

ANÁLISIS DE LA MADURACIÓN GONADAL DEL MEJILLÓN *Mytilus*
platensis D´Orbigny 1842, BAJO DIFERENTES TRATAMIENTOS
ALIMENTARIOS EN CONDICIONES DE LABORATORIO.



Tesista: Reggiani, Claudio Raimundo

Directora: Lic. Elvira, Myriam B.

Co-directora: Dra. Oehrens Kissner, Erica M.

Licenciatura en Biología Marina
Escuela Superior de Ciencias Marinas
Universidad Nacional del Comahue

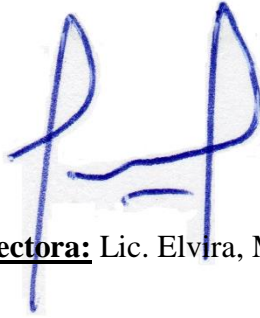
2024



ANÁLISIS DE LA MADURACIÓN GONADAL DEL MEJILLÓN *Mytilus*
platensis D´Orbigny 1842, BAJO DIFERENTES TRATAMIENTOS
ALIMENTARIOS EN CONDICIONES DE LABORATORIO.



Tesista: Reggiani, Claudio Raimundo



Directora: Lic. Elvira, Myriam B.



Co-directora: Dra. Oehrens Kissner, Erica M.

Licenciatura en Biología Marina
Escuela Superior de Ciencias Marinas
Universidad Nacional del Comahue

2024



Agradecimientos

Quiero brindar mi profundo agradecimiento a todo el personal y las autoridades que hacen a la Escuela Superior de Ciencias Marinas de la Universidad Nacional del Comahue. Especialmente a: Paul, Marita, Andrea Roche, Sandro y Jorge que siempre estuvieron cuando surgieron dudas, consultas y necesidades.

A mis compañeros del CRIAR por su apoyo y su disposición para ayudarme, han sido fundamentales para la finalización de esta tesis. En especial a Marcela y Eduardo que me acogieron bajo su ala y me dieron la oportunidad de insertarme en el ámbito laboral de la investigación.

A mis directoras Myriam y Erica que tuvieron la ardua tarea de acompañarme en la realización de este trabajo.

Asimismo, quisiera expresar mi gratitud a todas las personas que contribuyeron con el desarrollo de esta investigación. A todos los que me ayudaron a recopilar datos (Juan y Martita) a todos aquellos que dedicaron un poco de su tiempo para revisar mi trabajo (Fausto, Quique y Soco). Que, con sus comentarios, sugerencias de bibliografía, conversaciones para revisar conceptos, propuestas y análisis son la base de este trabajo. Esta tesis no sería la que es sin sus recomendaciones.

A Marina, Pato y al personal del Laboratorio de Parasitología e Histopatología Moluscos Bivalvos (LABPAT), que desinteresadamente me brindaron todo su conocimiento y pusieron a mi entera disposición sus instalaciones y equipamiento.

A mis amigos y compañeros que estuvieron conmigo en los momentos de estrés, crisis y alegría durante este largo camino. Cada uno de ustedes ha contribuido dándome ánimo de una u otra manera.

A mi familia, ya que si soy como soy, con defectos y virtudes es gracias a todos ellos que me acompañan desde siempre.

Y a Cynthia la persona más importante en mi vida, gracias por brindarme tu apoyo a lo largo de toda la carrera, por darme ánimo cuando quise bajar los brazos y dejar todo. Por levantarte temprano sábados y domingos e ir al criadero con frío y en moto a trabajar conmigo en la tesis. Por estar atenta hasta último momento de lo que necesite para esta presentación. Y sobre todo gracias por todo el cariño y amor que me brindas día a día, TE AMO.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	4
Hipótesis, predicciones y objetivos	11
MATERIALES Y MÉTODOS	
<i>Obtención y manejo inicial de reproductores</i>	13
<i>Diseño experimental</i>	15
<i>Cultivo de microalgas y alimentación</i>	17
A) <i>Cultivo de microalgas</i>	17
1) <i>Limpieza y desinfección del material</i>	18
2) <i>Cultivo de cepas</i>	18
3) <i>Cultivo intermedio</i>	19
4) <i>Cultivo masivo</i>	21
B) <i>Alimentación</i>	22
<i>Proceso histológico</i>	23
<i>Análisis</i>	25
<i>Proporción de sexos</i>	25
<i>Índice de Condición y Rendimiento</i>	25
<i>Análisis histológicos</i>	26
<i>Distribución de Frecuencia de Diámetro Ovocitario (DFDO)</i>	28
<i>Área Ovocitaria Relativa (AOR)</i>	28
<i>Análisis estadísticos</i>	28
<i>Análisis de la Supervivencia</i>	29
<i>Análisis del Alimento Residual</i>	29
RESULTADOS	
<i>Proporción de sexo</i>	30
<i>Índice de Condición (IC)</i>	31
<i>Rendimiento en carne (R)</i>	33

<i>Análisis cualitativo de los estadios gonadales</i>	34
<i>Distribución de Frecuencias de Diámetros Ovocitarios (DFDO)</i>	40
<i>Diámetro ovocitario medio, Ovocitos por campo y Área ovocitaria relativa</i>	43
<i>Análisis Supervivencia</i>	46
<i>Análisis del Alimento Residual</i>	47
DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN	48
BIBLIOGRAFÍA	55
ANEXOS	66

RESUMEN

El mejillón *Mytilus platensis*, es un bivalvo con una amplia distribución en el cono sur, este ha sido estudiado en temas referidos a sus aspectos biológicos ecológicos, reproductivos, genéticos y pesqueros. La ausencia de captación natural y la devastación de los bancos de mejillón en la zona costera norte del Golfo San Matías han llevado a las poblaciones a un punto de no recuperación por fallas en el reclutamiento de los fondos, por esta razón, la producción de semilla en criadero surge como una alternativa viable para resolver este problema. Esta tesis se centra en la evaluación del impacto de dos concentraciones de microalgas en la maduración sexual de los mejillones *Mytilus platensis* en un entorno controlado de laboratorio. Se realizaron análisis cualitativos de proporción de estadios gonadales y cuantitativos los cuales abarcaron Índice de Condición, Rendimiento, Histograma de Frecuencia Ovocitaria y Porcentaje de Área Ovocitaria Relativa. Estos análisis se realizaron utilizando organismos de banco natural y acondicionados, los cuales fueron expuestos a dos concentraciones de dietas diferentes: Tratamiento A (2500×10^6 cél/ind/día) y Tratamiento B (5000×10^6 cél/ind/día), compuestas por las microalgas *Chaetoceros sp*, *Isochrysis galbana* y *Tetraselmis suecica*. Dichas dietas se suministraron a los organismos acondicionados a una temperatura de $17^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y una salinidad del 34‰ durante un período de dos meses. Los resultados revelan que no se observaron diferencias significativas en el Índice de Condición, Rendimiento y Área Ovocitaria Relativa entre los tratamientos aplicados en el laboratorio. Sin embargo, se observó una mayor proporción de organismos maduros a los 15 días, especialmente en los mejillones acondicionados. Por consiguiente, se sugiere que una dieta con una concentración de 2500×10^6 cél/ind/día es óptima para acelerar la maduración de un mayor número de individuos en un período más corto, lo que reduce tanto los costos como el tiempo necesario para el acondicionamiento de los reproductores. Este estudio establecerá parámetros alimenticios de referencia para el acondicionamiento de reproductores en criadero, sentando así un precedente en la investigación sobre este tema.

Palabras claves: *Mytilus platensis*, Criadero, Acondicionamiento, Dietas microalgales, Desarrollo gonadal.

ABSTRACT

The mussel *Mytilus platensis* is a bivalve with a wide distribution in the southern cone. It has been studied in topics related to its biological ecological, reproductive, genetic and fishing aspects. The absence catchment of natural and the devastation of mussel shoal in the northern coastal area of the San Matías Gulf have led the populations to a point of non-recovery due to failures in the recruitment of the funds, for this reason, seed production in hatcherie emerges as a viable alternative to solve this problem. This thesis focuses on the evaluation of the impact of two concentrations of microalgae on the sexual maturation of *Mytilus platensis* mussels in a controlled laboratory environment. Qualitative analyzes of the proportion of gonadal stages and quantitative analyzes were carried out, which included Condition Index, Performance, Histogram of Oocyte Frequency and Percentage of Relative Oocyte Area. These analyzes were carried out using natural and aconditioned bank organisms, which were exposed to two different diet concentrations: Treatment A (2500×10^6 cells/ind/day) and Treatment B (5000×10^6 cells/ind/ day), composed of the microalgae *Chaetoceros sp*, *Isochrysis galbana* and *Tetraselmis suecica*. These diets were supplied to the aconditioned organisms at a temperature of $17^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ and a salinity of 34‰ for a period of two months. The results reveal that no significant differences were observed in the Condition Index, Performance and Relative Oocyte Area between the treatments applied in the laboratory. However, a greater proportion of mature organisms was observed after 15 days, especially in aconditioned mussels. Therefore, it is suggested that a diet with a concentration of 2500×10^6 cells/ind/day is optimal to accelerate the maturation of a greater number of individuals in a shorter period, which reduces both costs

and the time required. for the conditioning of the reproducers. This study will establish reference nutritional parameters for the conditioning of broodstock in hatcherie, thus setting a precedent in research on this topic.

Keywords: *Mytilus platensis*, Hatchery, Conditioning, Microalgal diets, Gonadal development.

INTRODUCCIÓN

Los productos acuícolas de origen marino como algas, peces, crustáceos y moluscos son una fuente muy valiosa de proteínas, lípidos y nutrientes esenciales, que contribuyen a lograr una nutrición equilibrada. Debido a que las pesquerías han sobrepasado sus niveles máximos de captura en diversas zonas del mundo, la acuicultura brinda una oportunidad de incrementar la producción de peces y mariscos (FAO 2012, 2022).

El cultivo de moluscos es una actividad que no utiliza dietas balanceadas, dado que estos organismos se alimentan por filtración. Esto proporciona una ventaja significativa al no necesitar este tipo de insumos que incrementen los costos de producción (Helm et al. 2006), siempre que el cultivo no requiera de semilla de criadero. Desde 2010, esta actividad ha experimentado un crecimiento sostenido, alcanzando un volumen cercano a 18 millones de toneladas a nivel mundial en 2020. En contraste, la pesca de moluscos solo registró alrededor de 7 millones de toneladas durante el mismo período. En el año 2020, los mejillones representaron aproximadamente el 10 % del total de la producción de acuicultura de moluscos (FAO 2022).

En Argentina, la actividad acuícola se inició a principios del siglo XX con la introducción de salmónidos y la siembra de pejerrey en diversos cuerpos de agua dulce. En la actualidad, las especies cultivadas predominantemente son peces, como la trucha arcoíris, pacú, surubí, boga, dorado, tilapia y carpas, entre otros. En segundo lugar, se destaca el cultivo de moluscos, representado por la ostra japonesa (*Crassostrea gigas*) en el sur de la Provincia de Buenos Aires, y la mitilicultura, realizada a escala piloto comercial en la provincia de Tierra del Fuego. Este último se encuentra en una etapa inicial, con una proyección estimada de alcanzar las 5.800 toneladas anuales para el año 2025 (Dirección Nacional de Acuicultura en 2022).

Debido al significativo potencial que la acuicultura de mejillones posee como fuente de proteína y generadora de divisas, existe un interés marcado en asegurar la disponibilidad de larvas y juveniles ("semillas"). La obtención de semillas puede realizarse mediante dos métodos distintos. Uno de ellos consiste en la recolección en el medio natural, lo que depende de diversos factores ambientales como corrientes, temperaturas del agua y disponibilidad de alimento, lo que conlleva una importante incertidumbre en la producción (Kamermans et al. 2013). El segundo método, la producción en criadero, ofrece la posibilidad de un suministro estable y predecible a lo largo del tiempo. El estudio del ciclo reproductivo natural de estos organismos, así como el desarrollo de métodos para el acondicionamiento gonádico (maduración sexual controlada), son esenciales para alcanzar estos objetivos. Por lo tanto, el acondicionamiento de los reproductores desempeña un papel fundamental, ya que representa la primera etapa de producción si se busca obtener semillas de manera sostenida y fomentar el cultivo hasta alcanzar una talla comercial adecuada para mercados establecidos (Helm et al. 2006).

El mejillón ha sido ampliamente estudiado en temas referidos a sus aspectos biológicos-ecológicos (Penchaszadeh 1980, Bala 1989, 1996), reproductivos (Penchaszadeh 1971, Sar et al. 2018, Oehrens Kissner y Kroeck 2005), genéticos (Borsa et al. 2012, Valenzuela et al. 2016, Zbawicka et al. 2018) y pesqueros (Lasta et al. 1986, Lasta et al. 1998, Coller et al. 2004, Narvarte y Morsan 2005). En estos últimos estudios, se concluye consistentemente que la sobreexplotación de los bancos es un problema recurrente, lo que ha impulsado el desarrollo del cultivo como una alternativa viable para abordar esta situación (Bertolotti et al. 1986, Pascual y Zampatti 1998).

El mejillón es una especie dioica, sin dimorfismo sexual evidente macroscópicamente y la talla de primera madurez sexual comienza a los 24,91 mm (Oehrens Kissner y Kroeck 2005). Una característica particular de esta especie es que, a medida que avanza la maduración sexual,

el color de la carne de los individuos cambia según el grado de maduración gametogénica. Las hembras varían desde el amarillo oscuro hasta el naranja rojizo o rosa, mientras que los machos maduros presentan una gama de colores desde el amarillo hasta el blanco cremoso (Calvo et al. 1998). En el Golfo San Matías, durante los meses de invierno, los organismos experimentan una fase de maduración temprana, seguida de una maduración total a principios de primavera, culminando con la puesta gamética en los meses de noviembre y diciembre (Oehrens Kissner et al. datos no publicados). Los estudios reproductivos siempre se han realizado con ejemplares silvestres, de banco natural y hasta el presente no se han llevado a cabo estudios descriptivos del desarrollo gonadal en condiciones de laboratorio bajo diferentes tratamientos de alimentación.

Teniendo en cuenta el ciclo de vida, el cultivo en criadero del mejillón se caracteriza por cuatro fases distintas: acondicionamiento de reproductores, cultivo larvario, fijación y pre-engorde de semilla (Pérez Camacho 1987 a, b). El acondicionamiento de reproductores consta en controlar la temperatura y la alimentación con la finalidad de poder disponer de ejemplares sexualmente desarrollados en cualquier época del año (Pérez Camacho 1987 a, b, Farías 2008). Una vez que los organismos alcanzan la madurez sexual, se induce a la liberación gamética y fecundación, lo que permite el desarrollo del cultivo larvario bajo condiciones controladas hasta la obtención de semilla. En la acuicultura en criadero, el acondicionamiento de reproductores es de suma importancia, ya que es fundamental para obtener larvas y semilla que puedan ser cultivadas hasta alcanzar la talla comercial (Helm et al. 2006). Este proceso implica la recolección de individuos adultos silvestres, seguida de su acondicionamiento para la maduración sexual. El objetivo del acondicionamiento gonádico es extender en el tiempo el ciclo reproductivo, eliminando la necesidad de depender exclusivamente de los adultos maduros que se encuentran en el mar (Mazón Suástegui 1988, 2005).

La maduración sexual en los bivalvos es el resultado de una compleja interacción de varios factores, incluyendo la temperatura, la salinidad, la luz y el alimento (Mackie 1984, Román et al. 2001, Barber y Blake 2006). Entre estos, la temperatura y la disponibilidad de alimento se destacan como los principales determinantes de la maduración sexual en estos organismos (Saucedo et al. 2001, Román et al. 2001, Fernández Reiriz et al. 2003, Chávez Villalba et al. 2007, Acosta et al. 2011). Una mayor investigación y control sobre estos parámetros podría modificar significativamente la eficiencia del acondicionamiento (Muciño Díaz y Avilés Quevedo 1990, Hernández y Gómez 2000, Lagos et al. 2012, Treviño Zambrano 2018).

En su ambiente natural el mejillón como molusco filtrador, se alimenta básicamente de partículas en suspensión que pueden variar desde microalgas (diatomeas, dinoflagelados, silicoflagelados) hasta radiolarios, foraminíferos y estructuras de organismos del zooplancton. La composición de su dieta depende del tamaño de la partícula y del propio tamaño del individuo (Penchaszadeh 1974). En laboratorio, las dietas más utilizadas están compuestas por las microalgas *Tetraselmis* sp., *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*, *Chaetoceros muelleri*, *Thalassiosira* spp. y *Skeletonema costatum*. Las distintas especies de microalgas que se utilizan están sujetas a la disponibilidad y producción de cada laboratorio, sin embargo, siempre es preferible emplear una mezcla, proporcional o no de las especies disponibles. La inclusión de al menos un flagelado y una diatomea en la dieta de acondicionamiento es crucial debido a los altos requerimientos de triglicéridos y ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) por parte de los huevos (Helm et al. 2006). La falta de estos componentes en la dieta conduce directamente a una disminución en el contenido lipídico de las estructuras celulares del huevo, lo que repercute negativamente su viabilidad y supervivencia. La combinación de especies aborda integralmente estos requisitos, ya que cada microalga seleccionada es rica en diferentes PUFA, asegurando

así un suministro completo de nutrientes esenciales para el desarrollo óptimo de los organismos. Por ejemplo, *Chaetoceros sp.* cumple con los requisitos de ácido eicosapentenoico (EPA), *Tetraselmis sp.* aporta ácido linoleico, alfa-linolénico (ALA), estearidónico (SDA) y ácido araquidónico, y por último *Isochrysis galbana*, proporciona además de los mencionados para *Tetraselmis sp.* ácido docosahexaenoico (DHA) (Helm et al. 2006; Farías 2008; Abalde et al. 1995). Otro factor relevante a considerar es la cantidad de proteínas a proporcionar, ya que la falta de este componente podría afectar negativamente el proceso de maduración de los organismos (Farías y Uriarte 2001). Dado que la mayoría de las microalgas son ricas en aminoácidos y proteínas (Abalde et al. 1995), la decisión clave radica en determinar la cantidad adecuada de células a suministrar.

