

DESCRIPCION DEL CICLO REPRODUCTIVO DE *Glycymeris longior* (SOWERBY, 1832) Y SU RELACION CON PARAMETROS AMBIENTALES, DENTRO DEL GOLFO SAN MATIAS (RIO NEGRO, ARGENTINA).

Maria Eugenia Orrego

Directora: Dra. Marina A. Kroeck

Co-Directora: Mag. Catherine Dye



Licenciatura en Biología Marina.

Escuela Superior de Ciencias Marinas,

Universidad Nacional del Comahue.

2019.





DESCRIPCION DEL CICLO REPRODUCTIVO DE *Glycymeris longior* (SOWERBY, 1832) Y SU RELACION CON PARAMETROS AMBIENTALES, DENTRO DEL GOLFO SAN MATIAS. (RIO NEGRO, ARGENTINA).

Alumna: *Maria Eugenia Orrego.*

Directora: **Dra. Marina A. Kroeck**

Co-Directora: **Mag. Catherine Dye**

Licenciatura en Biología Marina.

Escuela Superior de Ciencias Marinas,

Universidad Nacional del Comahue,

2019



*Al cielo,
y a la vida,
porque a pesar de
tantas,
siempre me mantuvo
fuerte y me dio el
placer de cumplir
sueños.
Y gracias por creer en
mí.
Esto es para vos,
Manuel "Lolo"
García.
Abuelo, papá y
padrino...*

Agradecimientos.

Gracias por las memorias...

Es increíble ver como cuando menos te lo esperas, llega lo que con tanto esfuerzo costo alcanzar y conseguir...

Elige esta carrera desde chiquita, cuando tenía seis años, y me vine sola a cumplir un sueño acá a SAO; y ahora que llego el día, solo me queda decir gracias...

Primero, gracias a mis directoras: Marina y Caty, por acompañarme en este camino. Fueron excelentes guías, personas, mamás, levanta ánimos, compañeras en todo el momento. Secando lágrimas cuando se hacía difícil, y alentando a no dejar caer los brazos, ¡nunca!

A mis compañeras y amigas del laboratorio: con ellas aprendí a ser mejor persona, ¡a que trabajar en un ambiente entre risas es lo mejor! Y que todos los días, se puede aprender más y más. Y sin dudarlo, siempre están ahí para el mejor consejo cuando se necesita: Angélica, Pato, Marisa, Graciela, Shir y Carito...

A Quique Morsan y Víctor, que siempre con sus anécdotas y enseñanzas de vida, aprendí mucho asimismo de los consejos laborales que me han dado y las oportunidades de poder capacitarme con ellos...

A mis compañeras de ALCEC, por aceptarme y permitirme, darme un lugarcito para ayudar a los demás, fuera de los libros; como así también, por todas las juntadas y salidas...

A mis fieles amigas que hice en SAO Sofy, Lior, Orly, Cintia como así Pauli y Aldi, de Zapala; que desde que las conocí nunca más nos separamos y en todo momento, bueno o malo, estuvieron ahí para acompañarme: con mucho ánimo, mates, comidas, salidas, jodas, disfrutando de cada momento juntas...

A mis dos mejores amigos de toda la vida: Ailu y Seba. Tantos años de amistad compartidos que la palabra "amistad", les queda corto. Son hermanos que la vida me dio, de fierro a morir estando en todo

momento incluso a pesar de la distancia que nos separa. ¡La amistad jamás cambió!

A mi novio Yafar, que, aunque nos conocimos tarde, hizo por mí grandes cosas que jamás nadie hubiera podido hacer. Más que novio, es mi compañero, amigo, consejero, protector, excelente hombre. Llevamos dos años juntos y espero que sean muchos más, te amo amor...

A mis abuelos que siempre me acompañaron a la distancia, con sus llamados y los mimos que recibía cuando iba a visitarlos. Abuela Negra, Chita y Pascual.

A mis padres Ana y Oscar, que me dieron todo desde chiquita y acompañaron en este camino. Sé cuánto sacrificio hicieron por mí; y aunque los hacía enojar o me retaban por me costaba o porque no podía más, siempre confiaron en mí. Sea a donde sea que tenía que ir Chile, Ushuaia, Corrientes, ahí salían conmigo. Tal vez, nunca entendieron mucho mi carrera, pero sabían que era para que crezca profesionalmente, ahí estaban ayudándome para lograrlo. Espero que les guste esta alegría y estén orgullosos de mí...

A mi sobrino Teo, que me daba el empujuncito para poder seguir, cuando extrañaba estar en casa de mis padres...

A mi persona favorita, Abuelo Lolo, esto es para vos. Estuviste conmigo desde el día que nací y nunca me dejaste sola, confiaste en mí en todo momento e hiciste que aprendiera mucho de la vida gracias a tus enseñanzas y tus cuidados. Fuiste el mejor abuelo, padrino y papa que la vida pudo haberme dado. Espero que donde estés, sientas mucho orgullo por mí... Te amo y te extraño...

A las personas que alguna vez me dieron una palabra de aliento, para seguir y no caer jamás... No quiero olvidarme de nadie...

Y, por último, a mí misma, porque, aunque ustedes no lo crean; estudiar sabiendo que tenes una enfermedad psicológica no es fácil. Saber que por ahí sos propensa a tener una crisis antes de un parcial, la noche anterior a un final, días antes de tener promocionar la materia; y tratar de que tu cabeza y tu cuerpo, estén tranquilos y

poder rendir dando lo máximo fue difícil. Gracias a dios, hay gente que me dio una mano y pude concretar este sueño.

Al fin lo logre, después de tanto, llegue...

Gracias a todos y a la vida...

Siempre siendo fiel a uno mismo, puede lograr grandes cosas...

Ma Eugenia...

Resumen

La etapa reproductiva de todo ser vivo, cumple un rol fundamental dentro de su ciclo de vida. Los moluscos bivalvos, son organismos dioicos, de fecundación externa, con existencia de algunas especies hermafroditas. La Familia Glycymeridae, abarca un conjunto de especies conservadoras en cuanto a su morfología. De carácter cosmopolita.

La especie *Glycymeris longior* habita fondos arenosos y se distribuye desde Rio de Janeiro (Brasil) hasta el golfo San Matías (Argentina). Su actividad reproductiva ha sido escasamente estudiada, a pesar de ser considerada como una especie de potencial interés económico (Doldan, 2006).

Este trabajo de Tesina describe las características reproductivas de *G. longior* en el golfo San Matías, en el periodo comprendido entre junio de 2015 y julio de 2016, y su relación con las variables ambientales, Temperatura y Clorofila *a*.

Durante el periodo de estudio se colectaron mensualmente 30 ejemplares, los cuales fueron medidos, pesados y procesados mediante técnicas histológicas convencionales. A partir de las secciones histológicas, los individuos fueron sexados y luego se establecieron los estadios de desarrollo gonadal y sus proporciones mensuales. El grado de maduración gonadal fue estimado cuantitativamente utilizando la distribución de frecuencias de diámetro ovocitario, número medio de ovocitos por campo y el área ovocitaria relativa.

Los parámetros ambientales (temperatura superficial del mar y concentración de Clorofila *a*) fueron obtenidos a partir del procesamiento de imágenes satelitales (oceancolor.gsfc.nasa.gov - satélite MODIS-Aqua), utilizando el programa SeaDAS 7.4, y de las mediciones *in situ* de la temperatura.

Se analizaron 354 individuos, de un total de 363. Utilizando un test estadístico de χ^2 (X^2), para un $N = 351$, la proporción sexual de la población de *Glycymeris longior* analizada difiere de 1:1. La cantidad de machos por hembra es de 1,38 y la cantidad de hembras por macho es de 0,78. La proporción de sexos observada es 0,85% hermafroditas, 41,88% hembras y 58,11% machos.

El desarrollo gonadal presenta cinco estadios bien definidos: proliferación, maduración, maduración total, evacuación y evacuación con recuperación. Este último estadio indica la ausencia de reposo gonadal durante el ciclo reproductivo de la población

estudiada. Se identificaron dos épocas de máxima madurez: octubre–noviembre 2015 y mayo 2016.

Al comparar el ciclo de desarrollo gonadal con los parámetros ambientales, se observó que los estadios de madurez coinciden con los picos máximos de clorofila y con un rango de temperatura entre los 10° a 14°C.

Se identificó atresia gonadal en 122 hembras, de un total de 147 durante todo el año; afectando todos los estadios reproductivos de la especie entre el 70% y 100% de los ejemplares, con máximos en marzo y abril 2016.

La clorofila tendría un efecto de mayor importancia que la temperatura, dado que esta última no funcionaría como disparador del ciclo reproductivos. Las causas de la atresia, no presentan relación alguna con los parámetros ambientales estudiados en este trabajo.

Palabras claves: *Glycymeris longior*, Golfo San Matías, reproducción, Atresia, parámetros ambientales, Patagonia.

Abstract.

The reproductive stage of every living being plays a fundamental role in its life cycle. The bivalve mollusks are dioic organisms, with external fertilization, with the existence of some hermaphroditic species. The Glycymeridae Family, includes a set of conservative species in terms of its morphology. Cosmopolitan in character

The species *Glycymeris longior* inhabits sandy bottoms and is distributed from Rio de Janeiro (Brazil) to the San Matías gulf (Argentina). Its reproductive activity has been scarcely studied, despite being considered as a species of potential economic interest (Doldan, 2006).

This work of Tesina describes the reproductive characteristics of *G. longior* in the San Matías Gulf, in the period between June 2015 and July 2016, and its relationship with the environmental variables, Temperature and Chlorophyll a.

During the study period, 30 specimens were collected monthly, which were measured, weighed and processed by conventional histological techniques. From the histological sections, the individuals were sexed and then the stages of gonadal development and their monthly proportions were established. The degree of gonadal maturation was quantitatively estimated using the oocyte diameter frequency distribution, the average number of oocytes per field and the relative oocyte area.

The environmental parameters (sea surface temperature and Chlorophyll a concentration) were obtained from satellite image processing (oceancolor.gsfc.nasa.gov - MODIS-Aqua satellite), using the SeaDAS 7.4 program, and in situ measurements of the temperature.

We analyzed 354 individuals, out of a total of 363. Using a statistical test of Chi² (X²), for a N = 351, the sexual proportion of the population of *Glycymeris longior* analyzed differs from 1: 1. The number of males per female is 1.38 and the number of females per male is 0.78. The sex ratio observed is 0.85% hermaphrodites, 41.88% females and 58.11% males.

The gonadal development presents five well-defined stages: proliferation, maturation, total maturation, evacuation and evacuation with recovery. This last stage indicates the absence of a stage of gonadal rest during the reproductive cycle of the population studied. Two periods of maximum maturity were identified: October-November 2015 and May 2016.

When comparing the cycle of gonadal development with the environmental parameters, it was observed that the stages of maturity coincide with the maximum peaks of chlorophyll and with a temperature range between 10 ° to 14 ° C.

Gonadal atresia was identified in 122 females, out of a total of 147 throughout the year; affecting all the reproductive stages of the species between 70% and 100% of the specimens, with maxima in March and April 2016.

Chlorophyll would have an effect of greater importance than temperature, since the latter would not function as a trigger for the reproductive cycle.

The causes of atresia do not have any relationship with the environmental parameters studied in this work.

Keywords: *Glycymeris longior*, San Matías Gulf, reproduction, Atresia, environmental parameters, Patagonia.

Índice.

1. Introducción.	12
2. Objetivos.	
2.1 <i>Objetivo Principal.</i>	18
2.2 <i>Objetivos Particulares.</i>	18
3. Materiales y Métodos.	
3.1 <i>Área de Estudio.</i>	19
3.2 <i>Obtención de Muestras</i>	20
3.3 <i>Procesado de Muestras Histológicas.</i>	21
3.4 <i>Análisis del patrón reproductivo.</i>	24
3.5 <i>Obtención de parámetros ambientales.</i>	25
4. Resultados.	
4.1 <i>Análisis del patrón reproductivo.</i>	30
4.1.1 Estadios de Desarrollo Gonadal.	31
4.1.2 Estadio de desarrollo gonadal en Hembras	32
4.1.3 Estadio de desarrollo gonadal en Machos	39
4.1.4 Proporción de los estadios de desarrollo gonadal en un ciclo anual	47
4.1.5 Índice de Condicion	48
4.1.6 <u>Distribución de frecuencia de diámetro ovocitario (DFDO), Diametro Ovocitario Pormedio (DOP), número medio de Ovocitos por Campo (OPC)</u>	

y	Área	Ovocitaria	Relativa	(AOR).
				49
<hr/>				
4.2	<i>Parámetros ambientales</i>			52
4.2.1	Temperatura Superficial del			
	mar			52
4.2.2	Clorofila <i>a</i>			52
4.3	<i>Análisis del ciclo reproductivo con los parámetros ambientales</i>			54
4.4	<i>Anomalías histológicas durante el ciclo reproductivo</i>			58
5.	Discusión			67
6.	Conclusión			73
7.	Bibliografía			74

1. Introducción.

Todos los organismos poseen un ciclo de vida caracterizado por un patrón de crecimiento, desarrollo y tipo de reproducción (Smith y Smith, 2007).

Muchos autores consideran a la reproducción como un proceso muy importante en términos evolutivos, ya que es la fuente de renovación de las poblaciones y su finalidad es la transmisión de características genéticas a la descendencia (Santo *et al.*, 2010). El éxito reproductivo de un individuo depende de diversos factores como por ejemplo sus adaptaciones fisiológicas y sus patrones de reproducción. Según Smith y Smith (2007), “*cuanto mayor sea la capacidad de generar descendientes que se reproduzcan, mayor será su eficiencia*”, y, por lo tanto, su permanencia en el ambiente.

Entre los invertebrados marinos en general, existen diversos patrones reproductivos. Estos períodos reproductivos se explican como una adaptación a la potencial variación ambiental, permitiendo que la presencia de una parte de los descendientes coincida con condiciones ambientales adecuadas para su desarrollo (Calvo *et al.*, 1998). Los bivalvos comprenden un grupo de moluscos cuyos integrantes poseen el cuerpo comprimido y rodeado por dos estructuras duras denominadas valvas, que recubren y protegen las partes blandas de animal (Calcagno, 2014). Éstas, se encuentran articuladas entre sí, permitiendo la apertura y cierre de las mismas. Al momento de su apertura, las diferentes estructuras del animal (por ejemplo, sifones, pie o branquias) pueden ser expuestas de manera temporal, permitiendo así procesos de alimentación, locomoción, evacuación de gametas, entre otras. En aquellos organismos de hábitos bentónicos que viven enterrados o semienterrados, su morfología está relacionada con el modo de vida (Stanley, 1970).

La mayoría de los moluscos bivalvos son dioicos y son raros los casos de dimorfismo sexual. (Pérez Camacho y Román, 1987). El sistema reproductivo de estos individuos es sencillo. Las gónadas, de origen mesodérmico, están formadas por alvéolos ramificados, y los gametos proliferan a partir del revestimiento epitelial de los mismos. Estos alvéolos se unen para formar conductos que conducen a otros más grandes, que eventualmente terminan en un gonoducto corto por medio del cual se evacúan las gametas hacia la cavidad del manto (Gosling, 2003).

La fecundación es externa y los gametos se liberan a través de la apertura exhalante del manto, excepto en el caso de las ostras donde muchas especies retienen óvulos dentro de la cavidad del manto (Gosling, 2003).

La Familia Glycymeridae abarca un grupo de especies que es particularmente conservador en su diversidad morfológica. De carácter cosmopolita, esta familia se encuentra dentro del Superorden Arcoida.

La Familia Glycymeridae presenta, al igual que otras familias de bivalvos, un ciclo reproductivo modelado por diversos parámetros ambientales, por lo que su distribución poblacional se da dentro de rangos ambientales determinados y en sustratos estables (Thomas, 1975). Si tenemos en cuenta, que la reproducción implica un direccionamiento de la energía utilizada en crecimiento, para la reproducción, las variables externas que más influirían son la temperatura y la disponibilidad de alimento (Hilbish y Zimmerman, 1988; Starr, Himmelman y Therriault, 1990; Pérez, González y Fuentes, 1991; Le Pennec *et al.*, 1991; Seed y Suchanek, 1992). Ejemplo de ello, es la especie *Perna perna*, donde la estrategia de reproducción continua es sustentada por la disponibilidad de alimento, sugiriendo que estamos ante la presencia de una especie de

bivalvo con una clara estrategia “oportunista” al contar con una continua fuente de energía, la aprovecha para una efectiva propagación de la especie (Licet, 2011).

La distribución ambiental de *Glycymeris* es bastante consistente de una región a otra. Estas especies se encuentran tanto en aguas tropicales como templadas, a profundidades entre 3 y 130 m, aunque no suelen ser comunes en profundidades menores de 10 m. Se encuentran en arena, grava o fondos de grava fangosos. Típicamente asociados con las comunidades del fondo de baja diversidad faunística. Las grandes poblaciones de *Glycymeris* se distribuyen en parches sobre fondos limpios, a menudo barridos por fuertes corrientes (Thomas, 1975).

La anatomía interna, en la Familia Glycymeridae, presenta aspectos básicos generales: filobranquias, músculos aductores subiguales, márgenes del manto sin fusionar y un pie grande en forma de disco. Externamente poseen valvas subcirculares, usualmente simétricas alrededor del umbo, articuladas mediante un ligamento externo potente ubicado en un área ligamental en surco estriado. Las valvas poseen costillas planas y un periostraco denso (Thomas, 1975).

Dentro de esta familia se han descrito varias especies como *Glycymeris glycymeris* (Steingrímsson, 1989), *Glycymeris nummaria* (Crncevic, 2013), *Glycymeris gigantea* (Villalejo-Fuerte, 1995), *Glycymeris pectina* (Thomas, 1975), *Glycymeris pectinata* (Stanley, 1970), entre otras. Estas descripciones se focalizan en la descripción de localización y hábitat, sólo en algunas de ellas, se ha determinado patrones reproductivos como, por ejemplo, en *Glycymeris glycymeris* (Steingrímsson, 1989), *Glycymeris nummaria* (Crncevic, 2013), *Glycymeris gigantea* (Villalejo-Fuerte, 1995), identificando estacionalidades propias para cada especie y periodos de desove concretos.

El presente trabajo tiene como objeto de estudio a la almeja castañuela (Fig. 1), *Glycymeris longior*, cuya clasificación taxonómica es la siguiente:

Phylum: Mollusca

- ✓ Clase: Bivalvia (Linnaeus, 1758)
- ✓ Subclase: Pteriomorphia (Beurlen, 1944)
- ✓ Orden: Arcida (Stoliczka, 1871)
- ✓ Superfamilia: Arcoidea (Lamarck, 1809)
- ✓ Familia: Glycymerididae (Dall, 1908)
- ✓ Género: *Glycymeris* (Da Costa, 1778)
- ✓ Especie: *Glycymeris longior* (Sowerby, 1832)

La especie *Glycymeris longior* (Fig. 1), en el Océano Atlántico Sur, se distribuye desde Espiritu Santo, Brasil (20° 19' S, 40° 20' O) hasta el Golfo San Matías (GSM), Argentina (GSM; 40° 50' a 42° 15' S, 63° 5' a 65° 10' O) (Scarabino, 1977) (Fig. 2).



Figura 1: Vista externa de un individuo de *Glycymeris longior*.

Dentro del GSM, esta especie habita en fondos de arena, conchilla y grava, a profundidades que varían desde los 6 hasta los 20 mts, en las zonas de El Sótano (ES) y la Bahía San Antonio (BSA).

Iturate (1997), realizó un trabajo sobre *Glycymeris longior*, en el cual explica y describe la sexualidad de esta especie y la morfología gonadal. Este órgano es una glándula acinosa situada sobre el pie, sin delimitación anatómica precisa ya que se infiltra entre los órganos de la masa visceral. Números fascículos musculares transversales se disponen entre los acinos. Está cubierta exteriormente por un espeso tegumento bajo el cual se insinúa una fina red de canaliculos (gonoductos) que convergen en varios ramos principales hacia la región postero-dorsal del cuerpo, inmediatamente por encima de los músculos retractores del pie. La pared de estos ductos está formada por un epitelio uniestratificado por la presencia de una larga ciliatura con muy escasas fibras musculares subyacentes. En base a esta estructura se infiere que el proceso de evacuación de las gametas está determinado fundamentalmente por la acción ciliar y por movimientos peristálticos.

En cuanto a la proporción de sexos, Iturate (1997) determinó una proporción sexual distinta de 1:1 esperada para una especie gonocórica, estas resultaron debidas al azar según la prueba de χ^2 (X^2), excepto en algunas clases milimétricas.

Estudios sobre longevidad y crecimiento fueron realizados por Giménez, 2017, quien demostró que las bandas de crecimiento de la especie se forman anualmente: alternando una banda translúcida durante los meses cálidos y una opaca en meses fríos. Estimó las edades de las almejas, que presentaron una edad media de 37,91 años y una moda de 37 años. La longevidad máxima observada fue de 69 años.

Aun así, algunos aspectos básicos de la biología como ciclo reproductivo, edad de primera madurez; no han sido estudiados hasta el momento en la población de ES.

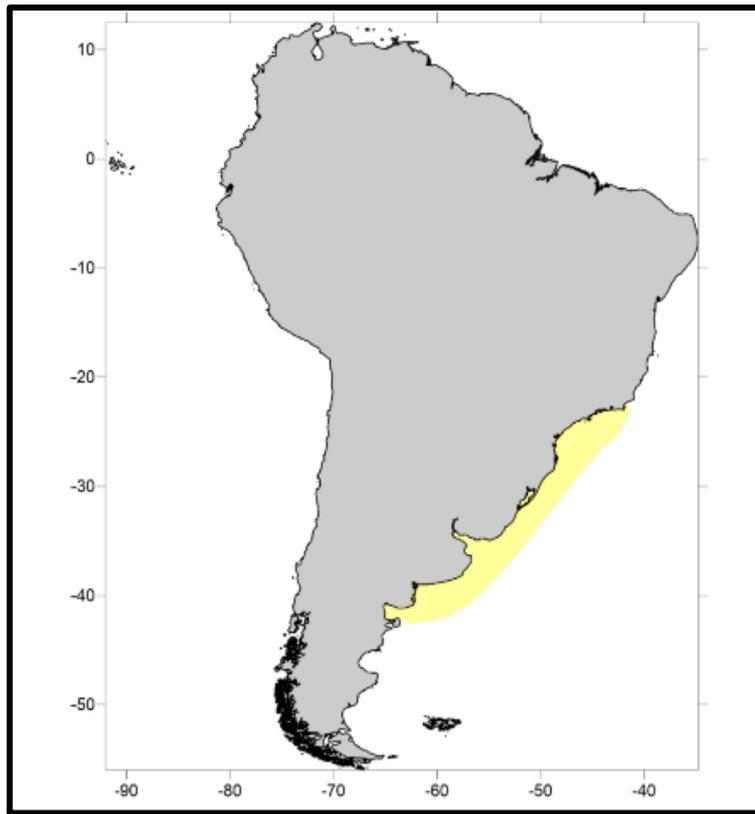


Figura 2: Distribución geográfica de *Glycymeris longior*.

2. Objetivos.

2.1 Objetivo Principal.

El presente estudio tiene como objetivo principal: Describir el ciclo reproductivo de *Glycymeris longior*, y su relación con parámetros ambientales, en la zona de El Sótano, (40°42' - 42°41' LS y 63°45' - 65°09' LO) dentro del Golfo San Matías.

2.2 Objetivos particulares

- Describir cualitativamente los estadios de desarrollo gonadal para cada condición sexual durante un ciclo anual
- Describir cuantitativamente el ciclo reproductivo, identificando la presencia de patrones estacionales en un ciclo anual.
- Establecer relaciones entre el ciclo reproductivo anual y sus patrones estacionales, con ciclos de temperatura y concentración de clorofila *a*.

3. Materiales y Métodos.

3.1. Área de Estudio

El Golfo de San Matías (Fig. 3) es una cuenca semicerrada que se comunica parcialmente con el mar abierto a través de un estrecho poco profundo (60 m de profundidad) que limita el intercambio de agua con el Mar Argentino (Rivas y Beier, 1990). Su superficie es de 19.700 km² y su profundidad máxima es de 180 m (Mazio y Vara, 1983). La circulación del agua en el golfo está dominada por dos remolinos, uno con el giro ciclónico en el norte y el otro con el giro anticiclónico en el sur. Un frente termohalino divide el agua en dos masas con diferentes condiciones oceanográficas: aguas relativamente frías se encuentran al sur del frente, mientras que las aguas cálidas y saladas se encuentran al norte del frente (Piola y Scasso, 1988). Las aguas de las costas NO y NE están separadas por las largas aristas arenosas alrededor de la desembocadura de la Bahía de San Antonio, e influenciadas por las corrientes de marea (Lanfredi y Pousa, 1988). La amplitud media de las mareas del Golfo es de 7,62 m (máximo 9,2 m) y la temperatura del agua varía, en promedio, de 10°C en agosto (invierno) a 18.2°C en enero (verano) a 20 m de profundidad. El sedimento del fondo está dominado por arena cerca de la línea de la costa y gradualmente se mezcla con fragmentos de conchas, grava y lodo. Los sedimentos fangosos predominan más allá de los 50 m de profundidad (Morsan *et al.*, 2010).

