

Research Article

Ciclo gonadal del chorito *Mytilus chilensis* (Bivalvia: Mytilidae) en dos localidades del sur de Chile

**Pablo A. Oyarzún¹, Jorge E. Toro¹, Roberto Jaramillo¹, Ricardo Guíñez²
Carolina Briones³ & Marcela Astorga⁴**

¹Instituto de Ciencias Marinas y Limnológicas, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile

²Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Facultad de Recursos del Mar
Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile

³Programa Doctorado en Ciencias Aplicadas, mención Sistemas Marinos Costeros
Facultad de Recursos del Mar, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile

⁴Instituto de Acuicultura & CIEN-Austral, Universidad Austral de Chile
Sede Puerto Montt, Puerto Montt, Chile

RESUMEN. Se analizó de forma cualitativa y cuantitativa el ciclo gonadal del bivalvo *Mytilus chilensis* en las localidades de Chaihuín y bahía Yal, sur de Chile, entre octubre 2007 y junio 2008. Por medio de análisis histológico gonadal se determinaron cuatro estadios gametogénicos y a su vez se estimó en forma cuantitativa, el Volumen de la Fracción Gamética (VFG), el porcentaje de tejido interfollicular y el índice gonadal. El análisis cuantitativo (VFG) fue el mejor indicador para determinar los desoves. En los ejemplares de Chaihuín se observaron dos eventos de emisión gamética en forma simultánea en ambos sexos, que ocurrieron en octubre y marzo. Sin embargo, en los ejemplares de bahía Yal se registraron cuatro desoves, principalmente de marzo a junio (otoño), cuando la temperatura del agua disminuyó. Se determinó una escasa relación entre el Índice Gonadosomático (IG) y los estadios gametogénicos, al igual que entre el IG y el porcentaje de ovocitos maduros, por ende el IG no sería un indicador apropiado para los desoves en esta especie. Se sugiere la revisión del periodo de veda de *Mytilus chilensis* (1 noviembre a 31 diciembre), ya que la mayor parte de los individuos de las poblaciones estudiadas, maduran principalmente en octubre. En ambas localidades, el porcentaje de tejido conjuntivo de los especímenes estudiados fluctuó entre 15 y 70% de cobertura gonadal. Los resultados obtenidos mostraron diferencias en los ciclos reproductivos de *Mytilus chilensis* entre las localidades analizadas, las que se podrían atribuir a diferencias ambientales (e.g. temperatura) causadas por el gradiente latitudinal.

Palabras clave: *Mytilus chilensis*, reproducción, histología, desarrollo gametogénico, desove, sur de Chile.

Gonadal cycle of the mussel *Mytilus chilensis* (Bivalvia: Mytilidae) at two localities in southern of Chile

ABSTRACT. A qualitative and quantitative analysis was carried out of the gonadal cycle of the bivalve *Mytilus chilensis* from Chaihuín and Yal bay, southern Chile, between October 2007 and June 2008. Four gametogenic stages were determined using histological analysis of the gonads, and quantitative estimates were made of the Gametic Volume Fraction (VFG), percentage of inter follicular connective tissue, and the Gonadosomatic Index (IG). The quantitative analysis (VFG) was the best indicator of spawning. Two spawning events, one in October and one in March, were observed simultaneously in both sexes of mussels from Chaihuín. However, for specimens from bahía Yal, four spawning events were registered, principally from March to June (autumn), when the water temperature decreased. The relationship between the IG and the gametogenic stages was very low, as was that between the IG and the percentage of mature oocytes. Therefore, the IG is not a good indicator of spawning in this species. A re-evaluation of the ban period established for *Mytilus chilensis* (1 November to 31 December) is suggested since most individuals from the populations studied mature mainly in October. At both sites, the percentage of connective tissue for the analyzed mussel individuals ranged between 15 and 70% of gonadal coverage. The results obtained in the present study showed differences in the reproductive cycles of *Mytilus chilensis* between the sites sampled.

These differences could be due to environmental differences (*e.g.* temperature) caused by the latitudinal gradient.

Keywords: *Mytilus chilensis*, reproduction, histology, gametogenic development, spawning, southern Chile.

Corresponding author: Jorge Toro (jtoro@uach.cl)

INTRODUCCIÓN

Los estudios reproductivos en diferentes especies sometidas a captura o cultivo proveen información respecto a la distribución y estructura poblacional, permitiendo efectuar predicciones sobre el reclutamiento, información necesaria para la obtención de semillas, establecimiento de épocas de veda y determinación de longitudes mínimas de captura (Seed, 1976; Arsenault & Himmelman, 1998). Por las razones anteriores, la información reproductiva es fundamental para el manejo de las pesquerías comerciales de bivalvos (Barber & Blake, 1991) y la maricultura (Alfaro *et al.*, 2001).

La maduración gonadal está relacionada con factores exógenos, como temperatura, ciclo lunar, profundidad, disponibilidad y calidad de alimento, intensidad lumínica y salinidad; pero también son decisivos factores endógenos propios de la especie, como nutrientes almacenados, carga genética y hormonal (Galtsoff, 1964; Sastry, 1979; Mackie, 1984; Thompson *et al.*, 1996; Avellanal *et al.*, 2002; Thorarinsdóttir & Gunnarsson, 2003). Sin embargo, diversos estudios sugieren que la temperatura y la disponibilidad de alimento serían los principales factores que regulan el ciclo gametogénico de los bivalvos marinos (Seed, 1976; Macdonald & Thompson, 1986; Malachowsky, 1988; Jaramillo *et al.*, 1993; Jaramillo & Navarro, 1995).