La dieta para los reproductores implica una solución de células microalgales, cuya cantidad varía en un rango de 75 a 5357 millones de células por individuo al día. Esta variación depende del peso del individuo, la disponibilidad de algas (considerando especies y densidades máximas alcanzadas en los cultivos) y los objetivos específicos, ya sea la mantención de los reproductores o su acondicionamiento (Helm et al. 2006). Se pueden emplear dos métodos para el cálculo de la alimentación diaria. El primero se calcula a partir del peso seco promedio de las partes blandas de los mejillones, al cual se le asigna un porcentaje de peso seco de microalgas, extrapolado a una densidad de cultivo de microalgas vivas. Los porcentajes más utilizados para el acondicionamiento de mejillones son diversos. Por ejemplo, Helm et al. (2006) propone una dieta general para moluscos que oscila entre el 2 y el 4% del peso seco de las partes blandas. Para *Mytilus galloprovincialis*, Martínez-Pita (2013) propone un 2%, mientras que Alvarado Enriquez (1989) sugiere un rango del 3% al 4%. El segundo consiste en proporcionar un número determinado de células por día. Las experiencias realizadas por Carpizo Ituarte (1983) para *Mytilus californianus* proponen dietas que van desde $30,5 \times 10^6$ hasta los 1830×10^6

células/individuo/día. En el caso de *Mytilus edulis*, la dieta utilizada por Álvarez et al. (2008) para la producción de semilla consiste en 3500×10^6 células/individuo/día.

En el CRIAR (Criadero de Especies Marinas) dependiente del CIMAS (Centro de Investigación Aplicada y Transferencia Tecnológica en Recursos Marinos Almirante Storni), anteriormente conocido como IBMPAS (Instituto de Biología Marina y Pesquera “Almirante Storni”), se llevó a cabo la producción experimental de semillas de mejillón en el año 1999 escalándose a nivel masivo a partir del 2011 (Pascual et al. 2014). Durante este período, la dieta utilizada para el acondicionamiento de los mejillones experimentó variaciones, oscilando entre $2000 - 5000 \times 10^6$ de células/individuo/día. Este ajuste fue resultado de la adaptación y optimización de las prácticas alimenticias empleadas en la cría de la ostra plana, *Ostrea puelchana* (Pascual et al. 1998, Pascual et al. 2015). Las diversas experiencias realizadas, arrojaron resultados preliminares indicando que el rango inferior de concentración microalgal para una maduración gonadal exitosa en mejillón es de 2500 millones cél/ind/día, ya que por debajo de esta concentración no se registraron puestas o estas fueron inviables. Se estableció como rango superior 5000 millones de cél/ind/día, observando que, por encima de éste, quedaba alimento no ingerido en los sistemas y comenzaba la generación activa de pseudoheces (Pascual et al. 2014, 2015). Es importante destacar, que los rangos en la dieta mencionados anteriormente fueron establecidos sin tener en cuenta los estadios gonadales a partir de cortes histológicos de las gónadas de los organismos.

El alimento para todas las etapas de producción de semilla representa entre un 40 % y 60 % de los costos de producción en el laboratorio, por lo que las investigaciones intentan analizar la forma de hacer más eficiente el proceso (Helm et al. 2006, Farías 2008, López Carvallo 2015). Un menor consumo de microalgas en acondicionamiento de reproductores, significaría una reducción en los gastos generados en la producción de semilla (Farfán et al.

1998, Farías 2008). Al establecer los parámetros alimenticios óptimos para el acondicionamiento de reproductores, este estudio sienta las bases para una producción más eficiente de juveniles. Identificar la dieta adecuada en esta etapa crucial no solo promueve la salud y el desarrollo de los organismos, sino que también maximiza su reproducción y éxito reproductivo. Este impacto directo se traduce en una mayor disponibilidad de semillas para la maricultura comercial y proyectos de repoblamiento, lo que impulsa el crecimiento y la sostenibilidad de la industria acuícola y preserva los ecosistemas marinos.

Hipótesis y predicciones:

H1- Una mayor concentración de microalgas en la dieta durante el acondicionamiento en laboratorio estimula de manera significativa el tiempo de la maduración gonadal de los reproductores del mejillón *Mytilus platensis*.

Predicción: Se espera que los mejillones en acondicionamiento con una dieta microalgal de 5000×10^6 cél/ind/día presenten un mayor índice de condición, rendimiento, proporción de individuos en estadios maduros, mayor diámetro ovocitario y una mayor área ovocitaria relativa antes que los alimentados con una dieta microalgal de 2500×10^6 cél/ind/día.

H2- Los reproductores de mejillón *Mytilus platensis* en acondicionamiento presentan distinto tiempo de maduración gonadal que los de banco natural.

Predicción: Se espera que los mejillones en acondicionamiento con una dieta controlada presenten un mayor índice de condición, rendimiento, proporción de individuos en estadios maduros, mayor diámetro ovocitario y una mayor área ovocitaria relativa antes que los mejillones del banco natural.

Objetivos del Plan de Trabajo:

Objetivo General: Evaluar experimentalmente el efecto de dos concentraciones microalgales en la maduración sexual de reproductores del mejillón, *Mytilus platensis*, bajo condiciones controladas de laboratorio, comparado con el análisis de la maduración gonadal de los mejillones extraídos de banco natural.

Objetivos Particulares:

1. Evaluar y comparar el índice de condición y rendimiento en carne de los reproductores de mejillón acondicionados y de banco natural en un período determinado.
2. Comparar cualitativamente los estadios de desarrollo gonádico de los mejillones acondicionados y de banco natural en un período determinado.
3. Analizar la calidad de la maduración usando como parámetros el diámetro de los ovocitos y el área ovocitaria relativa de los mejillones acondicionados y de banco natural en un período determinado.
4. Determinar la supervivencia de los reproductores de mejillón acondicionados en un período determinado.
5. Evaluar la eficiencia del uso de alimento en los sistemas de acondicionamiento de reproductores de mejillón, comparando el nivel de alimento residual presente bajo dos concentraciones microalgales durante el mismo periodo de tiempo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención y manejo inicial de reproductores

El 27 de julio de 2017 se colectó una muestra de 380 mejillones, de banco natural de la zona denominada “El Buque”, situado en el cuadrante delimitado por los siguientes puntos $40^{\circ} 53' 000$ S; $65^{\circ} 06' 000$ O – $40^{\circ} 53' 000$ S; $65^{\circ} 04' 000$ O – $40^{\circ} 55' 000$ S; $65^{\circ} 06' 000$ O – $40^{\circ} 55' 000$ S; $65^{\circ} 04' 000$ O (Figura 1 A y 1 B). La zona se caracteriza por poseer tres tipos de fondo, el sector más cercano a la costa es un fondo duro compuesto por roca sedimentaria, seguido a este una franja de canto rodado y el sector más alejado de la costa está compuesto por arena, aquí el mejillón convive con otro molusco bivalvo de interés pesquero, la cholga (*Aulacomya atra*). La extracción se realizó mediante buceo autónomo a unos 20 – 25 metros de profundidad, con una temperatura superficial de 15°C y en profundidad de 14°C .

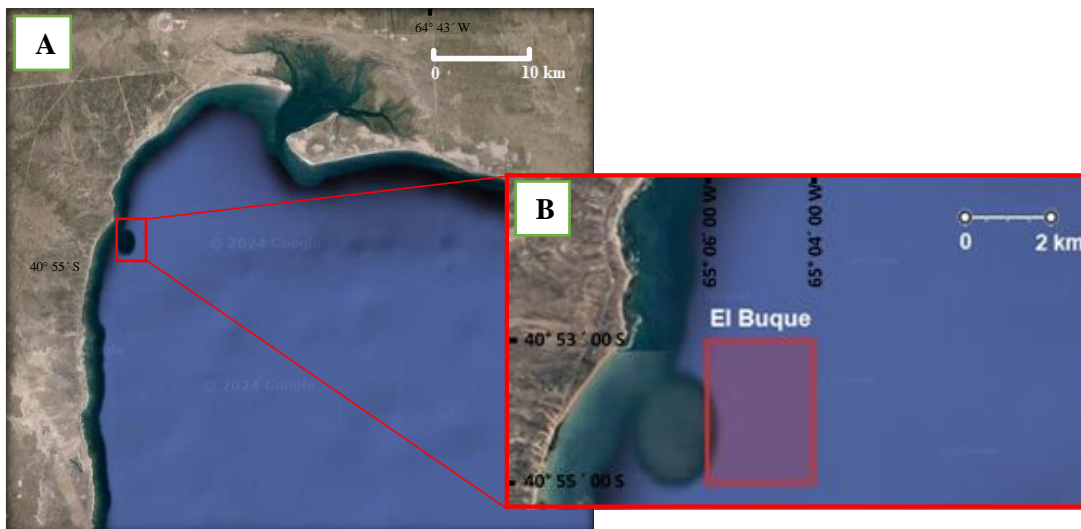


Figura 1. A: Mapa del Noroeste del Golfo San Matías sitio de muestreo banco “El Buque” (recuadro rojo). B: Detalle de banco “El Buque” (imagen tomada de www.googleearth.com y editada).

La muestra, al ingresar al laboratorio fue limpiada y clasificada para seleccionar solo individuos con un largo total superior a 50 mm. Se extrajo una primera submuestra (n=30),

registrando el largo total (Lt), distancia entre el umbo y el borde opuesto, el alto total (At), distancia entre borde dorsal y ventral, y el espesor de ambas valvas (Esp) (Figura 2). Posteriormente, fueron pesados con una balanza digital (Traveler, mod. TA 3001) con una precisión de 0,1 gr (Pt = peso total) y luego se fijó la muestra, para finalmente conservarla en alcohol hasta su procesamiento histológico.

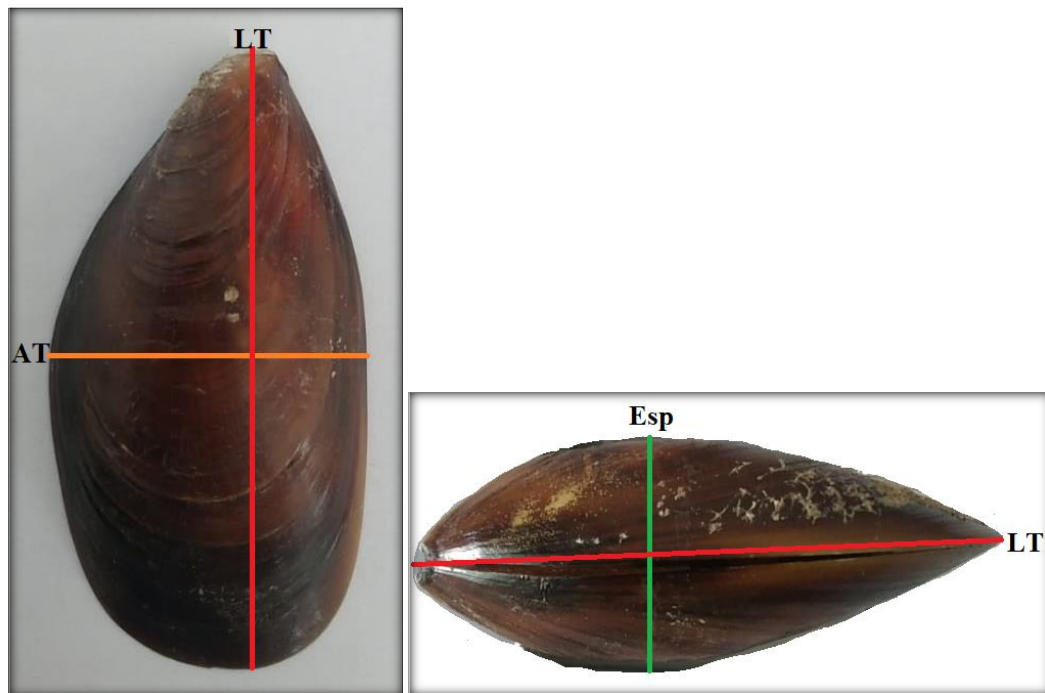


Figura 2. *Mytilus platensis*. Medidas del mejillón: Izq. Lt: largo total, At: alto total; Der. Lt, Esp: espesor.

La segunda submuestra fue dividida aleatoriamente en 6 grupos, cada uno compuesto por 58 individuos sometidos al proceso de acondicionamiento. Inicialmente, se les proporcionó a los ejemplares las mismas condiciones de temperatura que en el ambiente natural, la cual se incrementó progresivamente 1 °C por día. Se partió desde 14 °C, hasta alcanzar la temperatura óptima de acondicionamiento para la especie, establecida en 17 °C \pm 1 °C. Desde el inicio del acondicionamiento, los mejillones fueron alimentados según las dietas establecidas en este estudio.

Diseño experimental

El estudio se estructuró con dos tratamientos de laboratorio, A (2500×10^6 cél/ind/día) y B (5000×10^6 cél/ind/día) y se compararon con los organismos de ambiente natural extraídos del banco “El Buque” (denominado tratamiento C). Los tratamientos de laboratorio (A y B), constaron de 3 réplicas cada uno, denominadas posteriormente sistemas, con un total de 58 individuos cada uno. La investigación abarcó un periodo de 2 meses desde el primer día de acondicionamiento, durante el cual se llevaron a cabo 4 muestreos con una frecuencia quincenal, Muestreo 1= 15 días (mediados de agosto), Muestreo 2= 30 días (fines de agosto), Muestreo 3= 45 días (mediados de septiembre) y Muestreo 4= 60 días (fines de septiembre). En cada muestreo, se extrajo un total de 36 individuos (12 por sistema) del tratamiento A, 36 individuos (12 por sistema) del tratamiento B, y aproximadamente 20 individuos del tratamiento C. En cada uno de los muestreos se registraron las medidas de talla y peso mencionadas previamente, y los ejemplares fueron fijados y conservados en alcohol para su procesamiento histológico.

Los sistemas de acondicionamiento se mantuvieron con una circulación cerrada con un volumen final de 800 l con agua de mar filtrada a $1 \mu\text{m}$ (utilizando filtros de cordoncillo de 10, 5 y $1 \mu\text{m}$) a la cual se le incorporó agua de red filtrada a $1 \mu\text{m}$ obteniendo una salinidad de 34 ‰, controlada con un refractómetro (Atago S/Mill). Los sistemas constaron de un circuito cerrado de circulación de agua, compuesto de un tanque rectangular de 800 l (bachón) sobre el que se ubica una bacha plana de 200 l (raceway) (Figura 3). La circulación del agua se generó mediante una bomba sumergible con un flujo de 20 l/min desde el bachón inferior hacia el raceway. El agua regresa al bachón por un rebalse ubicado en el otro extremo al que ingresa el agua y el sistema de aireación es continua por medio de difusores.

Los individuos se colocaron homogéneamente en 4 canastillos por sistema suspendidos del raceway (Figura 3 y 4). Los sistemas se distribuyeron en grupos de a pares, una réplica del tratamiento A junto con una réplica del tratamiento B, dejando un pasillo de paso con el siguiente grupo, permitiendo un mejor acceso a cada sistema (Figura 5).

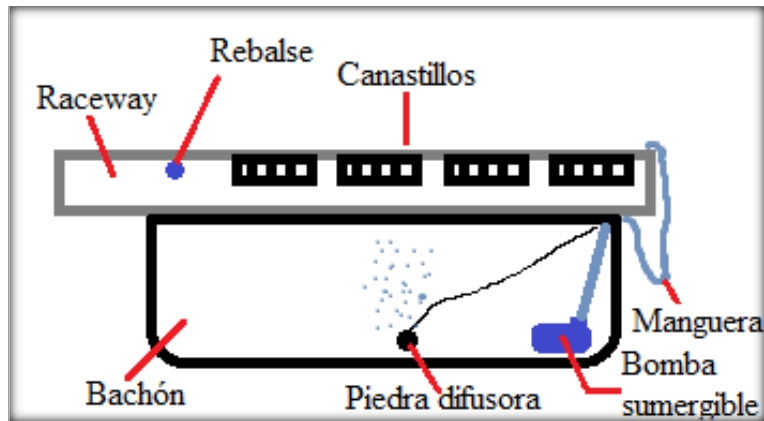


Figura 3. Esquema del sistema de acondicionamiento de reproductores de mejillón, *Mytilus platensis*.



Figura 4. Sistema de acondicionamiento de reproductores de mejillón, *Mytilus platensis*.

Detalle de distribución de canastillos y rebalse de agua.



Figura 5. Disposición de Tratamientos A y B, y sus respectivos sistemas.

Cultivo de microalgas y alimentación:

A) *Cultivo de microalgas:*

El cultivo de microalgas constó de tres etapas: cultivo de cepas, cultivo intermedio y cultivo masivo (Figura 6), siendo cada etapa contigua a la siguiente. Se desarrollaron en una sala con una temperatura controlada entre los 18 y 20 °C, con una salinidad entre 25 y 28 ‰ y el medio de cultivo empleado fue el conocido como f/2 (Guillard 1975) (modificado en su preparación en criadero Anexo 1).

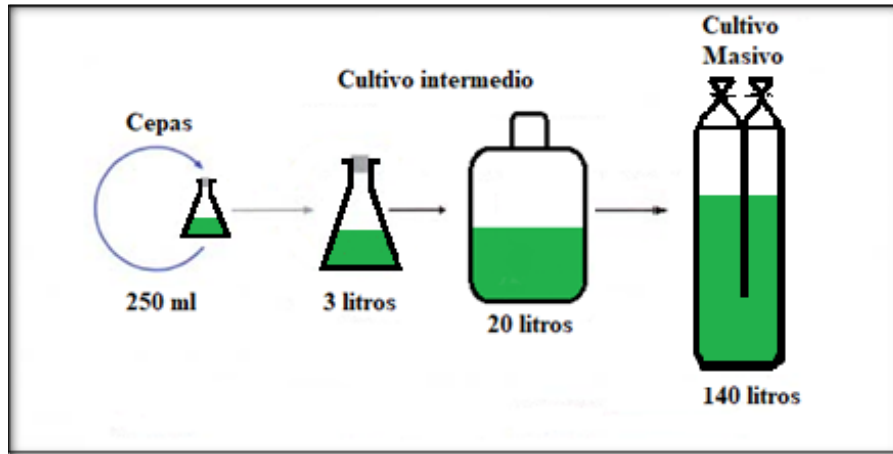


Figura 6. Secuencia del cultivo de microalgas.

1) *Limpieza y desinfección del material:*

El material utilizado (pipetas Pasteur, erlenmeyers, varillas de vidrio y mangueras cristal) se lavó utilizando agua de red y detergente comercial biodegradable para eliminar restos de residuos grasos, luego se dejaron sumergidos durante 24 hs en agua dulce con hipoclorito de sodio comercial. Pasado este lapso se enjuagó todo el material con agua de red. Los erlenmeyers de 250 ml antes de su utilización en cepas se los esterilizó mediante la utilización de ácido clorhídrico y se los enjuagó con abundante agua de red.

2) *Cultivo de cepas:*

El cultivo se realizó en erlenmeyers de 250 ml sin aireación (Figura 7), con agua de mar filtrada (utilizando filtros de cordoncillos de 10, 5 y 1 μm), y luego a través de filtros de celulosa millipore de 0,45 μm , empleando una bomba de vacío (marca Dinko mod. D95). Los recipientes con el agua se esterilizaron en autoclave (marca Samaritana Suiza) durante 1 hora a 1,5 atm.

Transcurrido 15 días desde su inicio, se realizó el conteo y las cepas se utilizaron como inóculos de los cultivos intermedios.

