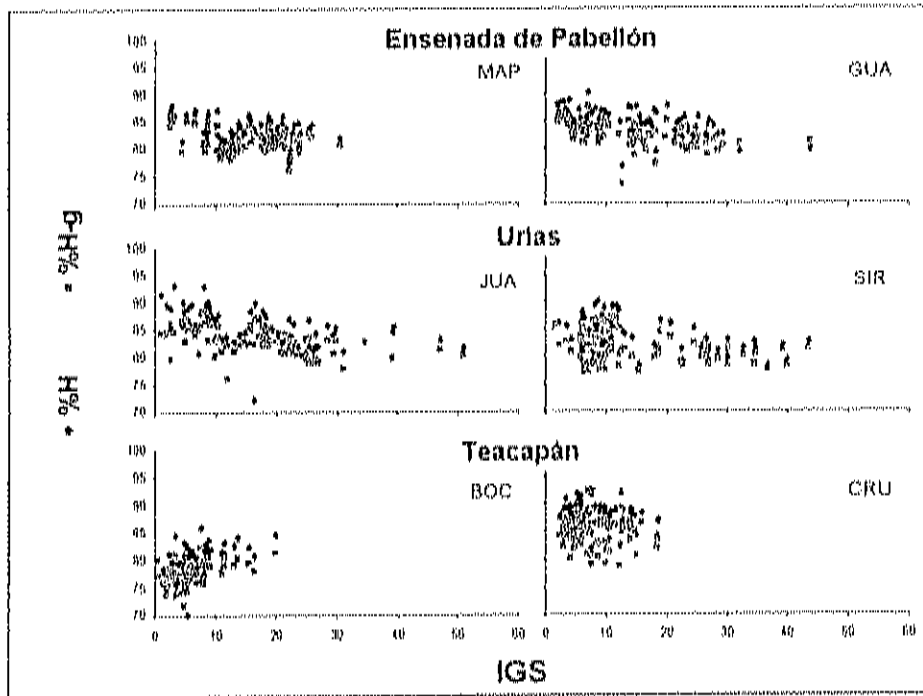


Figura 16: Correspondencia global entre el Porcentaje de Humedad (%H) y el Porcentaje de Humedad excluyendo la gónada (%H-g) con el Índice Gonadosomático (IGS) en todas las estaciones de muestreo, Ensenada de Pabellón (Map: Mapachera y Gua: Guamuchilera), Urias (Jua: Juárez y Sir: Sirena) y Teacapán (Boc: Boca y Cru: Cruces).

El IGS presentó una correlación moderada significativa negativa con el IGD en la estación Guamuchilera (R:-0.49), pero no con el IGD-g (R:0.008). En cambio, la correlación entre el IGD-g y el IGS fue moderada significativa positiva en la estación Sirena (R:0.58) pero no en IGD (R:0.05). En la estación Juárez se presentó una correlación ligera significativa, positiva para IGD-g y negativa para IGD (R:-0.26 y 0.32 respectivamente). El resto de las estaciones no presentaron correspondencia significativa entre el IGD y el IGS (Fig. 17 y Tabla 3).

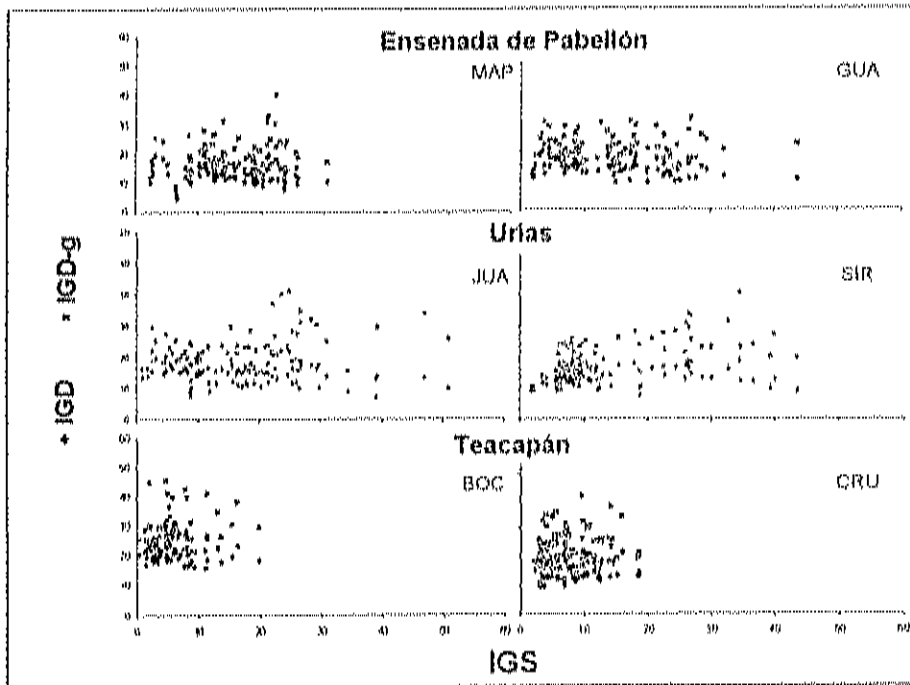


Figura 17: Correspondencia global entre el Índice de Glándula Digestiva (IGD) y el Índice de Glándula Digestiva excluyendo la gónada (IGD-g) con el Índice de Gonadosomático (IGS) en todas las estaciones, Ensenada de Pabellón (Map: Mapachera y Gua: Guamuchilera), Urias (Jua: Juárez y Sir: Sirena) y Teacapán (Boc: Boca y Cru: Cruces).

El IGS y el IC presentan correlaciones positivas significativas en las estaciones de Pabellón ($R:0.52$ y 0.67 para Mapachera y Guamuchilera respectivamente) y Urias ($R:0.61$ y $R:0.51$ para Juárez y Sirena respectivamente), mientras que en las estaciones de Teacapán estos índices no mostraron correspondencia ($R:-0.04$; $R:0.19$ para Boca y Cruces respectivamente). Sin embargo, al excluir la gónada en el IC-g, esta correspondencia con el IGS no se da en ninguna de las estaciones. Esto es posiblemente debido a que tanto el IC como el IGD y %H presentan una marcada influencia por el peso de la gónada (Fig. 16, 17 y 18). Esto indica que la presencia de la gónada puede tener una influencia determinante en la estimación de los índices biológicos en mejillones calculados de manera convencional, por lo cual, es recomendable utilizar los índices excluyendo la gónada si se pretende realizar un análisis comparativo de dichos índices con la menor interferencia de las variaciones estacionales del esfuerzo reproductivo.

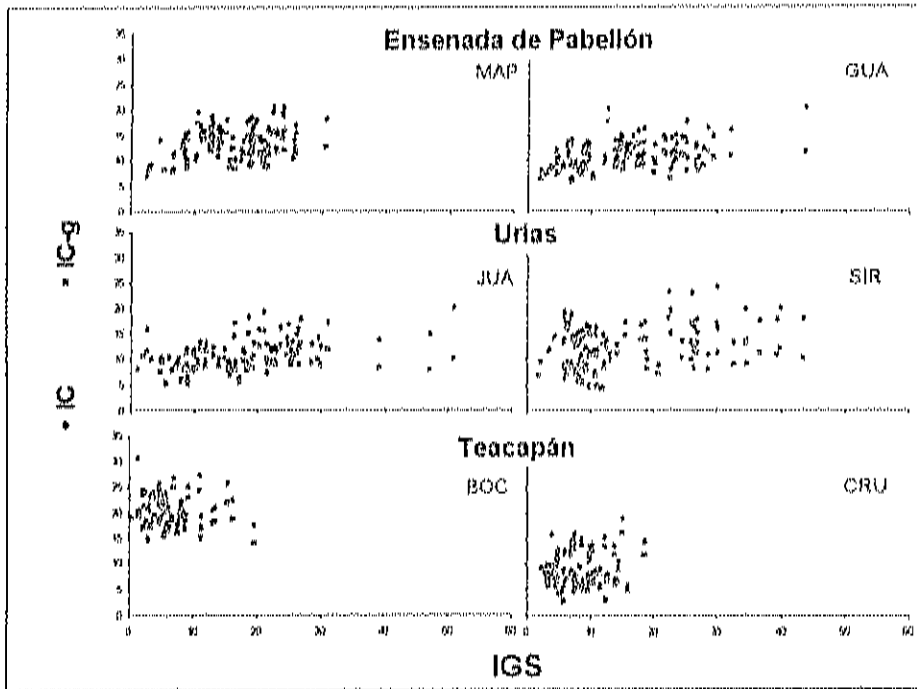


Figura 18: Correspondencia global entre el Índice de Condición (IC) y el Índice de Condición corporal (IC-g) con el Índice Gonadosomático (IGS) en todas las estaciones de muestreo. Ensenada de Pabellón (Map: Mapachera y Gua: Guamuchilera), Urtas (Jua: Juárez y Sir: Sirena) y Teacapán (Boc: Boca y Cru: Cruces).

El IC ha sido asociado extrínsecamente con la disponibilidad de alimento y temperatura e intrínsecamente a la reproducción, ciclos de utilización y almacenamiento de reservas metabólicas (Acosta *et al.*, 2006). En este sentido, las poblaciones de mejillones en el sistema Pabellón reflejan un esfuerzo reproductivo moderado, presentando un almacenamiento de energía que no se le puede atribuir al crecimiento debido a que son los mejillones más grandes recolectados. Esto posiblemente indique que se trata de una población adulta, por lo tanto esta energía no es dirigida al crecimiento, si no más bien a la competencia por el espacio y alimento y/o sobrevivencia de los organismos.

En el sistema de Urtas el esfuerzo reproductivo es mayor ya que el escenario es diferente presentando estrés por contaminantes antropogénicos, pero con una alta disponibilidad y abundancia de alimento, permitiendo acumulación de reservas energéticas, lo cual posiblemente permite un crecimiento acelerado con alto esfuerzo reproductivo, aunque posiblemente con un costo de viabilidad de descendencia debido a agentes tóxicos en el sistema.

En Teacapán las evidencias indican que las poblaciones de mejillones podrían estar dirigiendo sus reservas energéticas al crecimiento, debido a que son mejillones de tallas pequeñas. Sin embargo, aunque estos mejillones tienen la capacidad de reproducirse, el esfuerzo reproductivo puede no ser comparativo con mejillones de tallas mayores. Se considera que los mejillones alcanzan la talla de la primera madurez a los 2 mm de longitud, pero esto varía según la especie, edad, tasa de crecimiento y la influencia de los factores ambientales (Seed, 1969; Kautsky, 1982).

Se sabe que la glándula digestiva es el órgano de almacenamiento de reservas metabólicas usadas durante periodos de estrés, el cual puede ser ocasionado por cambios en temperatura y escasez de alimento. Cuando hay estrés y poco alimento, el índice de la glándula digestiva disminuye, con consecuencias sobre la gametogénesis que esta asociada con el almacenamiento de energía en bivalvos (ciclo de lípidos y carbohidratos). Cuando ocurre el desove, el IGD aumenta y, si hay abundancia de alimento, los mejillones podrían acumular reservas durante el postdesove permitiendo suficiente alimento para las larvas (Cartier *et al.*, 2004).

6.3.- Descripción de estadios gonádicos

Con base a las observaciones histológicas, se caracterizaron los estadios gonádicos de hembras y machos de *Mytella strigata*. Se identificaron 5 estadios para hembra y 4 estadios para machos. Iniciando con indiferenciados, en machos se pueden diferenciar estadios de espermatogénesis, maduración, eyaculación y posteyaculación. En hembras se pueden diferenciar los estadios de gametogénesis la cual se divide en dos fases, gametogénesis I o inicial y gametogénesis II o avanzada, maduración, desove y postdesove. Las descripciones se enlistan a continuación:

Indiferenciado (Fig. 19):

Se caracteriza por la ausencia de células sexuales, el tejido conectivo es abundante y uniformemente distribuido. En esta fase las gónadas están en un

periodo de recuperación lo que se refleja en un adelgazamiento general del organismo, especialmente de las paredes del manto.

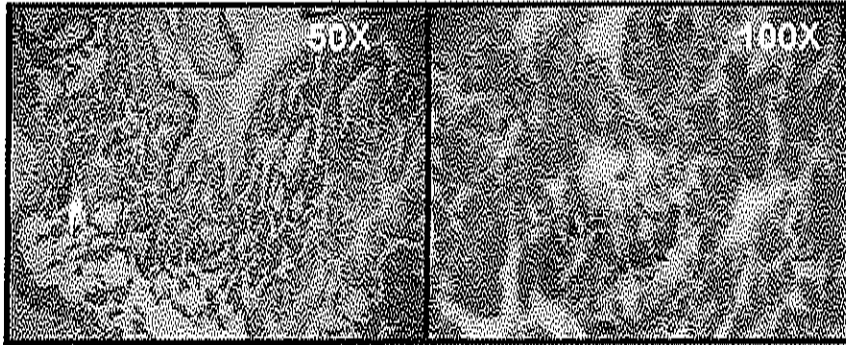


Figura 19: Fotomicrografías de un organismo indiferenciado de *Mytella strigata*. Hematoxilina - Eosina (50 y 100X).

Macho: Espermatogénesis (Fig. 20a):

Epitelio germinal está en gran actividad, las células espermatogénicas proliferan en la luz de los túbulos y se observa tejido conectivo entre los túbulos.

Hembra: Gametogénesis 1 o temprana (Fig. 21a):

Se encuentra definida por la gran actividad gametogénica y del epitelio germinal, con la formación de abundantes células sexuales dispuestas uniformemente en la luz de los folículos.