La zona de El Sótano (40° 59' LS- 65° 08' LO) está caracterizado por fondos planos compuestos por arena gruesa con abundantes cantos rodados y valvas de cholgas, *Aulacomya ater* (Bivalvia- Mytilidae). El Paraje El Sótano se encuentra a 12 km de la localidad Balneario Las Grutas, y el sitio de muestreo se ubica a 5 km de la línea de costa (Kroeck, 2005).



Figura 3: Golfo San Matías, Río Negro. Detalle: El Sótano (40°57,5' LS - 65°06,5' LO): Zona de estudio.

3.2. Obtención de Muestras

Las muestras de *Glycymeris longior* se colectaron durante un año, entre julio de 2015 y agosto de 2016, en la zona denominada el Sótano (40°57,5' LS - 65°06,5' LO) (Fig. 3) dentro del Golfo San Matías.

Las muestras fueron extraídas mediante buceo autónomo y posteriormente fueron trasladadas al Laboratorio de Parasitología e Histopatología de Moluscos Bivalvos (LABPAT-IBMP), perteneciente al Centro de Investigación Aplicada y Transferencia Tecnológica en Recursos Marinos Almirante Storni (CIMAS), para su ulterior procesamiento.

Los ejemplares fueron acondicionados en dos peceras debido a la cantidad de individuos, con aireación y agua de mar circulante, temperatura controlada (Fig. 4), durante un periodo de siete días y con recambio de agua día por medio, a fin de que los mismos puedan eliminar pseudoheces y residuos de arena del tracto digestivo.

Una vez transcurridos los siete días, se seleccionó al azar una submuestra de 30 individuos, 15 de cada pecera. Los organismos restantes se procesaron para realizar estudios de estructura poblacional y esclerocronología (Giménez, 2017).

Durante el periodo de estudio se procesaron un total de 360 individuos. A cada uno de ellos se le asignó una identificación: GlyX-GY, en donde X corresponde al número de muestreo (de 1 a 12); G indica la estructura analizada, en este caso gonadas, e Y es el número de individuo de ese muestreo (de 1 a 30).



Figura 4: Especímenes de *Glycymeris longior*, colocadas en las peceras.

3.3. Procesado de Muestras Histológicas

Al comienzo de cada muestreo, para cada individuo se registraron los siguientes parámetros: Peso total del individuo (Pt), peso de partes blandas (Pc) y alto total (At) medido con un calibre digital con precisión de 0,01 mm (Fig. 5). Se continuó con la disección por la zona del umbo, tomando un bisturí de hoja pequeña, para poder cortar el ligamento sin alterar las valvas. Se prosiguió hacia los laterales, con cuidado, cortando la zona del manto y los músculos aductores, logrando separar la valva superior. Posteriormente se terminó de cortar los restos de músculo, obteniendo así las partes blandas del individuo completo para luego ser pesadas. Este último fue colocado en una

caja de Petri para realizar la disección, eliminando branquias, excedentes de musculo abductor y manto (Fig. 6).

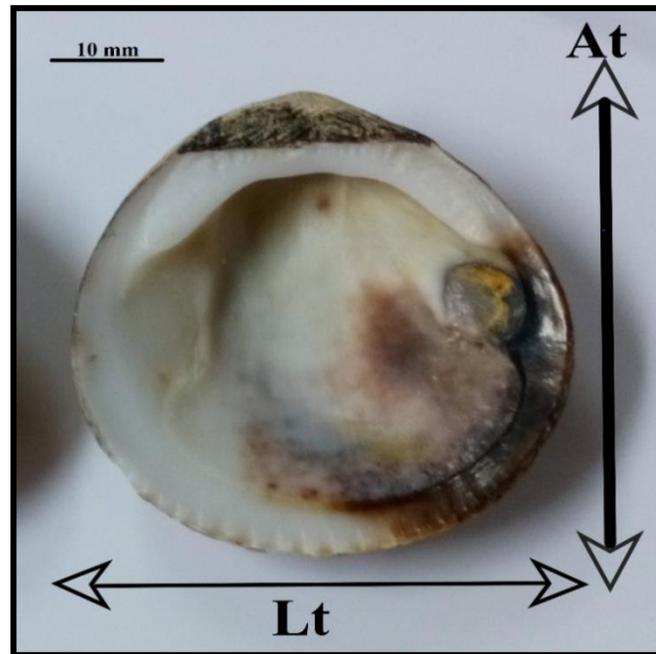


Figura 5: Vista interna de la valva de *Glycymeris longior*. **At:** alto total; **Lt:** largo total

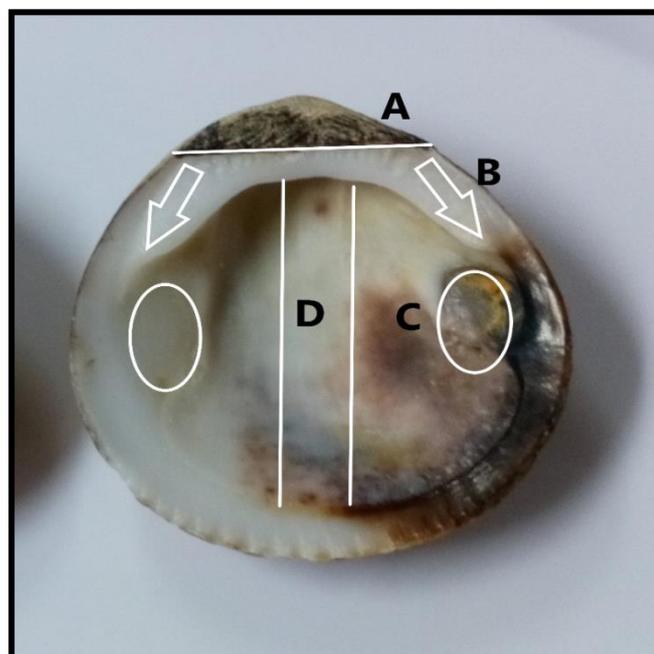


Figura 6 (A): Vista interna de la valva de *Glycymeris longior*, **A:** Corte de ligamento. **B:** Corte de manto, las flechas indican la dirección del corte. **C:** Corte de músculos abductores. **D:** Corte transversal, para individuos de $At > a\ 30\ mm$.

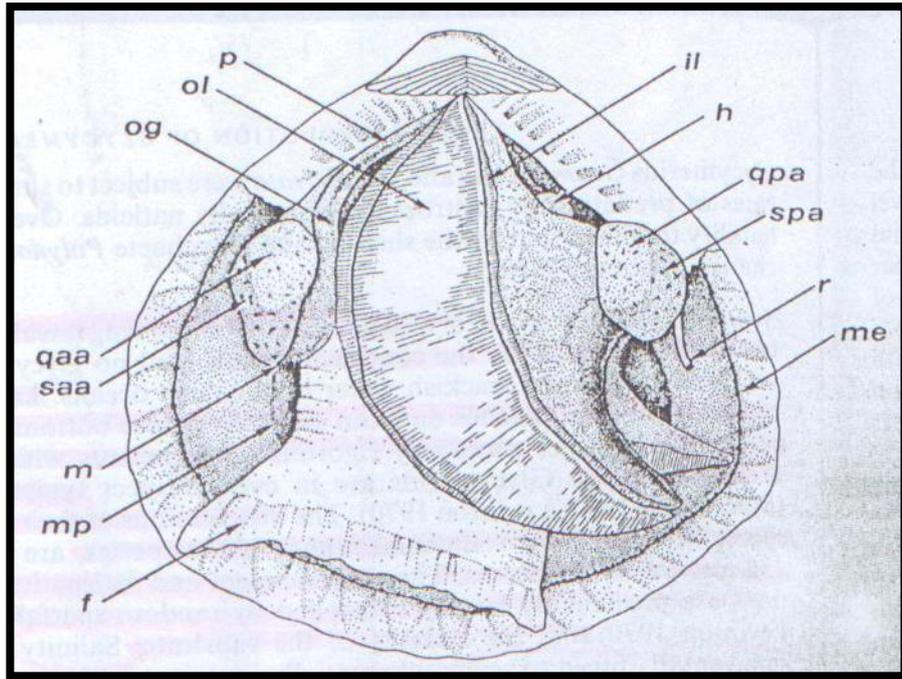


Figura 6 (B): Esquema de Anatomía interna de *Glycymeris spp.* **f:** pie; **mp:** superficie interna del manto; **m:** boca; **saa, qaa:** músculo abductor anterior lento y rápido; **og:** surco oral; **ol:** lamela ascendente del demibranquio externo; **p:** palpos labiales; **il:** lamela descendente del demibranquio externo; **h:** corazón; **qpa, spa:** músculo ductor posterior rápido y lento; **r:** ano; **me:** ojos en el segundo pliegue de él margen del manto (retraído). Extraído de Thomas, 1975.

Todos los individuos con $At \leq 30$ mm fueron conservados enteros pero los individuos de $At > 30$ mm, fueron cortados de manera transversal (desde el umbo al borde opuesto) en dos partes iguales; con el fin de preservar la mayor cantidad de tejido posible dentro de los cassettes. Ambas partes o bien, el individuo entero, fueron colocados en cassettes para histología y sumergidos en la solución fijadora de Davidson (300 ml de agua de mar filtrada + 300 ml de Etanol 96° + 200 ml de formol 40% + 100 ml de glicerina) durante 24 horas a 4 °C en refrigerador. Pasado ese lapso de tiempo, se procede a descartar el fijador, se realizan tres lavados rápidos con agua corriente y se los conserva en Etanol 70% (700 ml de Etanol 96° + 300 ml de agua destilada). Posteriormente se continúa con la deshidratación e imbibición en Paraplast®, mediante el Procesador

automático de tejidos (Leica TP 1020), confección de los bloques, utilizando el Centro de inclusión de tejidos (Leica EG1150H) y, luego de 24 horas en refrigerador, se obtienen las secciones histológicas (de grosor 5 a 7 μm) mediante un micrótomo de rotación (Leica RM2125). Todos los cortes en el micrótomo, fueron realizados de manera transversal, independientemente si se trataba de un individuo entero o ambas partes de un mismo. Finalmente, los cortes son sometidos a coloración con Hematoxilina de Harris y Eosina, para luego, ser montados con resina o bálsamo de Canadá.

El análisis de cada una de las secciones histológicas se realizó bajo microscopio óptico (Nikon, Eclipse E 200), identificando el sexo y estadio de desarrollo gonadal de cada individuo.

3.4. Análisis del patrón reproductivo

La determinación del sexo de cada individuo se realizó en base al trabajo de Villarejo-Fuerte, 1995, quien describió individuos indeterminado, hembras y machos, y la proporción sexual fue testeada utilizando un test de Chi X^2 .

Por otra parte, los estadios de desarrollo gonadal se determinaron siguiendo la escala microscópica de Calvo, 1998.

El ciclo reproductivo analizado mensualmente, y caracterizado para un periodo anual, utilizando los siguientes indicadores:

- Índice de Condición fisiológica aparente (IC) *sensu* Urban (2000) según la siguiente fórmula: $IC = (Pc/Pv) * 100$; Siendo: Pc: peso de las partes blandas y Pv: peso de las valvas.

- Relación entre Distribución de Frecuencia de Diámetro Ovocitario (DFDO), Diámetro Ovocitario Promedio (DOP), Número medio de Ovocitos por Campo (OPC) y el Área Ovocitaria Relativa (AOR) (Morsan y Kroeck, 2005).

3.5. Obtención de parámetros ambientales

Los datos de profundidad y temperatura fueron registrados *in situ*, al momento de realizar los muestreos, por el personal del Programa de Monitoreo de Calidad Ambiental de las Zonas de Producción, Centro de Investigación Aplicada y Transferencia Tecnológica en Recursos Marinos Almirante Storni (CIMAS).

Paralelamente, para complementar de los datos proporcionados de temperatura obtenidos *in situ*, se trabajó con imágenes satelitales de temperatura superficial del mar (TSM) y Clorofila *a*. Estos parámetros fueron seleccionados debido a que son factores ambientales limitantes y modeladores de los patrones reproductivos dentro de la Familia Glycymeridae, tal como lo señala Thomas, 1975.

Las imágenes satelitales fueron obtenidas a partir de la selección del satélite MODIS-Aqua y descargadas de la página web oceancolor.gsfc.nasa.gov. Posteriormente fueron analizadas con el programa SeaDAS 7.4, durante una estadía de trabajo en LOPEL (Laboratorio de Oceanografía Pesquera y Ecología Larval, Departamento de Oceanografía de la Universidad de Concepción, Chile). Este programa funciona analizando una imagen a nivel global como primera instancia. Se determina y trabaja con el procesamiento de un área en forma de cuadrado, con coordenadas predeterminadas que engloban la zona de estudio. Las coordenadas preestablecidas fueron (39° N, 66° O, 45° S y 57° E), con la posibilidad de tener un mayor rango de datos disponibles. La imagen obtenida se guardó en forma de CSV. Este procedimiento, se realizó día por día, para cada uno de los meses del periodo de obtención de muestras. En los días con nubosidad y/o si el área de estudio no presentaba información, esos datos eran eliminados en cada mes. Los datos obtenidos en formato CSV, se separaron por mes y se los analizó con el programa R, mediante el cual se llevó a cabo el filtrado de los mismos, pues aquellos que

presentaban valores negativos se eliminaron, dado que son valores no significativos para el estudio.

4. Resultados

Durante el periodo comprendido entre junio 2015 y agosto 2016, se colectaron vivos un total de 1432 individuos de *Glycymeris longior*, en el banco natural de El Sótano (Golfo San Matías) (Giménez, 2017). Del total de individuos colectados, se utilizó una submuestra de 363 individuos cuya talla promedio fue de 40,99 mm (DE= ± 2,3) de alto, 39,45 mm (DE= ±2,34) de largo y, un peso total promedio de 31,47 g (DE=± 0,74).

La distribución de frecuencia de tallas (At), de los organismos analizados, muestra una distribución unimodal (Moda: 40.83 \cong 41mm) con tallas, mínima de 30 mm y máxima de 46,38 mm (Fig. 7).

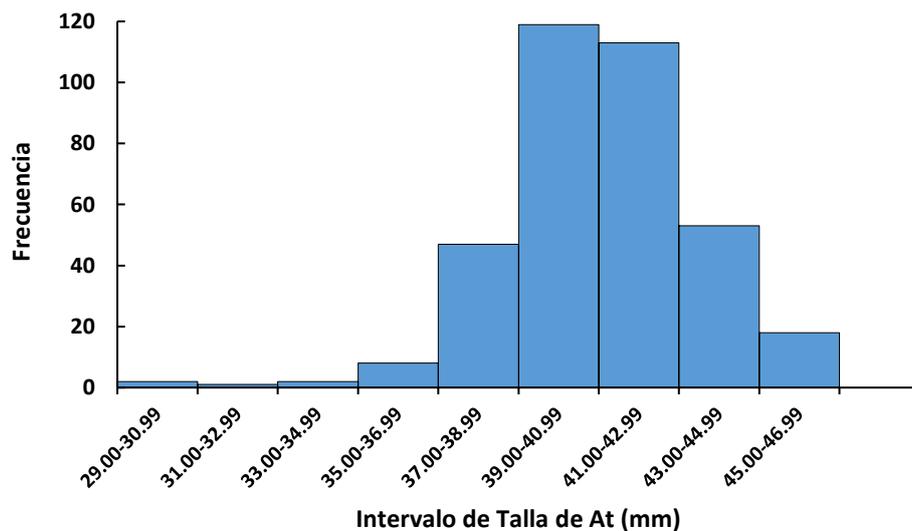


Figura 7: Histograma de distribución de frecuencias de tallas (At) de *Glycymeris longior*, correspondiente a los individuos analizados (n=363).

A partir del análisis de las secciones histológicas se pudo determinar que *Glycymeris longior* posee gónadas difusas, esto es, los alvéolos gonadales se encuentran dispersos e inmersos dentro del tejido conectivo. Al momento de formación, las gónadas se originan desde la zona del pie, principalmente, extendiéndose hacia la cavidad central del hepatopáncreas, encontrándose alvéolos entre los acinos del mismo y/o rodeando la

glándula. Externamente, la gónada se encuentra limitada por el tejido muscular de la pared corporal.

Al momento de asignar los sexos, se identificaron tres grupos:

- **Machos**: Presencia únicamente de células sexuales masculinas (Fig. 8).
- **Hembras**: Presencia únicamente células sexuales femeninas (Fig. 9).
- **Hermafroditas**: son individuos que presentan gametas de ambos sexos (Fig. 10).

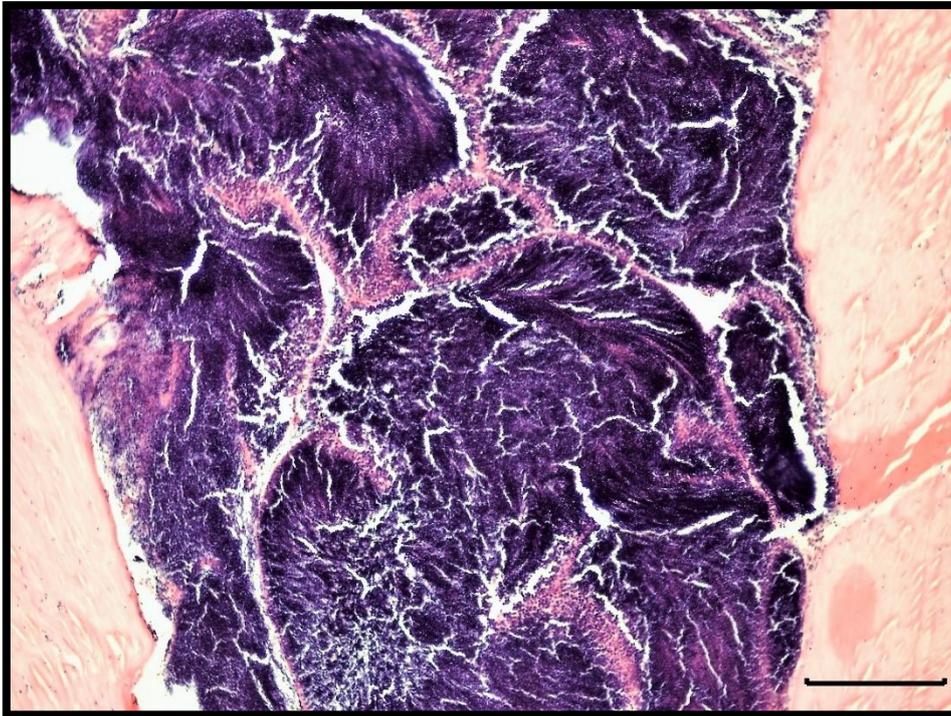


Figura 8: Sección de una gónada masculina. Aumento total:100x. Escala: 100 μ m.

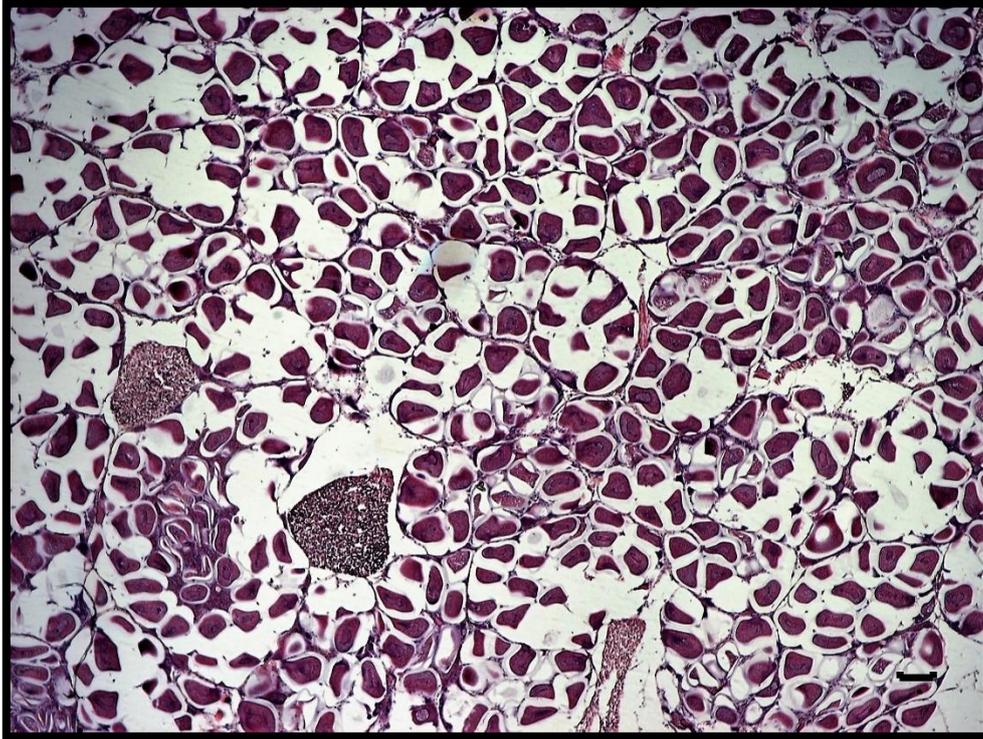


Figura 9: Sección de una gónada femenina. Aumento total:100x. Escala= 100 μ m.



Figura 10: Sección de una gónada hermafrodita. **Oog:** ovogonia; **Ov:** ovocitos maduros; **Spz:** espermatozoides. Aumento total: 400x. Escala: 10 μ m.

4.1. Análisis del patrón reproductivo.

La proporción de sexos observada es 0,85% (3/351) hermafroditas, 41,88% (147/351) hembras y 58,11% (204/351) machos. La proporción sexual de la población de *Glycymeris longior* analizada difiere significativamente de 1:1 (X^2 : 9,26; $p \leq 0,005$), siendo la cantidad de machos por hembra de 1,38 y la cantidad de hembras por macho de 0,78.

El número de individuos machos y hembras fue variable entre los meses durante periodo (Tabla 1) de estudio.

Tabla 1: Número total de individuos Hembras, Machos y Hermafroditas de *Glycymeris longior* durante el periodo de estudio.

Fecha	Hembras	Machos	Hermafroditas
Junio 2015	13	15	0
Julio 2015	12	13	3
Agosto 2015	11	19	0
Octubre 2015	17	12	0
Noviembre 2015	9	21	0
Enero 2016	14	16	0
Marzo 2016	13	17	0
Abril 2016	14	16	0
Mayo 2016	11	18	0
Junio 2016	9	21	0
Julio 2016	13	16	0
Agosto 2016	11	19	0

4.1.1. Estadios de desarrollo gonadal

Para la especie *Glycymeris longior* en el Golfo San Matías, se establecieron los siguientes estadios de desarrollo gonadal: Proliferación (P), Maduración (MAD), Maduración Total (MDT), Evacuación (EV) y Evacuación con Recuperación (EVR), los cuales se describen, en forma genérica, a continuación:

- ✓ Etapa de proliferación: el tejido gonadal se origina en alvéolos compactos, rodeados por tejido conectivo. Estos alvéolos, de forma circular u oval, contienen células germinativas madres (células sexuales) adheridas a sus paredes internas.
- ✓ Etapa de maduración: la mayoría de las células germinativas femeninas se encuentran en proceso de vitelogénesis, y en los machos se puede observar toda la serie gametogénica.
- ✓ Etapa de maduración total: los alvéolos se encuentran dilatados, repletos de gametas maduras en su totalidad (se considera concluida la gametogénesis). La evacuación gamética puede iniciarse ante una variedad de estímulos químicos y/o físicos.
- ✓ Etapa de evacuación total: se caracteriza porque las gametas maduras se encuentran en los conductos de evacuación, produciéndose el vaciamiento total de las gónadas. Pueden quedar algunas gametas residuales que serán reabsorbidas por las células con actividad fagocitaria (hemocitos). Estos últimos pueden invadir el alvéolo desde los vasos hemolinfáticos o desde el tejido conectivo interalveolar. Los alvéolos se aprecian algo más reducidos perdiendo el contacto entre ellos, apareciendo un reducido espacio en su interior.
- ✓ Etapa de evacuación con recuperación: los alvéolos, en ambos sexos, se aprecian algo más reducidos habiendo perdido su empaquetamiento denso. Se puede observar un aspecto general de marcado desorden de las gametas. Simultáneamente, sobre las

paredes alveolares, originan nuevas células germinativas iniciando nuevamente con el ciclo de desarrollo gonadal.