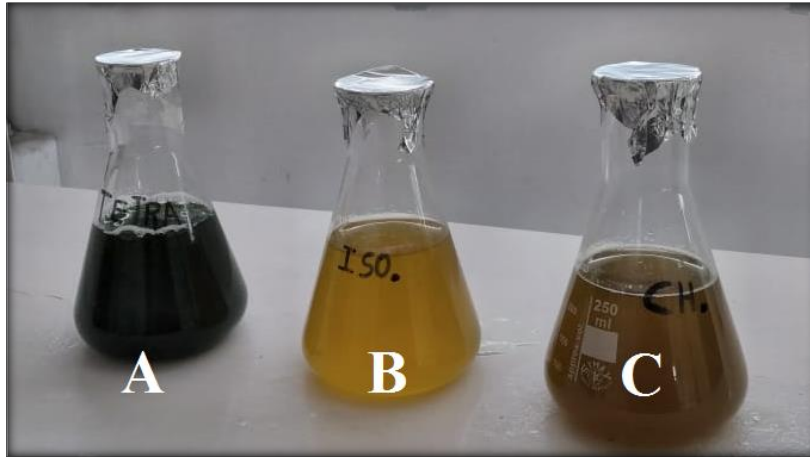


Figura 7. Cultivo de cepas de microalgas. A: *Tetraselmis suecica*, B: *Isochrysis galbana*, C: *Chaetoceros sp.*

3) *Cultivo intermedio:*

Se utilizaron erlenmeyers de un volumen de 3 litros y una vez alcanzada la fase exponencial de crecimiento se inocularon botellones de 20 litros. El agua de mar empleada se filtró a $1\ \mu\text{m}$ mediante la utilización de filtros de cordoncillo (10, 5 y $1\ \mu\text{m}$), y se esterilizó utilizando hipoclorito de sodio comercial durante 24 horas (el cloro utilizado fue el comercial a razón de 0,055 gramos por litro de agua de mar), pasado este lapso fue neutralizado con tiosulfato de sodio.

Cada cultivo estuvo aireado mediante una varilla de vidrio conectada a una manguera cristal al sistema de suministro de aire general, la iluminación fue directa, continua y la temperatura se mantuvo a $20\ ^\circ\text{C} \pm 1\ ^\circ\text{C}$ (Figura 8 A y B).

El cultivo intermedio se inició con $0,3 \times 10^6$ cél/ml en las tres especies cultivadas y transcurridos 15 días, en la fase exponencial, se cosechó inoculando un sistema de mayor volumen.

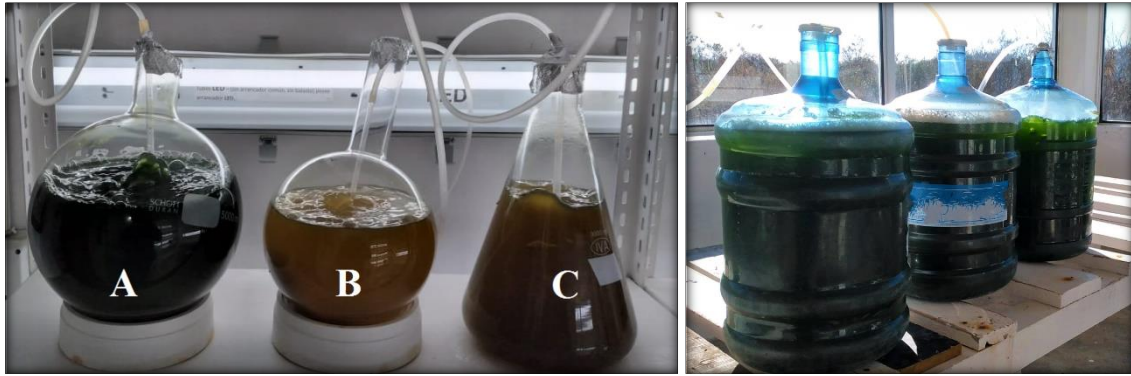


Figura 8. A (Izq.): Cultivo intermedio de 3 l. A: *Tetraselmis suecica*, B: *Isochrysis galbana*, C: *Chaetoceros sp.* **B (Der.):** Cultivo Intermedio 20 l. *Tetraselmis suecica*.

Las densidades algales en el momento de la cosecha están representadas en la tabla 1 y 2.

Tabla 1. Densidades de cosecha. Cultivo intermedio de 3 l. (DE: desvió estándar).			
Especie	Concentración mínima alcanzada	Concentración máxima alcanzada	Concentración promedio alcanzada
<i>Chaetoceros sp</i>	2×10^6 cél/ml	20×10^6 cél/ml	6×10^6 cél/ml DE: $1,755 \times 10^6$
<i>Isochrysis galbana</i>	2×10^6 cél/ml	7×10^6 cél/ml	4×10^6 cél/ml DE: $1,520 \times 10^6$
<i>Tetraselmis suecica</i>	$0,4 \times 10^6$ cél/ml	$2,5 \times 10^6$ cél/ml	1×10^6 cél/ml DE: $0,257 \times 10^6$

Tabla 2. Densidades de cosecha. Cultivo intermedio de 20 l. (DE: desvió estándar).			
Especie	Concentración mínima alcanzada	Concentración máxima alcanzada	Concentración promedio alcanzada
<i>Chaetoceros sp</i>	2×10^6 cél/ml	20×10^6 cél/ml	6×10^6 cél/ml DE: $1,112 \times 10^6$
<i>Isochrysis galbana</i>	2×10^6 cél/ml	6×10^6 cél/ml	4×10^6 cél/ml DE: $1,910 \times 10^6$
<i>Tetraselmis suecica</i>	$0,3 \times 10^6$ cél/ml	$1,5 \times 10^6$ cél/ml	$0,8 \times 10^6$ cél/ml DE: $0,553 \times 10^6$

Cultivo masivo:

En el cultivo masivo (Figura 9) se utilizaron bolsas de polietileno de un espesor de 240 μm y un volumen de 140 l. El agua empleada en esta etapa recibió el mismo tratamiento que en los cultivos intermedios. La aireación se suministró colocando varillas de vidrio a cada bolsa.



Figura 9. Cultivo masivo de 140 l. A: *Tetraselmis suecica*, B: *Isochrysis galbana*, C: *Chaetoceros sp.*

La densidad inicial fue de $0,3 \times 10^6$ cél/ml para las tres especies. Transcurridos los 20 días ya estaban en condiciones de ser utilizados como alimento de los reproductores.

En la Tabla 3 puede observarse un resumen de las concentraciones algales alcanzadas.

Especie	Concentración mínima alcanzada	Concentración máxima alcanzada	Concentración promedio alcanzada
<i>Chaetoceros sp</i>	1,5 x 10 ⁶ cél/ml	10 x 10 ⁶ cél/ml	5 x 10 ⁶ cél/ml DE: 2,027 x 10 ⁶
<i>Isochrysis galbana</i>	1 x 10 ⁶ cél/ml	8 x 10 ⁶ cél/ml	3 x 10 ⁶ cél/ml DE: 2,478 x 10 ⁶
<i>Tetraselmis suecica</i>	0,5 x 10 ⁶ cél/ml	2 x 10 ⁶ cél/ml	1 x 10 ⁶ cél/ml DE: 0,249 x 10 ⁶

B) Alimentación:

La alimentación proporcionada a los reproductores consistió en una mezcla de tres especies de microalgas, compuesta por un 50 % de *Chaetoceros sp*, un 40 % de *Isochrysis galbana* y un 10 % de *Tetraselmis suecica*. Estos porcentajes se establecieron basándose en la combinación recomendada de incorporar a la dieta al menos una especie de flagelado y una especie de diatomea, según lo indicado por Helm et al. (2006). Además, se consideró la disponibilidad de microalgas en el criadero y se adaptó a las pautas dietéticas propuestas por Pascual y Castaños (2000), Lagos et al. (2012) y Pascual et al. (2015). Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente se realizaron los dos tratamientos A y B, cada uno con tres sistemas (S = réplicas de cada tratamiento).

Tratamiento A: 2500 x 10⁶ cél/ind/día

Tratamiento B: 5000 x 10⁶ cél/ind/día

El número de células diarias a suministrar por sistema se calculó teniendo en cuenta el tratamiento (A o B) y el número de individuos en cada réplica.

N° total de células diarias por sistema = Tratamiento (A o B) * N° de individuos.

La cantidad de células a suministrar por día (ración diaria) se determinó restando las células residuales (células que no fueron ingeridas después de 24 horas) del número total de células diarias establecidas para cada sistema. De esta manera, a cada tratamiento se le proporcionaron las microalgas necesarias para mantener las concentraciones mencionadas anteriormente. Los conteos fueron realizados mediante una cámara de Neubauer bajo microscopio óptico Nikon Eclipse E-200.

Ración diaria = N° de células diarias a suministrar por sistema – alimento Residual.

Las muestras de las células residuales, se extrajeron todos los días, de tres puntos diferentes del bachón inferior de cada uno de los sistemas.

El proceso de alimentación de los diferentes sistemas se realizó de la siguiente manera:

- 1) En cada tratamiento y sus sistemas (réplicas) se extrajeron los individuos muertos.
- 2) Se limpió mediante sifoneó el fondo de la baha plana (raceway), eliminando las heces, desechando 50 l por cada uno de los sistemas.
- 3) Se calculó la ración diaria y se extrajo el alimento de la sala de algas, *Chaetoceros sp*, luego *I. galbana* y por último *T. suecica*.
- 4) Las microalgas fueron volcadas al bachón inferior de cada uno de los sistemas, y una vez suministradas las tres especies se llevó al volumen de trabajo (800 l) utilizando agua de mar filtrada a 1 μ y aclimatada a la misma temperatura de los sistemas.

Proceso histológico

Los mejillones fueron abiertos por el borde, cortando los músculos aductores y ligamentos, se separaron las partes blandas de las valvas, registrándose el peso de cada una de

ellas como peso de carne (Pc) y peso de valva (Pv). Para la obtención de las secciones histológicas, se realizaron cortes transversales de las partes blandas con un bisturí, obteniendo una sección de gónada representativa de ambas partes del manto (Figura 10).

Los cortes se incluyeron en cassetes para biopsias y se fijaron en Solución de Davidson (Anexo 2). Se colocaron en un frasco en refrigerador a 4 °C por 24 hs. Pasado este tiempo, se eliminó el exceso de fijador con repetidos lavados de agua corriente y se conservó en alcohol 70° hasta el posterior procesamiento de tejidos.

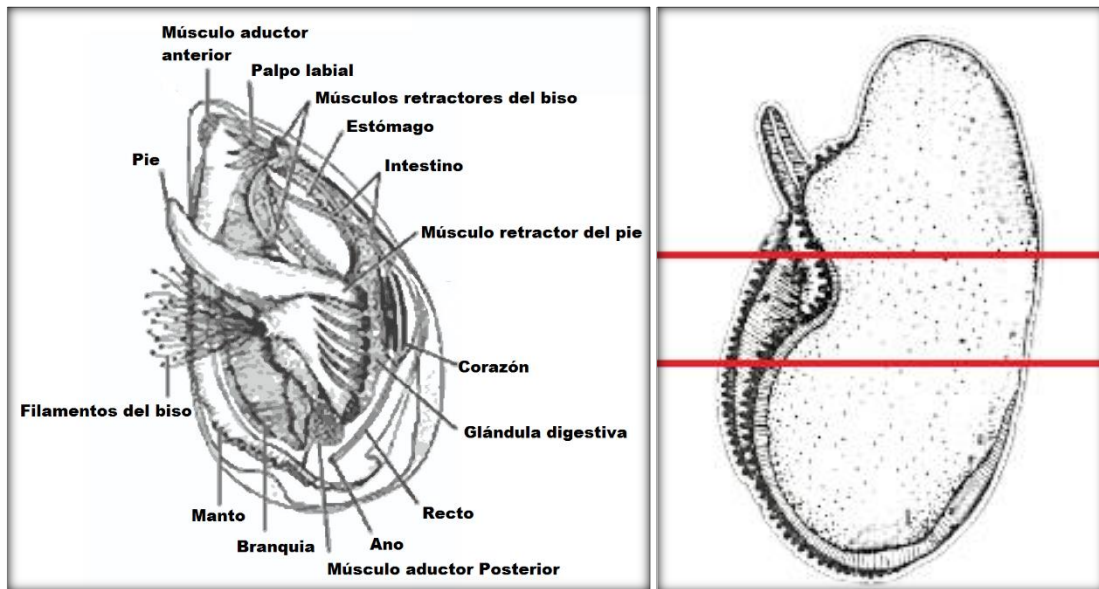


Figura 10. (Izq) Anatomía interna de mejillón (imagen obtenida de www.asturnatura.com y editada). (Der) Corte transversal de partes blandas de mejillón (imagen obtenida de www.biogeo.esy.es y posteriormente editada).

La deshidratación se realizó en el procesador automático de tejidos (marca Leica TP 1020) (Anexo 3). La inclusión en Paraplast® para la obtención de los tacos se realizó en el centro de inclusión de tejidos (marca Leica EG1150H). Luego de obtenidos los bloques, se enfriaron, desmoldaron y tallaron para su posterior corte en micrótomos de rotación (marca Leica RM2125). Las secciones histológicas obtenidas fueron de un grosor de 5 a 7 μm . La tinción se realizó con Hematoxilina de Harris y Eosina Y (H y E) en solución acuosa (NOAA 1983)

(Anexo 4) y montados con resina sintética para microscopía (“Canadax”, BIOPUR®LB). Las muestras se observaron bajo microscopio óptico (Nikon, Eclipse E-200).

Análisis

Proporción de sexos

Para determinar si la proporción de sexos se ajusta a la relación 1:1 entre hembras y machos, se aplicó un test de Chi Cuadrado (X^2). Este análisis se realizó utilizando el total de hembras y machos de todos los muestreos, excluyendo los individuos que se encontraban indiferenciados sexualmente (estadios 0, I y IV). El interés de este estudio es determinar si la cantidad de organismos a acondicionar es apropiada, ya que una disparidad en cuanto a la proporción de sexos podría requerir una readecuación en el número de individuos.

Índice de Condición y Rendimiento en carne:

Una forma indirecta de estimar el ciclo reproductivo es determinando el índice de madurez sexual o índice de condición (*IC*) fisiológica aparente, tomando en cuenta que toda la energía asimilada puede ser utilizada de dos maneras, para la producción de tejidos somáticos o para la producción de tejidos reproductivos. A partir del peso de las partes blandas (*Pc*) y el peso de las valvas (*Pv*) se calculó el Índice de Condición (*IC*) (Urban 2000), y a partir del *Pc* y el peso total del organismo incluyendo la valva (*Pt*) se obtuvo el Rendimiento en carne (*R*) (Hickman y Illingworth 1980) para cada individuo. Estos índices fueron obtenidos para cada sistema y para cada uno de los muestreos, de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$IC = (Pc / Pv) * 100.$$

Siendo: *Pc* = Peso de las partes blandas y *Pv* = Peso de las valvas.

$$R = (Pc / Pt) * 100$$

Siendo: *Pt* = Peso total del organismo incluyendo la concha.

La utilización de los dos índices fue para evaluar si ambos se comportan de manera similar lo largo del desarrollo gonadal.

Análisis histológicos

El análisis de cada una de las secciones histológicas se realizó bajo microscopio óptico con objetivos de 4X, 10X y 40X, identificando el sexo y estadio de desarrollo gonadal de cada individuo. Para establecer los estadios de desarrollo gonadal de cada individuo se tomó como referencia la Escala de Madurez Microscópica de Villalba (1995), con las modificaciones introducidas por Oehrens Kissner (2006) (Tabla 4), que incluye la diferenciación de siete estadios gonadales descritos brevemente a continuación:

- Estadio de reposo sexual (estadio 0) y estadio de activación y desarrollo temprano (estadio I), correspondientes a individuos indiferenciados sexualmente.
- Estadio de proliferación y maduración temprana (estadio II), maduración total (estadio IIIA), emisión gamética con recuperación (estadios IIIB-C) y evacuación total con reabsorción gonadal (estadio IIID)
- Estadio de reabsorción total (estadio IV).

Para la aplicación de esta escala se tomaron como criterios los tipos de células de la serie gametogénica, tamaño y forma de los folículos, y la abundancia del tejido de reserva, células vesiculares (V) y adipogranulares (ADG) presentes en el tejido conjuntivo del manto.

La proporción de los estadios de desarrollo gonadal fue calculada para cada muestreo considerando la muestra total de cada tratamiento, diferenciando machos y hembras.

Tabla 4. Descripción de los estadios de desarrollo gonadal de *Mytilus platensis*, en el Golfo San Matías (Río Negro) (Oehrens Kissner 2006).

Estadios	Hembras	Machos
Estadio 0	Abundante tejido conectivo con gran desarrollo de células de reserva (ADG) y vesiculares. No se observan folículos.	
Estadio I	En esta fase los folículos son pequeños y están muy comprimidos. Las gonias comienzan a multiplicarse, por división mitótica y las células madre dan origen a nuevas gonias. El tejido conectivo con células de reserva es abundante, pero va disminuyendo a medida que los folículos gonadales se van desarrollando.	
Estadio II	Ovogénesis: Aparecen y se desarrollan ovocitos en el interior de los folículos. En la periferia de estos se observan células madre (stem cell) y ovogonias (células precursoras). Los ovocitos se encuentran en la pared del folículo y a medida que aumentan de tamaño por la vitelogénesis (acumulación de material de reserva) se ubican hacia la luz del folículo.	Espermatogénesis: Se forman capas concéntricas, constituidas por espermatogonias (eg) y espermatocitos (es), dentro de los folículos.
Estadio III A	Los ovocitos completaron su desarrollo y ocupan casi totalmente el lumen folicular. Poseen contornos poligonales como resultado de su compactación en el folículo, mientras que algunos otros se encuentran en vitelogénesis.	Las células precursoras (espermatogonias, espermatocitos y espermatidas) son escasas, ocupando una franja concéntrica bien delimitada y los espermatozoides se disponen radialmente con los flagelos orientados hacia el eje central del folículo, dejando pocos espacios vacíos en el lumen folicular.
Estadio III B-C	Se observa una coexistencia de gametos maduros no emitidos, que se encuentran en la luz del folículo, con ovocitos pequeños en fase vitelogénica y ovogonias en la periferia de los folículos.	Se observa una coexistencia de espermatogonias y espermatocitos junto con espermatozoides no emitidos.
Estadio III D	En el lumen de los folículos se encuentran gametos residuales e infiltraciones de hemocitos (función fagocítica) reabsorbiendo los restos no emitidos. En las paredes foliculares quedan algunas células madre y gonias. El diámetro de los folículos gonadales se va reduciendo y el tejido de reserva se desarrolla notablemente ocupando nuevamente el manto.	
Estadio IV	Los folículos se encuentran dilatados y en ninguno existen gametas residuales ni gonias que permitan identificar el sexo del individuo. Pueden observarse algunas infiltraciones hemocitarias en el tejido conectivo y el número de células de reserva aumenta.	