Hembra: Gametogénesis 2 o avanzada (Fig. 21b):

En esta fase el tejido conectivo ha disminuido, se observan tanto células germinales como ovocitos maduros y los folículos comienzan a compactarse.

Macho - Hembra: Maduración (Fig. 20b y 21c respectivamente):

El desarrollo de las células sexuales ha llegado a su plenitud. Los óvulos y espermatozoides respectivamente se distribuyen uniformemente en los folículos/túbulos, los cuales han aumentado su diámetro y se muestran totalmente distendidos, por lo que las paredes de los gonoductos se hallan en estrecho contacto y en algunos casos se fusionan. La invasión del mesosoma es total cubriendo toda la porción visceral del organismo y el tejido conectivo inter-folicular o inter-tubular ha sido desplazado casi en su totalidad.

Macho: Eyacuación - Hembra: Desove (Fig. 20c y 21d respectivamente):

Esta fase corresponde a la expulsión de las células sexuales. Las paredes de los folículos/túbulos se rompen, hay grandes espacios dejados por los productos expulsados.

Macho: Post-eyacuación – Hembra: Post-desove (Fig. 20d y Fig. 21e respectivamente):

Se inicia cuando los ejemplares han dejado de expulsar productos sexuales. Manto y mesosoma son semitransparentes, en los cuales se pueden encontrar generalmente restos aislados de óvulos o espermatozoides según sea el caso.

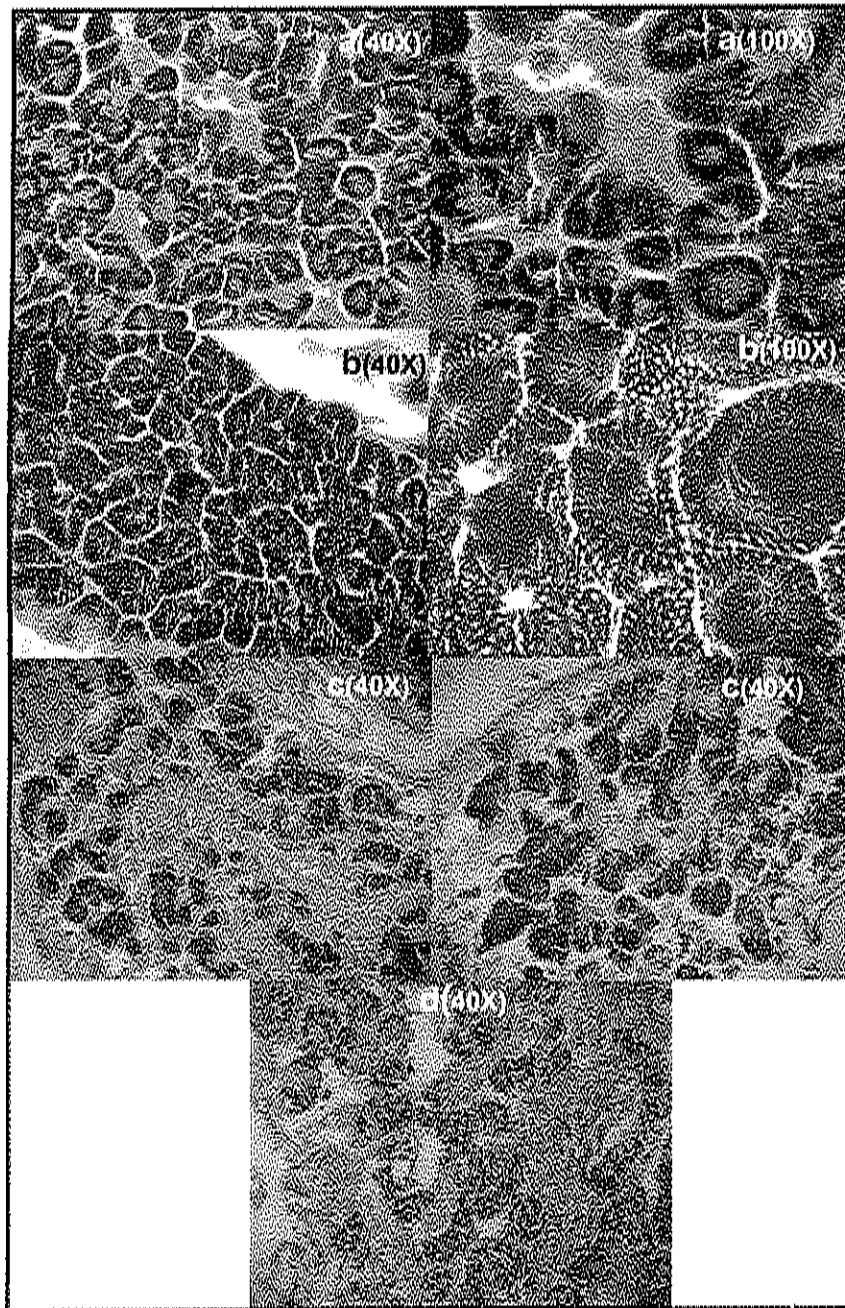


Figura 20: Fotografías de estadios gonádicos de macho de *Mytella strigata*. a) Espermatogénesis (40 y 100X); b) Maduro (40 y 100X); c) Eyaculado (40X); d) Posteyaculado (40X). Hematoxilina - Eosina.

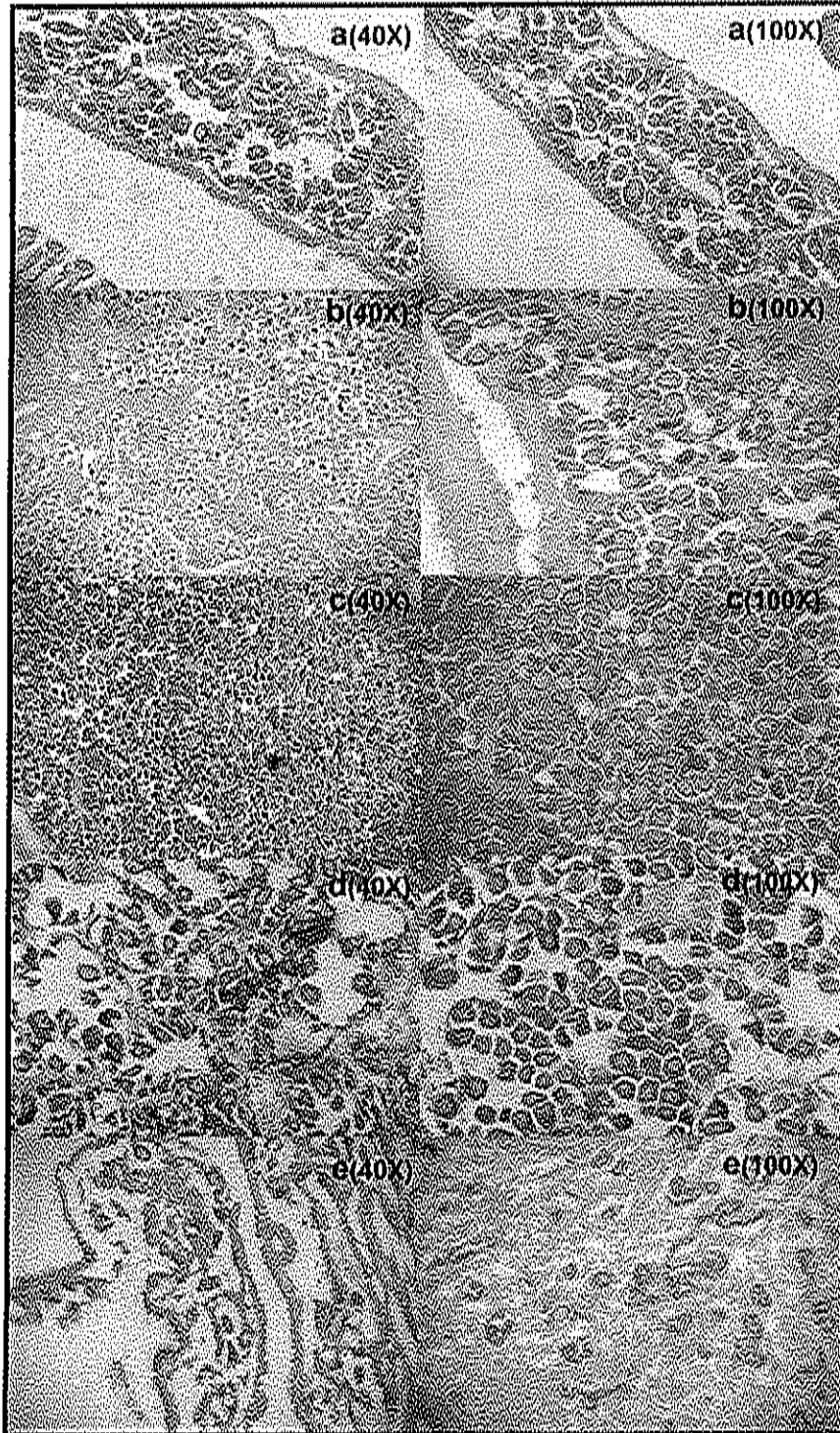


Figura 21: Fotografías de estadios gonádicos de hembra de *Mytella strigata*. a) Gametogénesis inicial (40 y 100X); b) Gametogénesis avanzada (40 y 100X); c) Madura (40 y 100X); d) Desove (40 y 100X); e) Postdesove (40 y 100X). Hematoxilina – Eosina.

6.4.- Proporción de sexos

La proporción global de sexos acumulado en las poblaciones de mejillones de todos los muestreos durante el presente estudio fue de aproximadamente 1.08:1 hembras:machos (H:M). En general se considera que las poblaciones de mejillones presentan una proporción de sexos de 1:1 H:M y existe poco hermafroditismo (Bussani, 1990). De hecho para *Mytella strigata* se tiene reportada misma proporción 1:1 H:M en el estado de Guerrero (Estévez y Stuardo, 1977). Esta proporción equitativa entre machos y hembras se utilizó como referencia para calcular posibles desviaciones significativas en las poblaciones de mejillones estudiadas. En la estación Mapachera se observaron diferencias significativas en julio, predominando los machos, y en enero predominando las hembras. En la estación Sirena se encontraron diferencias significativas en octubre y en Boca en el mes de julio, predominando las hembras en ambas estaciones. En las estaciones Guamuchilera, Juárez y Cruces no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los meses (Fig. 22). En el análisis acumulado de proporción de sexos en todo el muestreo se encontraron diferencias significativas en las estaciones de Sirena con una proporción 1.5:1 H:M y Boca con una proporción de 1.9:1 H:M, predominando las hembras en ambas estaciones (Fig. 23).

En las estaciones de Mapachera, Guamuchilera, Juárez y Cruces la dominancia de hembras en algunos meses y machos en otros, no indican una tendencia consistente y definitiva hacia alguno de los sexos. Sin embargo en Sirena y Boca la dominancia de hembras es consistente en todos los muestreos, (Fig. 22) reflejándose en una tendencia global significativa (Fig. 23) aunque en Boca es difícil precisar si el cambio en el sitio de muestreo en enero pudo haber influenciado el resultado.

Si la proporción de sexos de una población es alterada, su desempeño reproductivo puede ser afectado a tal grado que la población puede disminuir y estar en riesgo de desaparecer. El incremento de las hembras en una población puede ser una respuesta a la susceptibilidad a estrógenos descargados por efluentes municipales (Blaise *et al.*, 2003), o bien la proporción de sexos puede ser afectada por contaminantes como el tributil-

estaño (TBT), que es un biocida utilizado ampliamente como estabilizador de pinturas y plásticos. TBT es considerado como un agente altamente tóxico y se ha demostrado que causa alteraciones en el crecimiento, desarrollo, reproducción y sobrevivencia de muchos organismos marinos. El TBT puede producir anomalías en la reproducción y esterilización, así como causar imposex, el cual es un fenómeno caracterizado por el desarrollo de órganos sexuales masculinos (pene y ductos espermáticos) en hembras de caracoles (Hagger *et al.*, 2005; Gagne *et al.*, 2003). En el sistema de Urias, principalmente en la estación Sirena, es probable encontrar biocidas de distintas fuentes, entre las cuales se pueden citar la termoelectrónica, y los residuos de pinturas emitidos por astilleros y por las propias flotas pesqueras. Dichos contaminantes y otros más generados en el sistema Urias pueden incidir pasiva o directamente en la estación a través del proceso de deposición, ya que esta estación se encuentra localizada al interior del sistema estuarino. Dichos contaminantes pueden estar influyendo en la proporción de sexos, evidenciada por la consistente predominancia de hembras en los muestreos en la estación Sirena.

En la estación Boca la proporción de sexos obtenida (1.9:1 H:M) posiblemente es afectada por las variaciones ambientales, además del cambio de lugar de muestreo en la misma estación, obteniendo proporción de sexos de dos poblaciones diferentes en una misma estación.