Mytilus chilensis (Hupé, 1854), conocido comúnmente como chorito, dayes o quilmahue, especie endémica chilena, se distribuye desde el río Tirúa (18°S) hasta el Estrecho de Magallanes (53°S) (Hernández & González, 1976; Bahamondes & Muñoz 1998), presentándose desde el intermareal bajo hasta 25 m de profundidad (Brattström & Johanssen, 1983). Es un bivalvo económicamente importante en el sur de Chile. Los desembarques de chorito se han incrementado desde 3.864 ton en 1993 a 176.021 ton en 2009 centrándose principalmente en los 40°S (SERNAPESCA, 2009).

M. chilensis es una especie gonocórica con fecundación externa y sin dimorfismo sexual. El macho se puede reconocer por presentar la gónada de color crema amarillento y la hembra por su color crema anaranjado (Bahamondes & Muñoz, 1998;

Clasing *et al.*, 1998). En el aspecto reproductivo, Winter *et al.* (1984) determinaron que esta especie tiene un ciclo gametogénico anual con desoves en primavera-verano, presentándose individuos maduros principalmente en noviembre-diciembre en el sur de Chile. De acuerdo a esta evidencia, se promulgó la veda biológica entre el 1° de noviembre y 31 de diciembre (SERNAPESCA, 1984) para evitar la extracción de individuos maduros. Sin embargo, se ha observado mitílicos maduros en época invernal (julio-agosto-septiembre) (Jaramillo & Navarro, 1995; Oyarzún *et al.*, 2010), de esta forma la presencia de individuos maduros solo durante los meses de veda (nov-dic) es discutible. Un periodo de veda incorrecto puede producir problemas en el manejo de la captación de semillas, uno de los principales problemas para el desarrollo de la mitilicultura, ya que además la captación natural varía en forma significativa anualmente (Bagnara & Maltrain, 2008). Es así que existe un conocimiento incompleto acerca de la historia de vida y reproducción de esta especie y se reconoce que la mayor información proviene de la observación empírica derivada del manejo de este mitílico en los cultivos (Garrido, 1996).

El presente estudio tiene como objetivo aportar conocimiento al ciclo reproductivo en forma cualitativa y cuantitativa mediante la obtención del ciclo gonadal, épocas de maduración-desoves y sincronía gametogénica en las poblaciones de Chaihuín y bahía Yal, localidades con el mayor desembarque de este recurso en Chile. Además, la información del ciclo gonadal podrá corroborar la veda biológica vigente desde 1984.

MATERIALES Y METODOS

Muestreos

Especímenes maduros de *Mytilus chilensis* de ambos sexos fueron recolectados aleatoriamente desde el submareal de las localidades de Chaihuín (39°57'S, 73°35'W) y bahía Yal (42°40'S, 73°38'W) en el sur de Chile (Fig. 1), en diez muestreos realizados de octubre 2007 a junio 2008. Los individuos fueron mantenidos vivos, a baja temperatura hasta su traslado al laboratorio de la Universidad Austral de Chile en Valdivia, donde fueron inmediatamente procesados y analizados.

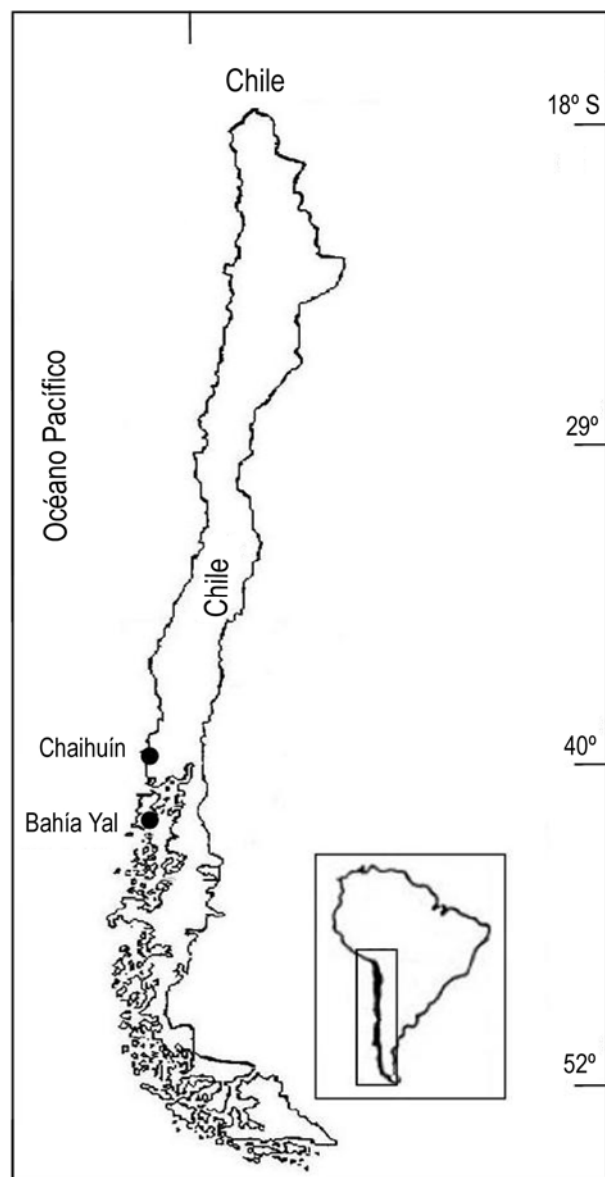


Figura 1. Localidades de muestreo de ejemplares de *Mytilus chilensis* en el sur de Chile.