Las evacuaciones gaméticas parciales que se observaron pueden tener diferentes características:

- A. Emisión de parte del contenido gamético que luego es recuperado por maduración de cada camada de células inmaduras.
- B. Un proceso de pequeños pulsos de evacuación y maduración por avance de células sexuales que estaban en proceso de vitelogénesis

En ninguno de los sexos se identificó un *estadio de reposo sexual*, sino que el ciclo reproductivo es continuo, generando gametas nuevas inmediatamente posterior a la evacuación de las gametas ya maduras.

4.1.2. Estadios de desarrollo gonadal en hembras:

1. Proliferación (Fig. 11A)

El tejido conectivo con células de reserva es abundante y se genera de forma adyacente al tejido muscular. Se observa división celular de los grupos de ovogonias y ovocitos basófilos pequeños (previtelogénicos), los cuales se encuentran unidos ampliamente a la pared alveolar. En esta especie, particularmente, los alvéolos se observan bien redondeados y grandes. Se observan ovocitos maduros residuales (de un ciclo anterior) en lisis.

2. Maduración (Fig. 11B)

Los alvéolos gonadales presentan mayor tamaño, dado que las gametas inician un proceso de aumento en número y tamaño. Se observan ovocitos maduros, aún adheridos

a la pared alveolar, rodeados de otros en crecimiento dentro de cada alvéolo. Los ovocitos protruyen hacia la luz alveolar manteniéndose unidos aún a la pared por pedúnculos citoplasmáticos. Los ovocitos de mayor tamaño se vuelven más acidófilos por inclusiones de granos vitelinos.

3. Maduración total (Fig. 11C)

Los ovocitos vitelogénicos maduros se encuentran libres en la luz adoptando forma poligonal producto de la presión entre ellos. Los alvéolos se tornan de forma irregular debido a que la cantidad de ovocitos maduros no es la misma en todos.

Los ovocitos ya están desprendidos de las paredes del alvéolo, quedando compactados en su interior. Cada uno de ellos, presenta el núcleo bien marcado y definido; poseen forma redondeada o irregular. Su número varía considerablemente de un mínimo de 50 a 208 ovocitos por campo, en observaciones realizadas en un aumento total de 100x.

4. Evacuación total (Fig. 11D)

Los alvéolos quedan parcialmente vacíos y/o comienzan a romperse, quedando espacios vacíos; se observa mayormente tejido conectivo y/o muscular. Pueden quedar ovocitos maduros que no han sido evacuados aún, los cuales comienzan un proceso de reabsorción o degeneración de los mismos.

5. Evacuación con recuperación (Fig. 11E)

Se observan los alvéolos con ovocitos maduros y gran espacio entre ellos. Asimismo, en las paredes alveolares se observa el crecimiento de células germinativas: ovogonias y/o ovocitos de primer grado y tejido conectivo de reserva.

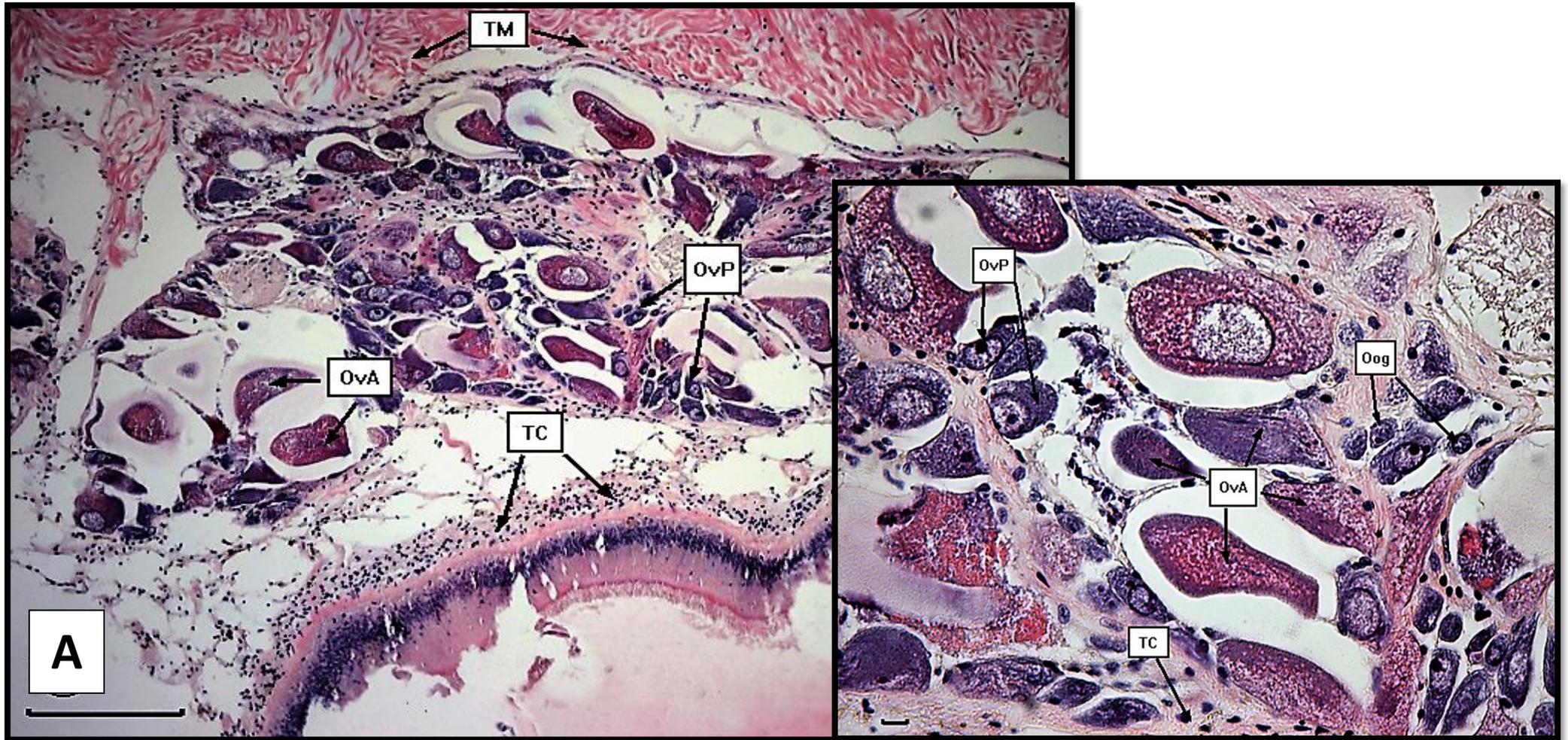


Figura 11: Estadios de desarrollo gonadal en hembras de *Glycymeris longior*. (A). Proliferación (TM, tejido muscular; TC, tejido conectivo; Oog, ovogonia; OvP, ovocito previtelogenico; Ov, ovocitos maduros; N, núcleo; Nu, nucléolo; A: alveolos; ZA: zona atresica; OvA, ovocitos atresicos). Aumento total:100x; Escala: 100 μ m. Detalle inserto, aumento total: 400x, escala: 10 μ m.

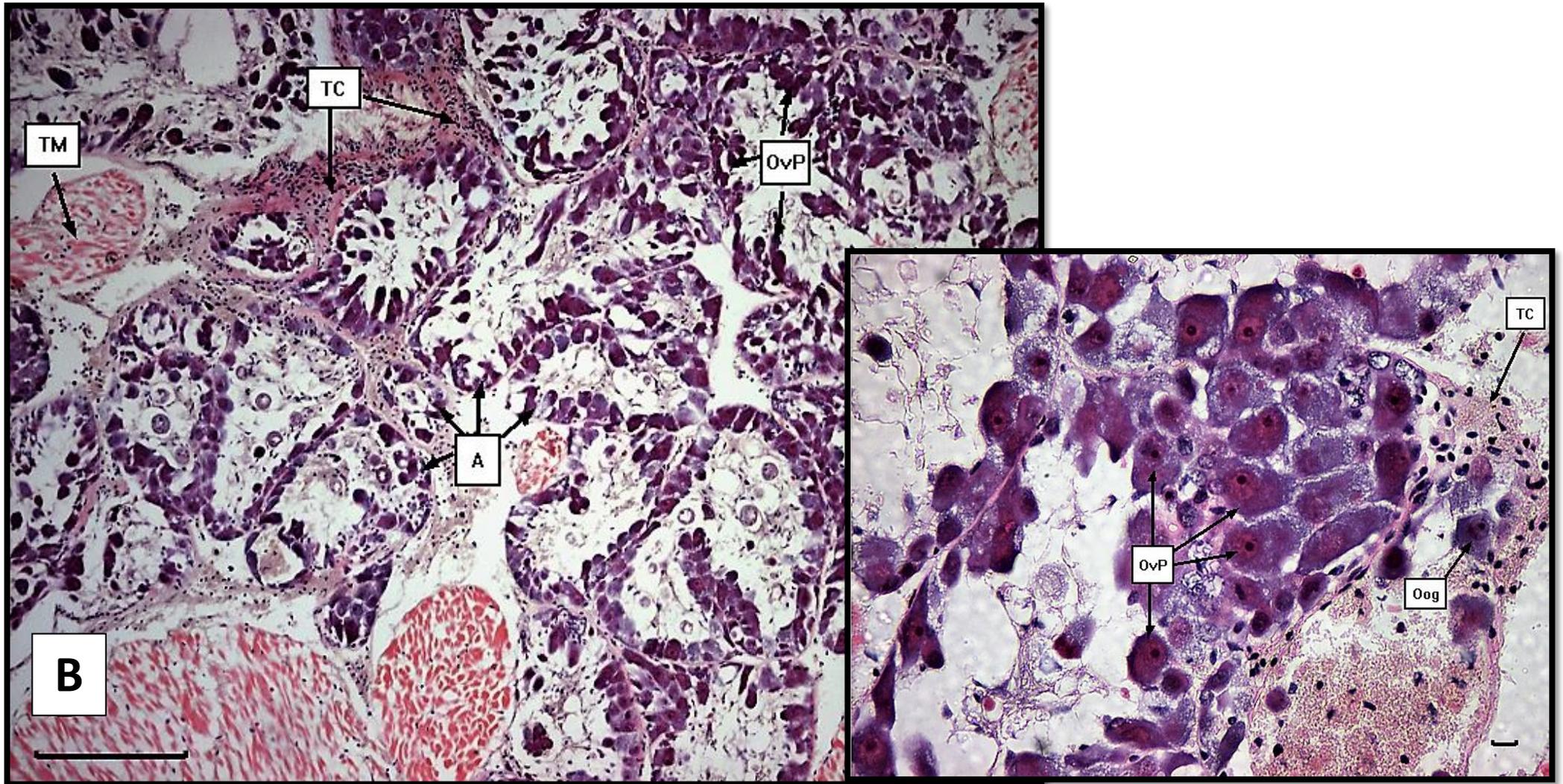


Figura 11: Estadios de desarrollo gonadal en hembras de *Glycymeris longior*. (B) Maduración. (TM, tejido muscular; TC, tejido conectivo; Oog, ovogonia; OvP, ovocito previtelogenico; Ov, ovocitos maduros; N, núcleo; Nu, nucléolo; A: alveolos; ZA: zona atresica; OvA, ovocitos atresicos). Aumento:100x; Escala: 100 μ m.

Detalle inserto, aumento total: 400x, escala: 10 μ m.

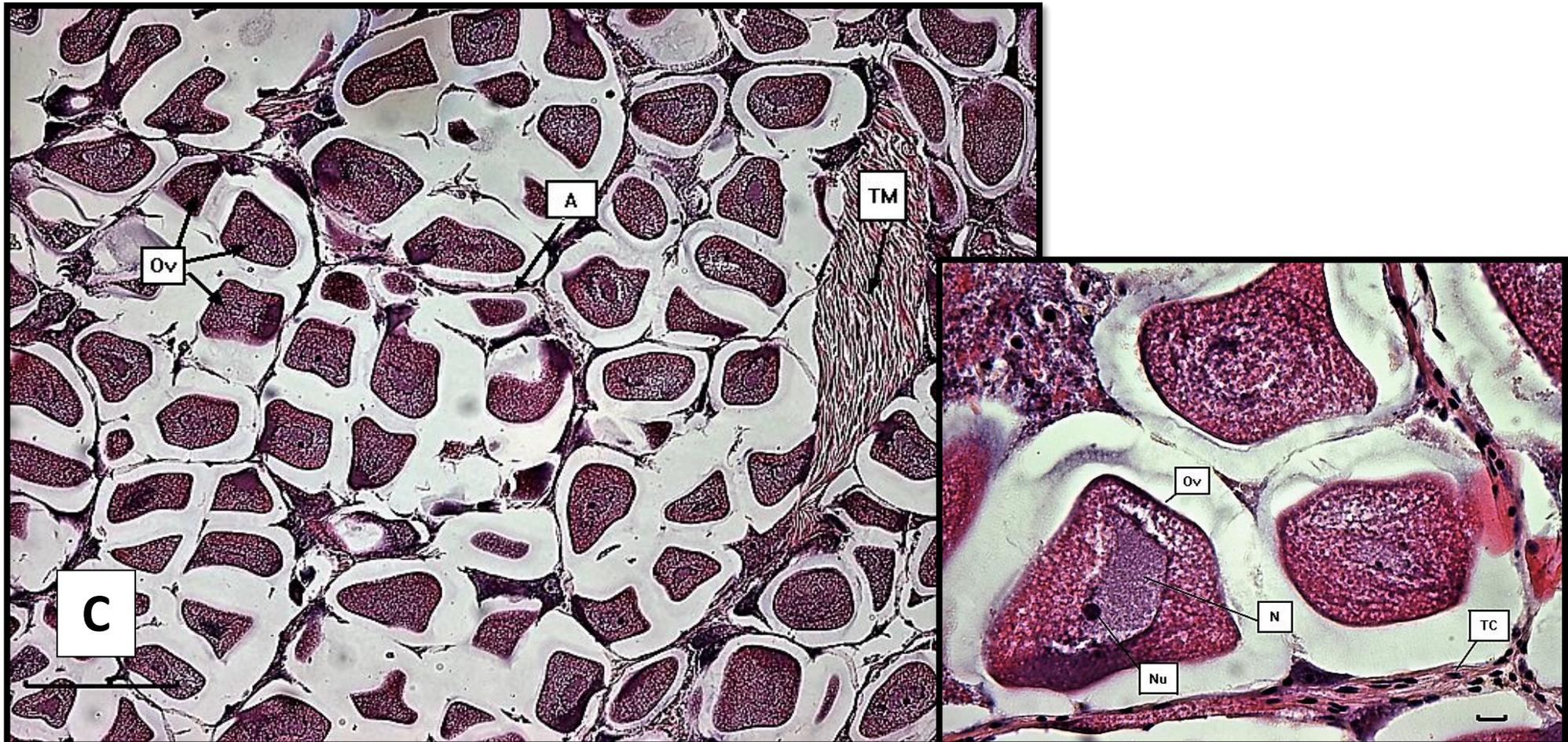


Figura 11 (continuación): Estadios de desarrollo gonadal en hembras de *Glycymeris longior*.
 (C) Maduración Total (TM, tejido muscular; TC, tejido conectivo; Oog, ovogonia; OvP, ovocito previtelogenico; Ov, ovocitos maduros; N, núcleo; Nu, nucléolo; A: alveolos; ZA: zona atresica; OvA, ovocitos atresicos). Aumento:100x; Escala: 100 μ m.
 Detalle inserto, aumento total: 400x escala: 10 μ m.

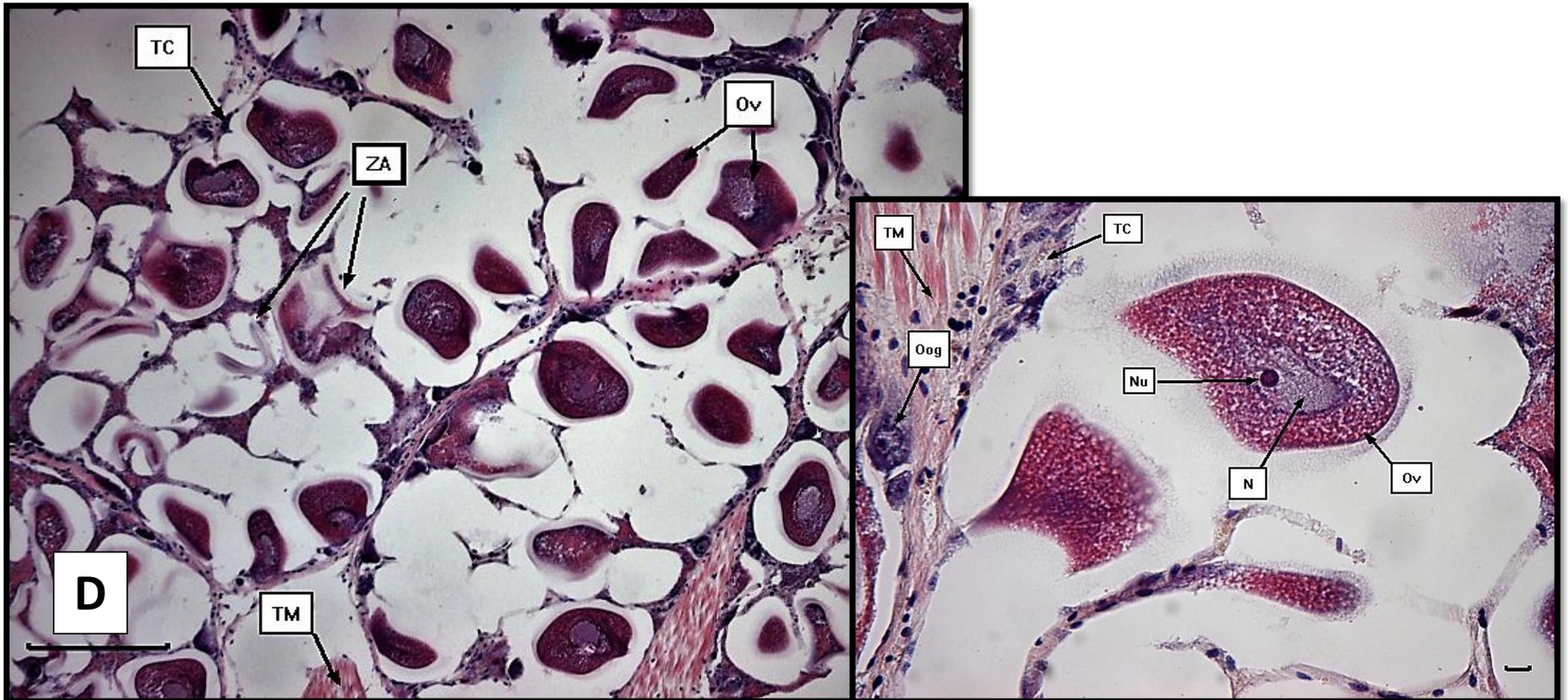


Figura 11 (continuación): Estadios de desarrollo gonadal en hembras de *Glycymeris longior*.
 (D) Evacuación total (TM, tejido muscular; TC, tejido conectivo; Oog, ovogonia; OvP, ovocito previtelogenico; Ov, ovocitos maduros; N, núcleo; Nu, nucléolo; OvA, ovocitos atresicos; A: alveolos; ZA: zona atresica). Aumento:100x; Escala: 100 μ m.
 Detalle inserto, aumento total: 400x, escala: 10 μ m.



Figura 11 (continuación): Estadios de desarrollo gonadal en hembras de *Glycymeris longior*.

(E) Evacuación con recuperación (TM, tejido muscular; TC, tejido conectivo; Oog, ovogonia; OvP, ovocito previtelogenico; Ov, ovocitos maduros; N, núcleo; Nu, nucléolo; A: alveolos; ZA: zona atresica; OvA, ovocitos atresicos). Aumento:100x; Escala: 100 μ m. Detalle inserto, aumento total: 400x, escala: 10 μ m.

4.1.3. Estadios de desarrollo gonadal en machos:

A diferencia de las hembras, el estadio de proliferación no se observó; en su lugar se pudo identificar un estadio de evacuación con recuperación.

1. Maduración (Fig. 12A)

Este estadio se caracteriza por la presencia de reconocen espermatogonias ubicadas sobre la pared interna del alvéolo y la presencia de espermatozoides maduros que se van ubicando en forma ordenada hacia la luz alveolar, con un porcentaje alto de espermátidas en la zona próxima a la pared del alvéolo. Entre estos últimos se puede observar un espacio interalveolar de tejido conectivo.

2. Maduración total (Fig. 12B)

Se observan sólo espermatozoides maduros ubicados en los alveolos para ser evacuados. Los espermatozoides se encuentran densamente empaquetados, con sus cabezas hacia la pared alveolar y las colas se extienden hacia la luz central. Queda una sola capa fina de espermatogonias formando una muy delgada capa periférica. Los alvéolos contactan entre sí y no existe tejido conectivo entre ellos.

3. Evacuación total (Fig. 12C)

Los alveolos encuentran repletos de espermatozoides. Dentro de los alvéolos los espermatozoides disminuyen en número y se disponen de manera desordenada, dejando grandes espacios vacíos que indican la evacuación de los mismos a través de los túbulos.

4. Evacuación con recuperacion. (Fig. 12D)

En los alveolos, se observa en la zona de la periferia una abundancia de células germinativas sobre todo espermatogonias, conformando un estrato de células, seguido una capa fina de espermatoцитos primarios y otra, con todos los espermatozoides maduros casi en el centro del túbulo. Algunos presentan, espacios vacíos en el centro y se observa bien las colas de los espermatozoides.

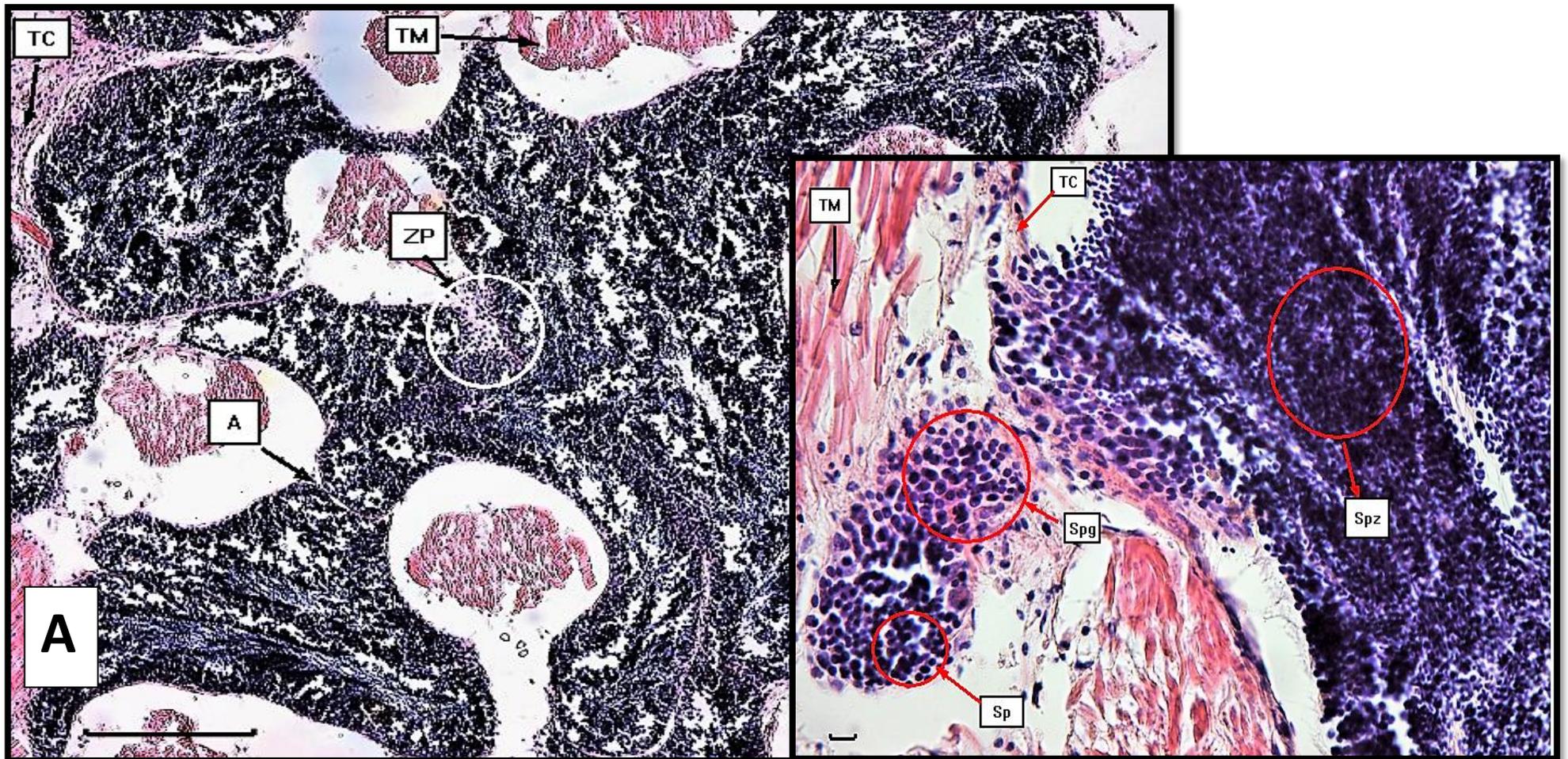


Figura 12: Estadios de desarrollo gonadal en machos de *Glycymeris longior*.