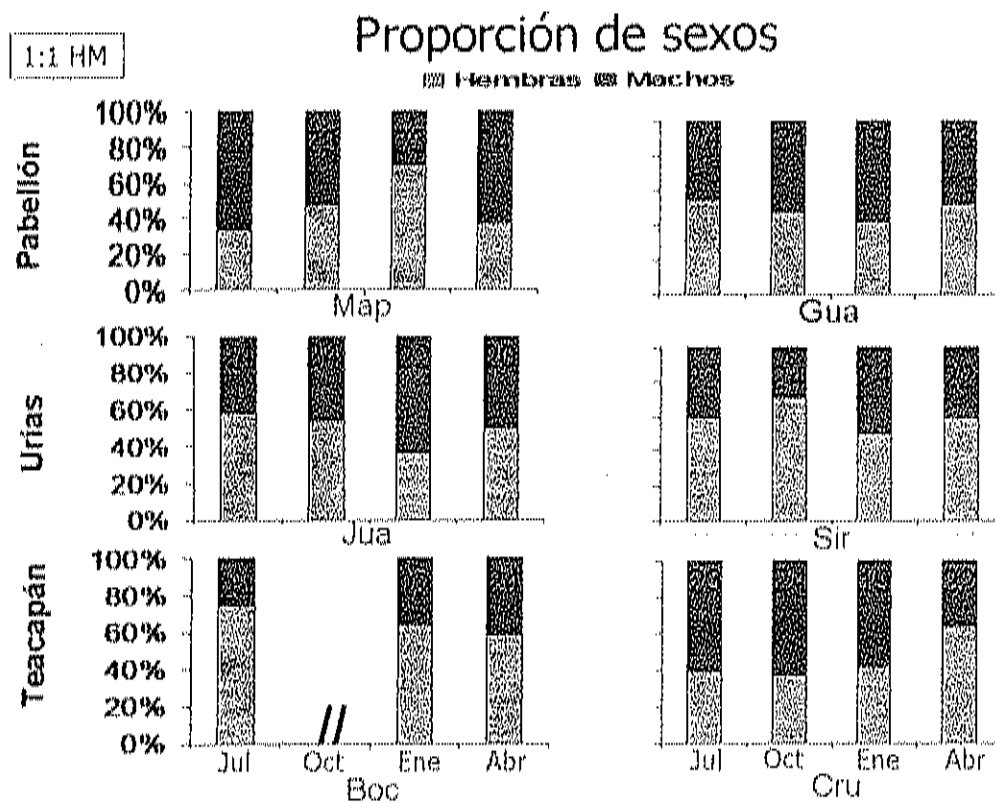


Figura 22: Proporción de sexos en *Mytella strigata* por cada una de las estaciones durante el periodo de estudio. Números sobre las barras representan el "n" analizado. * diferencias significativas respecto a la proporción 1:1 H:M. //: Ausencia de organismos.

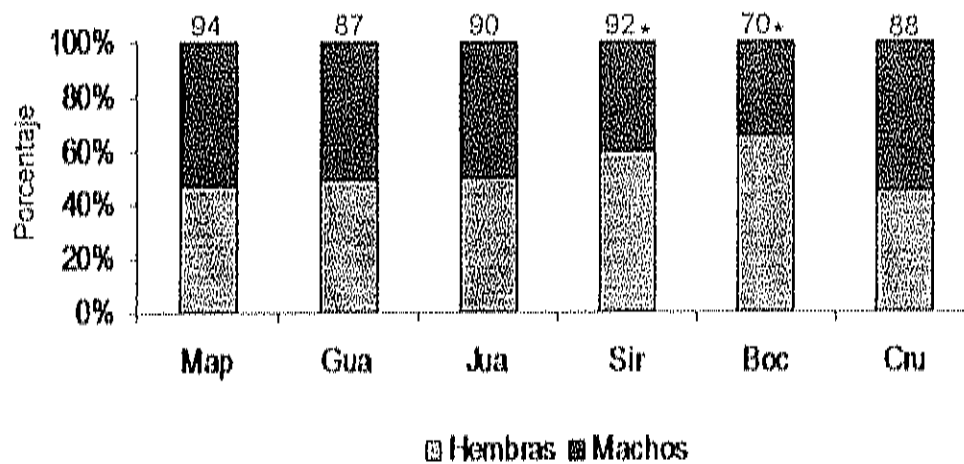


Figura 23: Proporción de sexos global (acumulado) en *Mytella strigata* en las diferentes estaciones de muestreo durante el periodo de estudio. Los números sobre las barras representan el "n" analizado. * diferencias significativas respecto a la proporción 1:1 H:M.

6.5.- Desarrollo Gonádico

La caracterización del desarrollo gonádico de *Mytella strigata* durante los meses muestreados se presenta en la Fig. 24 para hembras y en la Fig. 25 para machos. De estos resultados se puede apreciar que *Mytella strigata* está en constante reproducción, lo cual hace difícil identificar un pico reproductivo. En el análisis acumulado de los meses por estación en hembras (Fig. 26) se observa que en el sistema de Urias, principalmente en la estación Juárez, (población con predominancia de hembras) dominada primordialmente por los estadios de maduración y desove, (espermatogénesis y maduro para machos) que indican que los organismos están en reproducción constante (Fig. 27).

En las comparaciones de estaciones por proporciones en cada uno de los estadios gonádicos, los machos presentaron ligeramente mayor número de diferencias significativas en las estaciones de Mapachera con 9 diferencias significativas, Juárez con 6 diferencias y Cruces con 7 diferencias significativas, siendo Pabellón el sistema con mayor número de diferencias respecto al resto de los sistemas (Tabla 4). Por otro lado, en hembras la estación Juárez se registraron 12 diferencias significativas respecto al resto de las estaciones, siendo por lo tanto Urias el sistema un considerable mayor número de diferencias respecto a los otros sistemas (17), siguiendo Teacapán con 11 diferencias significativas y Pabellón con 6 diferencias. La estación Juárez, tanto en hembras como en machos, es la estación donde se obtuvo el mayor número de diferencias de todo el muestreo (Tabla 5).

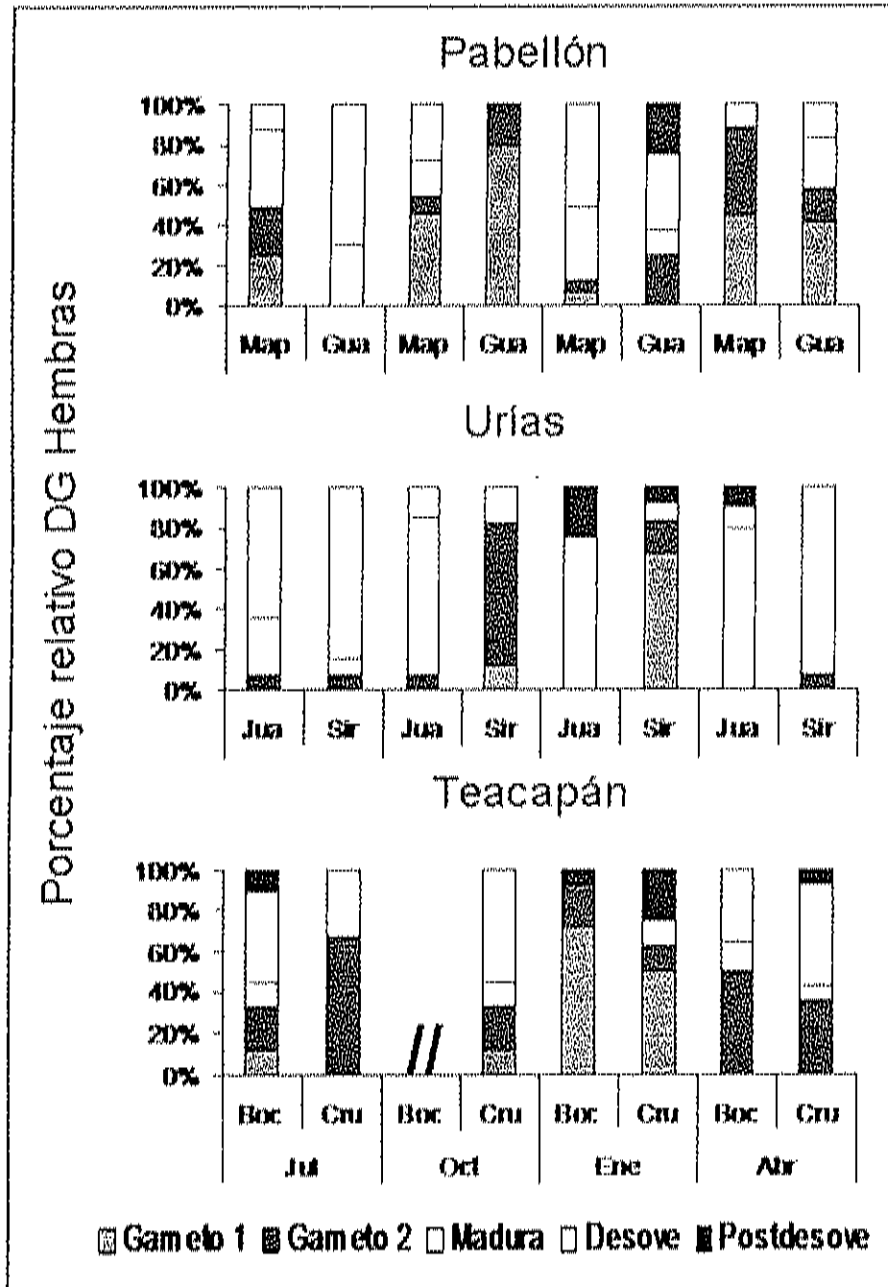


Figura 24: Desarrollo gonádico de hembras de *Mytella strigata* en las estaciones de muestreo a través del tiempo. //: Ausencia de organismos.

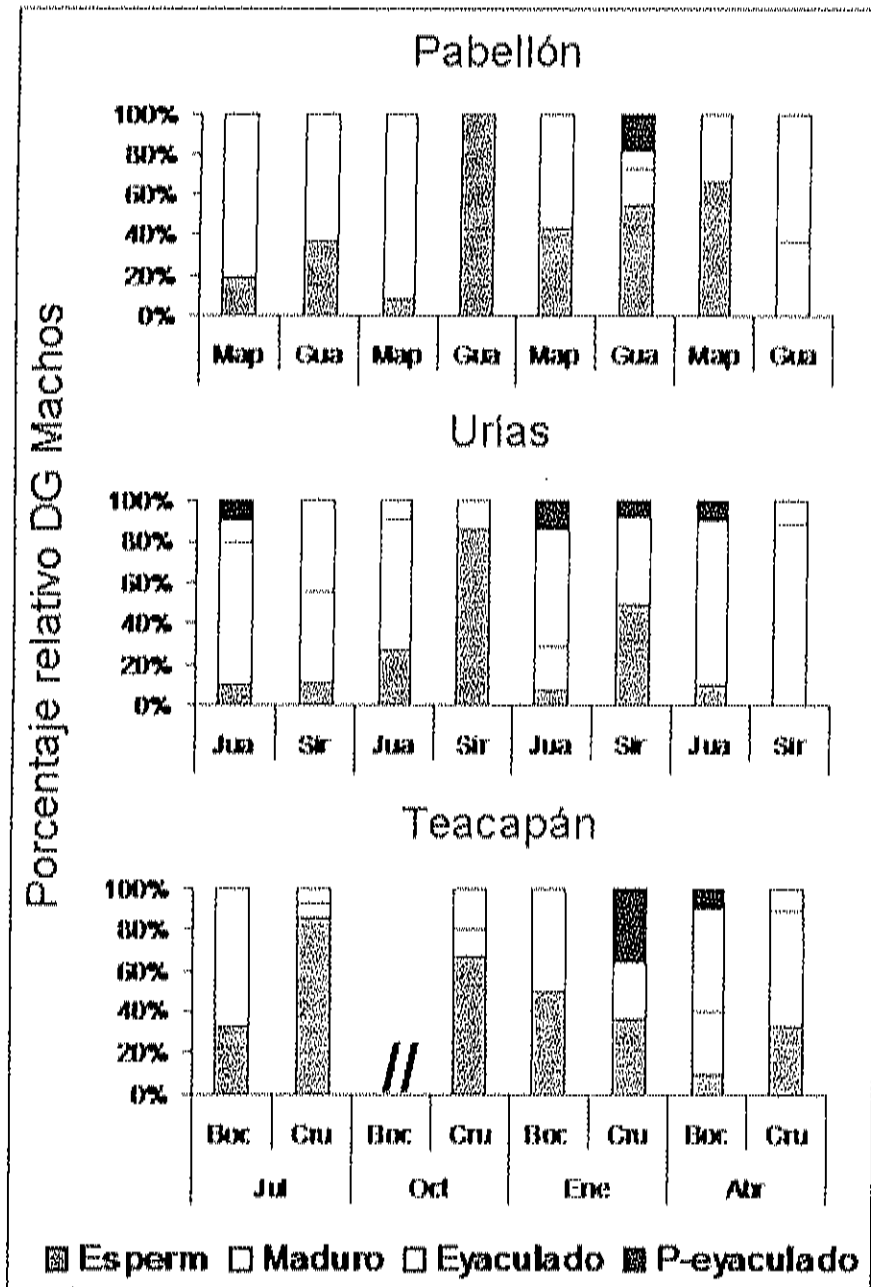


Figura 25: Desarrollo gonádico de machos de *Mytella strigata* en las estaciones de muestreo a través del tiempo. //: Ausencia de organismos.