Figure 1. Sampling localities of *Mytilus chilensis* specimens in southern Chile.

Se registró la temperatura (°C) de la columna de agua *in situ* en bahía Yal con un instrumento digital Oakton® DO6. Para el sector de Chaihuín los datos de temperatura se obtuvieron de los registros del Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile (SHOA, 2011).

Análisis del índice gonadal

Para estimar el índice gonadal (IG) se utilizaron entre 28 y 30 individuos por mes en cada localidad. A los ejemplares se les removió el tejido blando, se determinó el sexo, con ayuda de cortes histológicos y

se registró su peso fresco completo ($\pm 0,1$ g). Para obtener el peso húmedo de la gónada ambos lóbulos gonadales fueron disectados y pesados ($\pm 0,1$ g). El IG individual se calculó dividiendo el peso fresco gonadal por el peso fresco del tejido blando completo y se multiplicó por 100, y en vista que se conocía el sexo fue posible determinar el IG para machos (IGM) y hembras (IGH).

Proceso histológico

De cada ejemplar se extrajo un trozo de la región media de la gónada, el que fue fijado en formalina al 5%. Las muestras se deshidrataron usando una serie ascendente de alcoholes (50°, 70°, 80°, 90°, 95° y 100°), posteriormente fueron aclaradas en butanol e incluidas en parafina histológica, para finalmente ser cortadas en secciones de 7 μm de espesor, transversales al eje del lóbulo de la gónada. Las secciones fueron teñidas con hematoxilina-eosina (Humason, 1962).

Estadios gonadales

La descripción del ciclo gonadal representó la división de la gametogénesis de *M. chilensis* en diferentes estadios, en forma cualitativa. La metodología se basó en las observaciones microscópicas de los cortes histológicos (Figs. 3 y 4), utilizando los criterios y categorías descritas por Jaramillo & Navarro (1995), Toro *et al.* (2002) y Oyarzún *et al.* (2010) como referencia.

Volumen de la fracción gamética (VFG)

Considerando que la gónada de la mayoría de los mitílidos es homogénea en relación a la distribución de las células germinales durante la estación reproductiva (Lowe *et al.*, 1982; Bayne *et al.*, 1985), se determinó cuantitativamente la fracción gonadal utilizada en la reproducción (VFG), empleando estereometría (Weibel & Gomez, 1962; Weibel, 1969), que utiliza un retículo de 42 puntos. Este reticulado fue ampliado e impreso sobre una lámina de plástico transparente (Jaramillo, 2001).

Para estimar el volumen de la fracción gamética (VFG) se procedió a escoger una sección histológica representativa de cada una de las hembras muestreadas. Mediante fotografía digital, se capturó una secuencia completa de la gónada con una resolución de 10X. Las secciones histológicas fueron observadas con un microscopio binocular y para capturar las fotografías se utilizó una cámara digital. Para el análisis de las secciones gonadales se sobrepuso el retículo impreso sobre la imagen digital de la gónada en el monitor del computador,

procediendo a contar el número de ovocitos presentes en cada uno de los diferentes estados de desarrollo, además de los tejidos anexos gonádicos. El total de puntos acertados en cada categoría se dividió por 42 y se multiplicó por 100, obteniéndose así el porcentaje de cobertura para cada tipo de ovocito. Para identificar los estados ovocitarios (previtelogénicos, vitelogenéticos y maduro) y tejidos gonádicos se siguió el criterio de Oyarzún *et al.* (2010).

Análisis estadístico

Los resultados del índice gonadal (IG) y volumen de la fracción gamética (VFG) se expresaron como el promedio \pm 1 error estándar de la media (SE). La prueba de Chi-cuadrado se usó para determinar la bondad de ajuste de las proporciones sexuales con la relación esperada de 1:1. Para determinar las diferencias del IG se aplicó un análisis de varianza a una vía (ANDEVA) (Sokal & Rohlf, 1995) y un análisis *a posteriori* de Tukey ($\alpha = 0,05$) (Day & Quinn, 1989) para comparar el promedio del índice gonadal con los estadios gametogénicos.

Para poner a prueba las presunciones de normalidad de los datos se usó la prueba de Kolmogorov-Smirnov corregido por Lilliefors y para las presunciones de homogeneidad de varianzas se aplicó la prueba de Levene (Sokal & Rohlf, 1995).

La relación entre el porcentaje de ovocitos maduros y el índice gonadal se analizó usando un modelo de regresión lineal simple (Sokal & Rohlf, 1995). Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico SPSS v.15.0.1 (SPSS Ibérica, IBM Company)

RESULTADOS

Se analizó histológicamente un total de 225 ejemplares de choritos adultos, cuya longitud valvar fluctuó entre 48,41 y 78,40 mm para la población de Chaihuín y entre 53,18 y 78,02 mm para la población de bahía Yal.