Distribución de Frecuencia de Diámetro Ovocitario (DFDO)

Se calculó realizando mediciones de diámetros ovocitarios de un mínimo de 200 ovocitos de 3 hembras por sistema por muestreo utilizando un ocular micrométrico 10X con un objetivo de 40X. El ocular graduado se mantuvo siempre en la misma orientación (horizontal) y fueron medidos sólo aquellos ovocitos que presentaron núcleo y nucleólo visible, asumiendo que estas estructuras se encuentran en el centro de la célula (Morsan y Kroeck 2005, Oehrens Kissner 2006).

Se empleó un tamaño de referencia de 6,2 μm para ovogonias, 37 μm ovocitos previtelogénicos, 42 μm ovocitos vitelogénicos y finalmente para ovocitos postvitelogénicos un tamaño de 44 μm , descrito por García Corona (2014) para la especie *Modiolus capax*.

Área Ovocitaria Relativa (AOR)

Se estimó el área ocupada por todos los ovocitos presentes en cada campo ocular como un porcentaje de esta área, a partir de los siguientes cálculos: (1) Número medio de ovocitos por campo calculado en base a la observación de 4 campos en cada uno de tres individuos seleccionados al azar de cada uno de los sistemas para cada muestreo; (2) Las clases del diámetro ovocitario (d) de la DFDO fueron convertidas a área ovocitaria (*área de cada uno de los ovocitos*), asumiendo la esfericidad de la célula ($\text{área} = \pi (d/2)^2$), multiplicando por sus respectivas frecuencias e integrados; (3) el número medio de ovocitos por campo se multiplicó por la relación del área ovocitaria integrada y la frecuencia total de ovocitos en cada DFDO; (4) el área resultante fue dividida por el área total del campo (0.1963 mm^2) y multiplicada por 100 (Morsan y Kroeck 2005).

Análisis estadísticos:

Los valores individuales del IC, R, DFDO y AOR recopilados en cada muestreo fueron sometidos a una ponderación con sus respectivos pares, resultando en un único valor por

sistema por muestreo para cada parámetro medido. Se aplicó sobre estos el test no paramétrico para un diseño factorial de dos factores de Scheirer-Ray-Hare (Scheirer Ray & Hare 1976) con un nivel de significancia del 5 %. En caso de que esta prueba revele diferencias significativas, se empleará la prueba post hoc recomendada por Mangiafico (2016) de comparación múltiple de Dunn para cada factor donde se haya encontrado una interacción significativa. Los datos fueron cargados con la utilización del software Excel, y para el análisis de datos se utilizó la extensión y actualización de dicho programa llamada "Real Statistics".

Análisis de la Supervivencia

El experimento presentó un número inicial de 58 individuos por sistema. Se contabilizaron los organismos que murieron naturalmente por sistema entre muestreos y éste se expresó como porcentaje de supervivencia por sistema, el cual se promedió y se obtuvo la supervivencia por tratamiento. Los organismos extraídos a lo largo de los diferentes muestreos no fueron tenidos en cuenta dentro del cálculo.

Análisis del Alimento Residual

Se registró el alimento residual diario de cada uno de los sistemas, expresándose como porcentaje de alimento no ingerido por sistema. Con este se obtuvo la media para dar un único valor entre muestreos, por tratamiento.

RESULTADOS

Se muestrearon un total de 373 individuos a lo largo de todo el experimento, cuyo rango de tallas de los tratamientos y banco natural fue entre 50 - 89 mm de largo total, siendo la talla promedio de 64 mm (DE= 7,7). Los mejillones de banco natural (Tratamiento C) a los 30 días (M 2) no se recolectaron debido a problemas logísticos. Al faltar este dato, el Tratamiento C no pudo ser sometido a las pruebas estadísticas utilizadas en los diferentes análisis.

Proporción de sexos:

Se examinaron un total de 361 mejillones, de los cuales se identificaron 207 hembras, 151 machos y 3 hermafroditas (Figura 11). Se observaron diferencias significativas en la proporción sexual (1:1) entre hembras y machos ($X^2 = 3,84$, $p=0,047$). Al momento del estudio, se constató una relación de 1,37 hembras por cada macho (1,37:1).

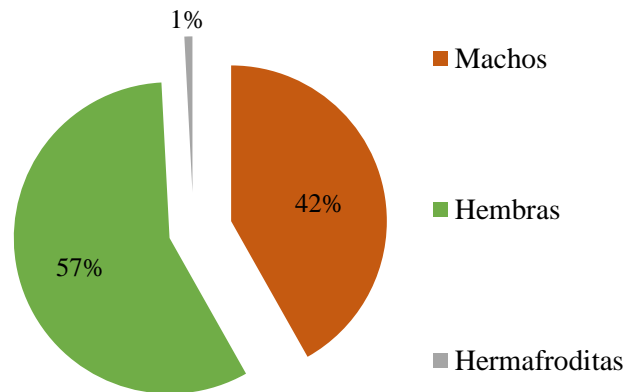


Figura 11. Proporción de sexos de *Mytilus platensis*.

Índice de Condición (IC):

El índice de condición (*IC*) correspondiente a la población recolectada al comienzo del experimento mostró un valor de 69,83 %. El resultado estadístico proporcionado por el test Scheirer-Ray-Hare utilizado para evaluar los dos tratamientos de laboratorio (A y B) con sus respectivos sistemas, mostró diferencias significativas con respecto al tiempo (días) de acondicionamiento ($p=0,03$). No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0,95$) y tampoco en la interacción muestreos - tratamiento ($p=0,90$) (Anexo 5).

A partir de los promedios de los IC obtenidos de los tres sistemas para cada tratamiento y el banco natural, se observó que en el primer muestreo (15 días), los tratamientos de laboratorio se mantuvieron cercanos al valor inicial, excepto el Tratamiento C (banco natural), que mostró un aumento. En el siguiente muestreo (30 días), no se observaron cambios en comparación con el primero. Sin embargo, en el tercer muestreo (45 días), los IC de todos los tratamientos experimentaron una disminución, a excepción del Tratamiento B, que se mantuvo cercano al valor anterior. Al final del experimento (60 días), el Tratamiento C exhibió un aumento en el IC, el Tratamiento B disminuyó, mientras que el Tratamiento A se mantuvo próximo al valor previo (Figura 12 y Anexo 6).

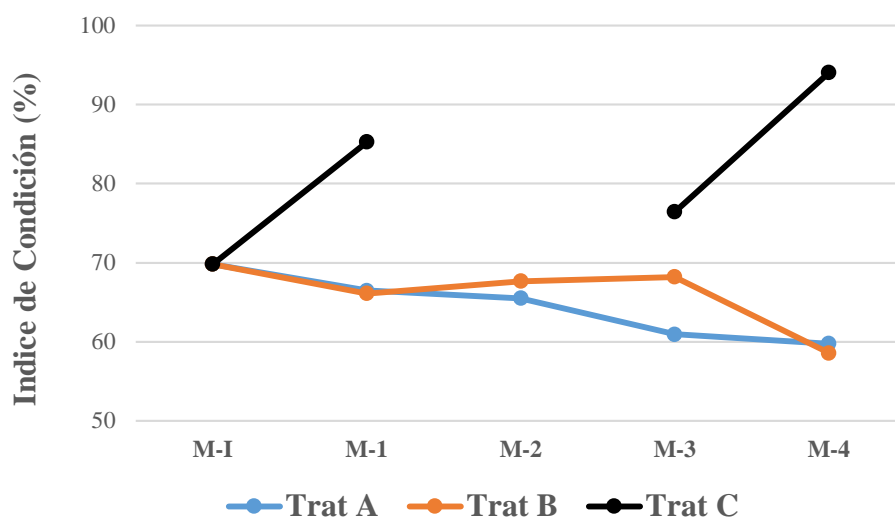


Figura 12. Índice de Condición (IC%). Tratamientos (Trat.) A, B y C en el tiempo (M-I: muestreo inicial común a todos los Trat. fines de julio) Muestréos (M-1: mediados de agosto, M-2: fines de agosto, M-3: mediados de septiembre y M-4: fines de septiembre). Los puntos representados indican el valor de la media del IC%.

Agrupando los tratamientos A y B para realizar un análisis por bloques teniendo en cuenta solo los muestreos mediante el test de Dunn, se encontró diferencias significativas entre el muestreo 1 – 4 ($p=0,04$), muestreo 2 – 3 ($p=0,04$) y muestreos 2 – 4 ($p=0,03$) (Figura 13 y Anexo 7). Esto evidencia una disminución gradual del IC a medida que avanza el tiempo de acondicionamiento.

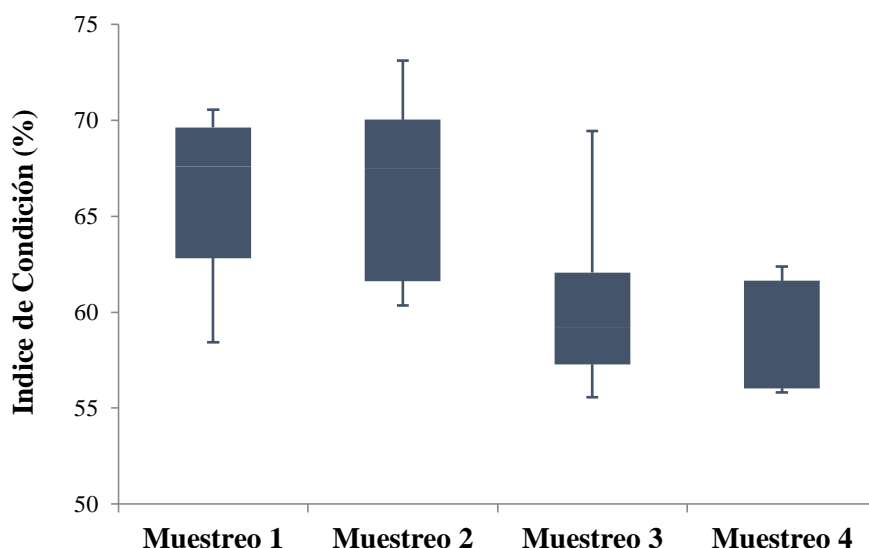


Figura 13. Índice de Condición (IC%). Tratamientos A y B agrupados en los diferentes Muestréos (1: mediados de agosto, 2: fines de agosto, 3: mediados de septiembre y 4: fines de septiembre). Caja: mediana y cuartiles (q1 y q3). Bigotes: valores mínimos y máximos.

Rendimiento en carne (R):

El rendimiento de los organismos al comienzo fue de 24,30 % (muestra inicial). El resultado del estadístico Scheirer-Ray-Hare utilizado para evaluar los tratamientos de laboratorio (A y B) con sus respectivos sistemas, mostró diferencias significativas con respecto al tiempo (días) de acondicionamiento ($p=0,03$). No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0,95$) y tampoco en la interacción muestreos - tratamiento ($p=0,80$) (Anexo 8).

Basándonos en los promedios de los valores de R obtenidos de los tres sistemas de cada tratamiento y del banco natural, se observó que durante los primeros 15 días de acondicionamiento, en todos los tratamientos, el valor de R se mantuvo próximo al valor inicial. Sin embargo, a partir del día 30, se inició un descenso de R en los tratamientos de laboratorio que continuó hasta el día 60 de acondicionamiento. En cuanto al Banco Natural, a partir del día 45, se registró un aumento en el valor de R que persistió hasta la finalización del experimento (Figura 14 y Anexo 9).

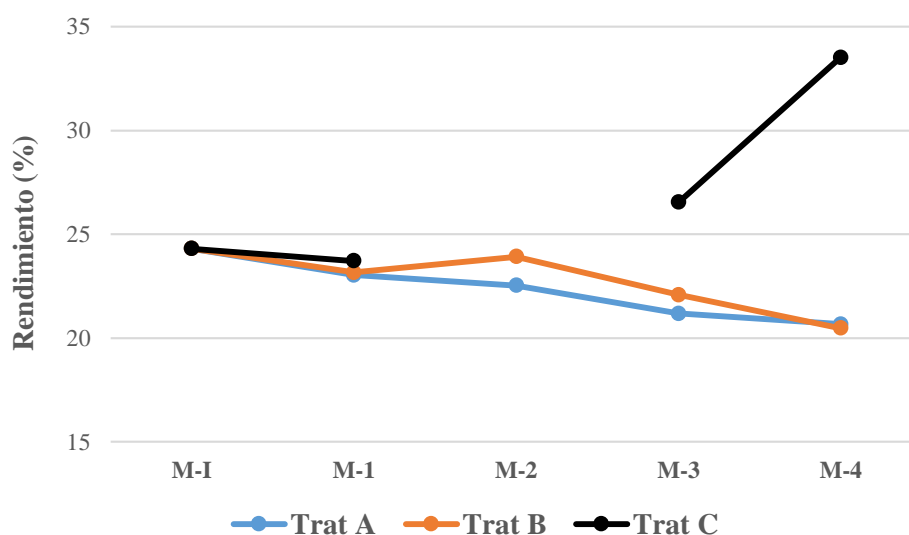


Figura 14: Rendimiento (R%) de los tratamientos (Trat.) A, B y C en los diferentes muestreos (M-I: muestreo inicial común a todos los Trat. fines de julio) Muestreos (M-1: mediados de agosto, M-2: fines de agosto, M-3: mediados de septiembre y M-4: fines de septiembre). Los puntos representados indican el valor de la media del R.

Agrupando los tratamientos A y B para realizar el estadístico de Dunn se encontraron diferencias significativas entre el muestreo 1 – 4 ($p=0,02$) y muestreos 2 – 4 ($p=0,02$) (Figura 15 y Anexo 10). Esto evidencia una disminución gradual del R a medida que avanza el tiempo de acondicionamiento.

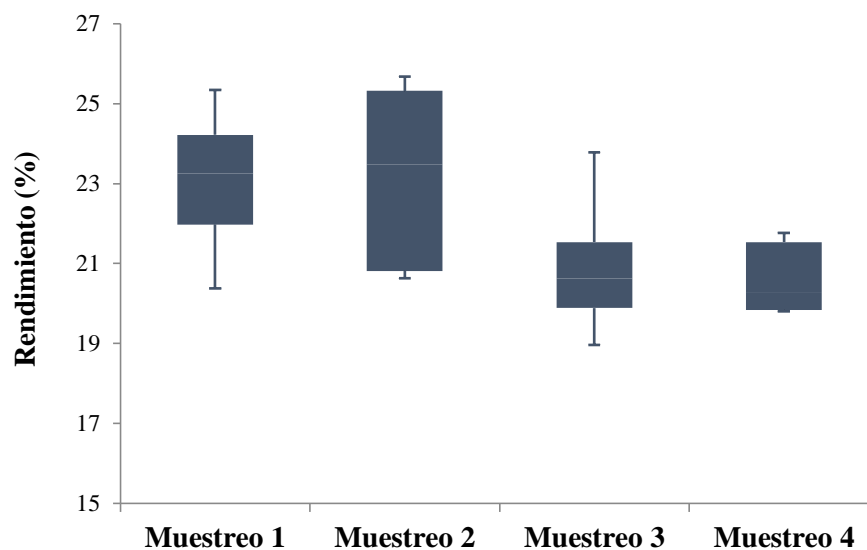


Figura 15: Rendimiento (R%) de los tratamientos A y B agrupados en los diferentes Muestreos (1: mediados de agosto, 2: fines de agosto, 3: mediados de septiembre y 4: fines de septiembre). Caja: mediana y cuartiles (q1 y q3). Bigotes: valores mínimos y máximos.

Análisis Cualitativo de los Estadios Gonadales:

El análisis de los estadios gonadales se realizó a partir de la descripción de los estadios de desarrollo gonadal de *Mytilus platensis*, en el Golfo San Matías (Río Negro) propuesto por Oehrens Kissner (2006). En las figuras 16-I y 16-II se encuentran representados los estadios observados en el experimento, sin encontrarse organismos en reposo sexual (estadio 0).

Al analizar la proporción de los estadios de desarrollo gonadal del muestreo inicial se observó que más de un 40 % de los individuos se encontraron en maduración total (estadio IIIA), un 37 % con individuos en proliferación (estadio II) y un 13% en el estadio de emisión gamética (estadio IIIB-C) (Figura 17).

En el tratamiento A, se observó que a los 15 días de acondicionamiento (M-1) el 92% de los individuos se encontraron con sus gónadas maduras (estadio IIIA). Este estadio a los 30 días (M-2) estuvo representado en un 50%, el 25% de individuos se encontraron en emisión gamética (III B-C). En los siguientes muestreos (M3: 45 y M4: 60 días) los estadios de maduración y emisión gamética solo representaron aproximadamente un 40%. Existiendo un mayor porcentaje de organismos en evacuación total y reabsorción en dicho periodo de tiempo (Figura 18). El tratamiento B, por su parte mostró el mayor porcentaje de individuos maduros (69 %) en el muestreo 2 (30 días), este porcentaje va disminuyendo hasta el muestreo 4 donde solo representó el 9 % de los organismos. Este periodo quedo firmemente representado por un 90% de individuos evacuados totalmente y en etapa de reabsorción (Figura 18). El Tratamiento C (banco natural), en el M1 (15 días) se encontró un 55% de organismos en estadio de maduración total y un 45 % en emisión gamética (Figura 18). A los 45 días (M-3) el porcentaje de maduros aumenta al 67 %, al final del experimento se observó un gran número de organismos en estadio de proliferación (50%) (Figura 18).

Al clasificar los organismos por sexo y definir los estadios gonadales, encontramos que en el muestreo inicial se halló un mayor porcentaje de machos maduros (75 %) cuando para las hembras solo representó un 28 %. En el mismo periodo, el estadio de proliferación estuvo representado por el 50 % hembras y 17 % machos. Posterior a este, podemos observar que los organismos tienen un comportamiento similar que los descritos sin discriminar sexo (Figura 19).