(A) Maduración (TM, tejido muscular; TC, tejido conectivo; Spg, espermatozoa; Sp, espermocito; Spz, espermatozoide maduro; ZP: zona de proliferación; A: alveolo; H, hemocitos; CSpz: cola de espermatozoides). Aumento:100x; escala: 100 μ m. Detalle inserto, aumento total:400x, escala= 10 μ m.

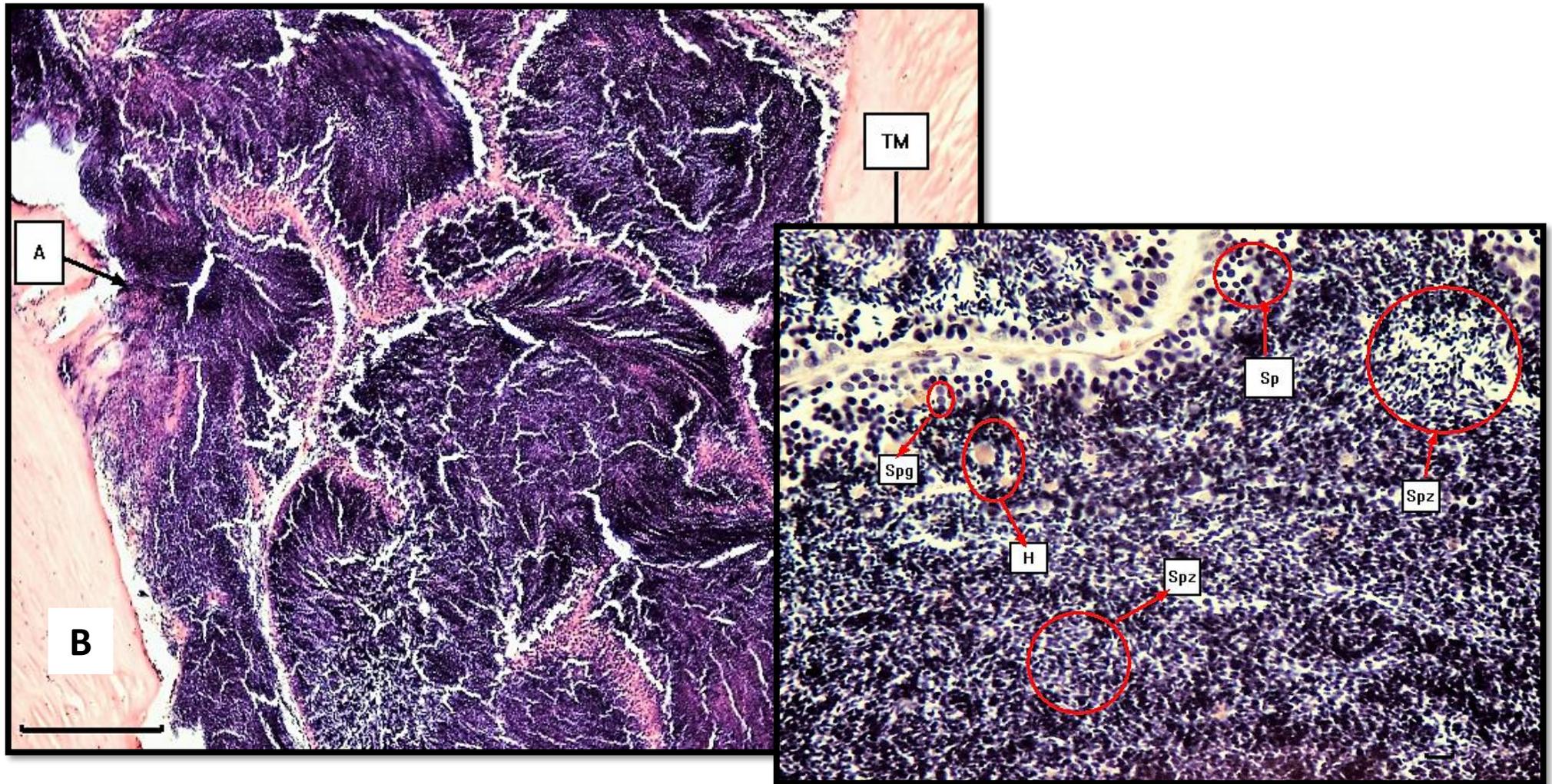


Figura 12 (continuación): Estadios de desarrollo gonadal en machos de *Glycymeris longior*. (B) Maduración Total (TM, tejido muscular; TC, tejido conectivo; Spg, espermatogonia; Sp,espermatocito ; Spz, espermatozoide maduro; ZP: zona de proliferación; A: alveolo; H, hemocitos; CSpz: cola de espermatozoides). Aumento:100x; escala: 100 μ m. Detalle inserto, aumento total:400x, escala= 10 μ m. Detalle inserto: 400x, escala 10 μ m.

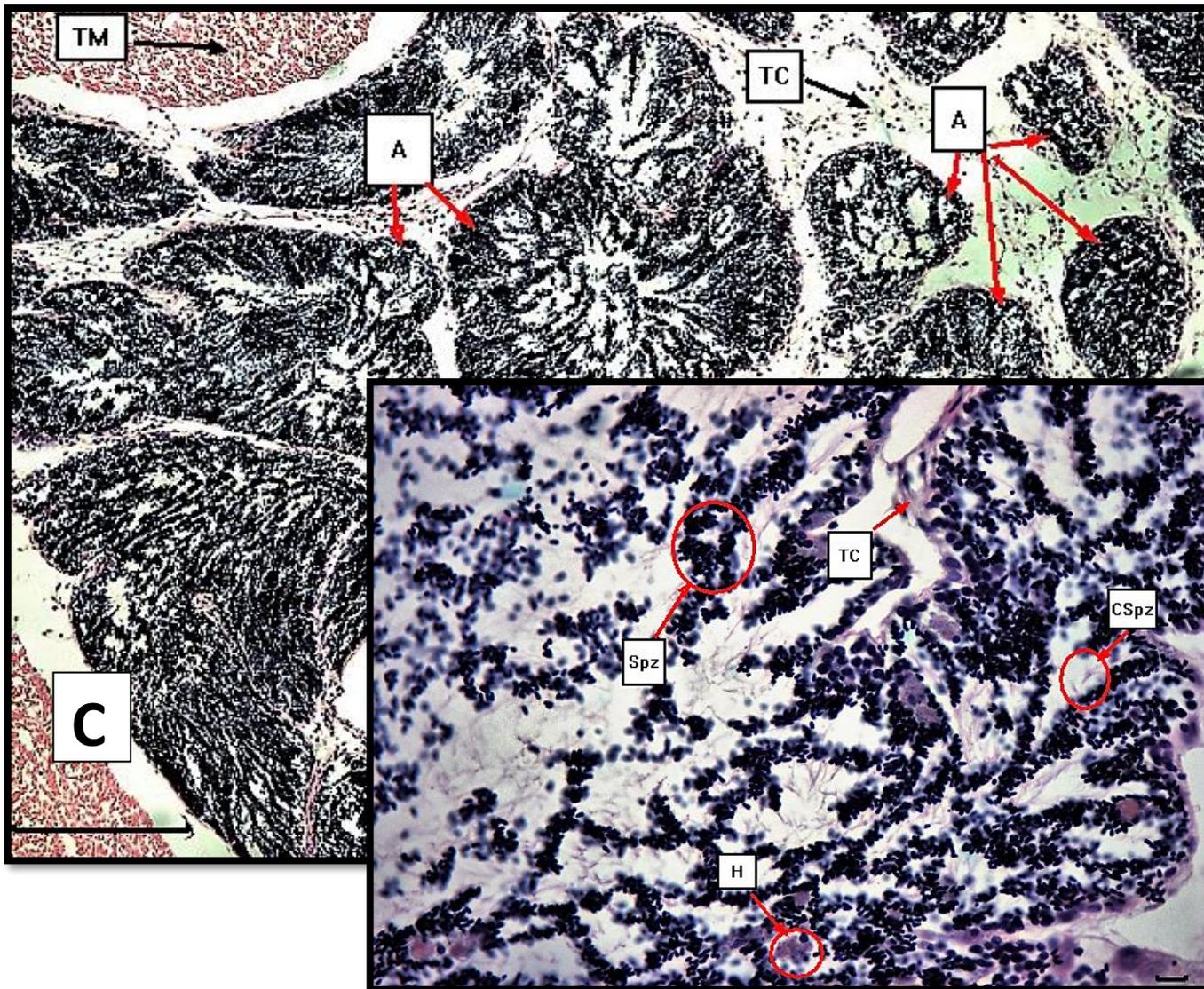


Figura 12 (continuación): Estadios de desarrollo gonadal en machos de *Glycymeris longior*. (C) Evacuación Total (TM, tejido muscular; TC, tejido conectivo; Spg, espermatogonia; Sp, espermatocito ; Spz, espermatozoide maduro; ZP: zona de proliferación; CSpz: cola de espermatozoides; A: alveolo; H, hemocitos). Aumento:100x; escala: 100 μ m. Detalle inserto, aumento total:400x, escala= 10 μ m.

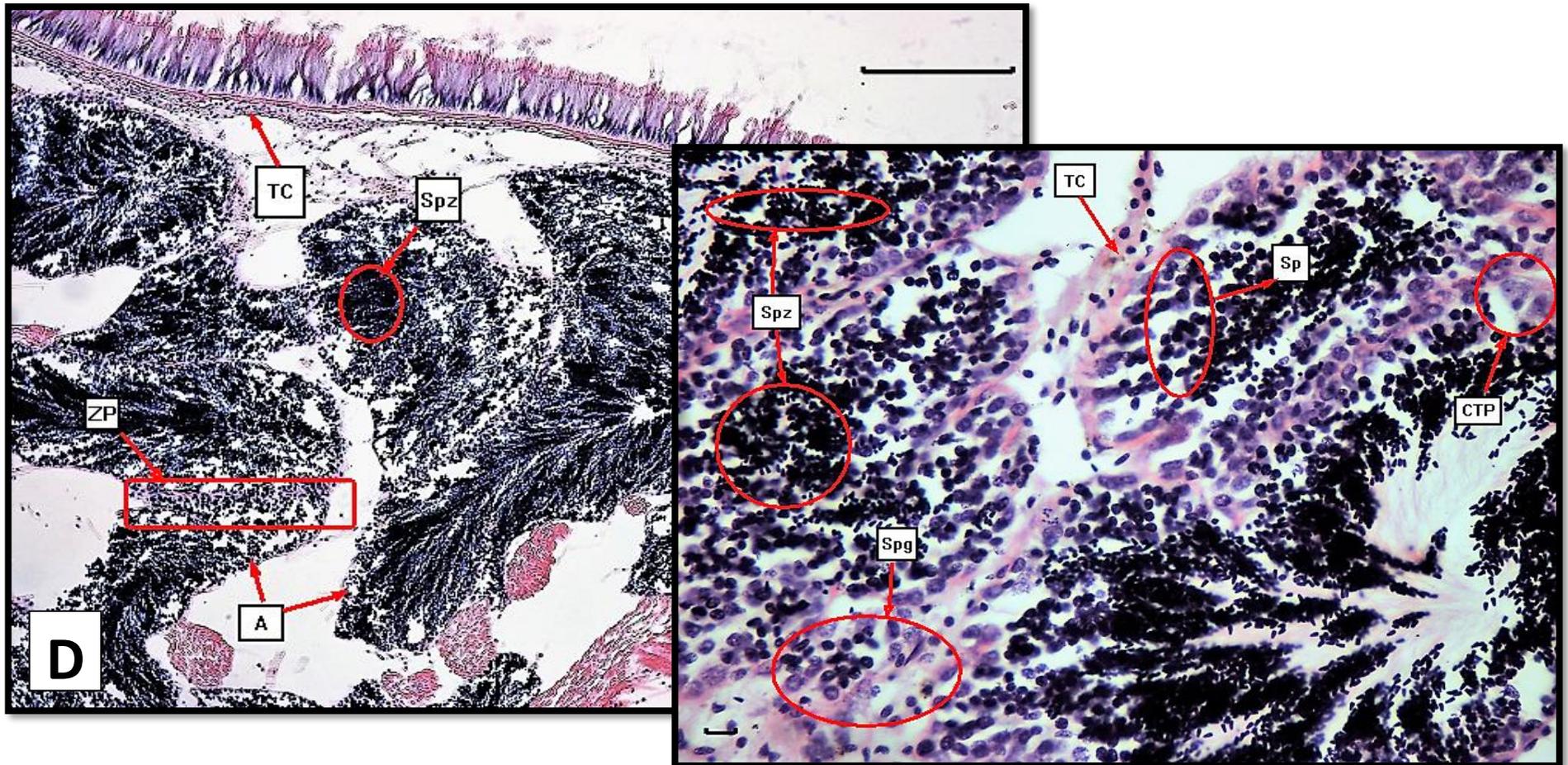


Figura 12 (continuación): Estadios de desarrollo gonadal en machos de *Glycymeris longior*. (C) Evacuación con recuperación (TM, tejido muscular; TC, tejido conectivo; Spg, espermatogonia; Sp,espermatocito ; Spz, espermatoziode maduro; ZP: zona de proliferación; CSpz: cola de espermatozoides; A: alveolo; H, hemocitos). Aumento:100x; escala: 100 μ m. Detalle inserto, aumento total:400x, escala= 10 μ m.

En la mayoría de los machos cuyas gónadas se encontraban en el estadio de evacuación parcial con proliferación (EVR), se identificaron células sexuales indiferenciadas, adheridas a las paredes de los alvéolos (Fig. 13 y 14), a las que se les llamó células totipotenciales ya que las mismas tienen la potencialidad de diferenciarse tanto en espermatogonias como en ovogonias. Este mismo tipo de célula pudo ser identificada en los organismos hermafroditas. Las células totipotenciales presentan un citoplasma claro levemente basófilo y un núcleo grande con cromatina dispersa presentando una figura que recuerda la rueda de carro (un nucléolo central con radios de cromatina que parten desde el centro) (Fig. 13 y 14).

Si bien a los individuos que poseían estas células totipotenciales se los clasificó dentro de la categoría masculina, se los denominó “machos funcionales” para poder diferenciarlos. En alguno de estos individuos se pudo observar ovogonias aunque eran esas dentro del alveolo.

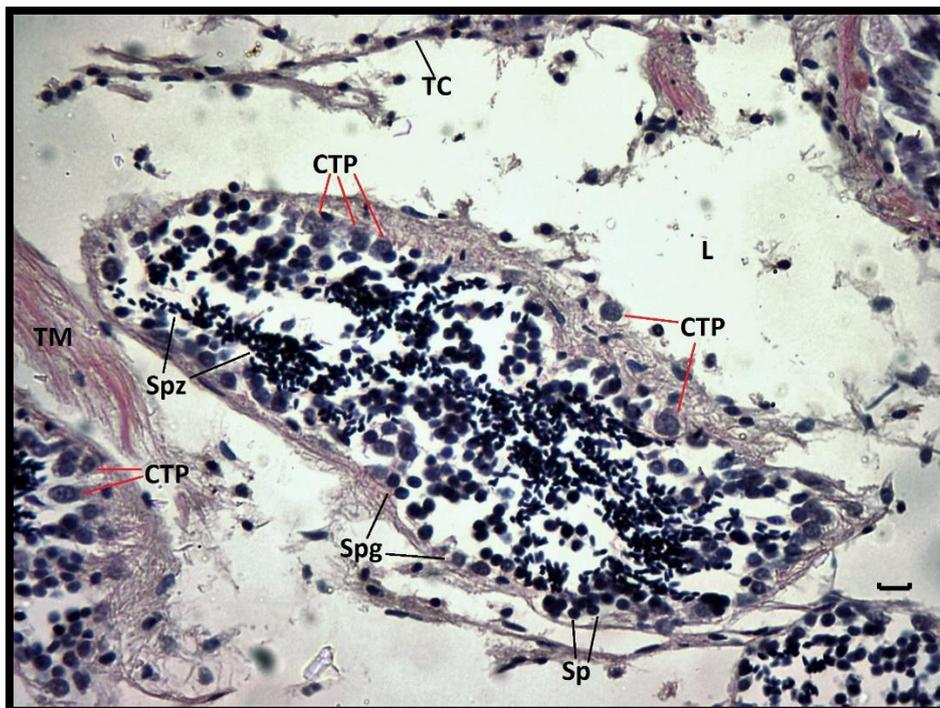


Figura 13: Alvéolo gonadal en un macho funcional de *Glycymeris longior*. (TM, tejido muscular; TC, tejido conectivo; Spg, espermatogonia; Sp, espermatozoides; Spz, espermatozoides maduros; CTP, células totipotenciales). Aumento: 400x. Escala= 10 μ m.

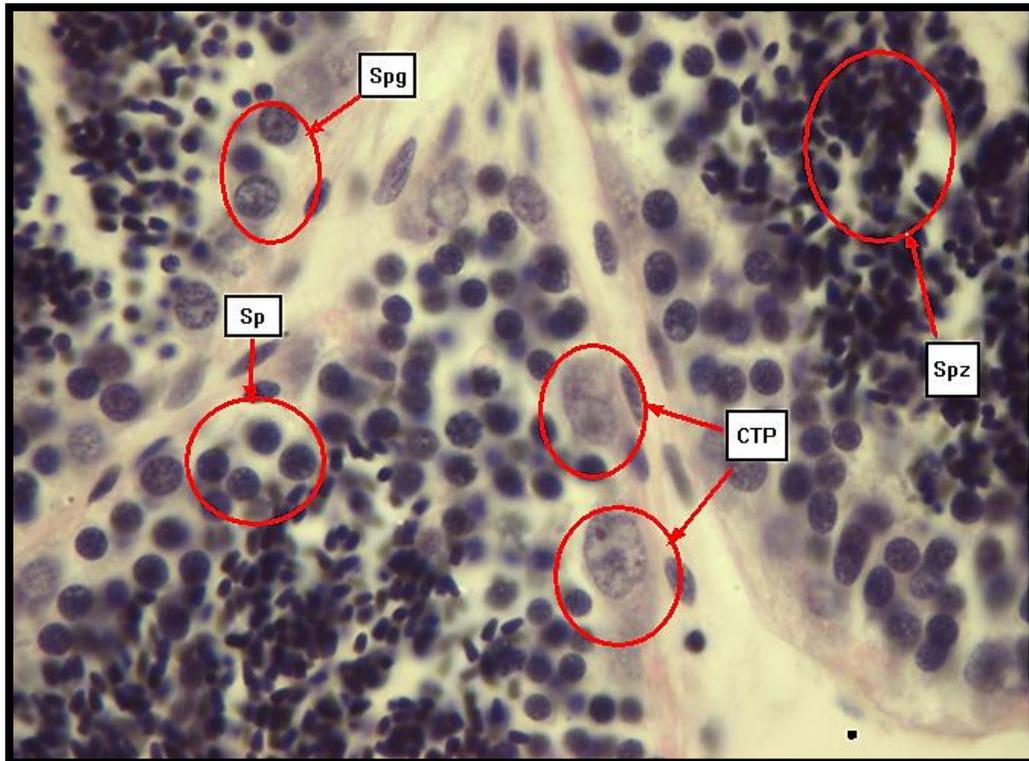


Figura 14: Detalle de la pared alveolar de la gónada en un macho funcional de *Glycymeris longior*. (Spg, espermatogonia; Sp,espermatoocito ; Spz, espermatozoides maduros; CTP, células totipotentes). Aumento: 1000x, escala:10 μ m.

4.1.4. Proporción de los estadios de desarrollo gonadal en un ciclo anual:

A partir del análisis mensual de las proporciones de cada estadio de desarrollo gonadal para cada individuo, obtenidas a partir de la observación de las secciones histológicas, se pueden distinguir que la época de Proliferación (P) (inicio de la gametogénesis) en las hembras ocurre en los meses de marzo, junio y agosto del 2016 (Fig. 15), mientras que en los machos este mismo estadio no se detectó como tal, sin embargo el estadio de evacuación con recuperación (EVR) se observa durante casi todo el año de estudio, salvo en el mes de junio de 2015, con valores máximos en marzo y julio de 2016 (Fig. 16).

El estadio de maduración (MAD) en las hembras, ocurre en los meses de agosto y septiembre de 2015; mayo de 2016 y repitiéndose en agosto de 2016. En los machos, se observan gónadas maduras en los meses de junio, agosto, octubre y noviembre del 2015.

El estadio de maduración total (MDT) en las hembras, ocurre en un periodo que abarca desde octubre de 2015 hasta mayo de 2016, incluyendo el mes de junio de 2015. En cambio, en los machos, se observa desde junio de 2015 hasta enero de 2016.

Los estadios de evacuación (EV) y (EVR), tanto femeninas como masculinas, se observaron durante todo el periodo de estudio (Fig. 15 y 16), con ausencia de un periodo de reposo sexual. Siendo en los machos, los únicos dos estadios representados desde marzo hasta agosto del 2016.

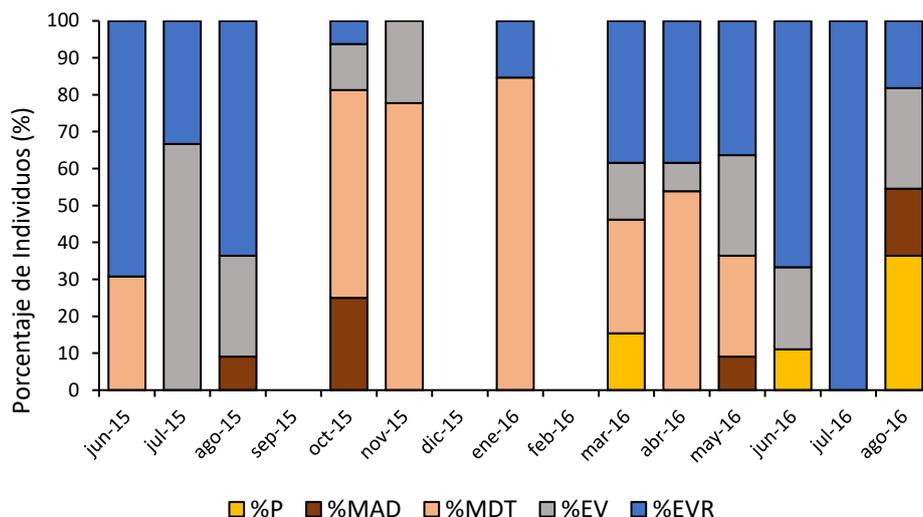


Figura 15: Proportión mensual de estadios de desarrollo gonadal en hembras de *Glycymeris longior*.

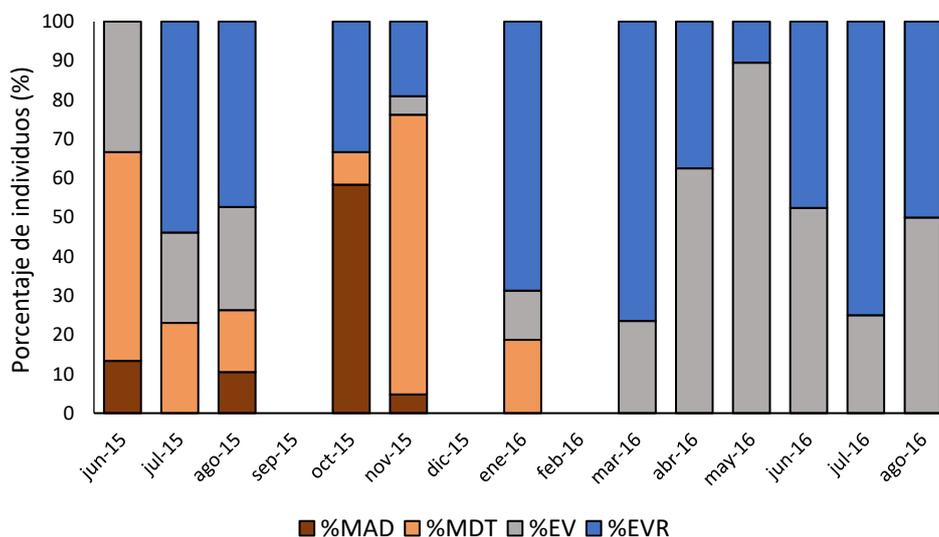


Figura 16: Proportión mensual de estadios de desarrollo gonadal en machos de *Glycymeris longior*.