La temperatura superficial de la columna de agua en la localidad de Chaihuín fluctuó entre 10,4°C (octubre) y 15,5°C (enero), mientras que en el sector de bahía Yal la temperatura fluctuó entre 10,1°C (octubre) y 15,7°C (febrero).

Proporción sexual

En la localidad de Chaihuín, las hembras excedieron en número a los machos. De un total de 291 individuos muestreados 124 fueron machos (42,6%), 163 fueron hembras (56,0%) y 4 hermafroditas (1,4%). La proporción sexual (0,76M:1H, $n = 287$) difirió significativamente ($P < 0,05$) de la proporción esperada 1:1.

En bahía Yal, de un total de 289 individuos muestreados 142 fueron machos (49,1%), 145 hembras (50,2%) y 2 hermafroditas (0,6%). La proporción sexual (0,97M:1H, $n = 287$) no difirió significativamente ($P > 0,05$) de la proporción esperada 1:1.

Índice gonadal

En Chaihuín, los valores del IGH fluctuaron entre 19,5% en febrero de 2008 y 31,7% a comienzos de octubre de 2007. Por otra parte, en bahía Yal estos valores fueron menores, desde 15,5% a comienzos de octubre de 2007 a 27,5% en marzo de 2008 (Fig. 2). En los choritos de Chaihuín y bahía Yal el índice gonadal siguió un patrón fluctuante similar en ambos sexos, sin embargo, fue posible establecer que el IGM era superior al IGH en gran parte de los muestreos.

El índice gonadal de machos (IGM) y hembras (IGH) en Chaihuín mostró caídas porcentuales en tres oportunidades durante el período muestreado: a finales de octubre de 2007, comienzos de diciembre 2008 y febrero-marzo 2008, cuando la temperatura del agua fue menor a 15°C (Fig. 2a). Para bahía Yal en noviembre 2007 y en abril 2008 se registraron dos disminuciones porcentuales importantes del IG (Fig. 2b), también cuando las temperaturas superficiales del agua fueron bajas (12° y 11°C respectivamente).

Ciclo gametogénico

En la población de choritos de Chaihuín, se observaron machos maduros durante todo el periodo muestreado, con excepción de abril 2008, mientras que la mayor frecuencia de hembras con folículos maduros se presentó a comienzos de octubre 2007 (62,5%) y en junio 2008 (33,3%) (Figs. 5a y 5b).

Las hembras en desove se observaron principalmente en primavera-verano, encontrándose los mayores porcentajes a finales de octubre (66,6%), noviembre (83,3%) y principios de diciembre 2007 (80%). Por otra parte, la emisión gamética masculina, a pesar que tuvo máximos valores en verano (2008), evidencio sincronía a finales de octubre 2007, febrero y marzo 2008 (Figs. 5a y 5b).

Gran parte de los ejemplares obtenidos de Chaihuín, mostraron hembras en desarrollo gametogénico teniendo su máxima frecuencia a finales de diciembre de 2007, enero, febrero y junio de 2008. Sin embargo, los machos presentaron este estado solo en diciembre de 2007 (Fig. 5a).

El estadio postdesove, caracterizado por la escasa presencia de células germinales (Figs. 3d y 4d) registró, en las hembras, su mayor porcentaje en abril 2008; mientras que en los machos, las mayores