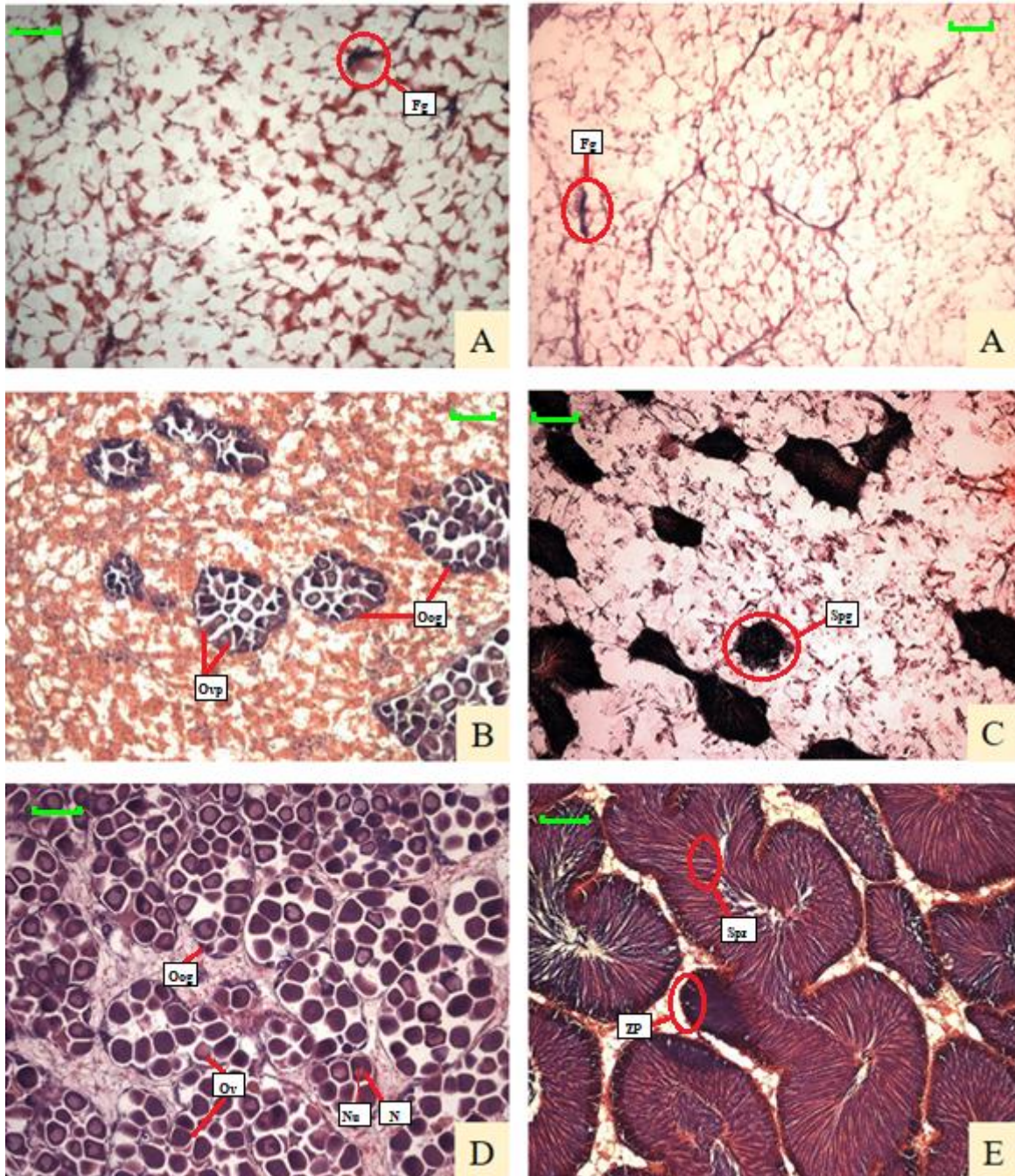


Figura 16 - I. Estadios gonadales de *Mytilus platensis* observados en los tratamientos. A-Estadio de activación y desarrollo temprano (Et. I), B- Estadio de proliferación y maduración temprana (Et. II) (hembra), C- Estadio de proliferación y maduración temprana (Et. II) (macho), D- Estadio de maduración total (Et. IIIA) (hembra), E- Estadio de maduración total (Et. IIIA) (macho). Referencias Fg: folículo gonadal indiferenciados. Hembras: Oog: ovogonia; Ovp: ovocito previtelogénico; Ov: ovocito maduro; N: núcleo; Nu: nucléolo. Machos Spg: espermatogonias; ZP: zona de proliferación; Spz: espermatozoides maduros. (Hematoxilina y Eosina, 100X. Regla= 100µm).

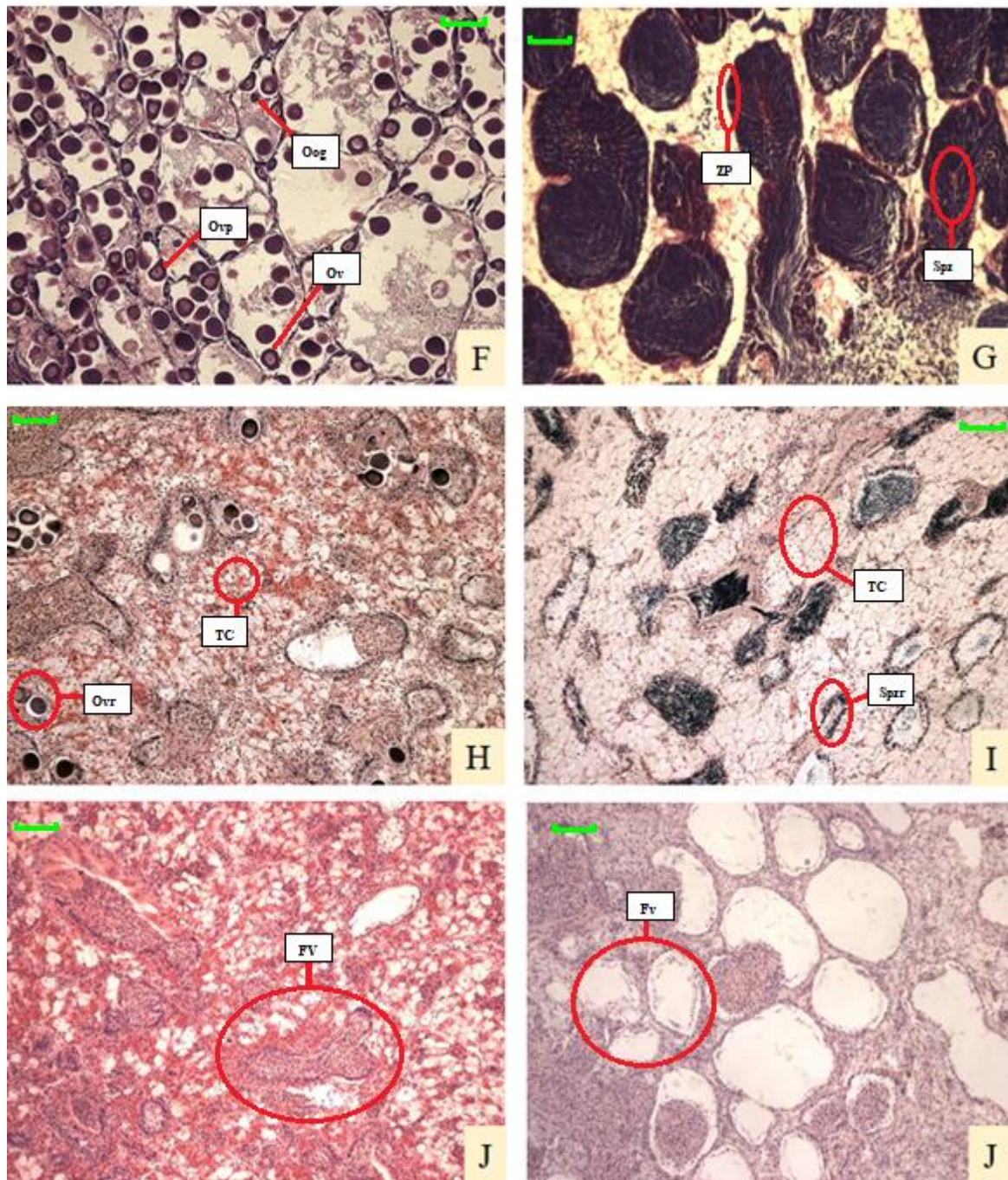


Figura 16-II. Estadios gonadales de *Mytilus platensis* observados en los tratamientos. F- Estadio de emisión gamética con recuperación (Et. IIIB-C) (hembra), G- Estadio de emisión gamética con recuperación (Et. IIIB-C) (macho), H- Estadio de evacuación total con reabsorción gonadal (Et. IIID) (hembra), I- Estadio de evacuación total con reabsorción gonadal (Et. IIID) (macho), J- Estadio de reabsorción total (Et. IV). Referencias TC: tejido conectivo (células adipogranulares); Fv: folículo con infiltraciones hemocitarias. Hembras Oog: ovogonia; Ovp: ovocito previtelogénico; Ov: ovocito maduro; Ovr: ovocito residual. Machos Spg: espermatogonias; ZP: zona de proliferación; Spz: espermatozoides maduros; Spzr: espermatozoides residuales. (Hematoxilina y Eosina, 100X. Regla= 100µm).

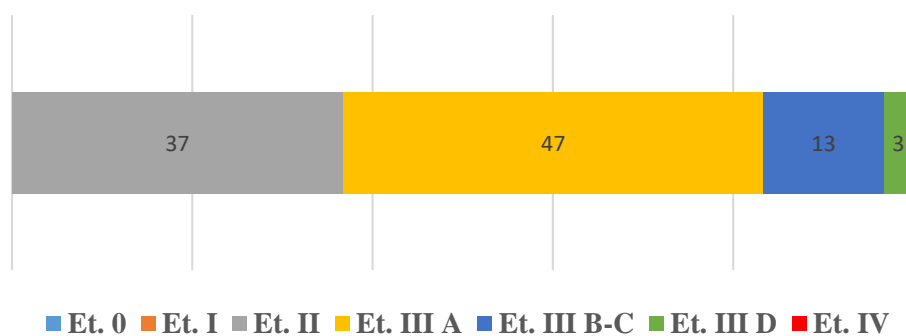


Figura 17. Proporción de estadios gonadales de *Mytilus platensis*. Muestreo inicial (común a todos los Trat. fines de julio) (submuestra de mejillones de banco natural “El Buque” pre-tratamientos). Et.: estadios. Et. 0: reposo sexual y I: activación y desarrollo temprano (indiferenciados sexualmente), Et. II: proliferación y maduración temprana, Et. IIIA: maduración total, Et. IIIB-C: emisión gamética con recuperación, Et. IIID: evacuación total con reabsorción gonadal, Et. IV: reabsorción total.

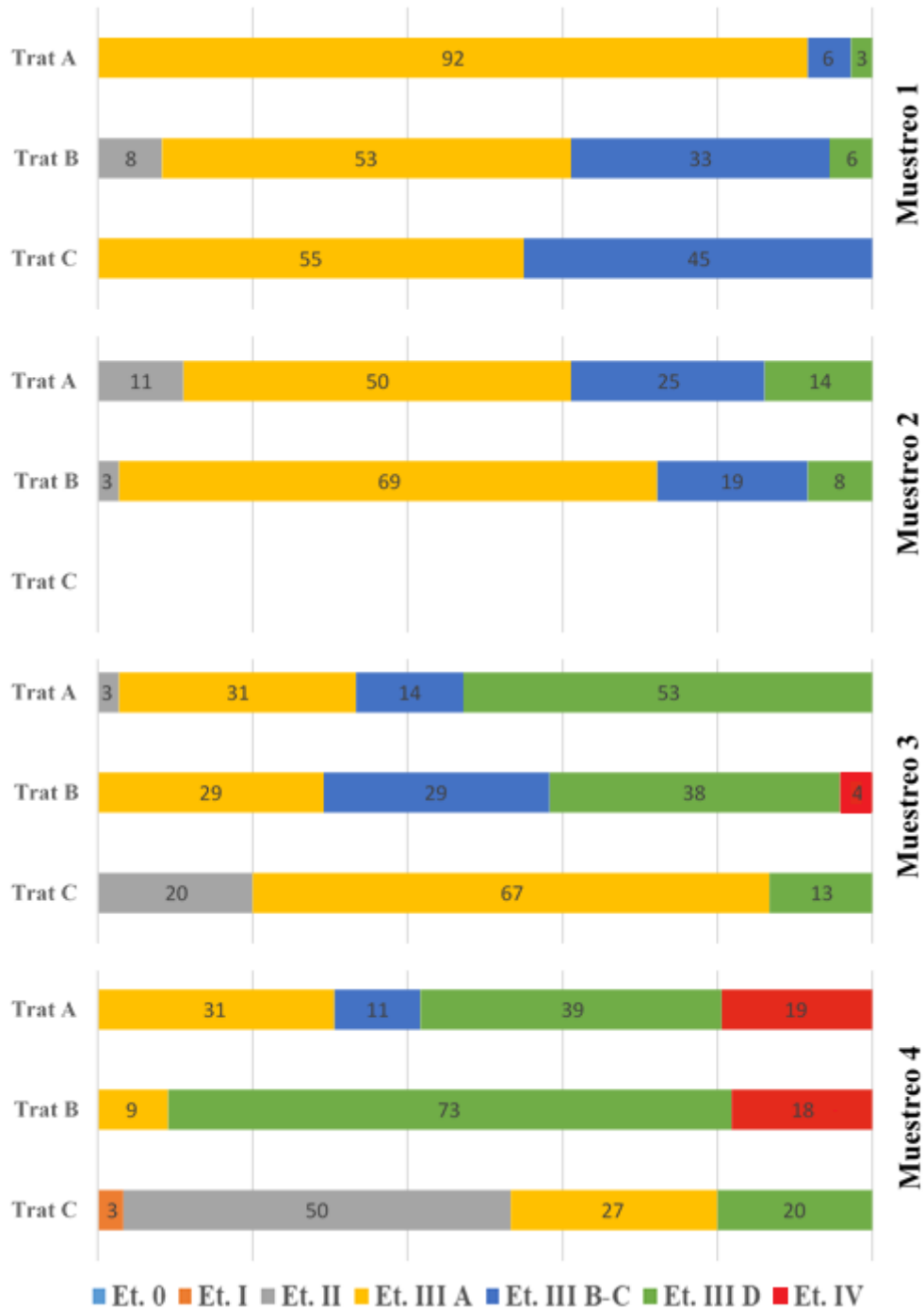


Figura 18. Proporción de estadios gonadales de *Mytilus platensis*. Muestreos (1: mediados de agosto, 2: fines de agosto, 3: mediados de septiembre y 4: fines de septiembre). Trat.: tratamiento. Et.: estadios. Et. 0: reposo sexual y I: activación y desarrollo temprano (indiferenciados sexualmente), Et. II: proliferación y maduración temprana, Et. IIIA: maduración total, Et. IIIB-C: emisión gamética con recuperación, Et. IIID: evacuación total con reabsorción gonadal, Et. IV: reabsorción total.



Figura 19. Proporción de estadios gonadales de *M. ytilus platensis*. Hembras y Machos. Muestreo inicial (común a todos los Trat. fines de julio). Muestreos (M-1: mediados de agosto, M-2: fines de agosto, M-3: mediados de septiembre y M-4: fines de septiembre). Et.: estadios. Et. II: proliferación y maduración temprana, Et. IIIA: maduración total, Et. IIIB-C: emisión gamética con recuperación, Et. IIID: evacuación total con reabsorción gonadal.

Distribución de Frecuencias de Diámetros Ovocitarios (DFDO):

Teniendo en cuenta la escala propuesta por García Corona (2014) para la especie de mejillón *Modiolus capax*, y con los resultados obtenidos en este estudio, se empleó un tamaño de referencia de 1 a 20 μm como ovogonias y ovocitos previtelogénicos, un rango entre 21 a 45 μm ovocitos maduros y mayor a 45 μm ovocitos postvitelogénicos.

Los diámetros ovocitarios (DO) registrados variaron en un rango de 2,5 a 85 μm . Los mayores DO se observaron en los tratamientos A y B a los 15 días de acondicionamiento, ambos con un tamaño de 85 μm . En estos casos, el diámetro ovocitario medio (DOM) fue de 40,44 μm y 33,46 μm , respectivamente. Al inicio del experimento (muestra inicial) el DOM fue de 28,06 μm (DE: 9,29), representado por organismos con ovogonias, ovocitos previtelogénicos en maduración y ovocitos maduros (vitelogénicos) (Figura 20).

Los cambios temporales en la DFDO en cada tratamiento se muestran en la Figura 21. En el tratamiento A, a los 15 días (M-1) del experimento la mayoría de los ovocitos estuvieron maduros, modificándose este a los 30 y 45 días (M-2 y M-3), observando una coexistencia de ovogonias, ovocitos previtelogénicos, vitelogénicos y postvitelogénicos. En este período el diámetro ovocitario medio fue de 33 y 34 μm . A los 60 días (M-4) se observó una mayor frecuencia de ovocitos postvitelogénicos. En el tratamiento B, a los 15, 30 y 45 días (M-1 al M-3), la DFDO estuvo representada por ovogonias, ovocitos previtelogénicos y ovocitos maduros, cuyos DOM fueron entre 29 a 33 μm . A los 60 días se observó una mayor cantidad de ovocitos postvitelogénicos. En el tratamiento C (banco natural), a los 15 días (M-1), se encontraron organismos representado mayormente con ovogonias, ovocitos previtelogénicos y ovocitos maduros. A los 45 días (M-3), se observó una coexistencia de ovogonias, ovocitos previtelogénicos y ovocitos maduros junto con un gran porcentaje de gametos en estadios postvitelogénicos. En el último muestreo (M-4) existe una mayor proporción de ovogonias, ovocitos previtelogénicos y ovocitos postvitelogénicos. En este tratamiento el DOM comprendió un rango de 31 a 34 μm (Figura 21).

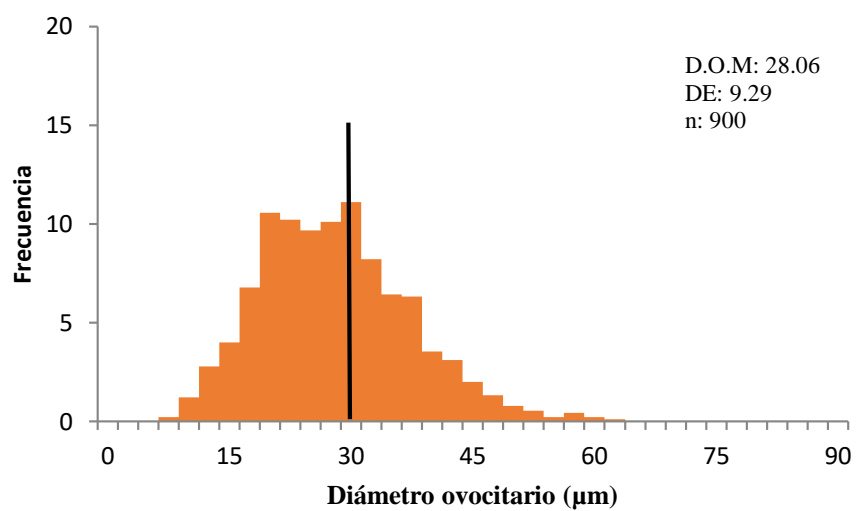


Figura 20. Distribución de Frecuencias de Diámetros Ovocitarios (*DFDO*) en el muestreo inicial de banco natural “El Buque” pre-tratamiento (fines de julio). DOM: diámetro ovocitario medio (μm) (línea negra). DE: desvío estándar de DOM. n: número de muestras.