4.1.5. Índice de Condición.

Analizando los datos obtenidos a partir del cálculo del Índice de Condición (IC) mensual, se puede observar que la población de *Glycymeris longior* estudiada posee dos periodos de evacuación gonadal, uno durante los meses de verano y otro durante el invierno. Aunque existen variaciones entre los meses, la diferencia entre ellos es mínima y el valor promedio del coeficiente de variación fue de un 15,67%. Aun así, se identifica

un valor promedio máximo mensual del IC de 18,17 (DE=3,55) en el mes de enero de 2016 y un promedio mínimo mensual (14, 94) (DE=2,96) en junio de 2015 (Fig. 17).

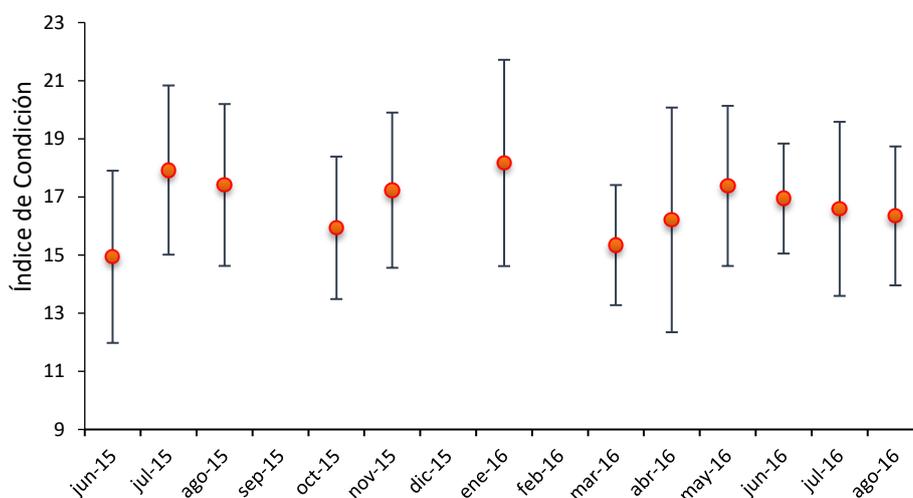


Figura 17: Índice de condición mensual de *Glycymeris longior* para el periodo junio 2015 – agosto 2016. (Puntos: Valores promedios mensuales; Barras: Desvío estándar).

4.1.6. Distribución de Frecuencia de Diámetro Ovocitario (DFDO), Diámetro Ovocitario Promedio (DOP) Número medio de Ovocitos por Campo (OPC) y el Área Ovocitaria Relativa (AOR).

Los ovocitos de *G. longior* miden entre 7,5 μm y 150 μm , aunque en el mes de noviembre se observó un ovocito de 175 μm . Los máximos diámetros ovocitarios fueron registrados en el mes de junio del 2016 (Fig. 18).

Los diámetros ovocitarios (DOv) de *Glycymeris longior* son consistentes con lo identificado en los estadios reproductivos. Se determinan DOv menores a 30 μm que corresponden a los estadios de proliferación (P) y evacuación con recuperación (EVR). Los ovocitos que miden entre 30 μm y 50 μm se encuentran en proceso de maduración y aquellos mayores a 50 μm , son los que se encuentran completando el proceso de vitelogénesis.

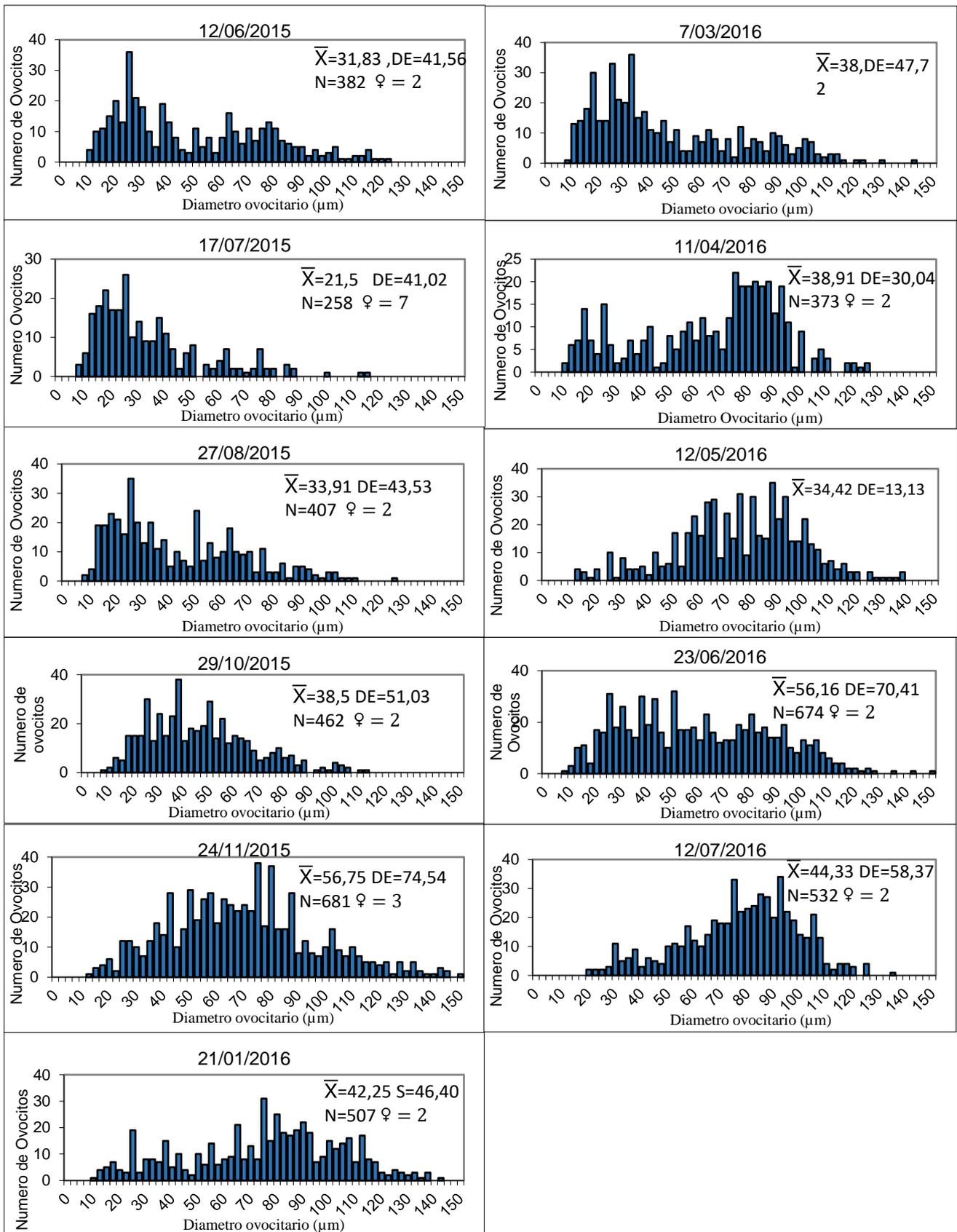


Figura 18: Distribución de frecuencia de diámetros ovocitarios para las hembras de *Glycymeris longior* estudiadas durante el periodo junio 2015 – agosto 2016.

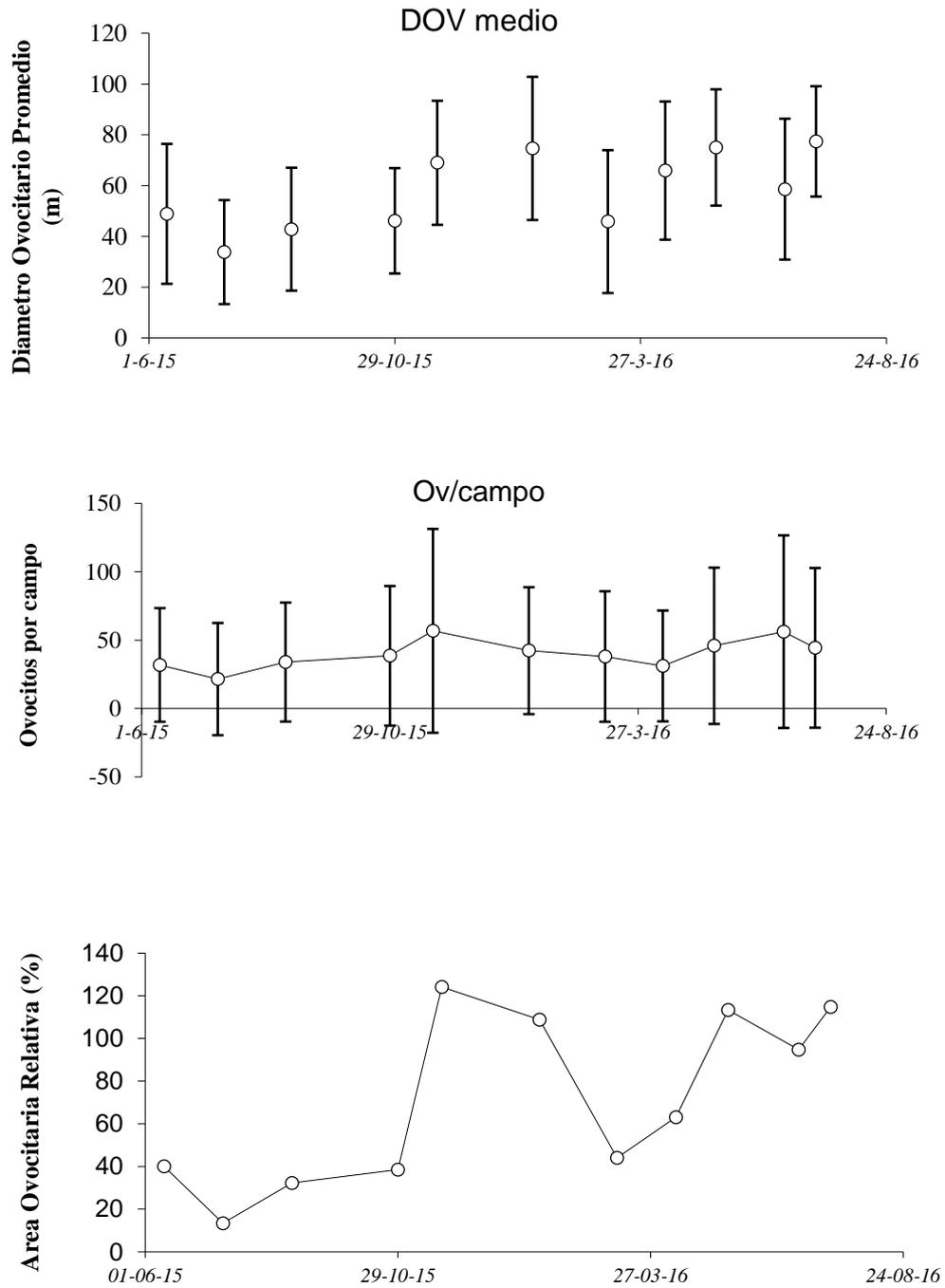


Figura 19: Gráfico de diámetros ovocitarios promedio, ovocitos por campo y área ovocitaria relativa para las hembras de *Glycymeris longior* estudiadas durante el periodo junio 2015 – agosto 2016. (Puntos: Valores promedios mensuales; Barras: Desvío Estándar).

4.2. Parámetros Ambientales:

4.2.1. Temperatura Superficial del Mar.

Los registros de temperatura registrados durante el periodo junio 2015 – agosto 2016 muestran que, durante los meses de invierno, las temperaturas varían entre los 10-11 °C, registrándose un mínimo de 7 °C en julio de 2015. Mientras que, durante los meses de verano, las temperaturas variaron entre los 16 y 18 °C, con un pico máximo de 19 °C en febrero de 2016 (Fig. 20).

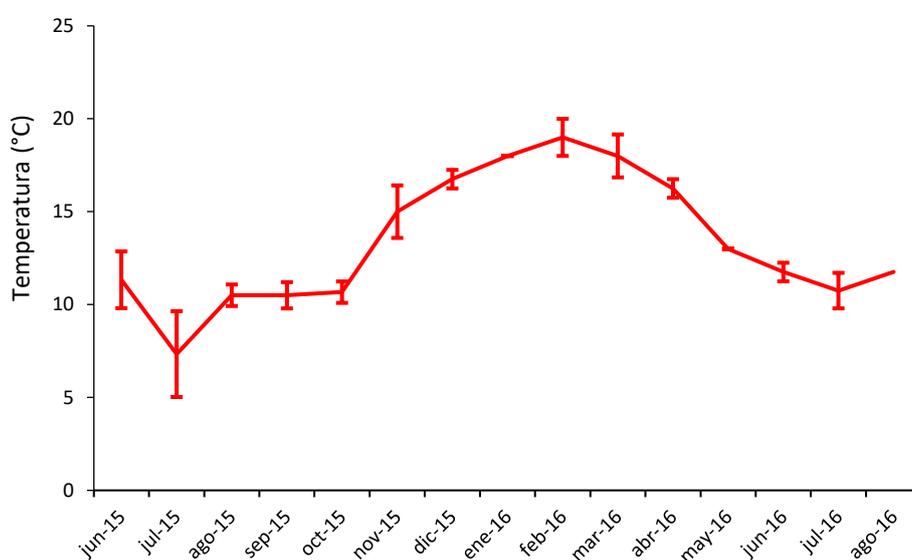


Figura 20: Ciclo anual de temperaturas en El Sótano (Golfo San Matías, Río Negro). Periodo junio 2015 – agosto 2016 (Puntos: Valores promedios mensuales; Barras: Desvío Estándar).

4.2.2. Clorofila a

A partir del análisis de las imágenes satelitales para Clorofila *a*, se identificaron dos picos máximos de productividad primaria. El primero de ellos en noviembre de 2015 (2,95 mg.m⁻³) y el segundo en marzo 2016 (2,46 mg.m⁻³) (Fig. 21).

Durante los meses de invierno de 2015 se observó un descenso de la productividad primaria, con un registro mínimo (1,00 mg.m⁻³) en el mes agosto (Fig. 21).

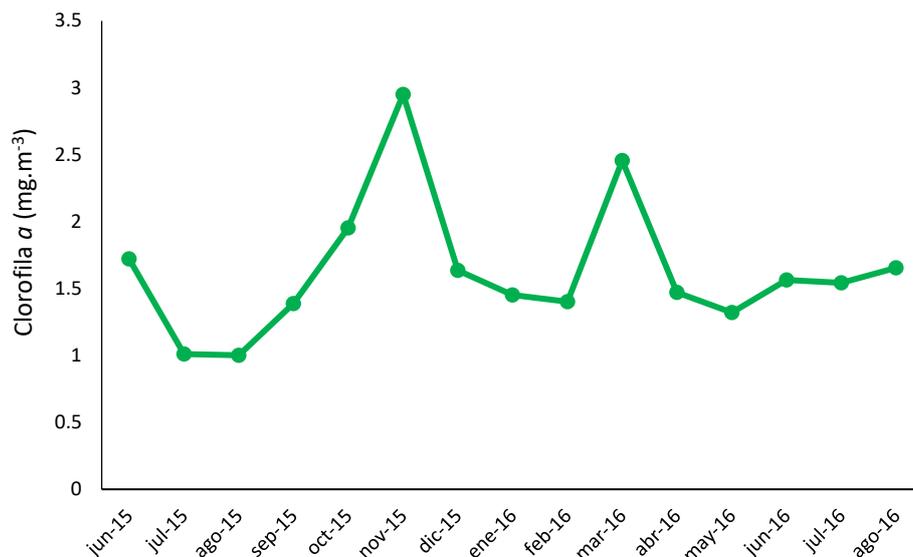


Figura 21: Ciclo anual de productividad primaria (Clorofila *a*) en El Sótano (Golfo San Matías, Río Negro). Periodo junio 2015 – agosto 2016. (Puntos: Valores promedios mensuales).

Comparando los ciclos anuales de temperatura y productividad primaria se observó que el primer pico de Clorofila *a* se produce hacia fines de la primavera, cuando comienza a subir la temperatura. Mientras que el segundo pico de productividad primaria se produce a comienzo del otoño, luego del pico de temperatura máxima en febrero de 2016 (Fig. 22).

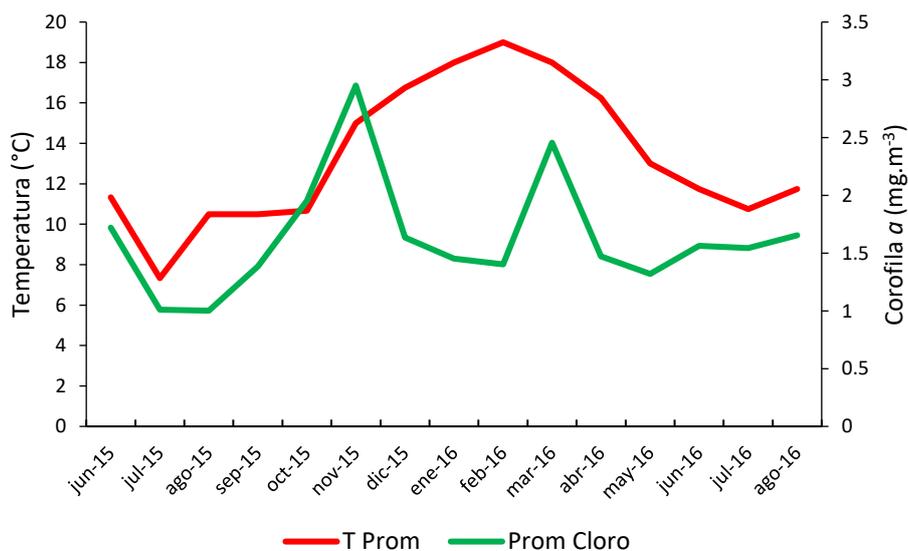


Figura 22: Ciclo anual de productividad primaria (Prom Cloro: Clorofila *a*) y temperatura (T Prom) en El Sótano (Golfo San Matías, Río Negro). Periodo junio 2015 – agosto 2016.

4.3. Análisis del ciclo reproductivo en relación con los parámetros ambientales

La población estudiada de *Glycymeris longior*, en El Sótano (Golfo San Matías), presenta dos ciclos levemente diferenciados de maduración gonadal y evacuación de gametas. Uno de los ciclos corresponde a los meses de primavera-verano y el otro ocurre durante el otoño e invierno. La evacuación de gametas ocurre durante todo el año, siendo de mayor proporción (86,21% de los individuos) en julio de 2016 cuando la temperatura fue de 10,8 °C (Fig. 23).

La maduración gonadal coincide con los aumentos de productividad primaria hasta su pico en noviembre de 2015, durante los meses de primavera. Sin embargo, el segundo ciclo de maduración (marzo a mayo de 2016) se produce luego del segundo pico de productividad primaria, en marzo del 2016 (Fig. 24).

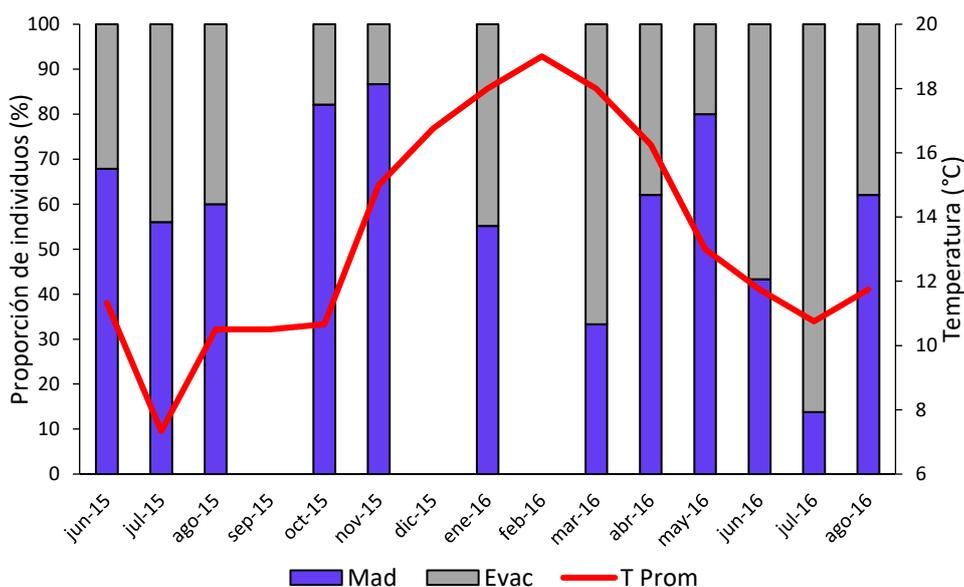


Figura 23: Ciclo reproductivo de *Glycymeris longior* en relación al ciclo anual de temperatura (T Prom) en El Sótano (Golfo San Matías, Río Negro). Periodo junio 2015 – agosto 2016.

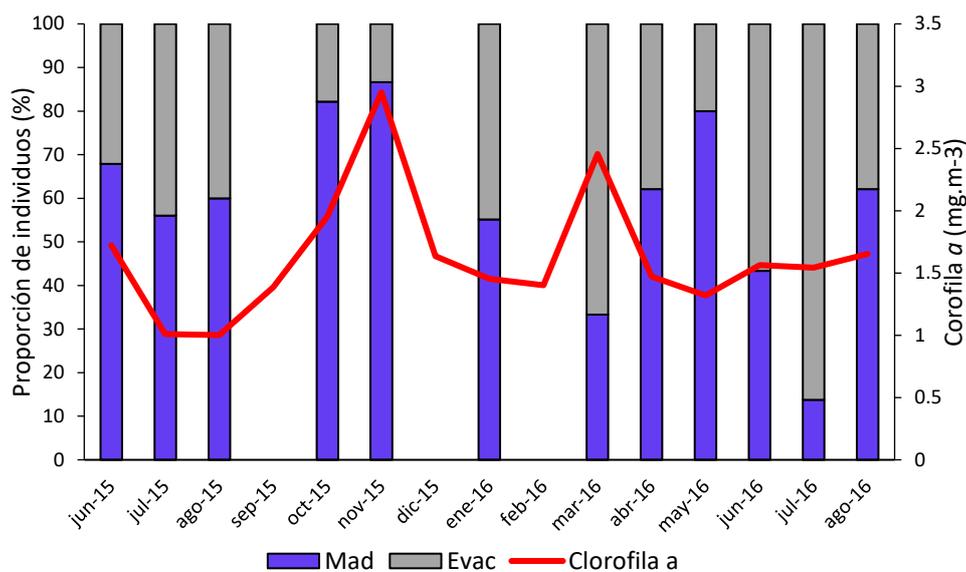


Figura 24: Ciclo reproductivo de *Glycymeris longior* en relación al ciclo anual de productividad primaria (Clorofila *a*) en El Sótamo (Golfo San Matías, Río Negro). Periodo junio 2015 – agosto 2016.

En las hembras de la población estudiada se puede observar que la proporción de individuos en maduración total (MDT) aumenta a medida que también lo hace la temperatura, se distingue que los individuos alcanzan el estadio de maduración total cuando la temperatura varía entre los 11 °C hasta los 18 °C. Por otra parte, se observa que el estadio de evacuación parcial con proliferación (EVR) comienza a detectarse a partir de los 10 °C aunque está presente en todos los meses analizados, menos en noviembre de 2015 (Fig. 25).

Por el contrario, este comportamiento no ocurre para los machos (Fig. 26), ya que se pueden observar organismos maduros (MAD y MDT) mayoritariamente desde junio de 2015 a enero de 2016, mientras que las evacuaciones (EV y EVR) ocurren principalmente entre los meses de marzo y agosto de 2016 aunque el estadio EVR se encuentra durante todo el año independientemente de la temperatura. (Fig. 26).