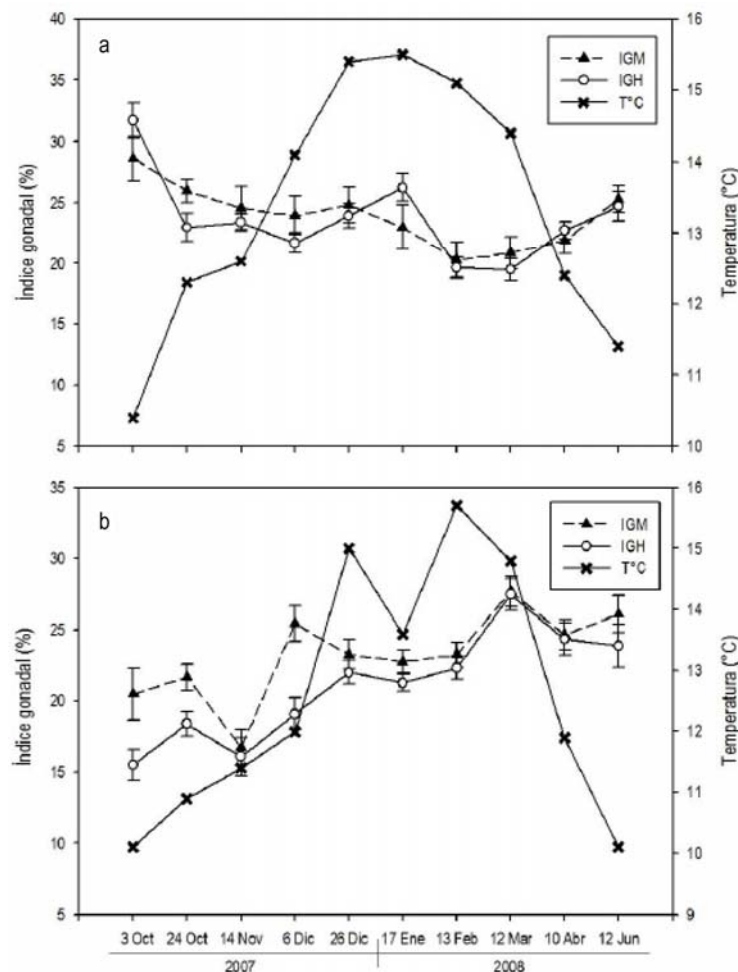


Figura 2. Índice gonadal (promedio \pm DE) para machos (IGM) y hembras (IGH) de *Mytilus chilensis* en a) Chaihuín y b) bahía Yal, de octubre 2007 a junio 2008 y temperatura ($^{\circ}$ C). DE: desviación estándar.

Figure 2. Gonadal index (average \pm SE) for males (MGI) and females (FGI) of *Mytilus chilensis* at a) Chaihuín and b) Yal bay, from October 2007 and June 2008 and water temperature ($^{\circ}$ C). SE: standard deviation.

frecuencias se detectaron a comienzos de octubre (50%) 2007 y junio (50%) 2008.

Con respecto a la población de bahía Yal, las hembras presentaron estadios maduros durante gran parte del periodo de estudio, registrándose los mayores porcentajes en octubre y diciembre 2007, y marzo 2008 (Fig. 6a). Los choritos machos de bahía Yal, solo presentaron acinos maduros en primavera-verano, destacando los mayores porcentajes en octubre y noviembre (2007).

Los choritos hembra de bahía Yal, en ovogénesis activa (estado en desarrollo), presentaron los mayores porcentajes en noviembre 2007, finales de diciembre 2007 y febrero 2008 (Fig. 6a). Mientras que los machos en el mismo estadio, presentaron mayores frecuencias a fines de diciembre 2007 (66,7%) y en febrero 2008 (60%) (Fig. 6b).

De acuerdo al análisis histológico los mayores porcentajes de ovarios y testículos en desove se registraron en enero (100%H; 87,5%M), abril (71,4%H; 80%M) y junio 2008 (50%H; 66,7%M) (Figs. 6a y 6b).

Los mitílidos hembras de bahía Yal en el estadio postdesove, se caracterizaron por presentar folículos gastados (sin ovocitos) y solo fueron observados a fines de otoño, mientras que en los machos este estadio se presentó principalmente en primavera y otoño.

Volumen de la fracción gamética

Los ovarios de los mitílidos de ambas localidades, fueron dominados por folículos con ovocitos vitelogénicos y maduros durante todo el período muestreado (Figs. 7a y 8a).

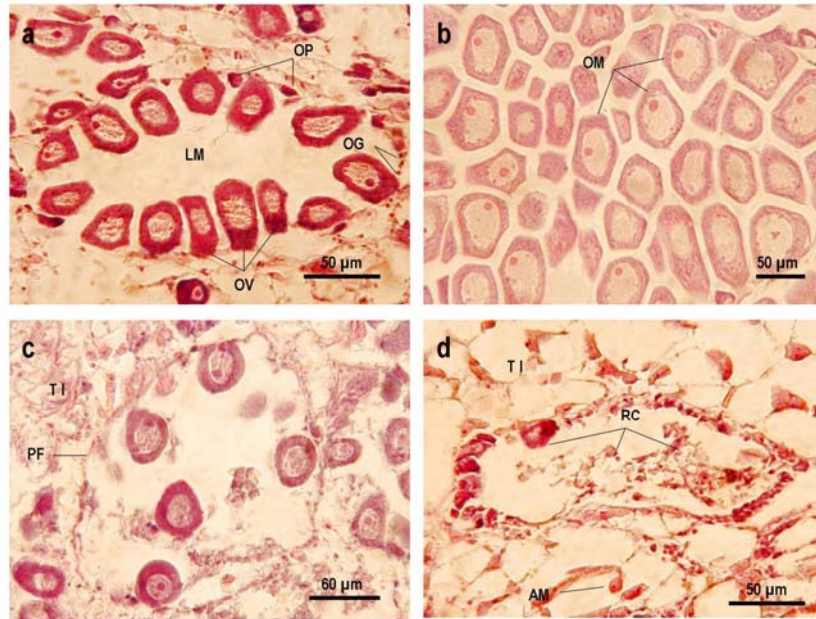


Figura 3. Microfotografías de secciones de gónadas de hembras de *Mytilus chilensis*. a) En desarrollo, b) maduro, c) desove, d) postdesove. OG: ovogonias, OP: ovocito previtelogénicos, OV: ovocito vitelogénicos, OM: ovocito maduro, LM: lumen folicular, TI: tejido interfolicular, PF: pared folicular, AM: amebocitos, RC: restos celulares, Tinción: hematoxilina-eosina.

Figure 3. Photomicrographs of sections of female's gonads of *Mytilus chilensis*. a) In development, b) mature, c) spawned, d) post spawned. OG: oogonias. OP: pre-vitellogenic oocyte. OV: vitellogenic oocyte. OM: mature oocyte. LM: follicular lumen. TI: Inter-follicular tissue. PF: follicular wall. AM: amoebocytes. RC: cellular debris. Stain: hematoxylin-eosin.