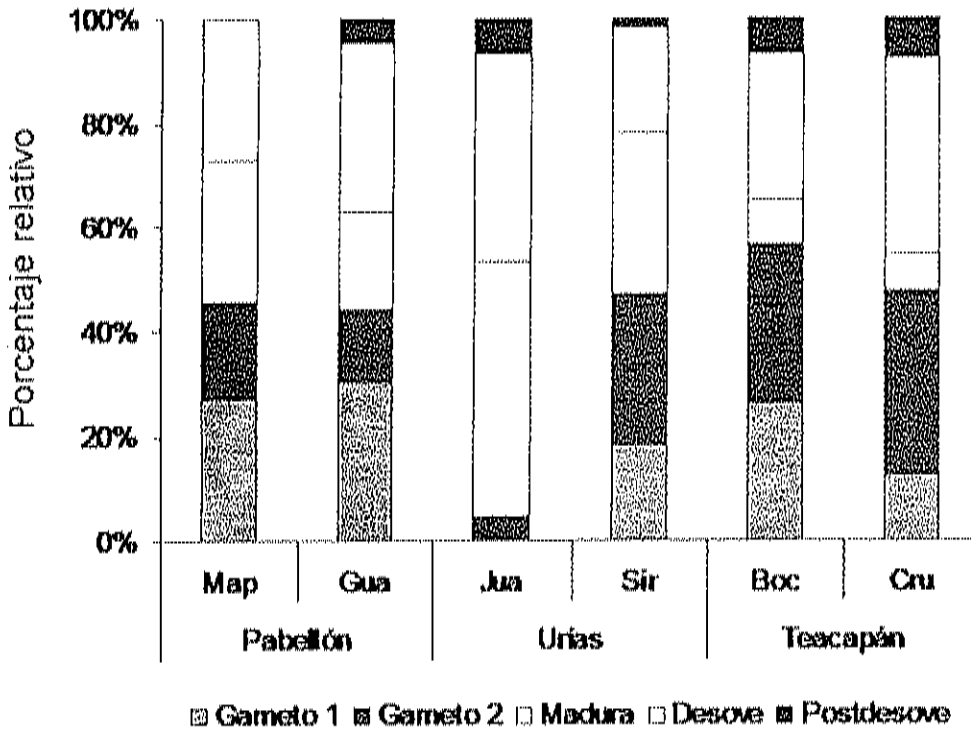


Figura 26: Porcentaje global (acumulado) de estadios gonádicos de hembras de *Mytella strigata* por estaciones durante el periodo de estudio.

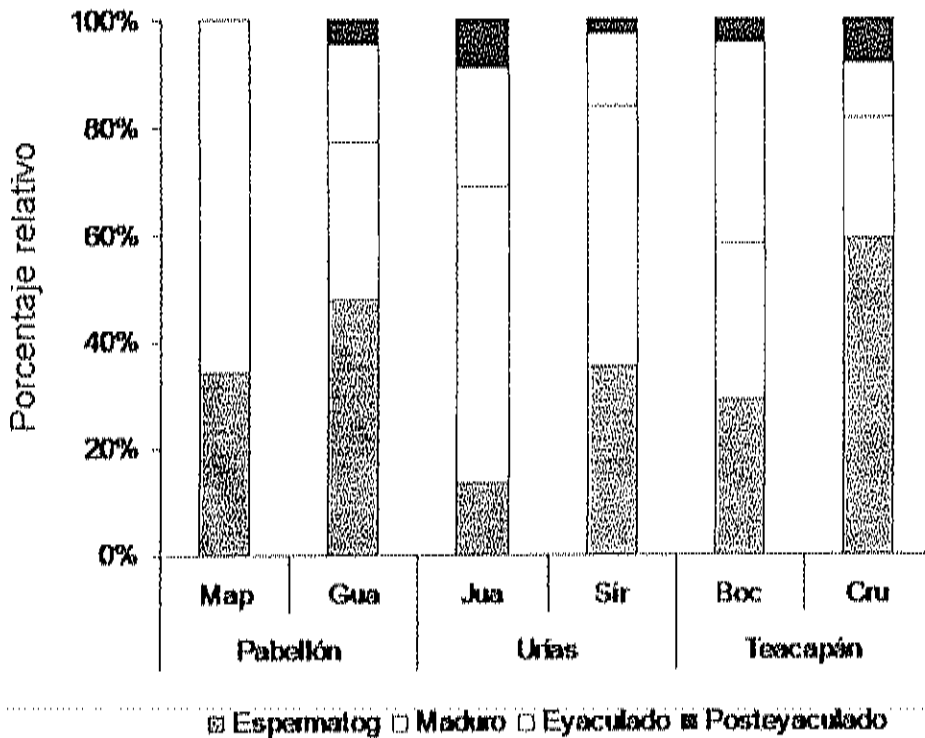


Figura 27: Porcentaje global (acumulado) de estadios gonádicos de machos de *Mytella strigata* por estaciones durante el periodo de estudio.

Tabla 4: Resultado de pruebas pareadas en machos de *Mytella strigata* (valores de Z) entre estaciones, por cada estado gonádico. * Diferencias significativas entre estaciones.

Valores de Z de Estadios Gonádicos					
Machos					
Espermatogénesis					
Estaciones	Gua	Jua	Sir	Boc	Cru
Map	1.143	2.108 *	-0.118	0.151	2.310 *
Gua	-	3.298	0.918	1.228	0.898
Jua	-	-	2.065 *	1.279	4.380
Sir	-	-	-	0.206	1.991 *
Boc	-	-	-	-	2.161 *
Maduro					
Estaciones	Gua	Jua	Sir	Boc	Cru
Map	3.321 *	0.832	1.404	2.727 *	4.158 *
Gua	-	2.266 *	1.533	0.246	0.544
Jua	-	-	0.401	1.84	3.086 *
Sir	-	-	-	1.245	2.314 *
Boc	-	-	-	-	0.337
Eyaculado					
Estaciones	Gua	Jua	Sir	Boc	Cru
Map	2.782 *	3.189 *	2.212 *	4.280 *	1.859
Gua	-	0.211	0.266	1.465	0.808
Jua	-	-	0.728	1.070	1.308
Sir	-	-	-	1.865	0.134
Boc	-	-	-	-	2.466 *
Posteyaculado					
Estaciones	Gua	Jua	Sir	Boc	Cru
Map	0.808	1.642	0.152	0.378	1.552
Gua	-	0.394	-0.153	0.545	0.286
Jua	-	-	0.701	0.233	0.244
Sir	-	-	-	0.422	0.606
Boc	-	-	-	-	0.142

Tabla 5: Resultado de pruebas pareadas en hembras de *Mytella strigata* (valores de Z) entre estaciones, por cada estadio gonádico. * Diferencias significativas entre estaciones

Estadios Gonádicos					
Hembras					
Gametogénesis I					
Estaciones	Gua	Jua	Sir	Boc	Cru
Map	0.0681	3.456 *	0.838	0.111	0.411
Gua	-	3.695 *	1.157	0.199	1.692
Jua	-	-	2.68 *	3.367 *	1.983 *
Sir	-	-	-	0.717	0.465
Boc	-	-	-	-	2.307
Gametogénesis II					
Estaciones	Gua	Jua	Sir	Boc	Cru
Map	0.245	1.716	1.027	1.107	1.502
Gua	-	1.180	1.538	1.607	1.983
Jua	-	-	2.930 *	2.981	3.319
Sir	-	-	-	0.0714	0.388
Boc	-	-	-	-	0.220
Madura					
Estaciones	Gua	Jua	Sir	Boc	Cru
Map	0.706	1.880	0.173	2.028 *	2.078 *
Gua	-	2.771 *	1.153	1.057	1.167
Jua	-	-	1.628	4.011 *	3.942
Sir	-	-	-	2.443 *	2.508
Boc	-	-	-	-	0.193
Desove					
Estaciones	Gua	Jua	Sir	Boc	Cru
Map	0.304	1.046	0.812	0.131	0.768
Gua	-	0.504	1.182	0.210	0.241
Jua	-	-	1.971 *	0.960	0.0131
Sir	-	-	-	0.737	1.656
Boc	-	-	-	-	0.681
Postdesove					
Estaciones	Gua	Jua	Sir	Boc	Cru
Map	0.732	1.155	0.112	1.136	1.261
Gua	-	0.0523	0.217	0.0775	0.0834
Jua	-	-	0.710	0.395	0.274
Sir	-	-	-	0.695	0.844
Boc	-	-	-	-	0.247

Análisis de la condición reproductiva del mejillón de manglar, *Mytella strigata*, en sistemas costeros de Bihala con diferentes escenarios de contaminación.
Loat-Tarín, B.A. (2007)

En ambos sexos no hubo diferencias significativas en el estadio postdesove y posteyaculado. Poniendo en contexto los resultados presentados, cabe mencionar que en términos reproductivos las hembras son más importantes que los machos, ya que su esfuerzo reproductivo es considerablemente mayor en términos energéticos, principalmente en lo que respecta a la formación de los huevos. En Urias, particularmente en la estación Juárez, fueron las hembras las que mostraron una mayor divergencia en desarrollo gonádico, lo cual corresponde al esfuerzo reproductivo (en términos de IGS) en abril, mes en cual la mayor parte de la población de Urias se encontraba en estadio de maduración, seguido de Pabellón con la población de hembras en estadios gametogénesis y maduración. Así mismo, tanto en Pabellón como en Urias, el IC refleja la influencia de la gónada, por lo que presenta sus valores más bajos coincidiendo con la ocurrencia de las mayores proporciones de gametogénesis y postdesoves y los valores más altos de IC generalmente se combinan con la madurez e inicios de desoves (Villarejo-Fuerte y Ochoa-Baez, 1993).

6.6.- Índice Apoptótico

Las hembras utilizadas para determinar apoptosis se agruparon por estadio gonádico obteniendo una "n" diferente por estadio en cada una de las estaciones, datos que pueden ser observados en la Tabla 6.

En Mapachera, la mayoría de las hembras se encontraban en gametogénesis y no hay hembras en postdesove, mientras que en Guamuchilera sólo hay una hembra en postdesove y en el resto de los estadios se mantiene constante la señalización. En Juárez la mayoría de las hembras se encontró en estadio de maduración, así como en la estación Sirena la mayoría se encontró en desove, en Boca en gametogénesis y en Cruces en postdesove (Tabla 6).

Tabla 6: Número (y porcentaje) de hembras de mejillón analizadas en cada estadio gonádico para determinar los IAF e IAC por cada estación.

Estación	Gameto	Madura	Desove	Postdesove
Mapachera	18 (75)	4 (16.66)	2 (8.33)	0(0)
Guamuchilera	8 (34.78)	8 (34.78)	6 (26.08)	1 (4.34)
Juárez	2 (8.33)	11 (45.83)	9 (37.5)	2 (8.33)
Sirena	5 (23.80)	6 (28.57)	9 (42.85)	1 (4.76)
Boca	9 (50)	3 (16.66)	5 (27.77)	1 (5.55)
Cruces	3 (13.04)	3 (13.04)	3 (13.04)	14 (60.86)

Durante el estadio de gametogénesis no se observaron diferencias significativas entre estaciones en el Índice Apoptótico por Folículo (IAF), siendo, sin embargo, Urías el sistema que presentó mayor señalización en este estadio. En el estadio de madurez se encontraron diferencias significativas entre las estaciones Juárez y Sirena, siendo Juárez la estación con mayor señalización. En el estadio desove se registraron diferencias significativas entre las estaciones Juárez y Sirena del sistema Urías y entre Boca y Cruces del sistema Teacapán, presentándose mayor señalización en las estaciones Cruces y Juárez. En el estadio postdesove se encontraron diferencias significativas en el sistema Urías, siendo Sirena la estación con mayor señalización. El sistema con mayor IAF fue Urías con un promedio de 0.78 (Jua:0.67; Sir:0.88), seguido de Pabellón (Map:0.29; Gua:0.49) y Teacapán (Boc:0.21; Cru:0.57) ambos sistemas con un promedio de 0.39. (Fig. 28).

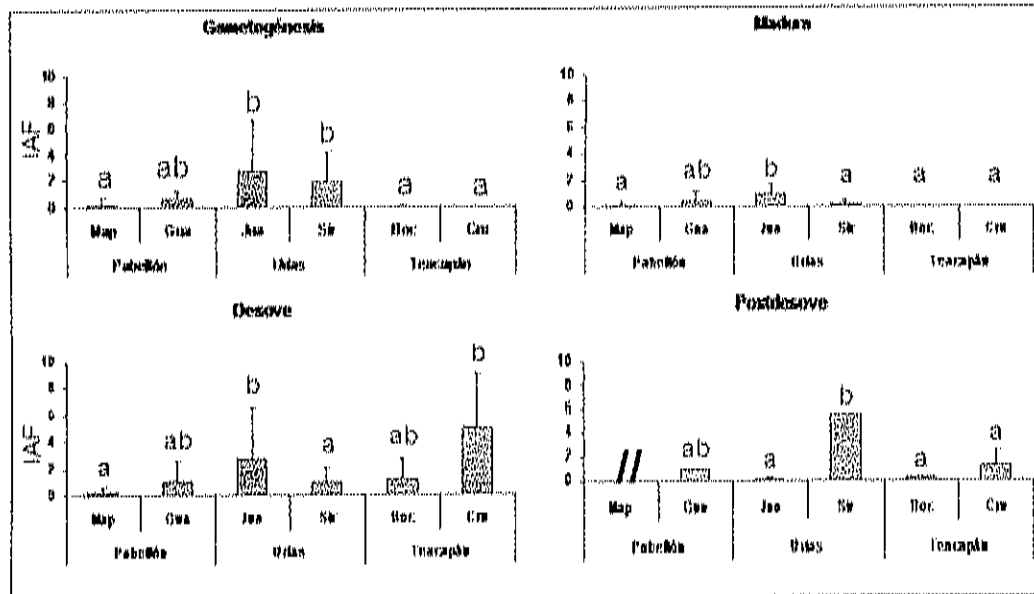


Figura 28: Índice Apoptótico por Folículo (IAF) por estadio gonádico en cada una de las estaciones. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas entre estaciones, //: Ausencia de organismos.