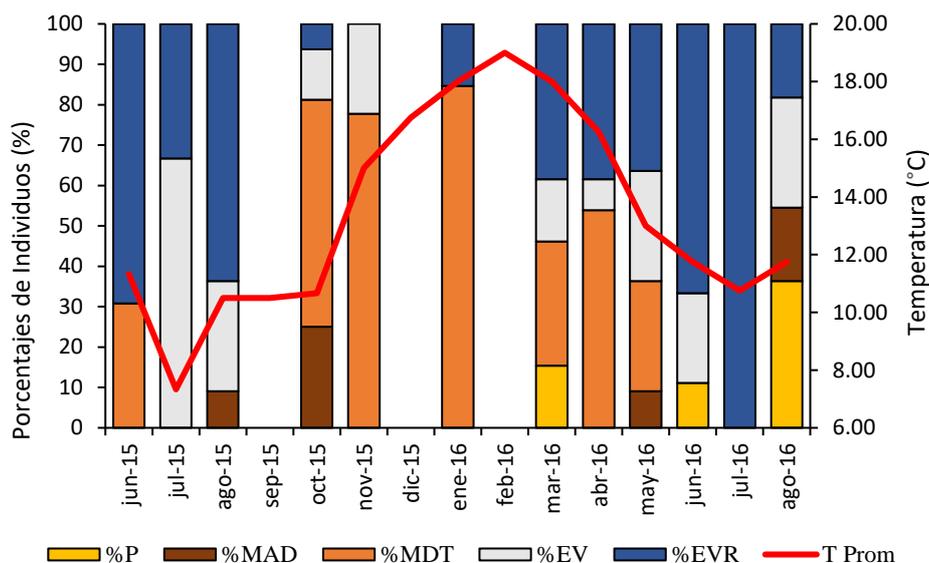


Figura 25: Ciclo reproductivo de las hembras de *Glycymeris longior* en relación al ciclo anual de temperatura (T °C) en El Sótano (Golfo San Matías, Río Negro). Periodo junio 2015 – agosto 2016.

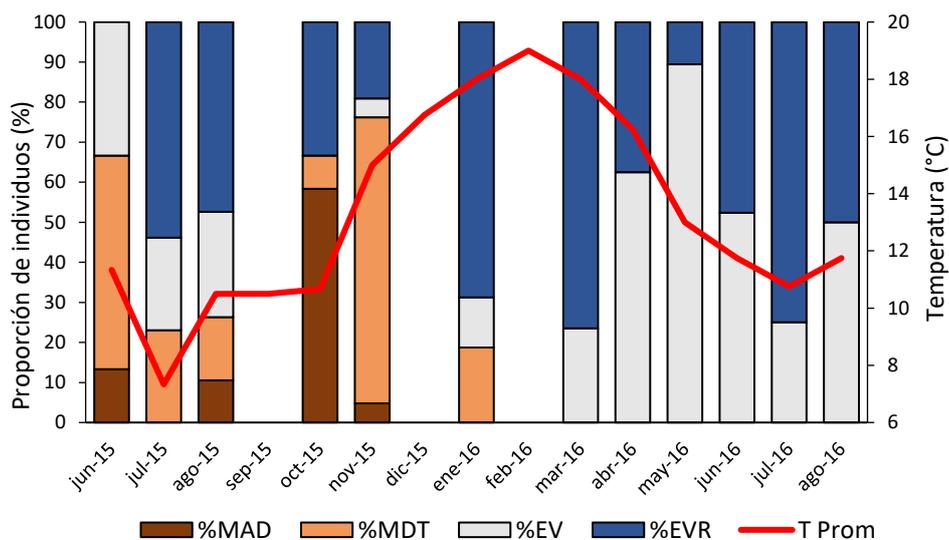


Figura 26: Ciclo reproductivo de los machos de *Glycymeris longior* en relación al ciclo anual de temperatura (T °C) en El Sótano (Golfo San Matías, Río Negro). Periodo junio 2015 – agosto 2016.

Respecto del ciclo de productividad primaria, durante el periodo estudiado, se puede observar que el patrón de EVR de las hembras sigue los ciclos de aumento y disminución de las concentraciones de clorofila *a* (Fig. 27), o sea, las evacuaciones comienzan luego del primer pico de productividad primaria (noviembre de 2015), y durante el otoño-invierno, luego del segundo pico en marzo de 2016 (Fig. 27).

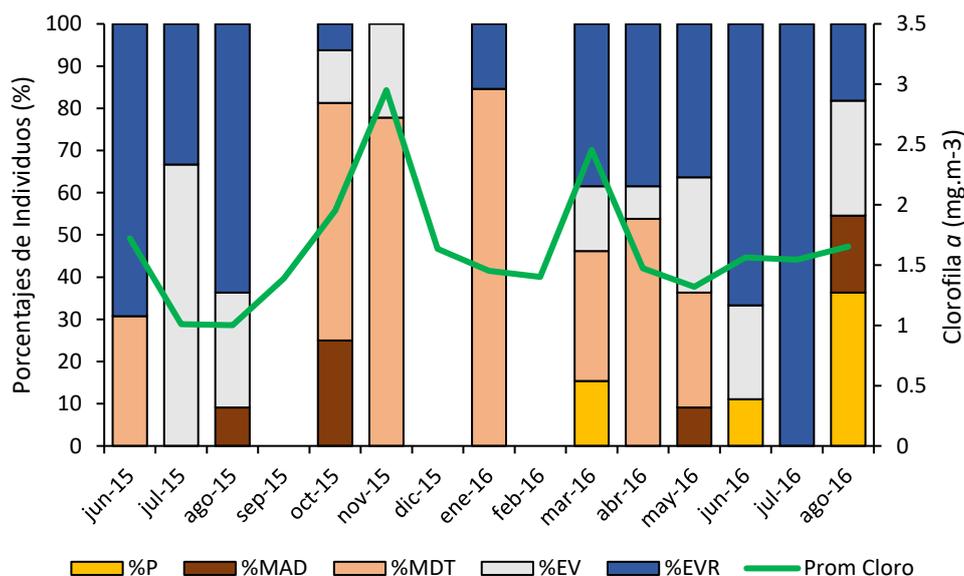


Figura 27: Ciclo reproductivo de las hembras de *Glycymeris longior* en relación al ciclo anual de productividad primaria (Clorofila a $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$) en El Sótano (Golfo San Matías, Río Negro). Período junio 2015 – agosto 2016.

El efecto de la productividad primaria en el ciclo anual reproductivo de los machos es diverso. Se observa que el primer pico de productividad en el mes de noviembre 2015 coincide con el pico máximo de maduración total (MDT). Mientras que el segundo pico de clorofila a coincide con el pico máximo de evacuación con recuperación (EVR), en el mes de marzo de 2016 (Fig. 28).

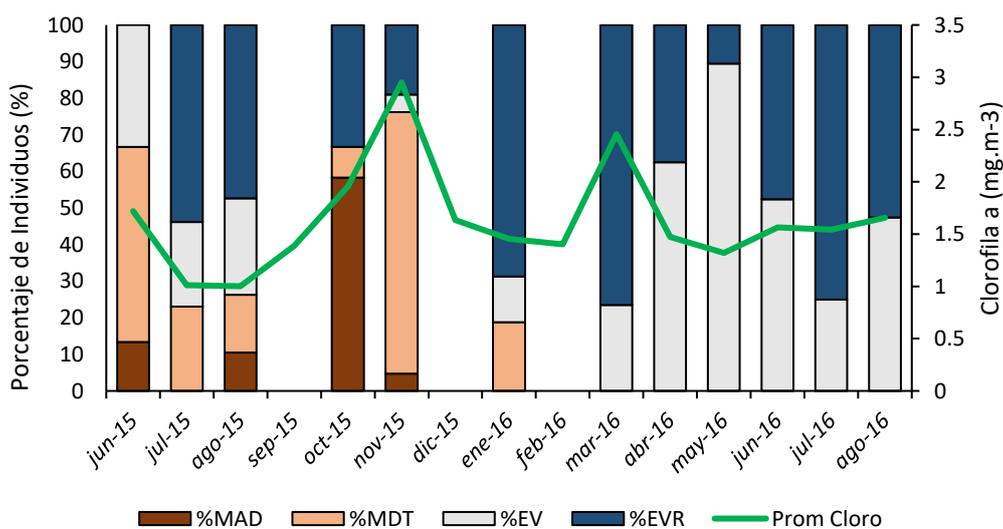


Figura 28: Ciclo reproductivo de los machos de *Glycymeris longior* en relación al ciclo anual de productividad primaria (Clorofila a $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$) en El Sótano (Golfo San Matías, Río Negro). Período junio 2015 – agosto 2016.

4.4. Anomalías histológicas durante el ciclo reproductivo

A partir del análisis histológico, se pudo observar la presencia de anomalías en el tejido gonadal durante el periodo de estudio. Estas alteraciones histológicas de la estructura gonadal se pudieron identificar como atresia ovocitaria, ya que se observó un proceso de degeneración y reabsorción de alveolos gonadales.

De un total de 147 hembras analizadas, 122 presentaron atresia ovocitaria. Esta anomalía pudo observarse durante todo el año, excepto en el mes de junio de 2015. La presencia de hembras atrésicas fue del 100% en los meses de agosto 2015 y marzo, abril y agosto 2016, mientras que en el resto de los meses varió entre el 75% y el 90% de los individuos (Fig. 29).

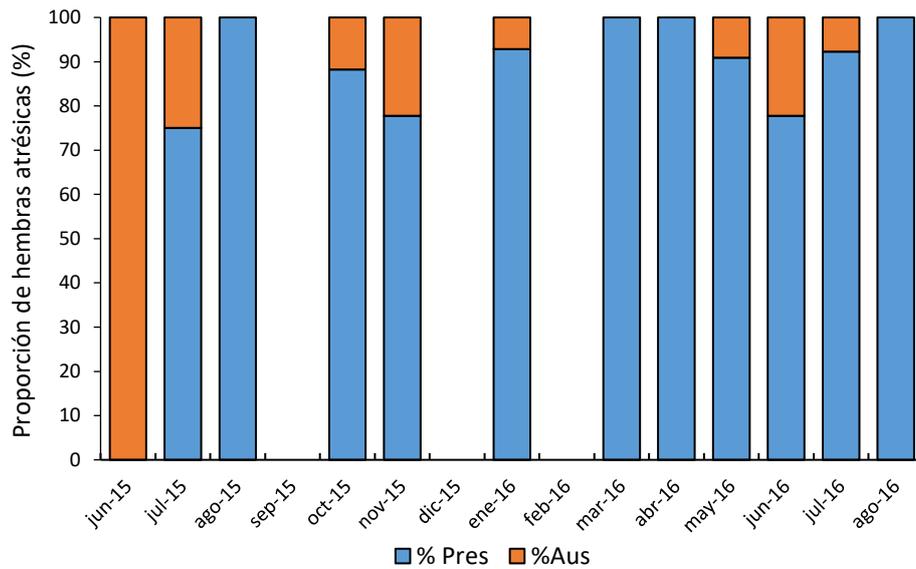


Figura 29: Proporción mensual de hembras atrésicas de *Glycymeris longior*. (%Pres: presencia; %Aus: ausencia).

A partir de las observaciones microscópicas se identificaron diferentes grados del proceso atrésico clasificándolos en una escala de 0 a 5, teniendo en cuenta el porcentaje de alvéolos atrésicos observados, según se describe a continuación: Grado 0: atresia nula (Fig. 30); Grado 1: 15% (Fig. 31); Grado 2: 30% (Fig. 32); Grado 3: 45% (Fig. 33); Grado 4: mayor al 60% (Fig. 34) y Grado 5: 100% (Fig. 35).

Figura 30: *Glycymeris longior*. Hembra atrésica grado 0. (ZA: zona atresica; Ov: ovocitos sin atresia)

(Arriba) Aumento total: 40x, escala: 100 μ m.

Detalle inserto de una zona sin atresia (Abajo) Aumento total: 100x, escala: 100 μ m.

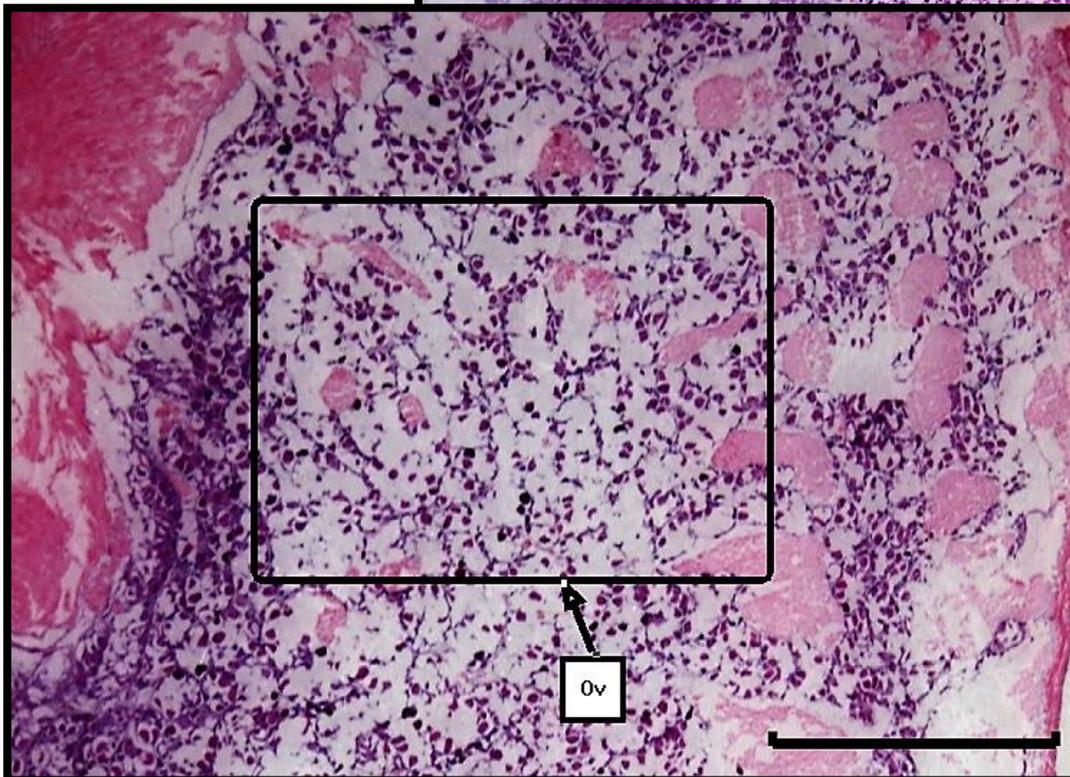
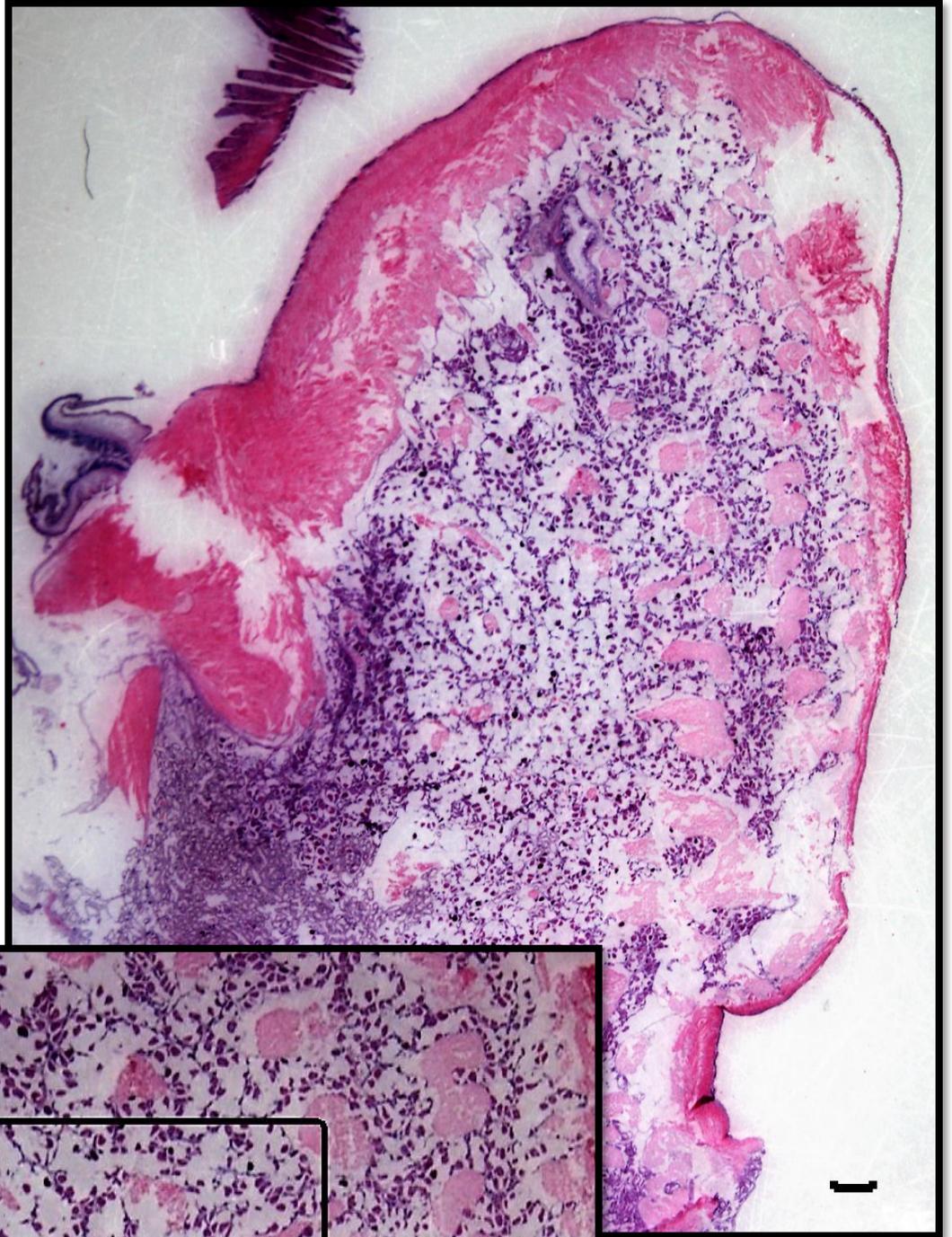
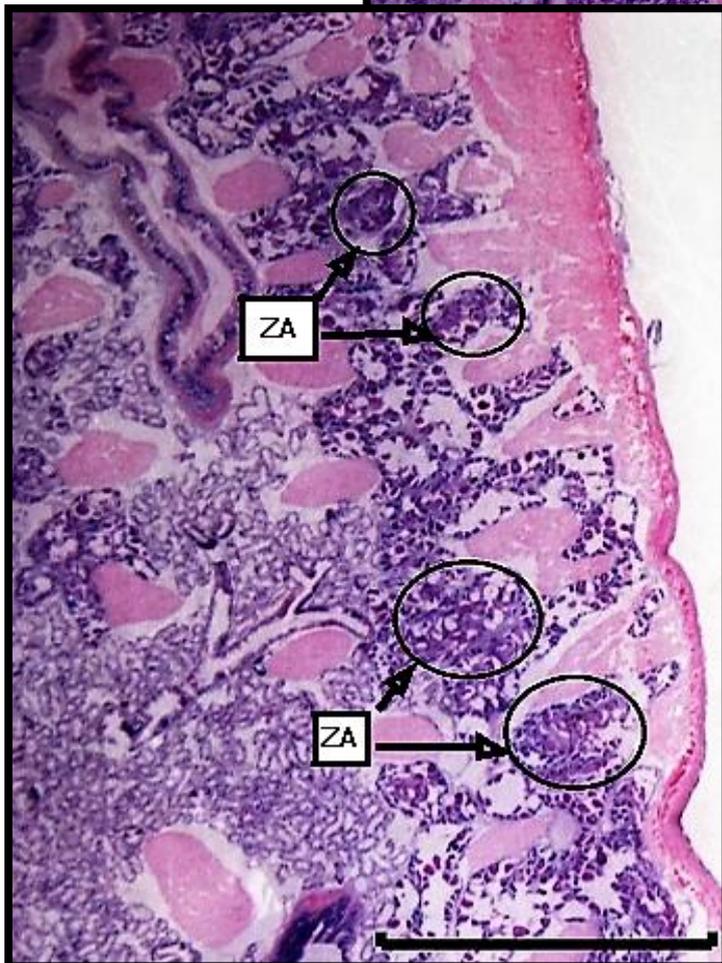
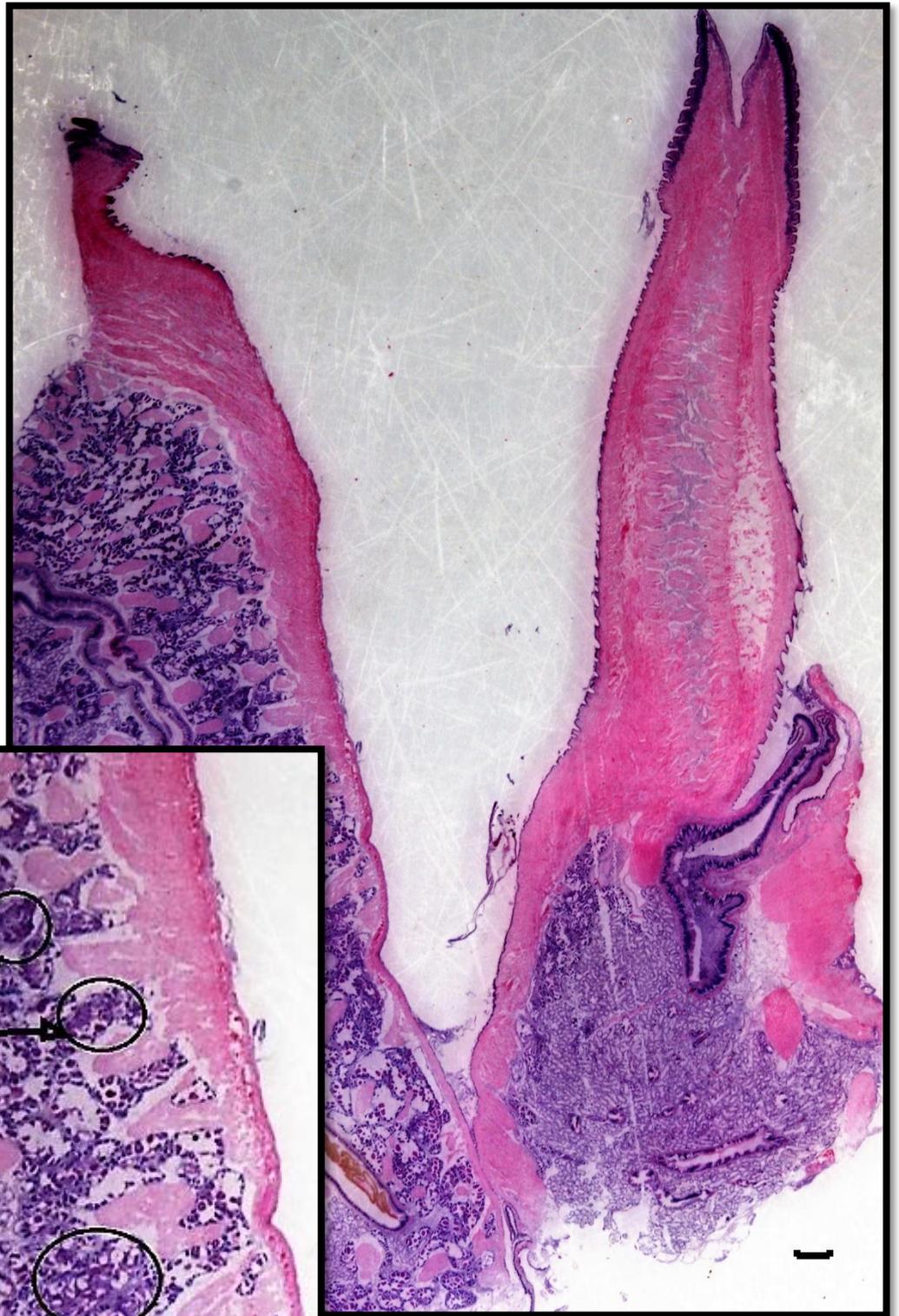


Figura 31: *Glycymeris longior*. Hembra atrésica grado 1. (ZA: zona atresica; Ov: ovocitos sin atresia)

(Arriba) Aumento total: 40x, escala: 100 μ m.

Detalle inserto de una zona sin atresia (Abajo)
Aumento total: 100x,
escala: 100 μ m.