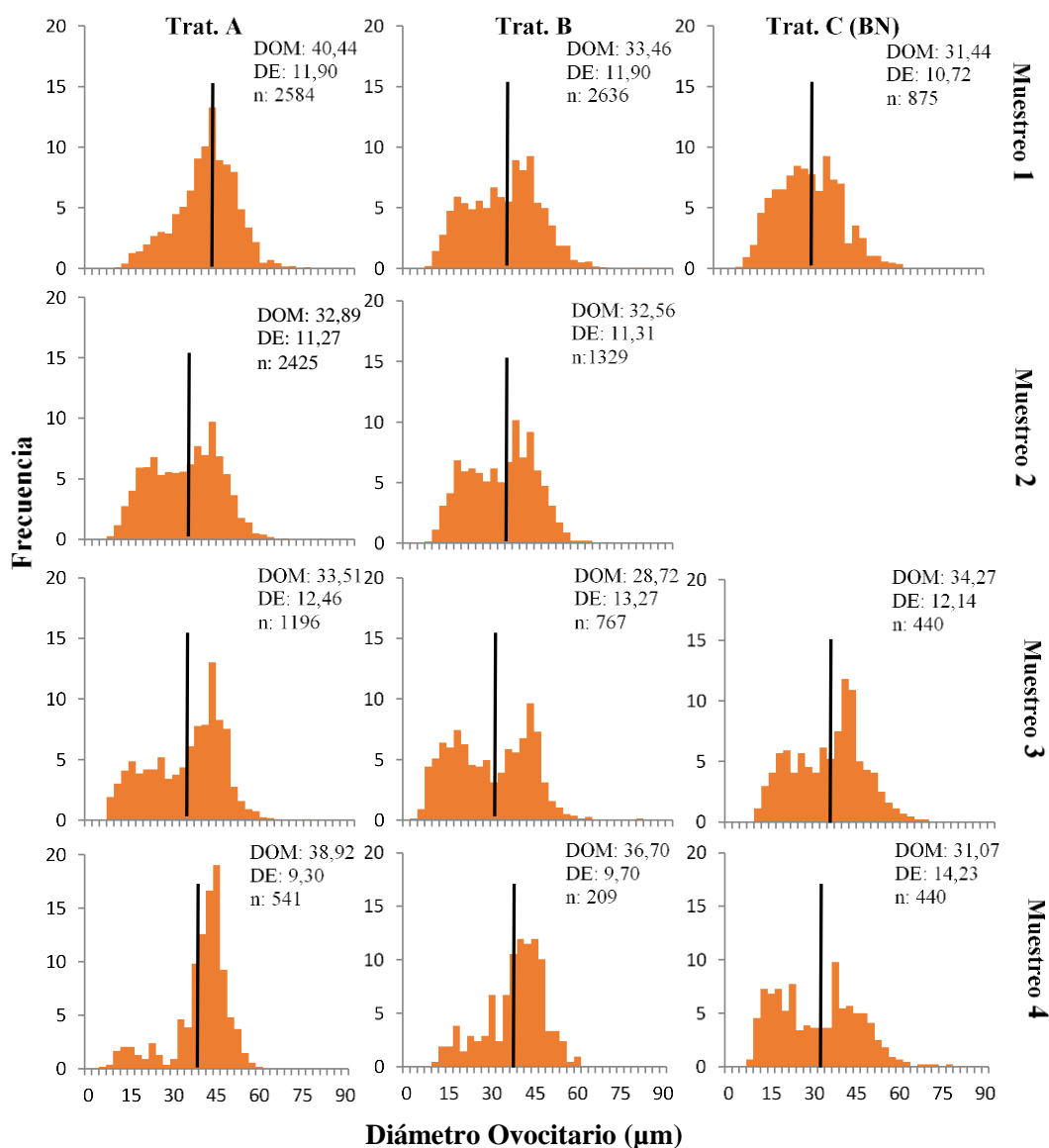


Figura 21. Distribución de Frecuencias de Diámetros Ovocitarios (*DFDO*). DOM: diámetro ovocitario medio (μm) (línea negra); DE: desvío estándar de DOM; n: número de muestras. Columnas: Tratamientos (Trat. A – B y C). Filas: Muestreos (1: mediados de agosto, 2: fines de agosto, 3: mediados de septiembre y 4: fines de septiembre).

Diámetro ovocitario medio, Ovocitos por campo y Área ovocitaria relativa

El patrón del Área Ovocitaria Relativa (AOR) resulta de los efectos combinados producidos por la densidad ovocitaria y su distribución de frecuencias, estos dos factores representados como un porcentaje del área total observada.

En el muestreo inicial el AOR quedó representado por un valor cercano al 20 %, resultado de un gran número de ovocitos por campo, los que en su gran mayoría eran ovogonias, ovocitos previtelogénicos y ovocitos maduros.

En el Tratamiento A, la mayor Área Ovocitaria Relativa fue a los 15 días (M-1), alcanzando un valor de 31,17 %. El DOM en este punto fue de 40,44 μm , con una disminución en el número de ovocitos por campo. Lo que nos indica que el DOM desempeñó un papel predominante en el área observada. En los siguientes muestreos disminuye notablemente el número de ovocitos por campo y por consiguiente el AOR, indicando la puesta de gametas y la presencia de ovocitos residuales postvitelogénicos (Figura 22-A). En el Tratamiento B, el AOR se mantiene constante en el tiempo hasta los 30 días, a causa de la estabilidad en el número de ovocitos por campo y el DOM. Posterior a esto el AOR va decreciendo a raíz de la disminución del número de ovocitos por campo. Evidenciando una mayor proporción de individuos desovados con gametas residuales (Figura 22-B). En el tratamiento C, a los 15 y 45 días (M-1 y M-3) se observa que el AOR se mantiene, debido a la estabilidad en el número de ovocitos por campo y DOM. A los 60 días (M-4) el área cae notablemente a causa de la puesta (Figura 22-C).

Aplicando el estadístico Scheirer-Ray-Hare en los tratamientos de laboratorio, estos presentaron diferencias significativas a lo largo del tiempo (muestreos) ($p = 0,0003$). No hallándose diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0,30$) ni en la interacción muestreos - tratamiento ($p=0,84$) (Anexo 11). Agrupando los tratamientos para aplicar el estadístico post hoc de Dunn, se encontraron diferencias significativas entre los muestreos 1 – 3 ($p=0,002$), 1 – 4 ($p=0,0002$), 2 – 3 ($p=0,034$) y 2 – 4 ($p=0,006$) (Figura 23 y Anexo 12).

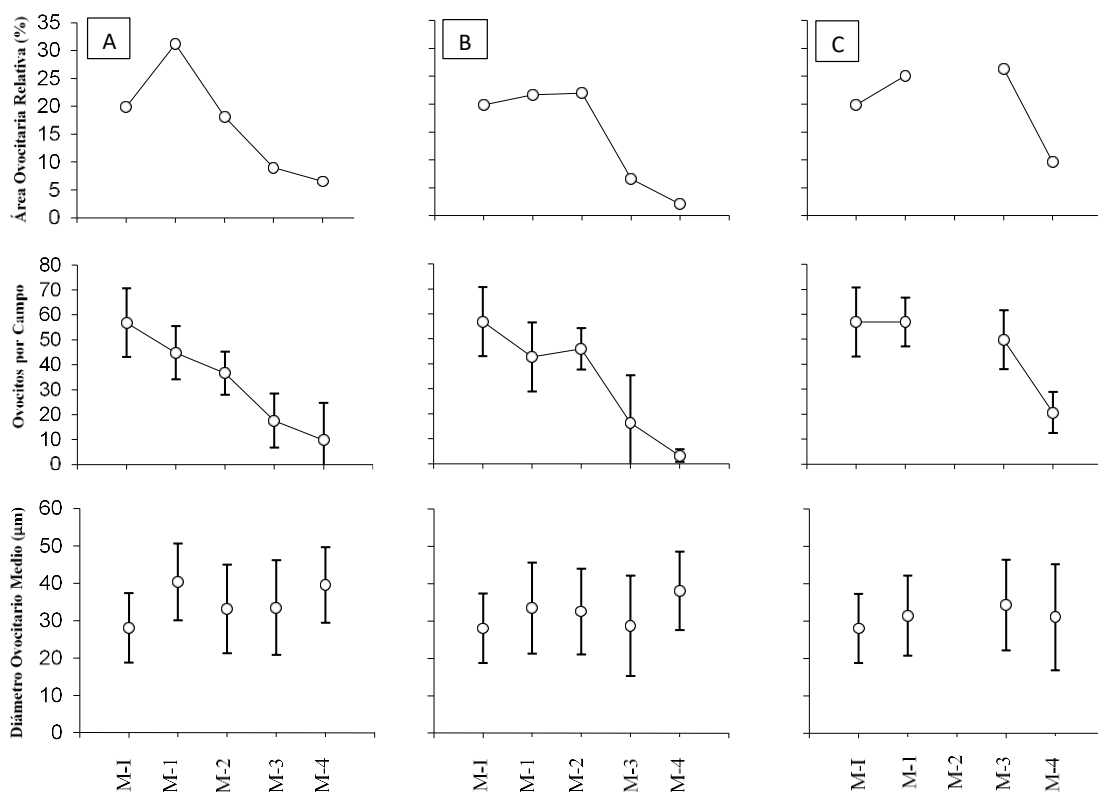


Figura 22. Fila 1: Área ovocitaria relativa; Fila 2: Ovocitos por campo (punto: media, bigotes: desvío estándar); Fila 3: Diámetro ovocitario medio (μm) (punto: media, bigotes: desvío estándar). Columnas: Tratamientos (A – B y C (Banco natural “El Buque”)), M: Muestras (M-I: muestreo inicial común a todos los Trat. finales de julio banco natural el “El Buque”) (M-1: mediados de agosto, M-2: fines de agosto, M-3: mediados de septiembre y M-4: fines de septiembre).

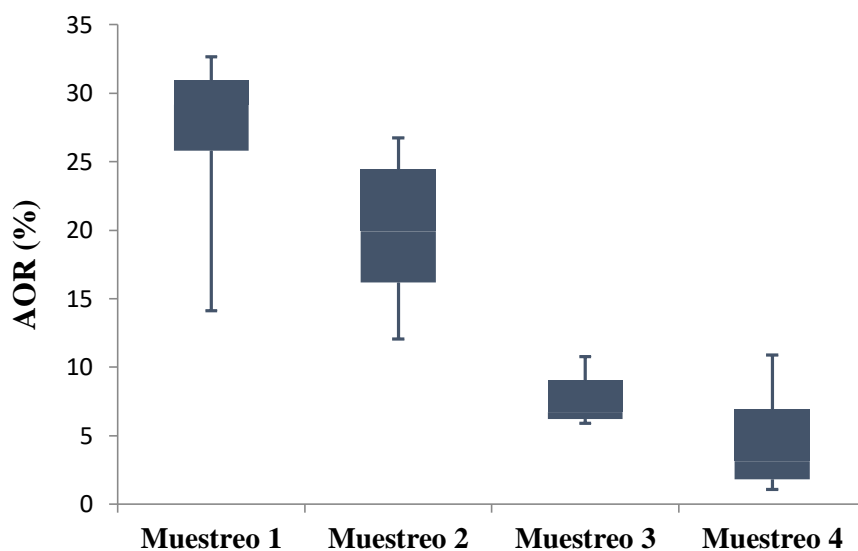


Figura 23. Área ovocitaria relativa (AOR). Tratamientos A y B agrupados en los diferentes Muestras (1: mediados de agosto, 2: fines de agosto, 3: mediados de septiembre y 4: fines de septiembre). Caja: mediana y cuartiles (q_1 y q_3) bigotes: valores mínimos y máximos.

Análisis Supervivencia:

En el Tratamiento A la supervivencia se mantuvo cercana al 100% en los primeros 30 días (M-1 y M-2). Disminuyendo a los 60 días de acondicionamiento (M-4) con un 86,4% de organismos vivos. Igual a lo observado en el Tratamiento A en el Tratamiento B, a los 15 días se registró una supervivencia de 100%. Posteriormente la mortalidad fue aumentando, concluyendo con una supervivencia de 48,9% (Figura 24).

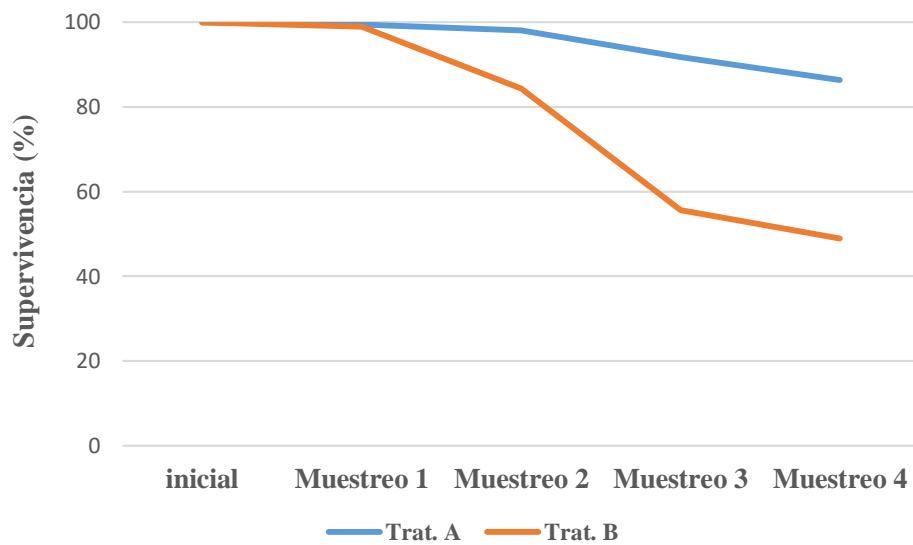


Figura 24. Supervivencia (%) en los tratamientos de laboratorio a lo largo del tiempo. Muestreo 1: 15 días (mediados de agosto), Muestreo 2: 30 días (fines de agosto), Muestreo 3: 45 días (mediados de septiembre) y Muestreo 4: 60 días (fines de septiembre). Trat: tratamientos A y B.

Análisis del Alimento Residual

Durante los primeros 15 días, el alimento residual de ambos tratamientos no superó el 1% de la dieta, y no se observaron pseudoheces. Esta situación se mantuvo hasta los 30 días en el caso del Tratamiento A. Sin embargo, en los muestreos posteriores, la cantidad de alimento no ingerido por los mejillones aumentó en ambos tratamientos, alcanzando niveles máximos en el último período, con un 49,26% en el Tratamiento A y un 66,16% en el Tratamiento B (Figura 25).

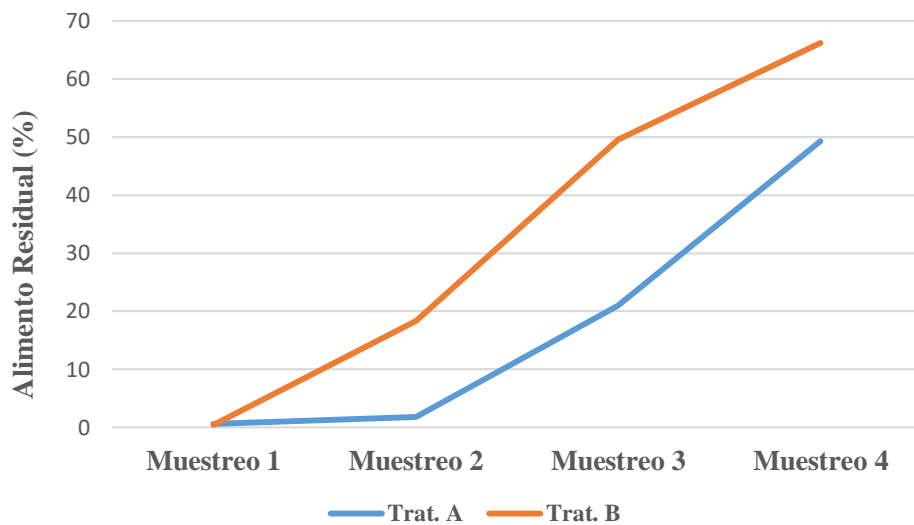


Figura 25. Alimento residual expresado como porcentaje medio de alimento no ingerido de cada tratamiento de laboratorio. Muestreo 1: 15 días (mediados de agosto), Muestreo 2: 30 días (fines de agosto), Muestreo 3: 45 días (mediados de septiembre) y Muestreo 4: 60 días (fines de septiembre). Trat: tratamientos A y B.

DISCUSIÓN y CONCLUSIÓN

La proporción sexual reveló que, en el momento de la investigación, la proporción de sexos en el banco “El Buque” no sigue la relación 1:1, como se describe para esta especie por Oehrens Kissner (2006) para el banco denominado “El Sótano” (Golfo San Matías), ni coincide con lo descrito por Sar et al. (2018) para los “Bancos Justicia” y “Punta Caldera” (Bahía San Julián). El predominio de hembras detectado en este estudio, sugiere que se vería asegurada la producción de óvulos, siendo estos fundamentales para la obtención y el desarrollo de las larvas.

Urban (2000) propone que los Índices de Condición son una medida cuantitativa que refleja la actividad gametogénica y está estrechamente vinculada a las fluctuaciones estacionales del ciclo reproductivo. Estos índices parten del supuesto de que toda la energía asimilada se destina exclusivamente a la producción de dos tipos de tejidos: somáticos o reproductivos. Por lo tanto, al inicio de un periodo reproductivo, la mayor parte de la energía se emplea en la formación de las gónadas, lo que resulta en un aumento del volumen y peso de estas hasta alcanzar la madurez total. En este punto, los índices alcanzan su máximo. Sin embargo, después del desove, las gónadas disminuyen su tamaño, lo que se traduce en una disminución de los índices. Al comienzo del proceso de acondicionamiento, los reproductores presentaron un Índice de Condición (IC) del 69,83% y un Rendimiento (R) del 24,30%. La mayoría de los mejillones se encontraban en estadios de proliferación y maduración, coincidiendo con lo descrito por Pascual y Zampatti (1998) para esta época del año y los bancos naturales del Golfo San Matías. Este punto de partida es crucial, ya que el éxito reproductivo y la supervivencia de las larvas en el criadero dependen en gran medida del estado de desarrollo gonadal de los ejemplares al inicio del acondicionamiento (Lannan 1980, Gallager y Mann 1986, Matías et al. 2009, Sühnel et al. 2014). A partir del muestreo inicial, se pudo observar que el banco natural tuvo un incremento progresivo tanto en el Índice de Condición como en el

Rendimiento, alcanzando su punto máximo a los 60 días. En paralelo, sus estadios gonadales experimentaron un avance gradual desde proliferación hacia una maduración, con el punto máximo de maduración ocurrido a los 45 días. Posteriormente, a los 60 días, se identificó una nueva fase de proliferación y maduración temprana. Al analizar de manera conjunta estos dos resultados, se deduce que tanto el Índice de Condición como el de Rendimiento no son indicativos de los estadios gonadales en el banco natural. Esto se debe a que sus valores máximos coinciden con el período en el que la mayoría de los organismos se encuentran en una fase de proliferación. Estos hallazgos concuerdan con la perspectiva de Bala (1989), quien sostiene que estos índices ofrecen una generalización poco precisa de la evolución de los tejidos reproductivos y no reproductivos. Esto se debe a que no reflejan las fluctuaciones bioquímicas específicas que experimenta cada órgano en particular. Bala propone un índice que mida la variación en el espesor del manto, esto podría proporcionar una evaluación más precisa de la evolución gamética de los organismos del banco natural.