El Índice Apoptótico por células foliculares IAC en gametogénesis presentó diferencias significativas entre las estaciones de Pabellón (Mapachera y Guamuchilera) y Teacapán (Boca y Cruces), mientras que en Urdas no se observaron diferencias significativas entre Juárez y Sirena, pero fue el sistema con mayor señalización. En el estadio de madurez no se encontraron diferencias significativas en ninguna de las estaciones. En el estadio desove se encontró diferencia significativa entre las estaciones de Teacapán, siendo Cruces la estación con mayor señalización en todo el muestreo en este estadio. En el estadio postdesove se registró una diferencia significativa entre las estaciones de Urdas, con la mayor señalización en la estación Sirena. La mayor señalización se presentó en el sistema de Urdas con un promedio de 0.81 (Jua:0.69; Sir:0.92), seguido por Teacapán con 0.47 (Boc:0.33; Cru:0.62) y Pabellón con 0.29 (Map:0.16; Gua:0.43) (Fig. 29).

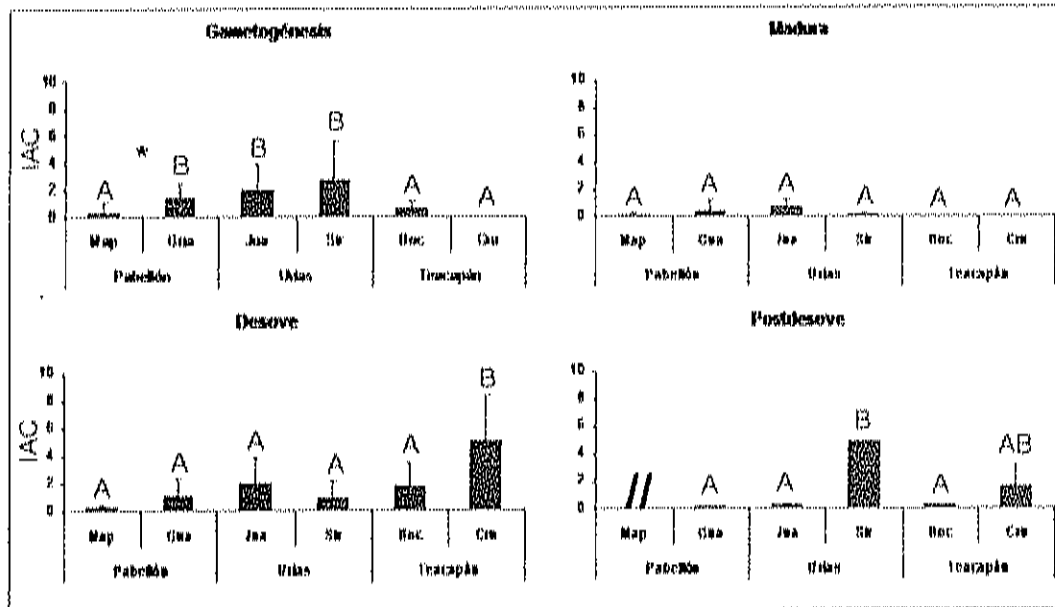


Figura 29: Índice Apoptótico por Células foliculares totales (IAC) por estadio gonádico en cada una de las estaciones. Letras mayúsculas diferentes representan diferencias significativas entre estaciones. //: Ausencia de organismos.

En general el IAF y el IAC siguieron la misma tendencia para representar los niveles de apoptosis en las estaciones de muestreo a lo largo del estudio. De hecho el IAF y el IAC presentaron altos coeficientes de regresión: 0.90 en el estadio gametogénesis, 0.94 en el estadio madura, 0.77 en el estadio desove y 0.87 en el estadio postdesove (Fig. 30). Lo anterior indica que a pesar de que el IAF se determinó aparentemente de una forma más simple (tomando en cuenta las células en apoptosis por folículo), ambos índices muestran tendencias muy similares en la evaluación del nivel de apoptosis. Sin embargo dado que el IAF tiende a discriminar ligeramente mejor las diferencias entre estaciones en el mismo estadio gonádico, fue este el índice que se propone para evaluar la incidencia de apoptosis en tejido gonádico.

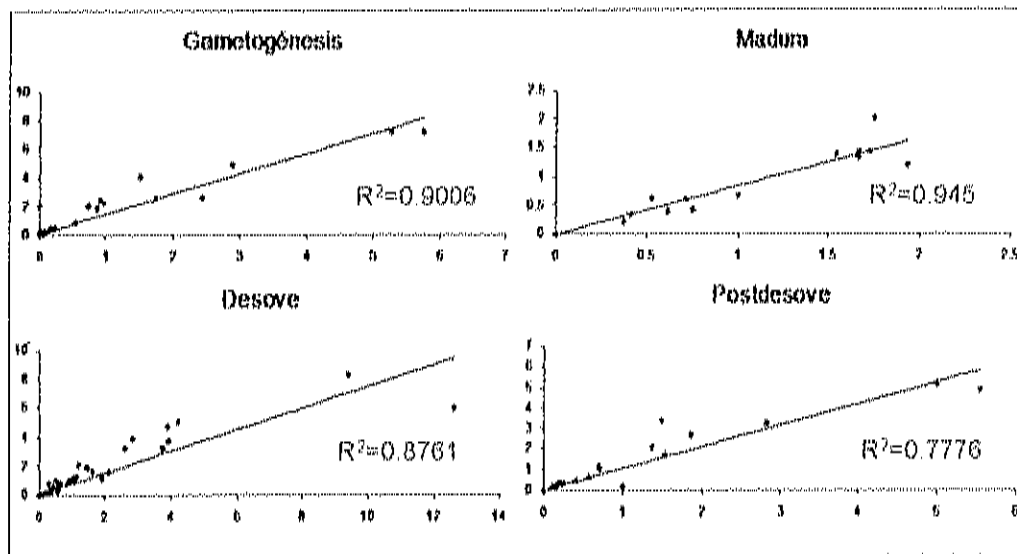


Figura 30: Relación entre los Índices Apoptóticos IAF e IAC. Los coeficientes de regresión lineal se indican para cada estadio.

El análisis de apoptosis se realizó por estadios gonádicos para tratar de minimizar la posible influencia de éstos y poder hacer un análisis comparativo entre estaciones. En general se considera que en los estadios de gametogénesis y maduración se debe presentar escasa o nula señalización apoptótica ya que son los estadios donde se están formando las células y no hay atresia. En cambio en desove y postdesove se observa rompimiento de tejido y atresia gonadal, por lo cual se esperaría una mayor señalización de apoptosis en estos estadios como es parte del fenómeno fisiológico normal de reabsorción gonádica (Tanaka *et al.*, 1999; Suárez *et al.*, 2004).

En general, las poblaciones de mejillones del sistema Urfas presentaron el mayor esfuerzo reproductivo y la mayor señalización apoptótica. Por otro lado, los mejillones de Teacapán presentaron el menor esfuerzo reproductivo de los tres sistemas, sin embargo, a pesar de que en el estadio desove es aparentemente esperado encontrar alta señalización apoptótica, los mejillones de este sistema, particularmente la estación Cruces, fue la que presentó mayor señalización con respecto a las otras estaciones. Los mejillones de Pabellón presentaron un esfuerzo reproductivo moderado y la señalización apoptótica fue mínima, sin embargo cabe señalar que la estación Guamuchilera mantuvo un nivel constante de señalización en todos los estadios gonádicos.

6.7. - Discusión general

En los tres sistemas estudiados, Ensenada del Pabellón, Estero de Urías y Estero de Teacapán, se presentan estresores múltiples tanto naturales como antropogénicos, los cuales presentan diferente magnitud dependiendo de factores como el tipo de actividades antropogénicas, el tamaño del sistema o su ubicación geográfica. La Fig. 31 presenta un diagrama comparativo (basado en la Tabla 1) que caracteriza los posibles escenarios de estrés antropogénico en los sistemas estudiados.

La variabilidad ambiental y las diferencias en la magnitud de los distintos tipos de estresores hacen complicado establecer la influencia de un estresor particular o grupo de estresores en un ecosistema complejo, excepto cuando los efectos son extremos (Luoma *et al.*, 2001). Si el objetivo es diferenciar los efectos producidos por contaminación antropogénica, la mera observación de una respuesta en un ecosistema contaminado, o incluso la correlación con un gradiente, podría no ser suficiente para demostrar que los contaminantes son la causa de la alteración.

En evaluaciones ambientales frecuentemente existe la dificultad de definir las variables de estudio, lo que genera incertidumbre sobre si los efectos son ocasionados por factores natural o contaminantes antropogénicos (Luoma *et al.*, 2001). Por ejemplo, considerando el tamaño y la naturaleza de los sistemas estudiados, podemos definir a Ensenada de Pabellón como de mediano tamaño, que presenta un estrés antropogénico de medio a alto caracterizado principalmente por los plaguicidas y nutrientes derivados de la intensa actividad agrícola. Así mismo, el Estero de Urías es posiblemente el sistema con la mayor incidencia de actividades antropogénicas y, comparado con Pabellón y Teacapán, es de tamaño pequeño con recambio de agua dependiente de las mareas, lo que lo convierte en uno de los sistemas costeros más contaminados del noroeste de México. Por otro lado, el Estero de Teacapán es un sistema de gran tamaño con relativamente pocas actividades antropogénicas, lo que parece indicar que el sistema presenta un estrés antropogénico bajo, aunque

no escapa de ser sujeto a la influencia de agentes estresores naturales, como la salinidad, que pueden ejercer efectos sobre las poblaciones de organismos.




























	Tamaño del sistema	Escenarios de estrés antropogénico							
		M.O.	NyP	Metales	Plaguicidas	Estróg.	HAPs	T°C	S‰
 Pabellón									?
 Urias								?	?
 Teacapan				 ¿Hg?					

Figura 31: Caracterización de escenarios de estrés antropogénico por sistema donde el tamaño de las flechas indica la magnitud del estresor (alta, media y baja). M.O. – materia orgánica, NyP – nitrógeno y fósforo, Estróg. – estrógeno, HAPs – hidrocarburos policíclicos aromáticos, T°C – temperatura en grados centígrados, S‰ – salinidad.

Como se mencionó anteriormente, el estrés salino se perfiló como el agente estresor natural más importante, al menos durante el periodo de estudio. En el sistema de Teacapán se presentaron bajas salinidades por eventos pluviales intensos, lo que coincidió con altas mortalidades de mejillones en la estación Cruces y la desaparición de la población de mejillones en la estación Boca. Como consecuencia de esto, a partir de enero 2006 sólo se encontraron mejillones de tallas pequeñas. Sin embargo, a pesar de que durante el periodo de estudio no se observaron efectos de la baja de salinidad en Ensenada de Pabellón, ni en el Estero de Urias, en este último se han observado previamente eventos similares de mortalidad masiva de mejillones en la

estación Juárez asociadas a la época de lluvias intensas en la zona (M. Betancourt, com. pers.).

En un sistema natural, la asociación de un cambio biológico en relación a estresores múltiples tiene requerimientos específicos como el demostrar que el proceso alterado es sensible al estresor, que es coherente, además de demostrar que existen mecanismos viables para explicar los efectos, separar estresores de cambios inducidos por fluctuaciones anteriores, eliminar variables confusas que pueden ser relacionadas a un cambio, demostrar que existe consistencia de replicación a distintos niveles de organización biológica, y, además, tomar en cuenta que la variabilidad natural, la variabilidad del estresor y la variabilidad de las respuestas a un estresor pueden afectar la habilidad de interpretar los efectos de los estresores (Luoma *et al.*, 2001).

Por lo anterior, para evaluar el potencial de sobrevivencia de los organismos en un ecosistema afectado por factores exógenos, naturales o antropogénicos, es importante caracterizar la salud, capacidad y condición reproductiva de las poblaciones. Los biomarcadores reproductivos son ampliamente utilizados como herramientas para examinar los efectos de estresores ambientales, tanto en individuos como poblaciones (Schmitt *et al.*, 2000). Biomarcadores reproductivos como los histológicos y fisiológicos proporcionan mediciones cuantificables que pueden predecir futuras tendencias reproductivas y abundancia de la población. Por medio de la descripción de cada uno de los componentes reproductivos más relevantes se puede realizar el análisis comparativo de la condición reproductiva, para posteriormente intentar relacionar las respuestas de las poblaciones con el grado de estrés antropogénico prevaeciente en los ecosistemas.

En el **sistema Estero de Teacapán**, los índices biológicos en los mejillones no muestran la misma tendencia que aquellos en los sistemas de Pabellón y Urías, pero sí entre las estaciones del mismo sistema. Sin embargo el IC-g llama la atención ya que en promedio es el sistema con mayor IC-g (11.92), principalmente influenciado por Boca que presenta el mayor IC-g (15.77)

mientras que Cruces presenta el menor IC-g en todos los muestreos. Por otro lado, los mejillones de Teacapán registran una correspondencia negativa entre el IGD-g y el IGS, posiblemente relacionado a que la población presenta un bajo esfuerzo reproductivo (45% de la población en reproducción). En este sentido es probable que la población de *Mytella strigata* en Teacapán se reproduzca a tallas menores respecto a las estaciones de Pabellón y Urias (en respuesta a la mortalidad en la población adulta). Esto implicaría que el presupuesto energético esté más dirigido al crecimiento que a la reproducción. Es importante mencionar que, a causa de lo anterior, es probable que la población de mejillones de Teacapán presente un desfase en el desarrollo gonádico con respecto a las estaciones de Pabellón y Urias y que por esto se observen estas diferencias en los índices.