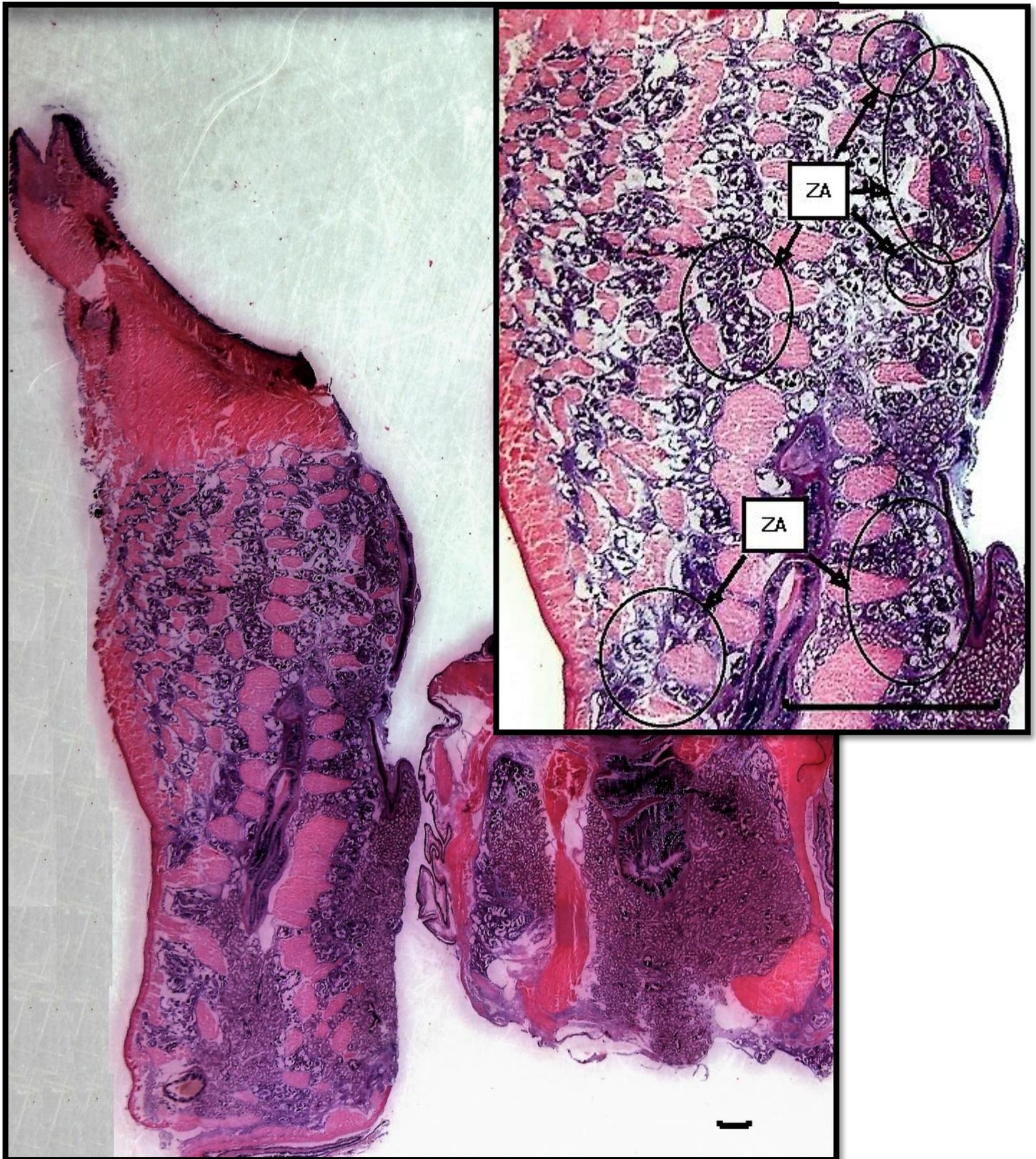


Figura 32: *Glycymeris longior*. Hembra atrésica grado 2. (ZA: zona atrésica; Ov: ovocitos sin atresia). (Izq) Aumento total: 40x, escala: 100 μ m. Detalle inserto de una zona sin atresia (Derecha arriba) Aumento total: 100x, escala: 100 μ m.

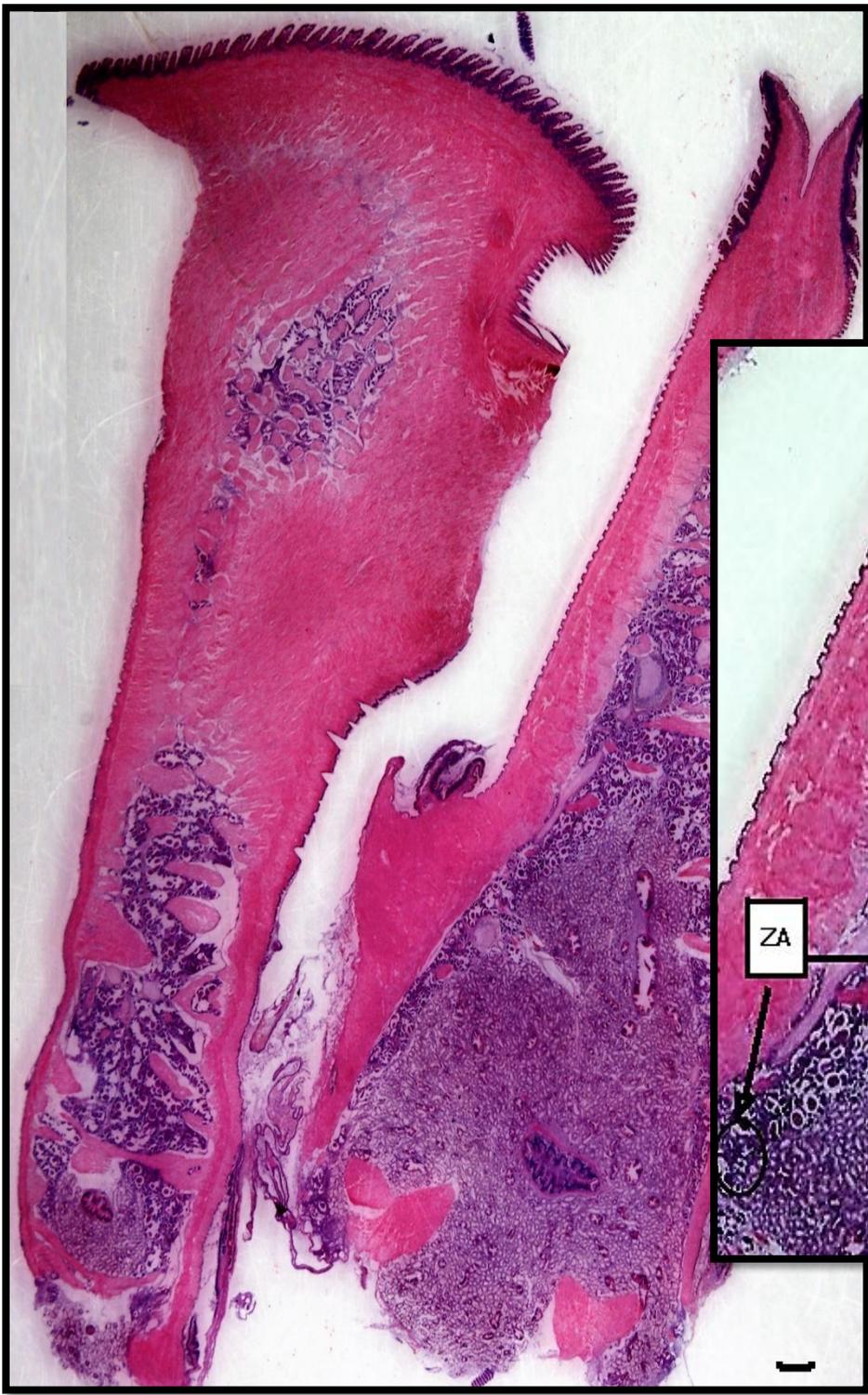
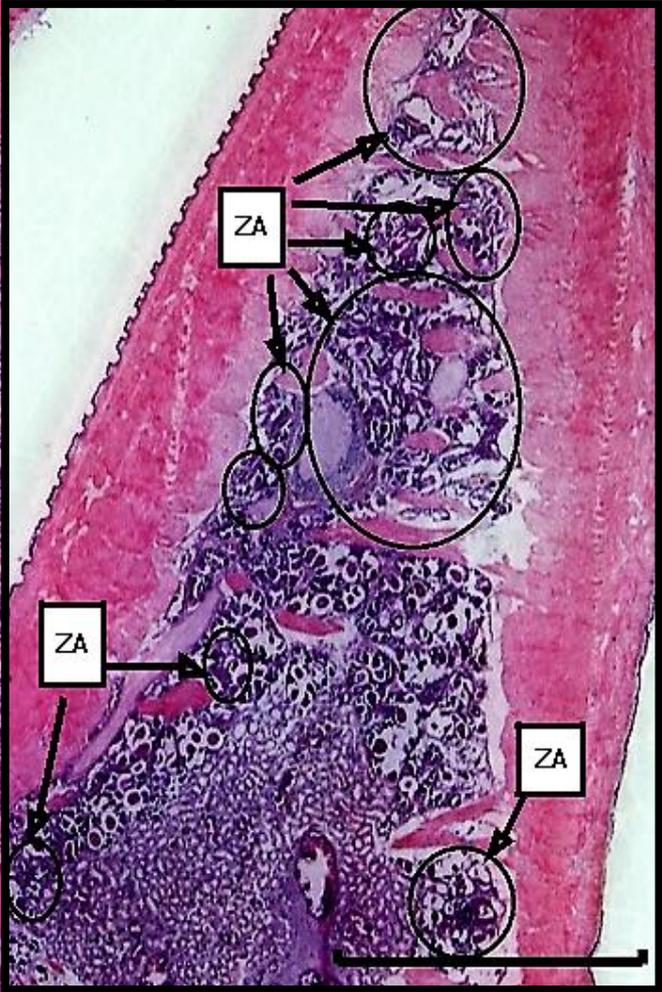


Figura 33: *Glycymeris longior*.
Hembra atrésica grado 3. (ZA: zona atrésica; Ov: ovocitos sin atresia)
(Izq) Aumento total: 40x, escala 100 μ m.

(Derecha, abajo) Detalle inserto,
Aumento total: 100x, escala: 100 μ m.



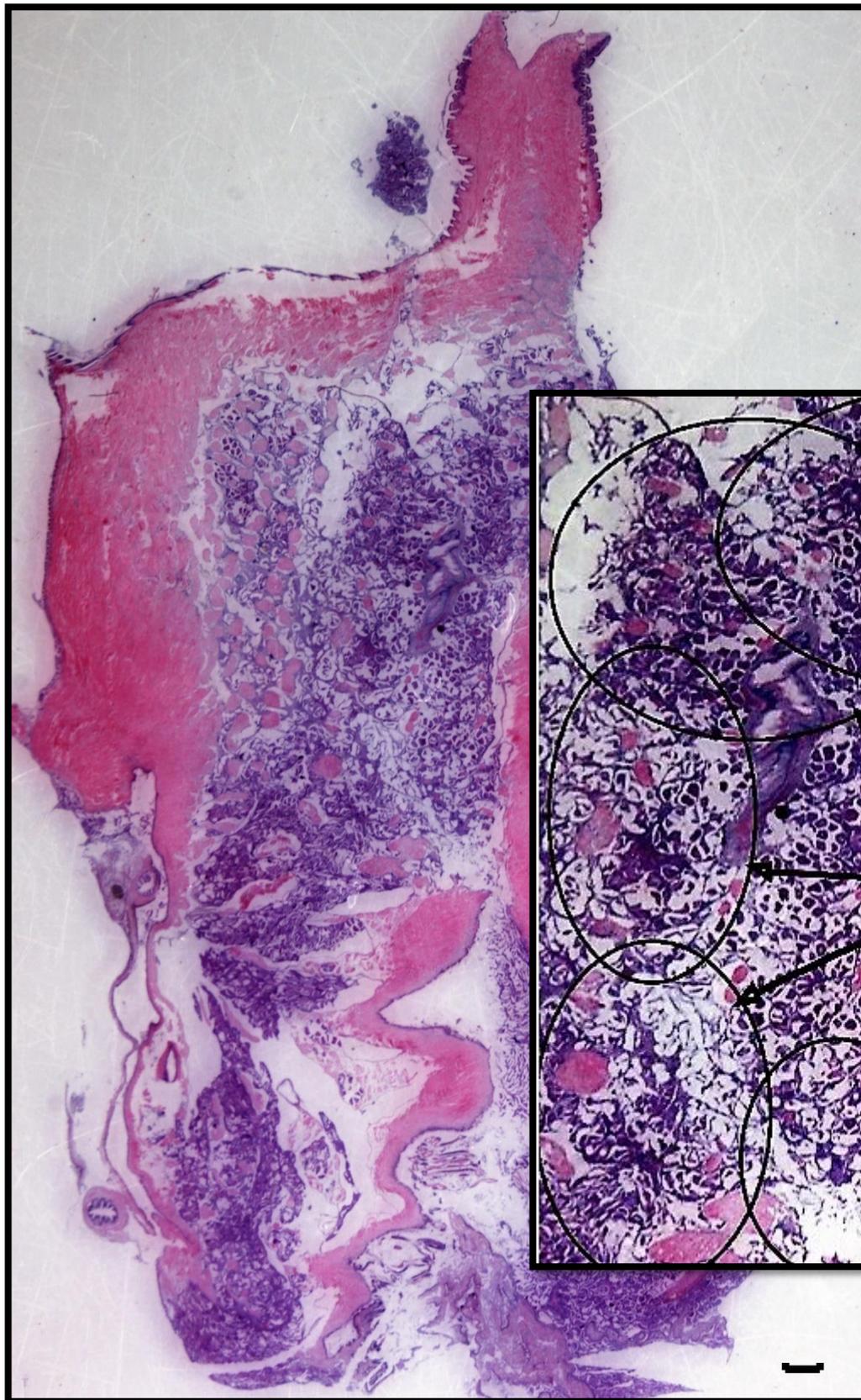


Figura 34: *Glycymeris longior*. Hembra atrésica grado 4. (ZA: zona atrésica; Ov: ovocitos sin atresia) (Izq). Aumento total: 40x, escala: 100 μ m.

Detalle inserto de alvéolos atresicos (Der). Aumento: 100x, escala: 100 μ m.



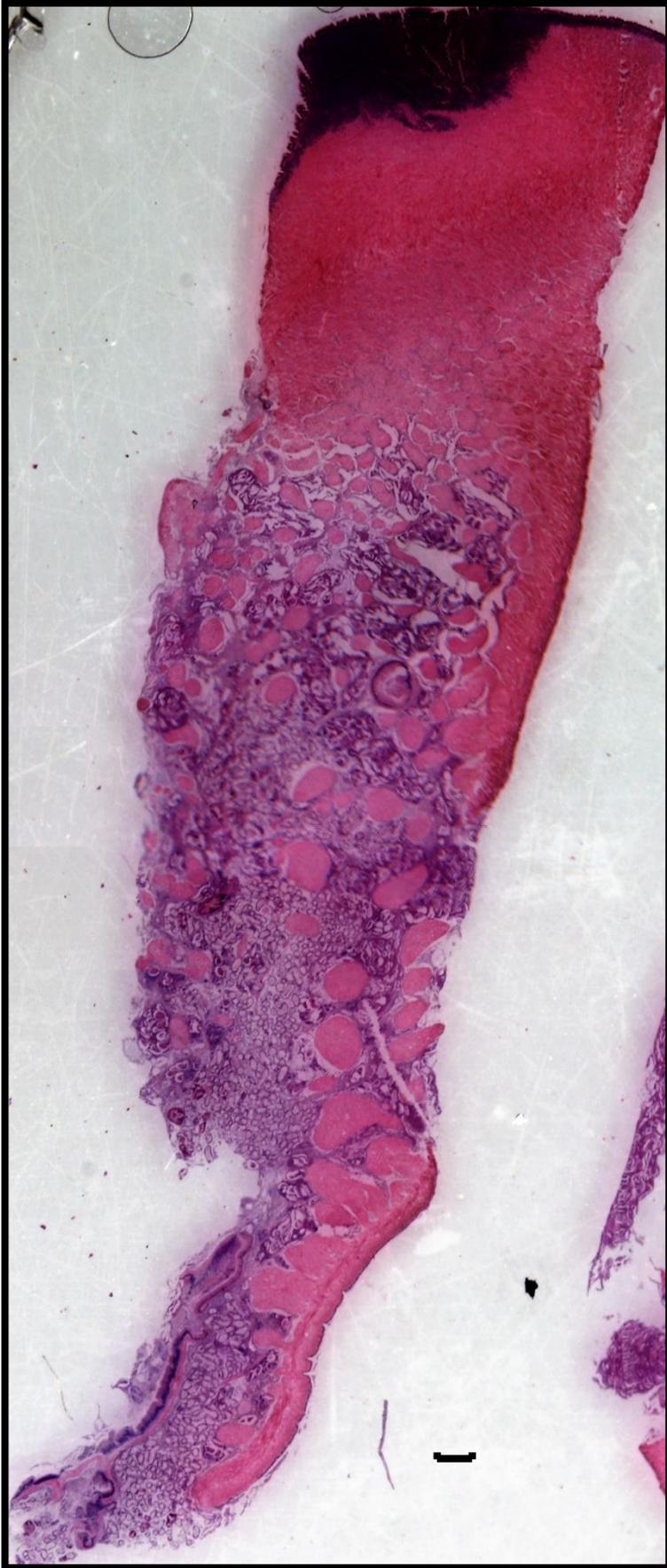
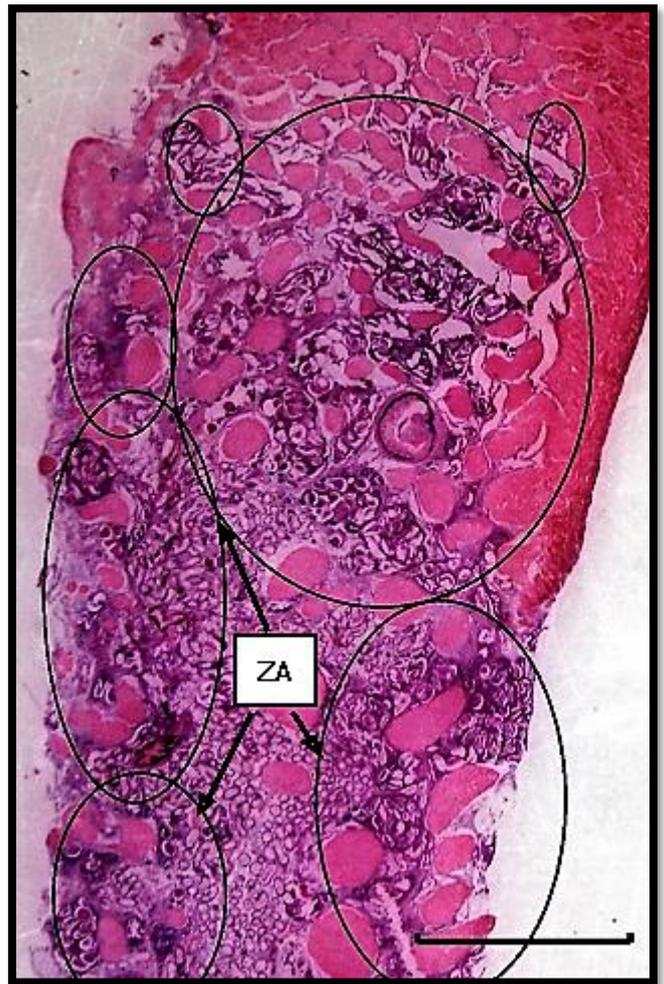


Figura 35: *Glycymeris longior*.
Hembra atrésica grado 5. (ZA: zona
atresica; Ov: ovocitos sin atresia) (Izq).
Aumento total: 40x, escala: 100 μ m.

Detalle inserto de alveolos atresicos
(Der). Aumento: 100x, escala: 100 μ m.



Analizando los porcentajes mensuales de los distintos grados de atresia se observa que el grado 1 se encuentra presente en todos los meses, salvo en junio de 2015.

El grado 5, en el cual se observa el individuo completamente atresico, se encuentra sólo en cuatro meses del año: octubre 2015, y enero, marzo y abril de 2016 (Fig. 35).

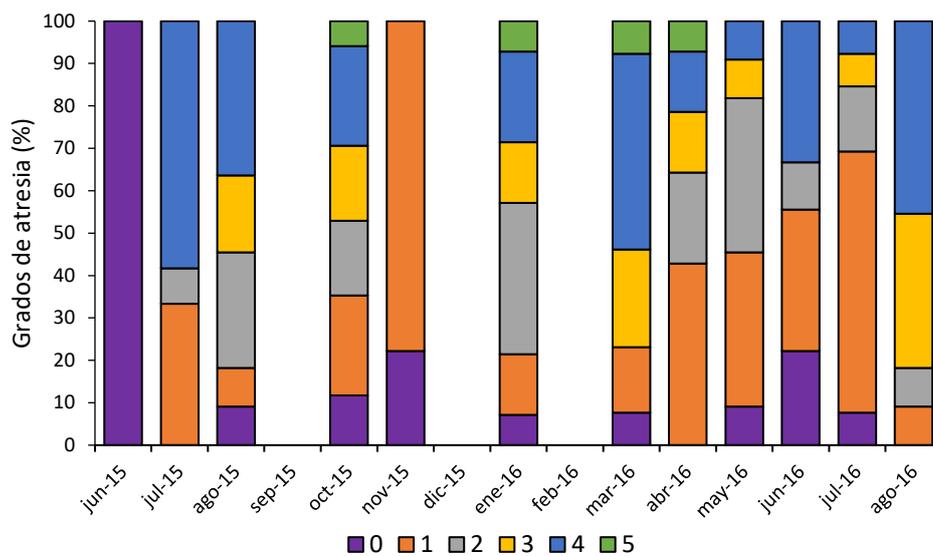


Figura 36: Porcentajes mensuales de los grados de atresia en hembras de *Glycymeris longior*.

Se determinó que la atresia se encontraba presente en todos los estadios reproductivos del ciclo. Si bien, el gráfico muestra variados valores entre cada estadio por mes, se identifican valores bajos de entre 9% y 20% en los estadios de proliferación y maduración (Fig. 37). En los estadios de maduración total (MDT) y ambas evacuaciones (EV y EVR), se presentan valores entre 30% incluso hasta el 100%, caso de junio 2016.

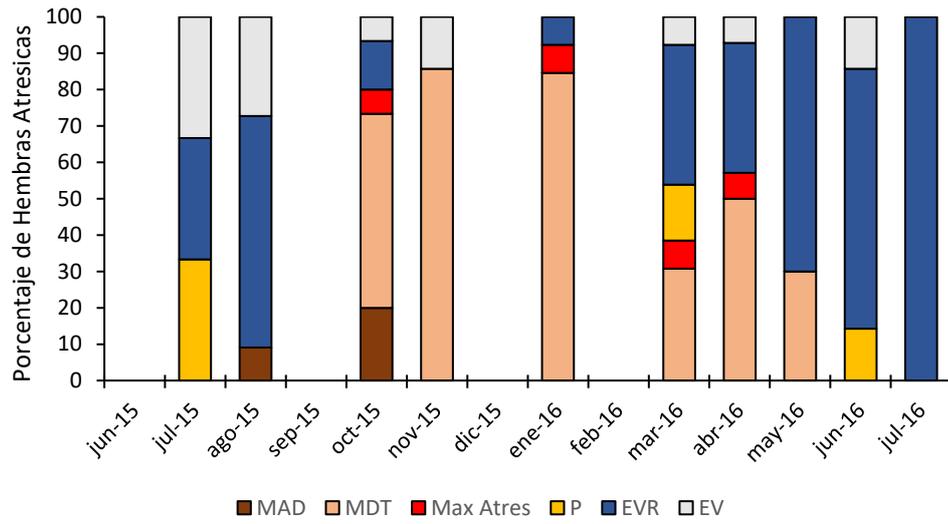


Figura 37: Estadios de desarrollo gonadal en hembras atresicas de *Glycymeris longior*.

5. Discusión

La mayoría de los bivalvos son dioicos y presentan una proporción 1:1 de hembras y machos (Gosling 2003) pero también existen algunas especies que presentan hermafroditismo. En la Familia Glycymeridae, específicamente en el género *Glycymeris* se han descritos patrones reproductivos diversos en *G. nummaria* que presenta organismos dioicos, con una proporción sexual de 1:1, mientras que para *G. glycymeris* y *G. gigantea* se han identificado diferencias en la proporción sexual e individuos hermafroditas (Lucas, 1975). En el caso de *G. longior*, se identificó que la proporción sexual es diferente de 1:1 y existe un 0,8% de la población que son organismos hermafroditas. Además, se pudo observar que existe mayor proporción de machos que de hembras probablemente debido a la existencia de “machos funcionales” que poseen pequeñas ovogonias en alvéolos masculinos. Dado que la cantidad de estas células femeninas no es significativa (una o dos células por cada alvéolo masculino maduro), no se designaron a estos individuos como hermafroditas funcionales. Estos resultados concuerdan con lo observado por Ituarte (1979) quien plantea que las diferencias halladas en la proporción sexual pueden ser explicadas sólo por cambios de sexo de macho a hembra (disminución de la tasa de masculinidad) y luego operarse la inversión en sentido opuesto o bien ocurrir una mayor mortalidad de hembras, clasificando a esta especie como hermafrodita sucesivo.