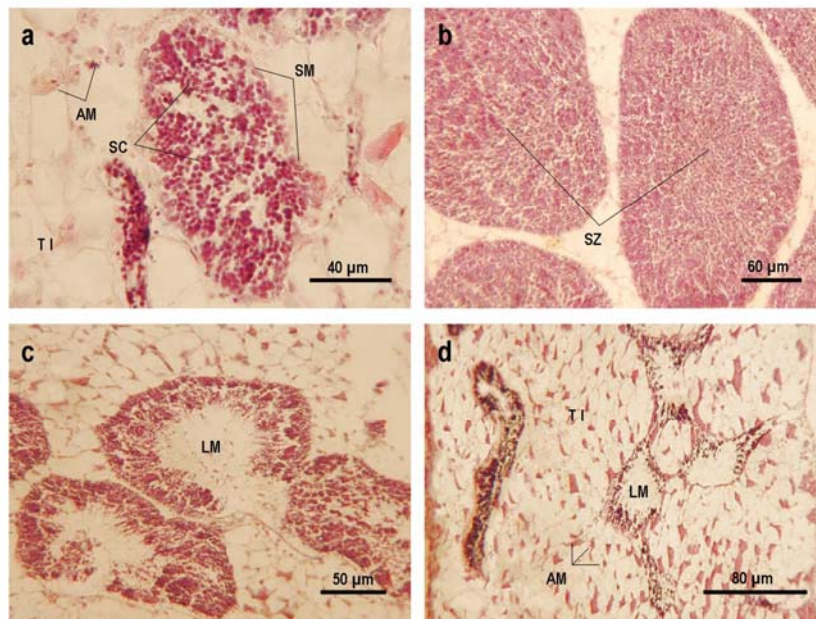


Figura 4. Microfotografías de secciones de gónadas de machos de *Mytilus chilensis*. a) En desarrollo, b) maduro, c) desove, d) postdesove, SM: espermatoгонias, SC: espermatoцитos, SZ: espermatozoides, LM: lumen folicular, TI: tejido interfolicular, AM: amebocitos, Tinción: hematoxilina-eosina.

Figure 4. Photomicrographs of males's gonads sections of *Mytilus chilensis*. a) In development, b) mature, c) spawned, d) post-spawned. SM: spermatogonia. SC: spermatocytes. SZ: spermatozoa. LM: follicular lumen. TI: inter-follicular tissue. AM: amoebocytes. Stain: hematoxylin-eosin.

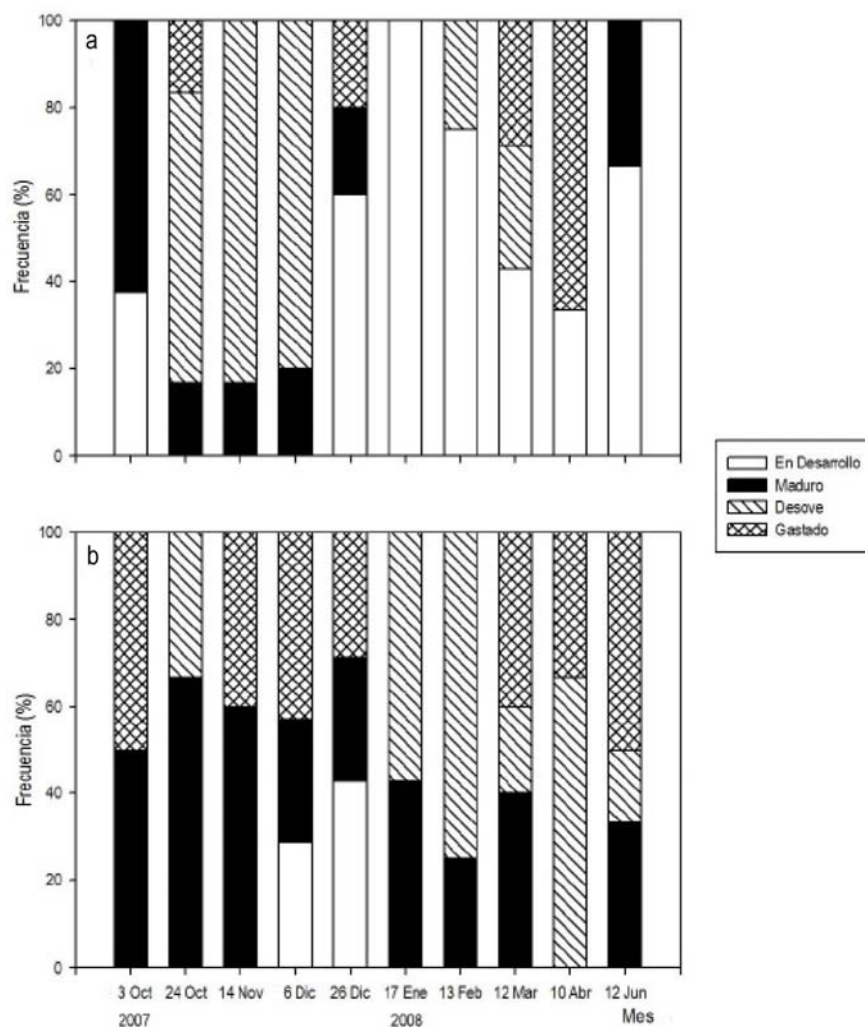


Figura 5. Frecuencia de los estados de maduración gonadal en *Mytilus chilensis*. a) Hembras, b) machos, entre octubre 2007 y mayo 2008 en Chaihuín, Chile.