La estación Cruces presenta un caso interesante dado que la señalización de apoptosis en la gónada de los mejillones fue la más alta en el estadio desove, donde a pesar que en dichos estadios es normal encontrar células apoptóticas, el alto nivel de incidencia puede tener relevancia en términos poblacionales. Suárez *et al.* (2004) proponen que la muerte celular programada puede estar influenciada por diversos factores, como lo son el estrés por contaminación ambiental, poca disponibilidad de alimento y/o bajas de temperaturas. En este trabajo una posible explicación se puede derivar de la condición poblacional descrita anteriormente, donde al compartir recursos entre crecimiento y esfuerzo reproductivo, esto puede dar lugar a alteraciones en el proceso de reabsorción de la gónada. Es decir, al comprometerse los recursos destinados al desarrollo gonádico, la reabsorción de la gónada podría verse afectada por una condición fisiológica disminuida (dada la limitación de nutrientes) o acelerada para incorporar nutrientes mas rápidamente. Otra hipótesis podría ser la posible incidencia de agentes químicos que ejerzan algún efecto sobre el esfuerzo reproductivo, así como en la proporción de sexos, como se observó en Boca (mayor proporción de hembras). Uno de estos contaminantes podría ser el mercurio (Fig. 31), el cual se ha reportado en concentraciones relativamente altas en tejidos de lisas y tiburón provenientes de Teacapán y la zona de captura aledaña respectivamente (Rodríguez, 2004).

En el **sistema Ensenada del Pabellón**, los mejillones se caracterizaron por ser de tallas grandes, indicando que posiblemente se trata de una población adulta. Los mejillones en las dos estaciones normalmente presentaron incrustaciones de anémonas y algas cafés en las valvas (observaciones personales). La estación Guamuchilera además presentó parásitos (tremátodos) en los tejidos blandos y malformaciones en las valvas, además de que las valvas aparentemente eran más delgadas y quebradizas respecto a lo observado en mejillones de los otros sistemas. En relación a la señalización de apoptosis, cabe mencionar que, en la estación Guamuchilera, ésta fue baja pero constante en todos los estadios gonádicos. En general los mejillones del sistema Pabellón muestran un esfuerzo reproductivo moderado (55% de la población está en reproducción) en donde el IC-g y el IGS son altos y el IGD-g se mantiene constante a través del tiempo, indicando que parte de las reservas energéticas están siendo dirigidas a la reproducción y el resto a la competencia por alimento y espacio. Esto podría indicar que la incidencia de contaminantes en los mejillones de este sistema no necesariamente es el agente estresor dominante sobre la condición reproductiva, aunque queda por determinar cual podría ser la causa de que la población sea predominantemente adulta, con valvas debilitadas y deformes. Al respecto, para sustentar estas posibles explicaciones es necesario contar con los resultados de un trabajo de tesis paralelo al presente que estudia la estructura de tallas y edades de primera madurez de las poblaciones de mejillones, además de los análisis de contaminantes tanto en tejidos de mejillones, como en sedimentos.

En el **sistema Estero de Urias**, la población de mejillones en el estero de Urias presenta el mayor esfuerzo reproductivo observado, donde aproximadamente el 70% de la población de mejillones se encuentra en estadios de maduración y desove, los cuales son indicadores representativos de un proceso reproductivo activo. En general el sistema Urias presentó el mayor %H-g, indicando que los mejillones de este sistema presentan un mayor gasto energético, que a su vez puede ser atribuido al mayor esfuerzo reproductivo presentado en Urias y por consiguiente el menor IC-g presentado

en el sistema, acompañados de IGS altos, mientras el IGD-g se mantiene constante a través del tiempo. Esto parece indicar que si bien los individuos pueden destinar reservas energéticas a la reproducción, pueden existir factores (por ej. contaminantes) que afecten la condición fisiológica de los individuos y/o la integridad gonádica (por ej. con mayores niveles de apoptosis en estadios de desarrollo gonádico). Este comportamiento reproductivo puede estar relacionado con la disponibilidad de alimento. Urias es el sistema que aparentemente presenta la mayor disponibilidad de alimento respecto a los otros dos sistemas debido a que recibe constantes descargas, tanto de materia orgánica, como de N y P provenientes de efluentes urbanos, industriales, la cercanía a una granja acuícola, así como del lavado de tierras agrícolas (Fig. 31). Como se ha reportado que en los trópicos los invertebrados marinos se caracterizan por presentar desoves prolongados la mayor parte del año, lo cual tiene una incidencia positiva sobre el IC del organismo (Acosta *et al.*, 2006). Sin embargo, como se estableció anteriormente, en las poblaciones de mejillones en Urias se presentan IC-g bajos acompañados de un esfuerzo reproductivo alto.

Con base en los antecedentes publicados se puede considerar que el Estero de Urias presenta una mayor carga de contaminantes, muchos de ellos en altas concentraciones, en comparación con los otros sistemas estudiados (Fig. 31). Dicha mezcla compleja de contaminantes puede en principio constituir uno de los factores más importantes modificadores de la condición reproductiva de los mejillones. Los mejillones de la estación Juárez presentaron un alto IGS, que refleja el desarrollo gonádico en los estadios de maduración y desove y, por consiguiente, un alto esfuerzo reproductivo. Las reservas energéticas de estos mejillones no sólo son destinadas a la reproducción, sino también al crecimiento, ya que presentan una alta tasa de crecimiento (por ejemplo, en años anteriores se han observado mortalidades masivas de mejillones en los pilotes de la estación Puente Juárez, pero con una rápida repoblación y crecimiento a tallas medianas y grandes en pocos meses; observaciones personales). Esto es posible por la disponibilidad y abundancia de nutrientes en la estación, a pesar de la tasa de recambio de agua oceánica por mareas.

Estos nutrientes provienen de las constantes descargas urbanas, así como de flotas pesqueras e industrias enlatadoras de alimento en las vecindades del puente Juárez, que además aportan altos niveles de metales, HPAs y plaguicidas (Fig. 31), que pueden ser los responsables de la alta incidencia de apoptosis en gónadas en desarrollo de la población de mejillones en esta estación.

Por otro lado la población de mejillones de la estación Sirena presentó un alto IGS, indicando que el alto esfuerzo reproductivo también se relaciona con la elevada disponibilidad de nutrientes, aunque en esta estación se puede presentar un efecto acumulativo de las descargas vertidas al sistema por procesos de deposición (transporte de contaminantes por mareas) tanto de materia orgánica como de mezclas de contaminantes por descargas urbanas, industriales (PEMEX, termoeléctrica y enlatadoras de alimentos) y aportaciones de P y N provenientes de la actividad acuícola (Fig. 31). En particular llama la atención la tendencia consistente a una proporción de sexos inclinada a las hembras, además de una alta señalización de apoptosis en gónadas en desarrollo. Estas respuestas son altamente relevantes en términos ecológicos, dado que pueden involucrar consecuencias directas a nivel poblacional. Por los antecedentes descritos en el sistema Urias, particularmente por su relativamente pequeño tamaño y las numerosas actividades antropogénicas desarrolladas en sus alrededores, es de esperarse que los contaminantes presentes tengan un papel predominante como estresores afectando la condición reproductiva, lo cual es necesario corroborar con los resultados de contaminantes en tejidos de mejillones y sedimentos del sistema.

7.- Conclusiones

Respondiendo al planteamiento de la hipótesis, el análisis de la condición reproductiva en poblaciones de mejillones, si bien no detecta o discrimina entre contaminantes específicos, sí puede ser útil para detectar alteraciones producidas por estrés antropogénico en un contexto ecológicamente relevante.

Este es el primer estudio que identifica apoptosis en moluscos bivalvos como mecanismo de atresia folicular y que evalúa el proceso de apoptosis en conjunto con índices biológicos, como biomarcador de estrés celular en mejillones como respuesta a condiciones ambientales adversas.

M. strigata presenta eventos reproductivos durante todo el año, por lo que la comparación del esfuerzo reproductivo entre poblaciones debe integrar muestreos en distintas épocas del año

Expectativas del proyecto de investigación FOSEMARNAT-2004-01-199:

La posterior integración de niveles de contaminantes y respuestas a distintos niveles de organización biológica permitirá evaluar si existe relación entre exposición a contaminantes específicos y biomarcadores de exposición y/o efecto. Dentro de las respuestas consideradas en el presente trabajo, es posible que los niveles de apoptosis folicular se relacionen con niveles de contaminantes, particularmente con metales y HAPs

8.- Recomendaciones

- ❖ Realizar muestreos en lapsos de tiempo más cortos durante un año, para tener más claro y completo el desarrollo gonádico a través del tiempo de *Mytella strigata*.
- ❖ Realizar un esfuerzo mayor de muestreo para separar hembras y machos para el análisis con los índices biológicos (como el IC, IGS, %H y el IGD), para determinar si existen diferencias por efecto del sexo.
- ❖ La determinación de lípidos, proteínas y carbohidratos por órgano puede ser útil para determinar si las reservas energéticas son proporcionadas por la glándula digestiva o por la gónada.
- ❖ Caracterizar el gen de vitelogenina en hembras (posiblemente sintetizada en gónada) para confirmar los estadios gonádicos e investigar la posible síntesis de vitelogenina en machos como indicador de efectos estrogénicos en la población.
- ❖ Una vez que se completen los resultados de análisis químicos de contaminantes en sedimento y tejido de organismos, así como de materia orgánica de cada sistema durante los muestreos, es recomendable intentar correlacionarlos con los parámetros medidos de la condición reproductiva en las poblaciones de mejillones estudiados.

9.- Bibliografía

- Acosta V. J. 2003. Análisis de la condición del Bosque de Manglar en el sistema lagunar Teacapán-Agua Brava-Marismas Nacionales y sus relaciones a nivel de Paisaje. Tesis de maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. pp 101.
- Acosta Vanesa, Prieto Antulio y Cesar Lodeiros, 2006. Índice de condición de los mejillones *Perna perna* y *Perna viridis* (Bivalvia: Mytilidae) bajo un sistema suspendido de cultivo en la Ensenada de Turplalito, Golfo de Cariaco, Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 24, 2: 177-192.
- Aloísio, T.M., Pires, T.C., Gáspari, C., Masutti, M.B., Neves, P.C.M., Curi, P.R., Alves, E., Di Mascio, P., Wilhelm, F.D. 2002. Oxidative stress in the mussel *Mytella guyanensis* from polluted mangroves on Santa Catarina Island, Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 44: 923-932.
- Álvarez L.R. 1980. Hidrología y zooplankton de tres esteros adyacentes a Mazatlán, Sinaloa, México. *Anales del Centro de Ciencias del Mar y Limnología* 7, 1: 177-195.
- Álvarez R.M., Amescua L.F. y Yáñez-Arancibia A. 1986. Ecología y estructura de las comunidades de peces en el sistema lagunar Teacapán-Agua Brava, Nayarit, México. *An. Inst. Ciencias del Mar y Limnología Universidad Nacional Autónoma, México*, 13, 1: 185-242.
- Álvarez, R.B., Amescua, L.F. y Alvarez-Rubio M. 1990. Análisis de la diversidad, amplitud y traslape del nicho en la comunidad de peces del sistema Teacapán-Agua Brava, Nayarit, México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología* 17, 2: 215-240.
- Álvarez-León, R., 1977. Estudio hidrológico de los Esteros del Astillero, Urias y la Sierra, adyacentes a Mazatlán, Sinaloa, México. Tesis de Maestría. UACPyP-CCH-UNAM. p 131.

- Amezcuca, L. F. Álvarez R. M., y Yáñez-Arancibia A. 1987. Dinámica y estructura de la comunidad de peces en un sistema ecológico de manglares de la costa del Pacífico de México, Nayarit. An. Inst. Ciencias del Mar y Limnología Universidad Nacional Autónoma, México, 14, 2: 221-248.
- Bat L., Gündoğdu A., Öztürk m. and Öztürk M. 1999. Copper, Zinc, Lead and Cadmium Concentrations in the Mediterranean Mussel *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 From the Sinop Coast of the Black Sea. Tr. J. of Zoology, 23: 321-326.
- Bell, T.A. y Lightner D.V., 1984. IHHN virus: Infectivity and Pathogenicity Studies in *Penaeus stylirostris* and *Penaeus vannamei*. Aquaculture, 38: 185-194.
- Binelli A., Bacchetta R., Mantecca P., Ricciardi F., Provini A., Vailati G., 2004. DDT in zebra mussels from Lake Maggiore (N. Italy): level of contamination and endocrine disruptions. Aquatic Toxicology 69:175-188.
- Blazer V.S, Wolke R.E, Brown J, Powell C.A. 1987. Piscine macrophage aggregate parameters as health monitors: effect of age, sex, relative weight, season and site quality in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). Aquat. Toxicol, 10: 199-215.
- Braley R.D., Sutton D., Suzanne S., Mingoa M. and Southgate P.C., 1992. Passive greenhouse heating, recirculation, and nutrient addition for nursery phase *Tridacna gigus*: growth boost during winter months. Aquaculture, 108: 29-50.
- Bussani M., 1990. Guía practica del cultivo de mejillón. Primera edición. Editorial Acribia, S.A. ZARAGOZA, España, pp 1:31.