Por otra parte, se pudo determinar que *G. longior* posee los ovocitos más grandes respecto de las demás especies de la Familia Glycymeridae. Esta especie presenta un rango de diámetro ovocitario que va desde las 7,5 µm hasta 175 µm. De acuerdo con Lucas (1965), el máximo valor de diámetro ovocitario dentro de la Familia Glycymeridae es el correspondiente a *G. glycymeris* es de 170 µm, pero tiene un rango promedio de 100

a 130 μm , y Villalejo-Fuerte *et al.* (1995) reportaron, para *G. gigantea*, ovocitos de 150 μm de diámetro máximo en el periodo de maduración total.

El desarrollo gonadal de los organismos implica un proceso que consume energía, por ello, la reserva de nutrientes (carbohidratos, proteínas, lípidos) que poseen los bivalvos tiene por finalidad el desarrollo de gametas o el crecimiento. En algunas especies, se genera un tejido corporal especial que sirve como almacenamiento del sustrato metabólico (Ansell, 1974; Comely, 1974; Gabbott, 1975; Taylor & Venn, 1979; Sundet & Vahl, 1981; Bayne *et al.*, 1982). El crecimiento de las gónadas generalmente ocurre durante el invierno cuando la disponibilidad de alimento es baja y las actividades de alimentación se suprimen o la gametogénesis progresa rápidamente durante un corto período de tiempo, a principios de la primavera (Steingrímsson, 1989). Después de la evacuación de gametas, sigue un período de reposo gonadal que puede durar todo el invierno (por ejemplo, Ansell, 1974; Morvan y Ansell, 1988).

Glycymeris longior, es una especie que presenta diferencias entre el desarrollo gonadal masculino y femenino; en hembras existe una etapa de proliferación (inicio de la gametogénesis) definida, mientras que en machos se observó un estadio de evacuación con recuperación simultánea, indicando la generación de gametas sexuales durante todo el año, sin un periodo de reposo sexual, a diferencia de *G. nummaria*, la cual presenta un periodo de maduración desde mayo hasta julio para ambos sexos, evacuando sus gametas en julio y agosto (Crncevic 2013), estación de verano en el hemisferio norte (Croacia); y de *G. gigantea*, que desova durante el invierno en Bahía Concepción (Baja California) (Villalejo-Fuerte 1995). Por otra parte, Galap *et al.* (1997) plantea que *G. glycymeris*, en Francia, puede presentar tanto una evacuación en otoño como dos desoves, uno en verano y otro en otoño. Sin embargo, Steingrímsson (1989) reporta que esta misma especie, en

Inglaterra, tiene un ciclo continuo con evacuaciones durante todo el año. Este mismo comportamiento fue observado en El Sòtano, Golfo San Matías, en *G. longior*. Además, esta especie presenta un cierto grado de asincronía reproductiva en la población durante la maduración de células sexuales pero una sincronía en los estadios de evacuación, permitiendo que en el ambiente exista esperma disponible para poder fecundar. Un caso similar de sincronía reproductiva fue descrito por Crncevic *et al.* (2013) en Croacia.

Entre los parámetros ambientales que influyen sobre la reproducción de los bivalvos, la temperatura es un factor importante pues funcionaría como disparador del desove (Sastry, 1979). La época de evacuación de gametas podría estar relacionada con la disponibilidad del alimento. Muchos bivalvos tienden a desovar durante periodos con disponibilidad de alimento para el desarrollo de las larvas. Es posible, que las diferencias temporales y cuantitativas en el suministro de alimentos tengan una mayor influencia en el ciclo reproductivo que la temperatura del agua o latitud (Emmett *et al.*, 1987). Steingrimsson (1989) determina que para *G. glycymeris* la cantidad de alimento (productividad primaria medida indirectamente a partir de las concentraciones de Clorofila *a*) y la concentración de oxígeno son factores modeladores de su ciclo reproductivo. En *G. gigantea* de México, la gametogénesis es un proceso lento y parece estar regulada por la temperatura, la fase proliferativa ocurre durante el invierno y la primavera (desde 17 a 19 °C) y la vitelogénesis ocurre durante el verano con temperaturas crecientes hasta 30 °C. El principal período de desove es en el otoño, cuando las temperaturas están disminuyendo (Villalejo-Fuerte 1995). En el presente estudio se pudo observar que *G. longior* no muestra relación entre la temperatura y los periodos de evacuación total o evacuación con recuperacion. Mientras que sí se observa una relación

entre el inicio de la maduración total y la temperatura, cuyo rango óptimo estaría entre los 11 y 18 °C.

Si bien, la salinidad y la disponibilidad de suficiente oxígeno disuelto, son esencialmente invariantes, las variaciones de temperatura, rara vez, deben exceder las tolerancias de las fluctuaciones en el suministro de alimentos. Es probable, que la disponibilidad de fitoplancton sea crítica para las larvas velíger y desencadenar el reclutamiento y el establecimiento de nuevas poblaciones (Galap, 1997). Starr (1989), examinó los mecanismos que sincronizan el desove de los invertebrados con las floraciones primaverales del fitoplancton. Este autor determinó que los desoves se generan por el aumento en la concentración de células del fitoplancton (floraciones algales), más que por las diferentes especies de diatomeas y dinoflagelados, concluyendo que los niveles naturales de fitoplancton durante una floración en primavera sería suficiente para estimular el desove en moluscos. En la población de *Glycymeris longior* estudiada se observó que los individuos se encontraban en la etapa de maduración de total y/o en evacuación (total o con recuperación) durante los dos períodos de máxima productividad primaria en el año de muestreo; El primer pico de floración algal estimularía el inicio del proceso de desove, mientras que las evacuaciones en todos los meses indicarían que esas concentraciones podrían ser suficientes para abastecer a las larvas y permitir su desarrollo, como lo plantea Starr (1989).

La Atresia se define como un proceso de degeneración y reabsorción de alvéolos ováricos que ocurre de manera normal en los ovarios de todos los vertebrados, incluidos los peces. Sin embargo, en diferentes especies de invertebrados, como los moluscos bivalvos y equinodermos, este aspecto está presente (Quintana, 2012).

La señal celular que inicia este proceso, igual que el de la apoptosis celular, no es bien conocida aún. Sus orígenes pueden ser diversos: desde un proceso de reabsorción (reutilización de los óvulos degradados para reabsorber energía), hasta situaciones de stress: sea por déficit de alimento a bajas temperaturas o por procesos de contaminación. Diversos autores apuntan a la acción lisosomal de los propios ovocitos (Dorange y Le Pennec, 1989; Pipe y Moore, 1985; Pardo Fernández, Matus de la Parra y San Juan Serrano, 2002) y a una inducción por testosterona (Wang y Croll, 2004). Las condiciones ambientales desfavorables también son citadas como causa de estrés y de degradación de ovocitos.

La degeneración y atresia de ovocitos es un proceso descrito en moluscos bivalvos, cuyo significado fisiológico es explicado por la sobre maduración en el alvéolo cuando no existen estímulos que incitan la puesta. Las variables externas que más influyen tanto en el crecimiento somático como en el desarrollo gonadal de moluscos bivalvos son la temperatura y la disponibilidad de alimento (Suarez Alonso, 2007). Alternativamente, la atresia podría estar relacionada con el “reloj interno” que presentan los seres vivos. Ejemplo de ello, es el berberecho, que cuando inicia el invierno, coincide con el crecimiento de valvas al comienzo de su ciclo reproductivo anual. Durante el desove o puesta, se observa un ligero aumento glucógeno, secuencia de proteínas y lípidos, lo que sugiere que tiene el potencial de liberar ovocitos en este momento. Sin embargo, esto no ocurre, y la cohorte de ovocitos sufre atresia total. Como esta lisis es seguida por un período de crecimiento valvar, parece probable que los metabolitos producidos por tal atresia contribuyan al crecimiento de la especie; donde la energía se asigna al crecimiento en lugar de a la reproducción (Steingrimsson, 1989). Los metabolitos producidos por dicha lisis o atresia, pueden actuar como una fuente alterna, en un momento donde la disponibilidad de alimentos se ve afectada por la disminución

en la productividad del plancton y/o caídas en la temperatura del agua. Un fenómeno similar ha sido descrito en la vieira *Pecten maximus*, en la cual los ovocitos maduros se lisan durante el período de invierno por enzimas de los tejidos musculares y viserales. Se presume que dicha lisis, ayuda a mantener la integridad fisiológica durante el invierno, un período muy difícil para los bivalvos (Dorange 1989).

Los procesos de atresia, dentro de la Familia Glycymeridae, se han descrito en *G. glycymeris*. Estos ocurren en el periodo comprendido desde octubre/noviembre hasta febrero/marzo, caracterizado por un alto nivel de degeneración ovocitaria y afectando a todos los ovocitos en la gónada, durante el invierno. Por el contrario, en *G. longior*, la atresia es permanente durante todo el año, independiente del estadio reproductivo en que se encuentra. Gantias *et al.* (2008) señalaron que la atresia puede presentarse en cualquier momento del desarrollo ovocitario y Suarez Alonso (2007) reporta la degradación de gametas en más evidente en hembras y se produce dentro de los alvéolos gonadales, tal como se pudo observar en *G. longior*. Asimismo, teniendo en cuenta los dos parámetros ambientales (temperatura y clorofila *a*) analizados, no se pudo comprobar que estos fueran las posibles causas de proceso.

6. Conclusiones.

Las conclusiones finales obtenidas de este trabajo son:

- Se pudo identificar un ciclo reproductivo para *Glycymeris longior*, con ausencia de reposo sexual.
- Se identificó una proporción sexual distinta de 1:1, con presencia de hermafroditas.
- Para demostrar el posible patrón de hermafroditismo sucesivo es necesario realizar estudios posteriores, ampliando el rango de tallas e incluir individuos juveniles.
- El patrón reproductivo de *G. longior* sería regulado por la productividad primaria presente en la zona, más que por la temperatura superficial del mar. Este, último parámetro ambiental actuaría como disparador de los eventos de evacuación gamética.
- A partir de los estudios realizados no se pudo determinar algún tipo de relación entre los grados de atresia y los parámetros ambientales.

A continuación, se detalla, realizo algunas actividades que podrían completar algunos aspectos de este trabajo que han no han podido ser resueltos para futuras investigaciones sobre este trabajo, las cuales son:

- Analizar otros parámetros ambientales, como la salinidad y/o concentración de oxígeno disuelto, para ajustar la regulación del patrón reproductivo.
- Complementar los datos obtenidos mediante imágenes satelitales de Clorofila *a*, con muestreos in situ.
- Determinar posible/s causa/s de atresia en un ámbito experimental.

7. Bibliografía

- Ansell A. D. (1974).** Seasonal variations in the flesh weights and biochemical content of the scallop *Pecten maximus* L. in the Clyde Sea Area. *Marine Biology*. Springer.
- Avendaño, M. y Cantillanez, M. (2008).** Aspectos biológicos y poblacionales de *Argopecten purpuratus* en la reserva marina La Rinconada: contribución para su manejo. *FAO Actas de Pesca y Acuicultura*. No 12: 249- 266.
- Baquiero Cárdenas, E. and Aranda D.A. (2000).** A Review of Reproductive Patterns of Bivalve Mollusks from Mexico. *Bulletin of Marine Science*, 66 (1): 13-27.
- Baron P J and Ciocco N F. (2001).** Reproductive cycle of the clam *Tellina petitiana* d'Orbigny, 1846, in Nuevo Gulf (Argentina). *The Veliger* 44 (4):370-380.
- Bayne B.L., Gabbott P.A, Widdows J. (1975).** Seasonal variation in weight and biochemical composition of the tissues of the queen scallop, *Chlamys opercularis*, from the Clyde Sea area. *Journal of the Marine Biological*. Cambridge.org.
- Brusca, R. y G. Brusca. (2002).** *Invertebrates*. 2da Edición. Sinauer Associates Sunderland, MA. 936 pp.
- Calcagno, J. (2014).** Los Invertebrados Marinos. Fundación de Historia Natural Feliz Aranza, p: 147-163 pp.
- Calvo, J., E. Morriconi y P. M. Orler. (1998).** Los moluscos de interés pesquero. Cultivos y estrategias reproductivas de bivalvos y equinoideos. En: *El Mar Argentino y sus recursos pesqueros*. Tomo 2: 195-231.
- Coe, W. R. (1942).** Sexual differentiation in mollusks. I. Pelecypods. *Quarterly Review of Biology* 18:154-164.
- Comely. C. A. (1974).** Seasonal variations in the flesh weights and biochemical content of the scallop *Pecten maximus*. in the Clyde Sea Area. *ICES Journal of Marine Science*, Volume 35, Issue 3, Pages 281–295.
- Crncevic, M., Peharda, M., Ezgeta-Balic, D. and Pecarevic, M. (2013).** Reproductive cycle of *Glycymeris nummaria* (Mollusca: Bivalvia) from Mali Ston Bay, Adriatic Sea, Croatia. *Scientia Marina* 77 (2): 293-300.
- Doldan MS, Orrego ME, Morsan E. (2016).** *Glycymeris longior*: información preliminar de la población de El Sótano. Consideraciones para su explotación comercial. Informe Técnico Interno 24/2016. CIMAS (Centro de Investigación Aplicada y Transferencia Tecnológica en Recursos Marinos Almirante Storni), ciudad de San Antonio Oeste, Rio Negro
- Dorange G. and Le Pennec M. (1989).** Ultrastructural study of oogenesis and oocytic degeneration in *Pecten maximus* from the Bay of St. Brieu. *Marine Biology*, 103, 339-348.

- Emmett, B., Thompson K. & Phopham J.D. (1987).** The reproductive and energy storage cycles of two populations of *Mytilus edulis* (Linne) from British Columbia. J. Shellfish Res. 6 (1): 29-36.
- Farinati E. (1979)** Microfauna de moluscos querandinenses (Holoceno), Ingeniero White, provincia de Buenos Aires. Revista de la Asociación Geológica Argentina 33:211–232.
- Flores Perez, F. I.; Rosas Veleasco C.; Romano Pardo, M. C. y Perez Martínez, M. (2005).** Apoptosis y atresia folicular: Un binomio esencial en el desarrollo ovárico.
- Flores Quintana, C.; Blanco Cohene, T.; Arbués, R.; Domitrovic, H. & González, J. (2012).** Atresia Folicular en Ovarios de *Prochilodus lineatus*. Int. J. Morphol., 30(4):1301-1308.
- Galap C., Leboulenger F., Grillot J. P. (1997).** Seasonal variations in biochemical constituents during the reproductive cycle of the female dog cockle *Glycymeris glycymeris*. Marine Biology 129: 625-634.
- Giménez, L.H (2017).** Análisis Escreronológico de *Glycymeris longior* (Sowerby, 1832): Edad, estructura poblaciones y evolución de su potencial como archivo ambiental del Golfo San Matías (Mar Argentino).
- Gosling, Elizabeth. (2003).** Bivalve Molluscs. Biology, Ecology and Culture. Fishing News Books. 131 pp.
- Grizel, Herni. (2003).** An Atlas of histology and cytology of marine bivalve molluscs. Editions Ifremer. France.
- Hilbish T.J., KM Zimmerman. (1988).** Genetic and nutritional control of the gametogenic cycle in *Mytilus edulis*. Marine Biology. Springer.
- Ituarte, Cristian F. (1997).** Sobre la sexualidad de *Glycymeris longior* (Soweby) (Mollusca Pelecypoda). Neotropica. Vol25, No 74 I-XII-79.
- Jaramillo R., Winter J., Valencia J. and Rivera A. (1993).** Gametogenic cycle of the chiloie scallop (*Chlamys amandi*). Journal of Shellfish Research, Vol 12, No. 1, 59-64.
- Kanti, A., Heffernan P. B, Walker R.L. (1993).** Gametogenic cycle of the southern surfclamm, *Spisula solidissima sielis* (Say, 1822) from St. Catherines Sound, Georgia. Journal of Shellfish Research, Vol 12, No 2, 255-261.
- Kasyanov, V. L. (2001).** Reproductive strategy of marine bivalves and echinoders. Sciences Publishers, Inc. Enfield, NH, USA.
- Kroeck, M. A. (2005).** *Bonamia* sp (Protozoa, Haplosporidia) Parasito de *Ostrea puelchana* D' Orbigny (Mullusca, Bivalvia) en el Golfo San Matías (Patagonia, Argentina): Histopatología, identificación e infección. Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Comahue. 149 pp.

- Lanfredi, N.W. and J.L. Pousa. (1988).** Mediciones de corrientes, San Antonio Oeste, Provincia de Río Negro. Instituto de Biología Marina y Pesquera “Alte. Storni”, Río Negro, Argentina, Tech. Rep., 13 pp.
- Le Pennec M., Beninger, P.G., Dorange G. (1991).** Trophic Sources and Pathways to the Developing Gametes of *Pecten Maximus* (Bivalvia: Pectinidae). Journal of the Marine.
- Licet B., Arrieche D., Freitas L., Lodeiros C. y Acosta V. (2011).** Influencia del ciclo reproductivo y de los parámetros ambientales sobre los sustratos energéticos en las gónadas del mejillón marrón *Perna perna L* (1758), en el Mar Caribe (Nororiente de Venezuela). Zootecnia Trop. 29 (3):323-335.
- Lowe D.M., Moore M.N., Bayne, B.L. (1982).** Stereological methods applied to reproductive cycle of *Tapes rhomboids*. Journal of the Marine Biological. Cambridge.org.
- Lucas A. (1975).** Sex differentiation and juvenile sexuality in bivalves molluscs. Pubblicazioni della Stazione Zoologica, Napoli (Italy). agris.fao.org
- Matus Ade la Parra, F San Juan Serrano - Búsqueda de marcadores de madurez de los gametos durante el ciclo gametogénico de Crassostrea gigas (Thunberg, 1873) Instituto Español de ... , 2011 - revistas.ieo.es**
- Mazio, C. and C. Vara. (1983).** Las mareas del Golfo San Matías, Argentina. Servicio de Hidrografía Naval. Dpto. Oceanografía, Tech. Rep., 69 pp.
- Menesguen A. and Dreves L. (1987).** Sea-temperature anomalies and population dynamics variations: effects on growth and density of three bivalves. Marine Ecology, Progress series. Vol. 36:11-21.
- Mladineo I., Peharda M. and et al. (2007).** The reproductive cycle condition index and biochemical composition of the horse-bearded mussel *Modiolus barbatus*. Springer. Helgol Mar Res 61:183-192.
- Morsan E. M., Zaidman P., Ocampo-Reinaldo M. and Ciocco N. (2010).** Population structure, distribution and harvesting of southern geoduck, *Panopea abbreviata*, in San Matías Gulf (Patagonia, Argentina). Scientia Marina 74(4).
- Morsan, E. M. and Kroeck M. A. (2005).** Reproductive cycle of purple clam, *Amiantis purpurate* (Bivalvia: Veneridae) in northern Patagonia (Argentina). Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 85, 4876/1-7.
- Morvan C., Ansell A.D (1988).** Seasonal variations in biochemical constituents during the reproductive cycle of the female dog cockle *Glycymeris glycymeris*. Marine Biology. Springer.
- NOAA Technical Memorandum NMFS-F/NEC-25. (1983).** Histological Techniques for Marine Bivalve Molluscs. U.S. Department of Commerce, National Oceanic

and Atmospheric Administration. National Marine Fisheries Service, Woods Hole, Massachusetts. 97 pp.

Olive, P. J. W. (1995). Annual breeding cycles in marine invertebrates and environmental temperature: probig the proximate and ultimate causes of reproductive synchrony. J. THERM Biol. Vol 20, N° ½, pp: 79-90.

Pérez Camacho A, Gonzales R. (1978). La reproducción en los moluscos bivalvos.

Pérez Camacho A., R González, J Fuentes. (1991). Mussel culture in Galicia (NW Spain). Aquaculture. Elsevier.

Piola, A.R. and L.M. Scasso. (1988). Circulación en el Golfo San Matías. Geoacta, 15: 33-51.

Pipe R.K., Moore, M.N. (1985). The ultrastructural localization of lysosomal acid hydrolases in developing oocytes of the common marine mussel *Mytilus edulis*. The Histochemical Journal. Springer.

Programa de Monitoreo de Calidad Ambiental de Zonas de Producción. CIMAS. Rio Negro.

Rivas, A.L. and E.J. Beier. (1990). Temperature and salinity fields in the Northpatagonic Gulfs. Oceanol. Acta, 13(1): 15-20.

Ross, Michael H. y Pawlina, W. (2013). Histología: texto y atlas color con biología celular y molecular. 6° ed. 1° reimp. Ed Medica Panamericana. Buenos Aires.

Ruppert, E. E. y R. D. Barnes. (1996). Zoología de los invertebrados. 6ta edición. McGraw-Hill Interamericana, México. 1114 pp.

Santos, F., Guitarte, J. L. y Carro, M. R. (2010). Fundamentos básicos de fisiología vegetal y animal. Pearson Education. Madrid.

Sastry, A. N. (1968). The relationships among food, temperatura and gonad development of the Bay Scallops *Aequipecten irradians* Lamarck. Duke University Marine Laboratory, Beaufort, North Carolina.

Scarabino V. (1977) Moluscos del golfo San Matías (provincia de Río Negro, República Argentina): Inventario y claves para su identificación. Sociedad malacológica del Uruguay.

Seed R., Suchanek T.H., Gosling, E. (1992). The mussel *Mytilus*: ecology, physiology, genetics and culture. - Dev Aquac Fish Sci,

Smith, L. S. y T. M. Smith. (2007). Ecología.6ta edición. Pearson Education, Madrid. 172 pp. 79- 223.

Stanley S. (1970). Relation of Shell Form to Life Habits of the Bivalvia (Mollusca). Departament of Earth and Planetary Sciencies. The Johns Hopkins University. Baltimore, Maryland.

- Starr M., Himmelman J. H. and Therriault J. (1990).** Direct Coupling of Marine Invertebrate Spawning with Phytoplankton Blooms. *Science*, Vol. 247.
- Steingrimsón, Sigmar Amar. (1989).** A comparative ecological study of two *Glycymeris glycymeris* (L.) populations off the Isle of Man. Port Erin Marine Laboratory. Department of Environmental and Evolutionary Biology. University of Liverpool Port Erin, Isle of Man, U.K.
- Suárez Alonso P., Álvarez Gonzales C., Molist García P. y San Juan Serrano F. (2001).** Un caso de neoplasia gonadal en mejillones de la Ria de Vigo, *Mytilus galloprovincialis*. Publicación previa al VII Congreso Nacional de Acuicultura (Santander, Mayo 2001). Facultad de Ciencias. Universidad de Vigo.
- Suárez Alonso P., Álvarez Gonzales C., Molist García P. y San Juan Serrano F. (2007).** Atresia gonadal durante el ciclo gametogenico de *Mytilus galloprovinciales* (Lamarck, 1889) cultivado en la ría de Vigo (Noroeste de la península Ibérica). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 23(1-4): 3-10.
- Sundet J.H., Vahl, O. (1981).** Aspects of Gametogenesis in the Marine Mussel *Mytilus Edulis* L. *Journal of the Marine Biological.* cambridge.org.
- Taylor A.C., Venn, T.J. (1979).** Seasonal Changes in Dry Weight and Biochemical Composition of the Tissues of Sexually Mature and Immature Iceland Scallops, *Chlamys Islandica*. *Journal of the Marine Biological.* cambridge.org.
- Thomas, R. D. K. (1975).** Functional morphology, ecology and evolutionary conservatism in the Glycymerididae (Bivalvia). *Palaeontology*, Vol. 18, part 2, 217-254.
- Torres-Villegas J. R., Ochoa-Baez R. I., Perez gomez L. y Garcia-Melgar G. (2007).** Estimaciones de atresia mayor en la temporada reproductiva 1999-2000 en la sardina monterrey (*Sardinops sagax*) en Bahía Magdalena, México. *Rev Biología Marina y Oceanografía* 42(3):299-310.
- Villalejo-Fuerte M., Garcia-Dominguez F. y Ochoa-Baez, R. I. (1995).** Reproductive Cycle of *Glycymeris gigantea* (Reeve 1843) (Bivalvia: Glycymeridadae) in Bahía Concepción, Baja California Sur, México. *The Veliger*, 32.
- Wang, C., Croll, R.P. (2004).** Effects of sex steroids on gonadal development and gender determination in the sea scallop, *Placopecten magellanicus*. *Aquaculture.* Elsevier.
- Zaidman, Paula Cecilia. (2013).** Dinámica de la metapoblación de almeja panopea *Panopea abbreviata* en los Golfos Norpatagónicos. IBMP (actual CIMAS). San Antonio Oeste. Rio Negro.