Figure 5. Frequency of gonadal maturation stages of *Mytilus chilensis*. a) Females, b) males between October 2007 and May 2008 at Chaihuín, Chile.

En los chorritos de Chaihuín se observó un incremento entre octubre de 2007 y febrero de 2008 de los ovocitos previtelogénicos, con un descenso a fines de verano y otoño (marzo y mayo). En abril 2008 el porcentaje de ovocitos previtelogénicos fue superior al de ovocitos maduros y vitelogénicos, concordando con la máxima frecuencia de hembras postdesove (Fig. 7a).

La frecuencia de ovocitos vitelogénicos mostró una reducción entre octubre-diciembre 2007 y enero-abril 2008 registrándose en este último mes el menor porcentaje (5,6%). Los ovocitos maduros decrecieron paulatinamente entre octubre 2007 (26,8%) y abril 2008 (1,6%); sin embargo, durante abril-mayo (otoño) 2008 se produjo un incremento significativo de este tipo celular (Fig. 7a).

Una fuerte disminución del porcentaje de ovocitos maduros se registró entre octubre-noviembre 2007, enero y abril 2008, lo que indicaría que los desoves más importantes habrían ocurrido durante dicho periodo. Además, en estos ovarios se observó un aumento del tejido conectivo y una disminución de los ovocitos vitelogénicos y maduros (Figs. 7a y 7b).

Con respecto a la población de chorritos de bahía Yal, los ovocitos previtelogénicos presentaron valores altos en el mismo periodo que disminuyeron los ovocitos vitelogénicos y maduros (noviembre 2007, enero 2008 y junio 2008) (Fig. 8a). Por otro lado, la frecuencia de los ovocitos vitelogénicos decreció en dos ocasiones: a fines de diciembre 2007 y entre febrero-junio 2008 (Fig. 8a).

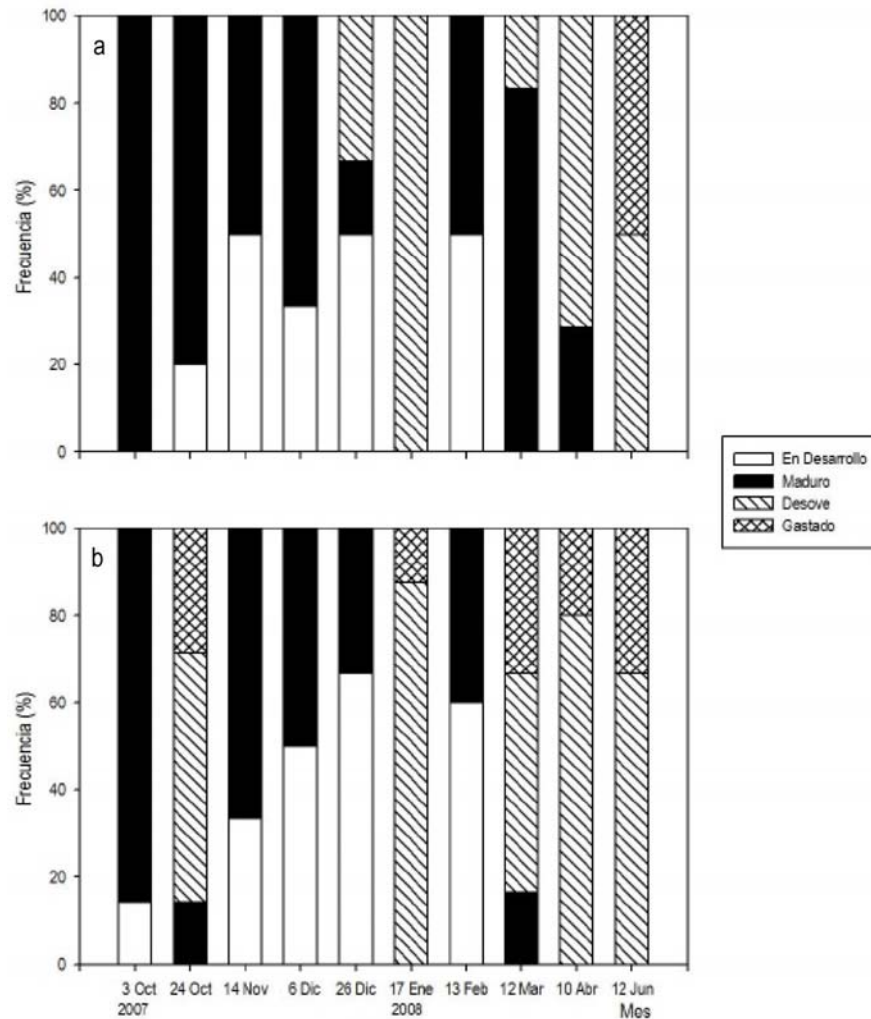


Figura 6. Frecuencia de los estados de maduración gonadal en *Mytilus chilensis*. a) Hembras, b) machos, entre octubre 2007 y junio 2008 en bahía Yal, Chile.