- Cáceres-Martínez J., Figueras A., 1998. Long-term survey on wild and cultured mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lmk) reproductive cycles in the Ria de Vigo (NW Spain). *Aquaculture* 162 : 141-156.
- Cartier S., Pellerin J., Fournier M., Tamigneaux E., Girault L., Lemaire N., 2004. Use of an index based on the blue mussel (*Mytilus edulis* and *Mytilus Trossulus*) digestive gland weight to asses the nutritional quality of mussel farm sites. *Aquaculture* 241: 633-654.
- Carvalho F.P., Fowler S.W., Gonzalez-Farias F., Mee L.D. y Readman J.W., 1996. Agrochemical residues in the Altata-Ensenada del Pabellón coastal lagoon (Sinaloa, México): a need for integrated coastal zone management. *International Journal of Environmental Health Research*, 6: 209-220.
- Carvalho, G.P. de, Cavalcante, P.R.S., Castro, A.C.L. and Rojas, M.O.A.J., 2000. Preliminary assessment of heavy metal levels in *Mytella falcata* (bivalvia, mytilidae) from Bacanga river estuary, São Luis, state of Maranhão, Northeastern Brazil. *Rev. Brasil. Biol.*, 60, 1: 11-16.
- Chapman M.P. and Wang F., 2001. Assessing sediment contamination in estuaries. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 1, 3-22.
- Cifuentes L. Juan L., Torres G. Pilar, Frias M. Marcela., 1990. El océano y sus recursos pesqueros. Segunda edición. Fondo de Cultura Economica. México.
- Curtis H., Barnes N. S. Schnek A., Flores G., 2000. *Biología*. Sexta edición. Editorial: Medica Panamericana. España. pp 871-876.
- De la Lanza-Espino G., Flores-Verdugo F.J. and Wulff F., 2003. Teacapán-Agua Brava-Marismas nacionales, Sinaloa and Nayarit. *Land-Ocean Interactions in the Coastal Zone*.

- Defur L.P., Crane M., Ingersoll C., Tattersfield L. 1999. Endocrine disruption in invertebrates: endocrinology, testing and assessment. Chapter 1 Introduction to the workshop on endocrine disruption in invertebrates: endocrinology, testing and assessment. A Technical Publication of SETAC, Florida, USA, pp. 7-18.
- Estévez J. y Stuardo J., 1977. Aspectos generales de la biología y ecología del mejillón de laguna *Mytella strigata* (Hanley 1843) en dos lagunas costeras de Guerrero, México. *Zoología*, 1: 187-230.
- Franz David R., 1996. Size and age at first reproduction of the ribbed mussel *Geukensia demissa* (Dillwyn) in relation to shore level in a New York SALT marsh. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 205: 1-13.
- Galindo R.G., Villagrana C. L., and Lazcano A. G. 1999. Environmental conditions and pesticide pollution of two coastal ecosystems in the Gulf California, Mexico. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 44: 280-286.
- Galindo, J.G. 2000. Condiciones ambientales y de contaminación en los ecosistemas costeros. SEMARNAP, Universidad Autónoma de Sinaloa. pp 149.
- Galindo, J.G., Guerrero, I.M., Villagrama L.C., Quezada, U.L. 1992. Contaminación por plaguicidas en almejas y camarones, en dos ecosistemas costeros de Sinaloa, México. *Época* 1, Núm. 12.
- Garay-Velázquez, J. D., 1986. Hacia la recuperación del estero del Infiernillo para uso urbano. Universidad Autónoma de Sinaloa. *Ciencias del Mar*, 9: 41-45.
- Giampietri C., Petrungraro S., Coluccia P., D'Alessio A., Starace D., Riccioli A., Padula F., Palombi F., Ziparo E., Filippini A., De Cesaris P., 2005. Germ

- cell apoptosis control during spermatogenesis *Contraception* 72: 298–302.
- Goldberg, D.E., Bertine K.K. 2000. Beyond the Mussel Watch – new direction for monitoring marine pollution. *The Science of the Total Environment* 247: 165-174.
- Gutiérrez-Galindo E.A. y Muñoz-Barbosa A., 2001. Variabilidad temporal de corto periodo de Ag, Cd y Cu en *Mytilus californianus* y la efectividad de este organismo como biomonitor. *Ciencias Marinas*, 27, 2: 269–288.
- Guzmán R., Gómez G., Penott M. y Vizcaino G., 1999. Estructura de tallas y reproducción de la sardina *sardinella aurita* en el nororiente de Venezuela. *Zootecnia Tropical*, 17, 2: 155-174.
- Hagger J.A., Depledge M.H., Galloway T.S., 2005. Toxicity of tributyltin in the marine mollusk *Mytilus edulis*. *Mar Pollut Bull*, 51, 8-12: 811-6.
- Hatcher A., Grant J., Schofield B., 1997. Seasonal changes in the metabolism of cultured mussels (*Mytilus edulis* L.) from a Nova Scotian inlet: the effects of winter ice cover and nutritive stress. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 217: 63-78.
- Honkoop P.J.C., Van der Meer J., Beukema J.J., Kwast D., 1999. Reproductive investment in the intertidal bivalve *Macoma balthica*. *Journal of Sea Research* 41: 203-212.
- INEGI 1987. Anuario Estadístico del Estado de Sinaloa Culiacán, Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, 652 pp.
- INEGI 1995. Estudio hidrológico del Estado de Sinaloa. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México, 88 pp.

- INEGI, 2000. Tabulados básicos nacionales por entidad federativa. Base de datos y tabulados de la muestra censal XII Censo General de Población y Vivienda. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México.
- Izaguirre F. G., Páez O.F., Osuna L.J.I. 1992. Metales pesados en peces del Valle de Culiacán, Sinaloa México. *Ciencias Marinas* 18, 3: 143-151.
- Janz D.M., McMaster M.E., Munkittrick K.R. and Van Der Kraak G., 1997. Elevated ovarian follicular apoptosis and Heat Shock Protein-70 expression in white sucker exposed to bleached kraft pulp mill effluent. *Toxicology and Applied Pharmacology* 147: 391-398.
- Kádár E., Lobo-da-Cunha A., Santos R.S., Dando P., 2006. Spermatogenesis of *Bathymodiolus azoricus* in captivity matching reproductive behaviour at deep-sea hydrothermal vents. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 335: 19-26.
- Keen A. M., 1971. *Sea shells of tropical west America, marine mollusk from Baja California to Peru*. 2nd. Ed. Stanford University Press. California.
- Kovacs M.J., 1999. Assessing mangrove use at the local scale. *Landscape and Urban Planning* 43: 201±208.
- Kyung S.C. 1999. Adaptabilidad ecofisiológica de organismos acuáticos tropicales a cambios de salinidad. Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná 6101, 29-IX.
- Lankford, R.R. 1977. Coastal lagoons of México: Their origin and classification, pp. 182-215 En: M. Wiley (ed.) *Estuarine Processes*. Academic, New York.
- Lightner, D.V. 1992. "Shrimp Virus Diseases: Diagnosis, distribution and Management. En: *Proceedings of the special Session on Shrimp Farming*. (J.Wyban ed.), World Aquaculture Soc.,Baton Rouge, pp. 238-253.

- Llanes-Baeza C. y González N. 2002. Evaluación de los mejillones *Mytilopsis sallei* (Reclúz) y *Brachidontes exustus* (Linné) como bioindicadores de materia orgánica en la bahía de Chetumal, México. *Universidad y Ciencia*, 8, 35:
- Losa M., Barzaghi R. L. A., Mortini P., Franzin A., Mangili F., Terreni M. R., y Giovanelli M., 2000. Determination of the Proliferation and Apoptotic Index in Adrenocorticotropin-Secreting Pituitary Tumors. Comparison between Micro- and Macroadenomas *American Journal of Pathology*, 156, 1.
- Lucas A. and Beninger P.G., 1985. The use of physiological condition indices in marine Bivalve aquaculture. *Aquaculture*, 44: 187-200.
- Lundebye, A.K., Langston, W.J. and Depledge M.H. 1997. Stress proteins and condition index as biomarkers of tributyltin exposure and effect in mussels. *Ecotoxicology* 6: 127-136.
- Luoma S.N., Clements W.H., Gerritsen J., Hatch A., Jepson P., Reynoldson T., Thom R.M., 2001. Separating stressor influences from environmental variability: eith case studies from aquatic and terrestrial ecosystems. Cap. 6: 179-214 En: Baird D.J, Burton G.A., *Ecological variability: separalling natural from antropogenic causes of ecosystem impairment*. Society of Environmental Toxicology an Chemistry (SETAC), USA, pp. 307.
- Machado L. M., Bebianno M. J., Boski T. and Moura D. M., 1999. Trace metals on the Algarve coast, II: Bioaccumulation in mussels *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 15 (1-4). 1999: 465-471.
- Mallet A.L., Carver C.E.A., Coffen S.S., Freeman K.R., 1987. Winter growth of the blue mussel *Mytilus edulis* L: importance of stock and site. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 108: 217-228.

- Mihalch, E. M., Gooch J., deFur P., Benson W.H., Tyler C., Birnbaum L., Di Giulio R., Tillitt D.E. 1999. Reproductive and developmental effects of contaminants in oviparous vertebrates: workshop introduction. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC), 1: 1-8.
- Navarrete M.A.H, Maier C. M, Falzoni R., Gerk de Azevedo Q. L., Lima G. R, Baracat E. C. and Nazário A., 2005. Assessment of the proliferative, apoptotic and cellular renovation indices of the human mammary epithelium during the follicular and luteal phases of the menstrual cycle. *Breast Cancer Research*, 7, 3.
- Norris, D. O. 1997. *Vertebrate endocrinology*. Academic Press, San Diego.
- Oliviera A. M. and Bjorn K., 1993. Environmental responses of a tropical coastal lagoon system to hydrological variability: Mundau-Manguaba, Brazil. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 27: 575-591.
- Osuna L.J.I., Zazueta P.H.M., López L.G., Izaguirre F.G. y Frias E.M., 2001. Plaguicidas organofosforados en sedimentos de lagunas costeras con importancia ecológica pesquera en Sinaloa. Foro Estatal de Ciencia y Tecnología, Soluciones para el Desarrollo.
- Páez-Osuna F. and Marmolejo-Rivas C. 1990. Trace Metals in Tropical Coastal Lagoon Bivalves, *Crassostrea corteziensis*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 45: 538-544.
- Páez-Osuna F., Bojorquez-Leyva H., González-Farías F., Izaguirre-Fierro G., Osuna-López J., 1992. Carbono y fósforo en sedimentos de un sistema lagunar asociado a una cuenca de drenaje agrícola. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*, Universidad Autónoma de México, pp 715.

- Páez-Osuna, F., 1994. Bivalvos como indicadores de contaminación en las costas del Pacífico Mexicano. *Ciencias Marinas*, pp 375.
- Páez-Osuna, F., Osuna-López, J.I., Vázquez-Botello, A.V., 1998. Biomonitorio de la contaminación en las aguas costeras del Pacífico subtropical mexicano: metales pesados, plaguicidas e hidrocarburos del petróleo. Informe Técnico Académico Final, Proyecto CONACyT.
- Pampanin D.M., Volpato E., Marangon I., Nasci C., 2005. Physiological measurements from native and transplanted mussel (*Mytilus galloprovincialis*) in the canals of Venice. Survival in air and condition index. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 140: 41-52.
- Peakall, D. 1992. Animal Biomarkers as Pollution Indicators Biomarker of the reproductive system. *Chapman and Hall Ecotoxicology series*. 3: 18-37.
- Pérez C. A., Villalba A., Beiras R., Labarta U., 1997. Absortion efficiency and condition of cultured mussels (*Mytilus edulis galloprovincialis* Linnaeus) of Galicia (NW Spain) infected by parasites *Marteilia refringens* Grizel et al., and *Mytilicola intestinalis* Steuer. *Journal of Shellfish Research*, 16: 77-82.
- Powell Eric N., Barber Robert D., Kennicutt II Mahlon C., Ford Susan E., 1999. Influence of parasitism in controlling the health reproduction and PHA body burden of petroleum seep mussels. *Deep-Sea Research*, 1, 46: 2053-2078.
- Redding J.M., Palino R. 1993. Reproductive physiology. In: Evans DH, editor. *The physiology of fishes*. Boca Raton (FL): CRC Press. p 503-44.
- Rodríguez P.A. 2004. Análisis comparativo de la concentración de mercurio en el tejido muscular de la lisa *Mugil curema*, (Valenciennes, 1836) de los esteros Uñas y Teacapán, Sinaloa, México. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Ingeniería Pesquera, Universidad Autónoma de Nayarit. pp 50.

- Rodríguez-Alonso R., Páez-Osuna F., and Cortés-Altamirano. 2000. Trophic conditions and stoichiometric nutrient balance in subtropical waters influenced by municipal sewage effluents in Mazatlán Bay (SE Gulf of California). *Marine Pollution Bulletin*, 40 : 331-339.
- Ruelas-Inzunza J.R. and Páez-Osuna F., 2000. Comparative bioavailability of trace metals using three filter-feeder organisms in a subtropical coastal environment (Southeast Gulf of California). *Environmental Pollution* 107, 437-444.
- Ruelas-Inzunza J.R., Paez-Osuna F. 2000. Comparative bioavailability of trace metals using three filter-feeder organisms in a subtropical coastal environment (Southeast Gulf of California) *Environmental Pollution* 107, 437±444.
- Ruiz-Fernández A.C., Hillarie-Marcel C., Páez- Osuna F., Ghaleb B., Solo-Jiménez M., 2003. Historical trends of metal pollution recorded in the sediments of the Culiacan River Estuary, Northwestern México. *Applied Geochemistry*, 18: 577-588.
- Ruppert E.E. y Barnes R.D., 1996. *Zoología de los Invertebrados*. Sexta edición. McGRAW-HILL INTERAMERICANA. México., pp 365-370.
- Schlenk, D. 1999. Necessity of defining biomarkers for use in ecological risk assessments. *Marine Pollution Bulletin*, 39, 1-12, 48-53.
- Schmitt, C. J. and G. M. Dethloff. Editors. 2000. *Biomonitoring of Environmental Status and Trends (BEST) Program: selected methods for monitoring chemical contaminants and their effects in aquatic ecosystems*, U.S. Geological Survey, Biological Resources Division, Columbia, (MO): Information and Technology Report USGS/BRD-2000—0005, pp 81.