Entre los tratamientos de laboratorio no se encontraron diferencias significativas en cuanto al Índice de Condición (IC) y el Rendimiento (R). Sin embargo, a lo largo del tiempo, surgieron diferencias significativas como resultado de una disminución gradual, alcanzando sus valores mínimos al final de la investigación (60 días). En el Tratamiento A, la mayor proporción de organismos maduros se registró a los 15 días de acondicionamiento. A partir de los 45 días se observó una disminución en la proporción de organismos en este estadio, con un aumento en el número de individuos en proceso de evacuación y reabsorción. En contraste, en el Tratamiento B durante el mismo período, la proporción de individuos maduros a los 15 días fue menor que en el Tratamiento A, con una diferencia cercana al 40%. A los 30 días, este tratamiento alcanzó su máximo porcentaje de maduración. A los 45 y 60 días, se observó un patrón similar al Tratamiento A. En estos, el Índice de Condición y el Rendimiento reflejaron

de manera más eficiente el desarrollo gonadal. Sus valores máximos coincidieron con los períodos en que gran porcentaje de los organismos estaban maduros y los valores mínimos con los individuos en proceso de emisión gamética y reabsorción. Concordando con lo descrito por Prieto et al. (1999) el cual relaciona la disminución de estos índices con la evacuación gamética por parte de los organismos. Por lo cual, estos índices podrían ser utilizados para monitorear la evolución gonadal en acondicionamiento de reproductores. Comparando los tratamientos de laboratorio con el banco natural, podemos observar, que los mayores índices (IC y R) y una maduración más prolongada en el tiempo ocurrió en el banco natural. Lo cual concuerda con lo expuesto por López Carvallo (2015) para *Modiolus capax*, el cual describe un desarrollo más lento para los organismos en campo a causa de la temperatura más baja y el alimento (disponibilidad y variedad).

Al analizar el Área Ovocitaria Relativa (AOR), no se observaron diferencias entre los tratamientos de laboratorio. Sin embargo, se identificaron diferencias significativas durante los muestreos (días de acondicionamiento) debido a una disminución atribuible al proceso de desove. La información obtenida del AOR, revela que el Tratamiento A exhibió el mayor %AOR a los 15 días de acondicionamiento. En este punto, se registró el DOM más grande, coincidiendo con la etapa en la que la mayoría de las hembras alcanzaron la madurez. No obstante, en los muestreos subsiguientes, el %AOR comienza a disminuir concordando con lo descrito por García Corona (2014), el cual describe que los menores %AOR quedan denotados por los periodos de proliferación, desove y reabsorción. Los Tratamientos B y C (banco natural) mostraron menores %AOR, respecto al tratamiento A. A partir de los 30 días, ambos tratamientos evidenciaron un descenso paulatino en el %AOR debido al descenso en número de ovocitos por campo. Reflejando en el Tratamiento B los estadios gonadales de desove y reabsorción. En cambio, este descenso en el banco natural quedo representado por el estadio de

proliferación, lo cual concuerda con lo descrito por Pascual y Zampatti (1998) y Oehrens Kissner (2006) los cuales describen puestas bimodales para esta especie en el Golfo San Matías, una en primavera y otra en diciembre - enero.

Al igual que Oehrens Kissner (2006), en este estudio se observó un ligero desfasaje en la dinámica reproductiva entre machos y hembras. Este involucra un periodo de madurez más prolongado por parte de los machos.

A partir del análisis de los histogramas de frecuencia y DOM se puede observar que el Tratamiento A presentó una mejor calidad gamética por parte de las hembras, ya que un mayor diámetro ovocitario en el estadio de maduración (ovocitos maduros) representa una mayor movilización de lípidos hacia las gametas. Esto les confiere una mayor tasa de fertilización y supervivencia larval hasta la etapa de la formación de la prodisoconcha I (Gallager y Mann 1986, Utting y Millican 1998). La tendencia de los histogramas de frecuencia ovocitaria hacia ovocitos muy grandes (postvitelogénicos) en los periodos de desove y reabsorción, sigue lo propuesto por García Corona (2014), afirmando que los ovocitos al entrar en etapa de atresia y degeneración aumentan su diámetro, a causa del aumento del espacio citoplasmático.

En cuanto a la respuesta por parte de los organismos a la calidad y cantidad de alimento, debemos definir primero, que los bivalvos pueden reducir su tasa de filtración al aumentar la concentración de partículas de alta calidad en el medio y así evitar que se sature el sistema de filtración. O bien, a altas concentraciones de partículas de baja calidad puede disminuir la tasa de filtración o aumentarla con una mayor producción de pseudoheces (Velasco y Navarro 2003). En este estudio, se observó que durante los primeros 15 días del experimento no se formaron pseudo-heces ni se detectó alimento residual. Sin embargo, a partir de entonces, el alimento no consumido aumentó gradualmente, lo que sugiere una disminución en la tasa de

aclaramiento, dado que estos dos parámetros son inversamente proporcionales. Los picos máximos de alimento residual coincidieron con los períodos en los que los organismos estaban en estadios de emisión gamética y reabsorción, indicando que, después de la emisión gamética, las tasas de aclaramiento disminuyeron notablemente debido a la caída en la tasa de filtración, siendo estas dos variables directamente proporcionales (Dellatorre 2002, Filgueira 2008). Este fenómeno se atribuye al efecto del ciclo reproductivo sobre la tasa de aclaramiento, observándose una reducción significativa durante la época de desove (Newell y Thompson 1984, Famme et al. 1986, Jørgensen et al. 1988), lo cual se interpreta como un mecanismo adaptativo para evitar la ingestión de los gametos expulsados al medio (Newell y Thompson 1984). En este estudio, la respuesta positiva de los organismos a la dieta suministrada durante el proceso de acondicionamiento quedó evidenciada por la mayoría de los individuos que alcanzaron la etapa de maduración. Esto sugiere que tanto la cantidad como la calidad del alimento fueron apropiadas, ya que una deficiencia en la cantidad de proteína puede impedir la maduración de los organismos (Farías y Uriarte 2001).

Los resultados muestran una alta mortalidad en el Tratamiento B, lo que podría estar respaldado en parte por estudios previos realizados por Gouletquer et al. (1998) y Chávez Villalba (2007) en especies de banco natural. Estos estudios sugieren que las altas temperaturas ambientales y la alta disponibilidad de alimento pueden causar altas tasas de mortalidad. En este trabajo, se podría inferir que el exceso de alimentación en los mejillones del Tratamiento B podría haber contribuido a una menor supervivencia en comparación con el Tratamiento A, dado que ambos grupos se acondicionaron a la misma temperatura.

En el presente trabajo, se rechaza la hipótesis 1, la cual postula que “Una mayor concentración de microalgas en la dieta durante el acondicionamiento en laboratorio estimula de manera significativa el tiempo de la maduración gonadal de los reproductores del mejillón

Mytilus platensis". Esto se debe a que no se encontraron diferencias significativas en el Porcentaje de Área Ovocitaria Relativa (%AOR), Índice de Condición (IC) y Rendimiento (R) entre los reproductores acondicionados con una dieta de microalgas de 2500×10^6 cél/ind/día (Trat. A) y de 5000×10^6 cél/ind/día (Trat. B). Además, es importante destacar que los organismos alimentados con una menor concentración de microalgas mostraron una mayor proporción de individuos maduros antes que los alimentados con una concentración mayor.

La hipótesis 2, la cual postula que "los reproductores de mejillón *Mytilus platensis* en acondicionamiento presentan distinto tiempo de maduración gonadal que los de banco natural", no pudo ser evaluada estadísticamente. Sin embargo, se observó que el mayor porcentaje de individuos en el estadio de madurez sexual, los máximos valores de Porcentaje de Área Ovocitaria Relativa (%AOR) y diámetro ovocitario en el banco natural ocurrieron después que los reproductores acondicionados. De esta manera con lo expuesto anteriormente, se sugiere que el tiempo de maduración gonadal es menor en los tratamientos de laboratorio.

El éxito reproductivo en los moluscos bivalvos depende de una variedad de factores, entre ellos, se encuentran la condición inicial de los organismos al comienzo del proceso de acondicionamiento, la cantidad y calidad del alimento proporcionado y la temperatura mantenida durante el proceso. Estudios anteriores han resaltado la importancia de estos factores (Lannan et al. 1980, Muranaka y Lannan 1984, Gallager y Mann 1986, Laing y Lopez-Alvarado 1994, Utting y Millican 1997, 1998, Matías et al. 2009, Sühnel et al. 2014). Además, la fecundidad y la supervivencia larval están intrínsecamente ligadas a la calidad de la puesta, número y tamaño de los ovocitos, así como el Área Ovocitaria Relativa, según han demostrado investigaciones previas (Gallager y Mann 1986, Fabioux et al. 2005, Pacheco Carlón 2016). Considerando los hallazgos presentados anteriormente, se puede concluir que la mejor opción para la producción de semilla de mejillón en criadero, es acondicionar los reproductores durante

un período de 15 días, utilizando una concentración de alimento de 2500×10^6 cél/ind/día. La selección de esta dieta resultará en una disminución de los costos variables asociados con la producción de microalgas, ya que los reproductores consumirán menos alimento. Esta reducción de costo se traduce en un menor consumo de medio de cultivo, así como en menores gastos relacionados con el proceso de filtración y esterilización, entre otros.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en esta tesis, está podría ampliarse profundizando en los siguientes temas:

- Un estudio que investigue la relación entre la dieta utilizada durante el acondicionamiento de reproductores y las tasas de fecundidad y supervivencia larval en *Mytilus platensis* D'Orbigny (1842), dado que la alimentación está directamente vinculada a estos aspectos hasta la etapa de prodisoconcha I.
- Un estudio detallado de los costos de producción de semilla de *Mytilus platensis*. Esto incluiría un análisis exhaustivo de los gastos relacionados con la producción de microalgas utilizadas en el acondicionamiento, así como los costos operativos y de mantenimiento de las instalaciones de cultivo.

BIBLIOGRAFÍA

- Abalde J, Cid Á, Fidalgo Paredes P, Torres E, Herrero C (1995). Microalgas: cultivo y aplicaciones. Universidade da Coruña, Servizo de Publicacións. 205 pp.
- Acosta V, Prieto A, Licett B, Longart Y, Montes M (2011). Rendimiento, índice de condición y esfuerzo reproductivo del mejillón verde *Perna viridis* en cultivo de fondo en el Golfo de Cariaco, estado Sucre, Venezuela. *Zootecnia Trop.* 29: 399-410.
- Alvarado Enríquez ADC (1989). Acondicionamiento del mejillón *Mytilus edulis* L.: efecto de la temperatura sobre la producción de gametas. Tesis para optar el título de Oceanólogo. Universidad Autónoma de Baja California. Facultad de Ciencias Marinas. 97 pp.
- Álvarez J, Di Franco Y, Figliuolo D, Silfeni A, Funes D, Flack Llegue A, De Santis P (2008). Producción de semilla de mejillón, *Mytilus edulis*, en criadero. Informe técnico. Laboratorio de peces y moluscos bivalvos. Colegio 721, “Caleta Horno”. Camarones. Chubut. 25 pp.
- Bala LO (1989). Biología y ecología del mejillón (*Mytilus edulis platensis*) en el golfo San José, provincia del Chubut (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata). 299 pp.
- Bala LO (1996). Edad y crecimiento de *Mytilus edulis platensis* D'Orbigny, 1846, en el Golfo San José, Argentina. *Biología Pesquera*, 25, 59-66.
- Barber BJ, Blake NJ (2006). Reproductive Physiology. En *Scallops: Biology, Ecology, Aquaculture, and Fisheries*. Third edition (ed Shumway, S.E., Parsons, G.J.), pp 253-292. ELSEVIER.
- Bertolotti MI, Lasta ML, Zampatti EA (1986). Cultivo experimental de mejillón (*Mytilus edulis platensis*): características biológicas, técnicas y análisis económico de la actividad. [Experimental culture of mussel (*Mytilus edulis platensis*): biological characteristics, technique and economic analysis.]. *La Industria Cárnica Latinoamericana*. 65. 42-54.

- Borsa P, Rolland V, Daguin Thiébaud C (2012). Genetics and taxonomy of Chilean smooth-shelled mussels, *Mytilus* spp. (Bivalvia: Mytilidae). *Comptes rendus biologiques*, 335(1), 51-61.
- Calvo J, Morriconi E, Orler P (1998). El mar Argentino y sus recursos pesqueros 2. Los moluscos de interés pesquero. Estrategias reproductivas de moluscos bivalvos y equinoideos.
- Carpizo Ituarte EDJ (1983). Acondicionamiento de adultos de *Mytilus californianus* (Mollusca: bivalvia): alimentación y su efecto en la madurez sexual. Tesis para optar el título de Oceanólogo. Universidad Autónoma de Baja California. Facultad de Ciencias
- Chávez Villalba J, Villelas Ávila R, Cáceres Martínez C (2007). Reproduction, condition and mortality of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) in Sonora, México. *Aquaculture Research*, 38(3), 268-278.
- Coller M, Osovnikar P, Narvarte M, Perier R, González RA, Di Giácomo E, Ocampo M (2004). Estado de situación de los recursos pesqueros del Golfo San Matías, sus pesquerías, especies asociadas y ambiente: informe ad hoc para la evaluación preliminar de las pesquerías marinas de Río Negro con vistas a la certificación de su sustentabilidad. *Inf. Téc. IBMP “Almirante Storni”*, 03/04: 51 pp.
- Dellatorre FG (2002). Tasa de filtración del mejillón *Mytilus edulis platensis* d'orbigny 1846: relación con la talla, el origen y la concentración de alimento. Tesis: Licenciatura en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Facultad de Ciencias Naturales. 58 pp.
- Dirección Nacional de Acuicultura (2022). “Análisis del sector acuícola argentino” Subsecretaría de Pesca y Acuicultura. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación. 11 pp. Disponible en:

https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/acuicultura/Informes/_archivos//000001_Analisis%20del%20Sector%20Acu%C3%ADcola%20Argentino.pdf

Fabioux C, Huvet A, Le Souchu P, Le Pennec M, Pouvreau S (2005). Temperature and photoperiod drive *Crassostrea gigas* reproductive internal clock. *Aquaculture*, 250(1-2), 458-470.

Famme P, Riisgård HU, Jørgensen CB (1986). On direct measurement of pumping rates in the mussel *Mytilus edulis*. *Mar Biol* 92:323-327.

FAO (2012). Panorama mundial de la pesca y la acuicultura 2010. Departamento de Pesca y Acuicultura de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, 2010. Disponible en:

<http://www.fao.org/docrep/013/i1820s/i1820s00.htm>

FAO (2022). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022. Departamento de Pesca y Acuicultura de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, 2010. Disponible en: <https://www.fao.org/3/cc0461en/cc0461en.pdf>

Farfán C, Espinoza Peralta AM, Tapia Vázquez O (1998). Dilación del desove de *Modiolus capax* (Bivalvia: Mytilidae). *Revista de biología tropical*, 46(3), 633-641.

Farías A (2008). Nutrición y alimentación en moluscos bivalvos. Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. Taller Técnico Regional de la FAO, 20-24.

Farías A, Uriarte I (2001). Effect of microalgae protein on the gonad development and physiological parameters for the scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). *J. Shellfish Res.*, (20): 97–105.

Fernández Reiriz MJ, Freitas L, Labarta U (2003). Biochemical composition and energy content of the mussel *Mytilus galloprovincialis* of subtidal and rocky shore origin: Influence

- of environmental variables and source of mussel seed. *Ciencias Marinas* (2003), 29 (4B): 603-619.
- Filgueira R (2008). Comportamiento alimentario del mejillón *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) en las condiciones tróficas de las Rías Gallegas. 157 pp.
- Gallager SM, Mann R (1986). Growth and survival of larvae of *Mercenaria mercenaria* (L.) and *Crassostrea virginica* (Gmelin) relative to broodstock conditioning and lipid content of eggs. *Aquaculture*, 56(2), 105-121.
- García Corona JL (2014). Dinámica anual de la estrategia, esfuerzo reproductivo y calidad ovocitaria del mejillón *Modiolus capax* (Bivalvia: Mytilidae; Conrad, 1837) en la Bahía de la Paz, B.C.S México. Tesis para obtener título de Biólogo Marino. Universidad Autónoma de Baja California Sur. Departamento Académico de Biología Marina. 149 pp.
- Gouletquer P, Soletchnik P, Le Moine O, Razet D, Geairon P, Faury N (1998). Summer mortality of the Pacific cupped oyster *Crassostrea gigas* in the Bay of Marennes-Oléron (France). In CIEM Conseil International pour l'Exploration de la Mer. 21 pp.
- Guillard RRL (1975). Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: Cultivo de ostras cóncavas en Argentina: desde el criadero hasta la cosecha en el mar. Ministerio de Economía. Secretaria de agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. 45 pp.
- Helm MM, Bourne N, Lovatelli A (2006). Cultivo de bivalvos en criadero: un manual práctico (Vol. 471). Food & Agriculture Org. 102- 109.
- Hernández KL, Gómez JA (2000). Acondicionamiento e inducción al desove de reproductores de *Pinctada imbricata* Röding (1798). *Scientia* (Panamá), 15(1), 61-80.
- Hickman RW, Illingworth, J. (1980). Condition cycle of the green-lipped mussel *Perna canaliculus* in New Zealand. *Marine biology*. *Mar. Biol.* 60: 27-38.
- Jørgensen CB, Larsen PS, Møhlenberg F, Riisgård HU (1988). The mussel pump: properties

and modelling. *Mar Ecol Prog Ser* 45:205-216.

Kamermans, P., Galley, T., Boudry, P., Fuentes, J., McCombie, H., dos Reis Batista, I. C., Blanco Garcia, A., Dominguez, L., Cornette, F., Pincot, L., Beaumont, A. (2013). Blue mussel hatchery technology in Europe. In G. Allan, G. Burnell (Eds.), *Advances in aquaculture hatchery technology* (pp. 339-373). (Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition; No. 242).

Lagos L, Uriarte I, Yany G (2012). Evaluación del potencial reproductivo del chorito (*Mytilus chilensis*) de dos poblaciones naturales sometidas a diferentes temperaturas de acondicionamiento. *Latin american journal of aquatic research*, 40(2), 389-397.