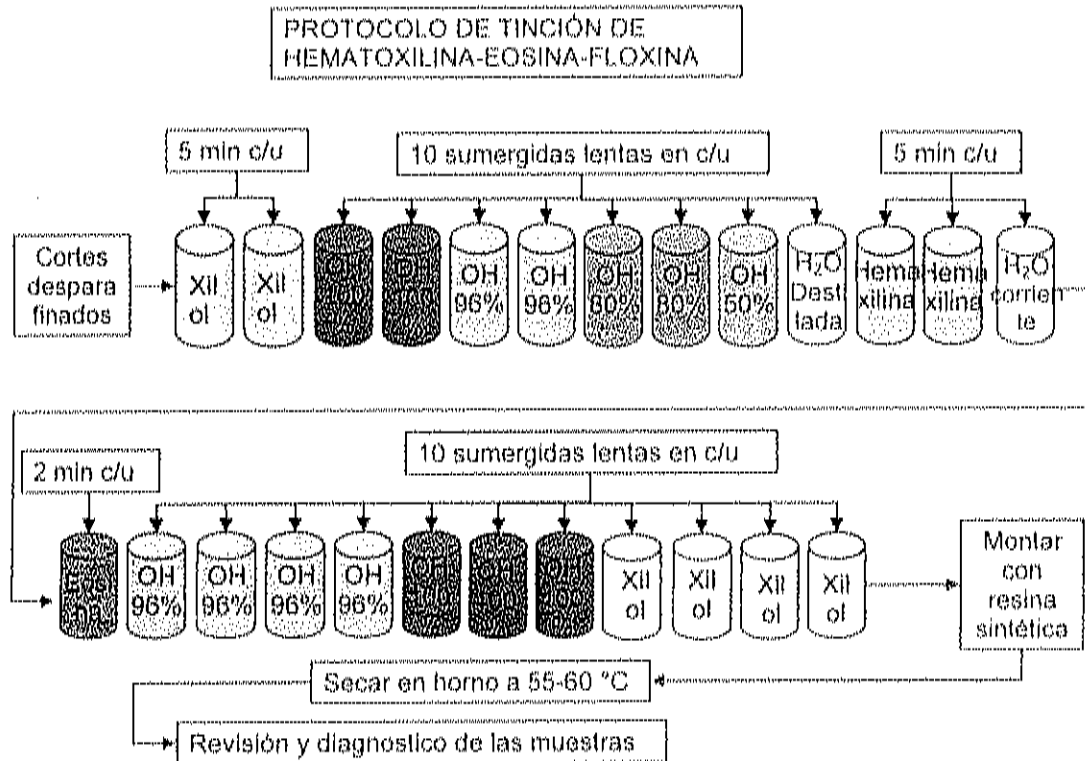
- Smolders, R., Bervoets, De Coen W., Blust R. 2004. Cellular energy allocation in zebra mussels exposed along a pollution gradient: linking cellular effects to higher levels of biological organization. *Environmental Pollution* 129, 99-112.
- Soto, M., Ireland, M.P., Marigómez I. 2000. Changes in mussel biometry on exposure to metals: implications in estimation of metal bioavailability in 'Mussel-Watch' programmes. *The Science of Total Environment*, 247, 175-187.
- Soto-Jiménez M. and Páez-Osuna F. 2001. Cd, Cu, Pb, and Zn in lagoonal sediments from Mazatlán harbour (Se Gulf of California): bioavailability and geochemical fractioning. *Bull Environmental Contamination Toxicology*, 66: 350-365.
- Soto-Jimenez M.F., Paez-Osuna F., Bojorquez-Leyva H., 2003. Nutrient cycling at the sediment-water interface and in sediments at Chiricahueto marsh: a subtropical ecosystem associated with agricultural land uses. *Water Research* 37: 719-728.
- Steinert S.A., 1996. Contribution of Apoptosis to Observed DNA Damage in Mussel Cells. *Marine Environmental Research*, 42, 1-4; 253-259.
- Stuardo J., Martínez-Guerrero A., 1975. Relación n entre algunos factores ecológicos y la biología a de poblaciones de *Crassostrea corteziensis* Hertlein, 1951, de San Blas, Nayarit. *Anales del Centro de Ciencias del Mar y Limnología a, Universidad Nacional Autónoma de México* 2: 89±130.
- Stuardo J.A., Martínez a., Yáñez-Arancibia J.A., Weinborn y Ruiz J., 1974. Prospección de los recursos biológicos y pesqueros del sistema lagunar costero de Guerrero y, en parte, del litoral rocoso de Michoacán, México. *Convenio Comisión del Río Balsas S. R. H., y Centro Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nat. Autón. México.* pp 500.

- Stuardo y Villarroel., 1976. Aspectos ecológicos y distribución de los moluscos en las lagunas costeras de Guerrero, México. Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México 3, 1: 65-9.
- Suárez A. P., Álvarez G. C., Molist G. P., Serrano F. S. J., 2004. Atresia gonadal durante el ciclo gametogénico de *Mytilus galloprovincialis* Lmk. cultivado en la ría de Vigo (NO España) IC/VA. pp 689-698.
- Szefer P., Geldon J., Anis Ahmed Ali., Paez-Osuna F., Ruiz-Fernandes A.C., Guerrero Galvan S.R.; 1998. Distribution and association of trace Metals in soft tissue and byssus of *Mytella strigata* and other benthal Organisms from Mazatlán harbour, Mangrove lagoon of the northwest Coast of México. Environment International, 24, 3: 359-374.
- Tanaka B.F., Kawano Yozo, Li Mio, Takata Tetsuya, Miyahara Ryo, Yanagihara Kazuhiro, Yohsuke Ohtake, Fukuse Tatkuse, and Wada Hiromi, 1999. Prognostic Significance of Apoptotic Index in Completely Resected Non-Small-Cell Lung Cancer. Journal of Clinical Oncology, 17, 9: 2728-2736.
- Van der Kraak GJ, Chang JP, Janz DM. 1998. Reproduction. In: Evans DH, editor. The physiology of fishes. 2nd ed. Boca Raton (FL): CRC Press. pp 465-88.
- Wootton, E.C., Dyrinda E.A., Ratcliffe, N.A. 2003. Bivalve immunity: comparisons between the marine mussel (*Mytilus edulis*), the edible cockle (*Cerastoderma edule*) and the razor-shell (*Ensis siliqua*). Fish Shellfish Immunology 15: 195-210.
- Wurf O., Philip O.J. 2005. Organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in Singapore's coastal marine sediments. Chemosphere 58: 925-933.

10.- Anexos

Anexo 1:

Histología



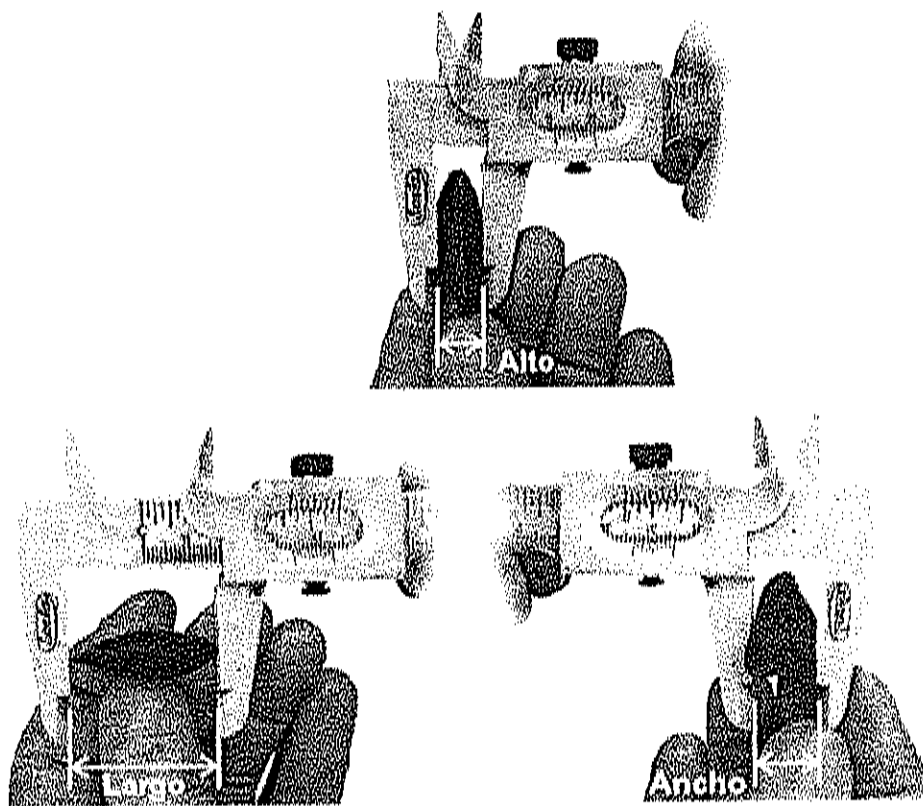
Anexo 2:

Ensayo TUNNEL-TREVIGEN para la detección de apoptosis

1. Cubrir cada corte con 50µl de solución Cytocin por 30min.
2. Lavar la muestra 2 veces en agua desionizada por 2min cada una
3. Incubar en *Quenching Solution* por 5min
4. Lavar en PBS1X por 1min
5. Incubar en *TdT Labeling Buffer* por 5min
6. Cubrir la muestra con 50µl de *Labeling Reaccion Mix* e incubar durante 60min a 37°C en cámara húmeda
7. Incubar en *TDT Stop 1X*
8. Lavar 2 veces en PBS 1X 2min cada una
9. Cubrir la muestra con 50µl de *Antibody Solution* y se incubo 30min a 37°C en cámara húmeda
10. Lavar 2 veces en PBS 1X 2min cada una

11. Cubrir la muestra con 50µl de Strep-HRP-Solution e incubar 10min a temperatura ambiente
12. Lavar 2 veces en PBS 1X 2min cada una
13. Incubar en sol DAB 7min
14. Lavar 2 veces en agua desionizada, 2min cada una
15. Incubar en verde de metilo al 1% por 30min
16. Deshidratar las muestras con agua destilada, alcohol y xilol
17. Montar en resina sintética con cubre objeto

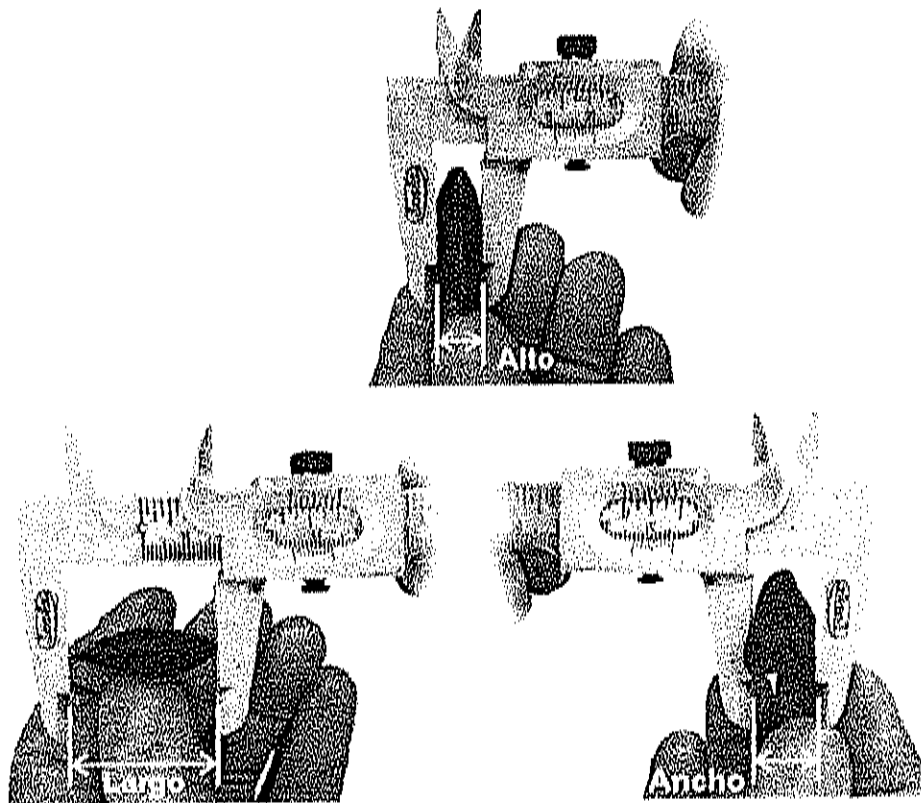
Anexo 3:



Medidas morfométricas de *Mytella strigata*. En la figura se indica la forma en que se midió el alto, largo y ancho de las valvas de cada organismo.

11. Cubrir la muestra con 50µl de Strep-HRP-Solution e incubar 10min a temperatura ambiente
12. Lavar 2 veces en PBS 1X 2min cada una
13. Incubar en sol DAB 7min
14. Lavar 2 veces en agua desionizada, 2min cada una
15. Incubar en verde de metilo al 1% por 30min
16. Deshidratar las muestras con agua destilada, alcohol y xilol
17. Montar en resina sintética con cubre objeto

Anexo 3:



Medidas morfométricas de *Mytella strigata*. En la figura se indica la forma en que se midió el alto, largo y ancho de las valvas de cada organismo.