Laing I, Lopez-Alvarado J (1994). Effect of dried algae diets on conditioning and fecundity of Manila clam, *Tapes philippinarum* (Adams and Reeve). *Aquaculture Research*, 25(2), 157-166.

Lannan JE (1980). Broodstock management of *Crassostrea gigas*: I. Genetic and environmental variation in survival in the larval rearing system. *Aquaculture*, 21(4), 323-336.

Lasta ML, Parma AM, Pascual MS, Zampatti EA (1986). Consideraciones sobre la explotación del mejillón (*Mytilus edulis platensis*) en la costa bonaerense. Resultados de la campaña de prospección del "BANCO FARO QUERANDI" (junio 1981). *Rev. Investigación y Desarrollo Pesquero* 6. 45-55.

Lasta ML, Iribarne OO, Pascual MS, Zampatti EA, Vacas HC (1988). La pesquería del golfo San Matías: una aproximación al manejo experimental. *Inf. Unesco Cienc. Mar.* 47: 168-175.

Lasta ML, Ciocco NF, Bremec C, Roux A, Boschi EE (1998). El mar Argentino y sus recursos pesqueros 2. Los moluscos de interés pesquero. Cultivo y estrategias reproductivas de bivalvos y equinoideos.

- López Carvallo JA (2015). Efecto de la temperatura y alimentación en la maduración sexual del mejillón *Modiolus capax* (Conrad, 1837) en condiciones de laboratorio. Tesis Maestría. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. 115 pp.
- Mackie GL (1984). Bivalves. Wilbur-Karl, M., Tompa, A.S., Verdonk, N.H., Van Den-Biggelaar, J.A.M. (ed.). The Mollusca volume 7: Reproduction. En: López Carvallo JA (2015). Efecto de la temperatura y alimentación en la maduración sexual del mejillón *Modiolus capax* (Conrad, 1837) en condiciones de laboratorio. Tesis Maestría. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. 115 pp.
- Mangiafico SS (2016). Summary and Analysis of Extension Program Evaluation in R, versión 1.20.04, revised 2023. Disponible en:
rcompanion.org/documents/RHandbookProgramEvaluation.pdf .
- Martínez Pita I (2013). Guía de cultivo de mejillón. Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. Junta de Andalucía. 16 pp.
- Matías D, Joaquim S, Leitao A, Massapina C (2009). Efecto del origen geográfico, la temperatura y el momento de la recolección de reproductores sobre el acondicionamiento, el éxito del desove y la viabilidad larvaria de *Ruditapes decussatus* (Linné, 1758). *Acuicultura Internacional* 17 (3), 257-271.
- Mazón Suástegui JM (1988). Acondicionamiento y desove de cuatro especies de moluscos bivalvos, alimentados con dietas artificiales. En: López Carvallo JA (2015). Efecto de la temperatura y alimentación en la maduración sexual del mejillón *Modiolus capax* (Conrad, 1837) en condiciones de laboratorio. Tesis Maestría. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. 115 pp.
- Mazón Suástegui JM (2005). Biología y cultivo de la almeja Catarina, *Argopecten ventricosus*

- sowerby ii, 1842 (Doctoral dissertation, Universitat de Barcelona).
- Morsan EM, Kroeck MA (2005). Reproductive cycle of purple clam, *Amiantis purpurata*, (Bivalvia: Veneridae) in northern Patagonia (Argentina). *Journal Marine Biology. Ass.U.K.*, 85,367-373.
- Muciño Díaz MO, Avilés Quevedo MA (1990) Acondicionamiento gonádico y desove de la almeja Catarina, *Argopecten circularis* (SOWERBY, 1835) en condiciones de laboratorio. *Ciencia Pesquera. Instituto Nacional de la Pesquería. Secretaria de Pesca. Mexico.* 7 pp.
- Muranaka MS, Lannan JE (1984). Broodstock management of *Crassostrea gigas*: environmental influences on broodstock conditioning. *Aquaculture*, 39(1-4), 217-228.
- Narvarte M, Morsan, EM (2005). Descripción de las principales especies de invertebrados sujetas a explotación pesquera artesanal en el Golfo San Matías y caracterización sinóptica del sistema pesquero rionegrino relacionado con esas pesquerías. *Instituto de Biología Marina y Pesquería Almirante Storni. Informe técnico No 30/05. PROMARPES 1. San Antonio Oeste, Rio Negro.* 32 pp.
- Newell RIE, Thompson RJ (1984). Reduced clearance rates associated with spawning in the mussel, *Mytilus edulis* (L.) (Bivalvia, Mytilidae). *Mar Biol Lett* 5:21-33.
- 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, USA. 97 pp.
- Oehrens Kissner EM (2006). Estimación de la talla de primera madurez sexual del mejillón, *Mytilus edulis platensis* (Mollusca: Bivalvia) en el Golfo San Matías. Tesis para optar el título de Licenciatura en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Sur. 43pp
- Oehrens Kissner E, Kroeck M (2005). Estimación de la talla de primera madurez sexual del

mejillón, *Mytilus edulis platensis* (Mollusca: Bivalvia) en el Golfo San Matías. IBMP Serie Publicaciones IV, 21-44.

Pacheco Carlón, N (2016). Protocolos innovadores de criterios de calidad larvaria de ostión japonés que permitan incrementar el rendimiento en cultivo y mejorar los sistemas de producción de semilla. Tesis para optar el título de Maestro en Ciencias en el Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales con Orientación en Acuicultura. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. 166 pp.

Pascual MS, Zampatti EA (1998). Cultivos de moluscos bivalvos. En: Los Recursos Pesqueros del Mar Argentino, vol. 2 (ed E Boschi), pp 167-193, INIDEP. Mar del Plata, Argentina.

Pascual M, Castaños C (2000). Cultivo de ostras cóncavas en Argentina: desde el criadero hasta la cosecha en el mar. Ministerio de Economía. Secretaria de agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. 45 pp.

Pascual MS, Zampatti E, Narvarte M, Sar E, Hoffmeyer M (1998). Producción de semillas de moluscos bivalvos en criadero. Proyecto de investigación Científica y Tecnológica. Informe Final - PICT 98/08-04221. 94 pp. Informe técnico.

Pascual MS, Zampatti E, Elvira M (2014). Producción de semilla de mejillón. Proyecto de Actividades de la Red de Fortalecimiento para la Maricultura Patagónica (RFMP). Disponible en:

<https://www.mariculturaenred.cenpat-conicet.gob.ar/www.mariculturaenred.cenpat-conicet.gob.ar/files/files/104/Relevamiento%20final1.pdf>

Pascual MS, Zampatti E, Elvira M (2015). El cultivo de mejillón: Una herramienta para restaurar los efectivos pesqueros en el área sobre-explotada de El Sótano, Golfo San Matías. Proyectos Federales de Innovación Productiva – Eslabonamientos Productivos (PFIP-ESPRO) MINCYT 1741/09 - CRIAR-Ministerio de Producción de la Provincia de Río

Negro. Informe técnico.

Penchaszadeh PE (1971). Estudios sobre el mejillón (*Mytilus platensis* d'Orbigny) en explotación comercial del sector bonaerense, Mar Argentino. I-Reproducción, crecimiento y estructura de la población. CARPAS. Comisión Asesora Regional de Pesca para el Atlántico Sudoccidental, 5. Mar del Plata, Argentina. 22-25 de marzo de 1971.

Penchaszadeh PE (1974). Ecología del mejillón *Mytilus platensis* d'Orb. de bancos circalitorales Tesis doctoral dissertation. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. 196 pp.

Penchaszadeh PE (1980). Ecología larvaria y reclutamiento del mejillón del Atlántico Suroccidental, *Mytilus platensis* d'Orbigny. Cahiers de Biologie Marine, 21, 169-179.

Pérez Camacho A (1987a). El cultivo del mejillón (*Mytilus edulis*) y la ostra (*Ostrea edulis*) en España. Investigación Acuicola en America Latina Aquaculture research in Latin America, 243.

Pérez Camacho A (1987b). La producción de semilla de ostra en criadero. Instituto Español de Oceanografía. 18 pp.

Prieto AS, Flores MS, Lodeiros C (1999). Madurez sexual e índice de condición en una población del mejillón de fondo *Modiolus squamosus* (Mollusca, Bivalvia) en Tocuchare, Golfo de Cariaco, Venezuela.

Román G, Martínez G, García O, Freites L (2001). Capítulo 2: Reproducción. Maeda-Martínez, A.N. (ed.). Los Moluscos Pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura. En: López Carvallo, J.A. (2015). Efecto de la temperatura y alimentación en la maduración sexual del mejillón *Modiolus capax* (Conrad 1837) en condiciones de laboratorio. Tesis Maestría. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. 115 pp.

Sar AM, Martin JP, Fernández R, Caminos C (2018). Ciclo reproductivo y reclutamiento del

- mejillón *Mytilus edulis platensis* en Bahía San Julián (Santa Cruz, Argentina). Informe Científico Técnico UNPA, 10(2), 33-51.
- Saucedo P, Rodríguez Jaramillo C, Aldana Avilés C, Monsalvo Spencer P, Reynoso Granados T, Villarreal H, Monteforte M (2001). Gonadic conditioning of the calafia mother-of-pearl oyster, *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856), under two temperature regimes. *Aquaculture*, 195(1-2), 103-119.
- Scheirer CJ, Ray WS, Hare N (1976). The analysis of ranked data derived from completely randomized factorial designs. *Biometrics*, 429-434.
- Sühnel S, Lagreze F, Pereira A, Da Silva FC, Gurney-Smith H, Bercht M, ... Ferreira JF (2014). Effects of astaxanthin on reproductive success in the tropical scallop *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758). *Journal of Shellfish Research*, 33(1), 89-98.
- Treviño Zambrano LM (2018). Acondicionamiento gonádico e inducción al desove por “shock” térmico de la ostra perlífera *Pteria sterna* (Gould, 1851) en condiciones de laboratorio. Tesis para optar el grado de Magister Scientiae en Acuicultura. Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima Perú. 103 pp.
- Urban JH (2000). Métodos y Conceptos de la Ecología de Poblaciones con énfasis en la Dinámica Poblacional de Invertebrados y Peces Marinos. Universidad Del Valle, Cali. 181 pp.
- Utting SD, Millican PF (1997). Techniques for the hatchery conditioning of bivalve broodstocks and the subsequent effect on egg quality and larval viability. *Aquaculture*, 155(1-4), 45-54.
- Utting SD, Millican PF (1998). The role of diet in hatchery conditioning of *Pecten maximus* L.: a review. *Aquaculture*, 165(3-4), 167-178.
- Valenzuela A, Astorga MP, Oyarzún PA, Toro J E (2016). Caracterización genética de híbridos

- entre las especies *Mytilus edulis platensis* y *Mytilus galloprovincialis* (Mytilidae: Bivalvia) en la costa chilena. Latin american journal of aquatic research, 44(1), 171-176.
- Velasco LA, Navarro JM (2003). Energetic balance of infaunal (*Mulinia edulis* King, 1831) and epifaunal (*Mytilus chilensis* Hupé, 1854) bivalves in response to wide variations in concentration and quality of seston. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., (296): 79–92.
- Villalba A (1995). Gametogenic cycle of cultured mussel, *Mytilus galloprovincialis*, in the bays of Galicia (NW Spain). Aquaculture, 130(2-3), 269-277.
- Zbawicka M, Trucco MI, Wenne R (2018). Single nucleotide polymorphisms in native South American Atlantic coast populations of smooth shelled mussels: hybridization with invasive European *Mytilus galloprovincialis*. Genetics Selection Evolution, 50(1), 1-14.

ANEXOS

Anexo 1. Medio de cultivo F/2 de Guillard (1975).

Medio de cultivo F/2 de Guillard (1975)			
1.	Nitrato	NaNO ₃	100,0 g por l
2.	Fosfato	NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	20,0 g por l
3.	Silicato	Na ₂ SiO ₃ .9H ₂ O	40,0 g por l
Disolución de 1 y 2 en una misma solución formando una mezcla denominada nutrientes mayores, esto representa ahorro de tiempo en la preparación al momento de la dosificación en los cultivos.			
Metales traza			
<u>Solución Primaria</u>			
4.	Sulfato Cúprico	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,19 g en 50 ml
5.	Sulfato de Zinc	ZnSO ₄ .7H ₂ O	1,1 g en 50 ml
6.	Clorura de Cobalto	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,5 g en 50 ml
7.	Cloruro Manganoso	MnCl ₂ .4H ₂ O	9 g en 50 ml
8.	Molibdato de Sodio	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,31 g en 50 ml
<u>Solución Secundaria</u>			
9.	Cloruro Férrico	FeCl ₃ .6H ₂ O	3,15 g
9.	EDTA Disódico	Na ₂ EDTA	4,36 g
9.	Agua destilada hasta 800ml		
Disolución: 1 ml de 4), 5), 6), 7), 8) en la disolución 9) y completar hasta 1 l.			
Vitaminas			
10.	Cianocobalamina (B12)	C ₆₃ H ₈₈ CoN ₁₄ O ₁₄ P	10 mg
11.	Tiamina Clorhidrina (B1)	C ₁₂ H ₂₇ ClN ₄ OS	200 mg
Medio de Cultivo: 1 ml de nutrientes mayores, 1 ml de 3) si se utiliza para el cultivo de diatomeas, 1 ml de Metales Traza y 0,5 ml de la solución de Vitaminas en 1 l de agua de mar filtrada y esterilizada			

Anexo 2. Solución Fijadora de Davidson.

Solución Fijadora de Davidson	
Reactivos	Volumen
Agua de mar filtrada 1 µm	300 ml
Alcohol 96°	600 ml
Formol 37-40%	800 ml
Glicerina	900 ml
Ácido acético glacial	10% del volumen a utilizar

Anexo 3. Proceso de deshidratación de Tejidos.

Deshidratación de Tejidos	
Reactivos	Tiempo
Alcohol 96°	2 hs
Alcohol 96°	2hs
Alcohol 100°	1 h
Alcohol 100°	1 h
Xileno	1h
Xileno	1h
Xileno + Paraplast®	3 hs
Paraplast®	3-8 hs

Anexo 4. Proceso de tinción con Hematoxilina de Harris-Eosina Y.

Tinción con Hematoxilina de Harris-Eosina Y			
Proceso	Cubeta N °	Reactivo	Tiempo
Desparafinar	1	Xileno	5 min
	2	Xileno	12 inmersiones rápidas
Hidratar	3	Alcohol 100°	12 inmersiones rápidas
	4	Alcohol 100°	12 inmersiones rápidas
	5	Alcohol 96°	12 inmersiones rápidas
	6	Alcohol 70°	12 inmersiones rápidas
	7	Alcohol 50 °	12 inmersiones rápidas
	8	H ₂ O destilada	2 min
Teñir	9	Hematoxilina de Harris	15 seg
	9´	Agua corriente	5 min
Diferenciar Hematoxilina	10	Alcohol ácido	2 min
	10´	Agua corriente	5 min
Azular	11	NaHCO ₃	1 min
	11´	Agua corriente	5 min
Contrateñir	12	Alcohol 96°	3 min
	13	Eosina Y	15 seg
Diferenciar Eosina y deshidratar	14	Alcohol 96°	12 inmersiones rápidas
	15	Alcohol 96°	12 inmersiones rápidas
	16	Alcohol 100°	12 inmersiones rápidas
	17	Alcohol 100°	10 - 12 inmersiones rápidas.
Aclarar	18	Xileno	10 - 12 inmersiones rápidas.
	19	Xileno	10 - 12 inmersiones rápidas.

Anexo 5. Scheirer Ray Hare test

Índice de condición					
	gl	SC	MC	f	p
M	3	435	435	8,7	0,03
T	1	0,17	0,17	0,003	0,95
MxT	3	28,83	28,83	0,58	0,90
E	23	1150	50		

Anexo 6. Índice de condición promedio (expresado en mm) con su respectivo desvío estándar (DE). Muestreo inicial (M-I) común a todos los tratamientos. Muestras del 1 al 4 (M-1, M-2, M-3 y M-4).

Índice de Condición		M- I	M-1	M-2	M-3	M-4
Tratamiento A	Promedio	69,8	66,5	65,5	61,0	59,8
	DE	13,7	1,9	4,6	7,4	3,3
Tratamiento B	Promedio	69,8	66,1	67,7	68,2	58,6
	DE	13,7	6,7	5,5	9,1	2,8
Tratamiento C	Promedio	69,8	85,3		76,4	94
	DE	13,7	14,2		13,0	13,2

Anexo 7. Dunn test

Índice de Condición		
		p
Muestreo 1	Muestreo 2	0,90
Muestreo 1	Muestreo 3	0,05
Muestreo 1	Muestreo 4	0,04
Muestreo 2	Muestreo 3	0,04
Muestreo 2	Muestreo 4	0,03
Muestreo 3	Muestreo 4	0,90

Anexo 8. Scheirer Ray Hare test

Rendimiento					
	gl	SC	MC	f	p
M	3	463	463	9,26	0,03
T	1	0,17	0,17	0,003	0,95
MxT	3	50,17	50,17	1,00	0,80
E	23	1150	50		

Anexo 9. Rendimiento promedio (expresado en mm) con su respectivo desvío estándar (DE). Muestreo inicial (M-I) común a todos los tratamientos. Muestras del 1 al 4 (M-1, M-2, M-3 y M-4).

Rendimiento		M- I	M-1	M-2	M-3	M-4
Tratamiento A	Promedio	24,3	23,0	22,5	21,2	20,7
	Desvio Estandar	4,4	0,7	1,7	2,4	1,0
Tratamiento B	Promedio	24,3	23,2	23,9	22,1	20,5
	Desvio Estandar	4,4	2,5	2,6	1,1	0,9
Tratamiento C	Promedio	24,30	23,7		26,54	34
	Desvio Estandar	4,39	4,0		4,98	4,4

Anexo 10. Dunn test

Rendimiento		
		p
Muestreo 1	Muestreo 2	0,93
Muestreo 1	Muestreo 3	0,07
Muestreo 1	Muestreo 4	0,02
Muestreo 2	Muestreo 3	0,06
Muestreo 2	Muestreo 4	0,02
Muestreo 3	Muestreo 4	0,62

Anexo 11. Scheirer Ray Hare test

Área Ovocitaria Relativa					
	gl	SC	MC	f	p
M	3	933,33	933,33	18,67	0,0003
T	1	54	54	1,08	0,30
MxT	3	41,33	41,33	0,83	0,84
E	23	1150	50		

Anexo 12. Dunn test

Área Ovocitaria Relativa		
		p
Muestreo 1	Muestreo 2	0,3272
Muestreo 1	Muestreo 3	0,002
Muestreo 1	Muestreo 4	0,0002
Muestreo 2	Muestreo 3	0,034
Muestreo 2	Muestreo 4	0,006
Muestreo 3	Muestreo 4	0,5136