Figure 6. Frequency of gonad maturation stages of *Mytilus chilensis*. a) Females, b) males between October 2007 and June 2008 at Yal bay, Chile.

Las hembras con ovocitos maduros presentaron sus máximos valores a comienzos de octubre 2007 (41,0%), después, se evidenció una drástica disminución de estas células, aunque la mayor caída porcentual se registró a mediados de enero 2008 (3,6%). Luego se produjo una rápida recuperación que alcanzó un 37% en marzo 2008, culminando con una nueva baja en abril-junio 2008 alcanzando valores de hasta un 12% (otoño). De esta forma se determina un total de tres desoves.

Se observó que al incrementar el porcentaje, el tejido interfolicular disminuyó el porcentaje de ovocitos maduros (Figs. 8a y 8b). Esto se reflejó en enero 2008, cuando el tejido interfolicular alcanzó su mayor porcentaje con un 64,3% en comparación con el 3,6% que ocuparon los ovocitos maduros en el tejido gonadal (población de bahía Yal).

La categoría de “otros tejidos” (donde principalmente se encuentran ovocitos residuales y espacios libres como consecuencia de la técnica histológica) y tejido interfolicular en ambas poblaciones presentó valores menores a 38% y mayores a 15% respectivamente (Fig. 7b y 8b).

Análisis estadístico

Se relacionó el Índice Gonadal (IG) con los estadios gametogénicos a través de ANDEVA de una vía, para la población de Chaihuín y bahía Yal. En Chaihuín el estadio gametogénico maduro obtuvo el valor promedio más alto para el índice gonadal (IG), seguido de los estadios desove, postdesove y el estadio en desarrollo con el valor promedio menor (Tabla 1). Sin embargo, la comparación estadística de la media del IG entre los estadios de desove, postdesove y en

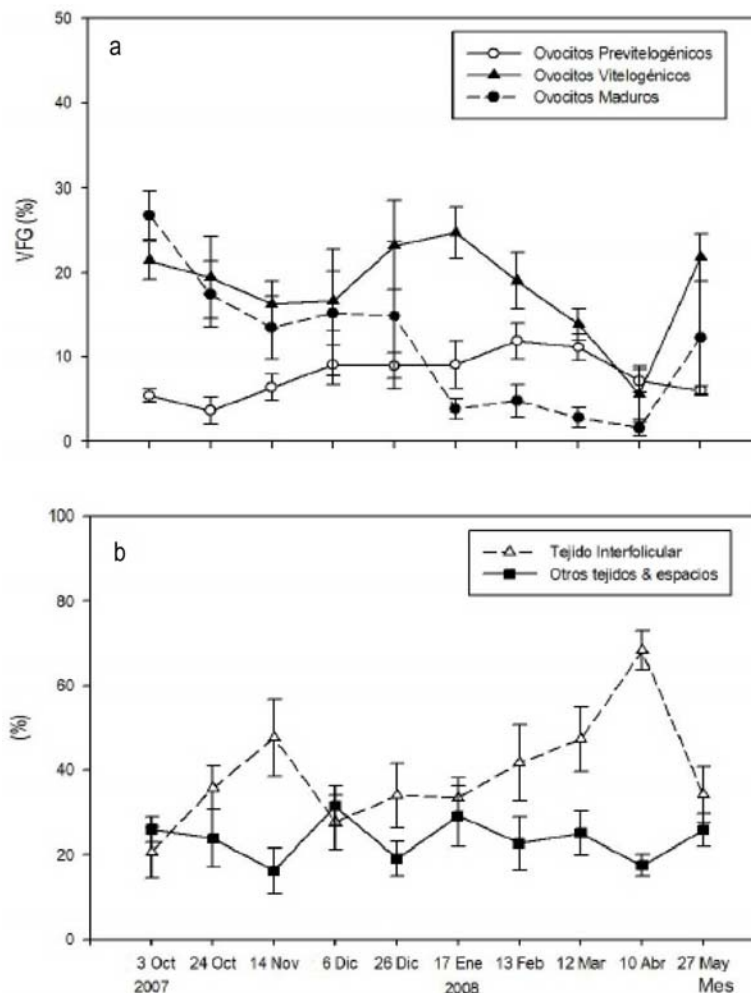


Figura 7. *Mytilus chilensis*. a) Volumen de la Fracción Gamética (VFG) para ovocitos previtelogénicos, vitelogénicos y maduros, b) el porcentaje de tejido interfoliular y otros tejidos (media \pm DE) en Chaihuín, Chile, desde octubre 2007 a mayo 2008. DE: desviación estándar.

Figure 7. *Mytilus chilensis*. a) Gametic Volume Fraction (VFG) for pre-vitellogenic oocytes, vitellogenic oocytes and mature oocytes, b) percentage of inter-follicular connective tissues and other tissue (average \pm SD) at Chaihuín, Chile, between October 2007 and May 2008. SD: standard deviation.

desarrollo, no evidenció diferencias significativas. Por otra parte, en los ejemplares de la localidad de bahía Yal, el estadio desove presentó el mayor valor de índice gonadal, seguido de los estadios postdesove y maduro, mientras que el menor valor medio lo presentó el estadio en desarrollo. La comparación estadística de la media del índice gonadal entre los estadios gametogénicos desove y postdesove no mostró diferencias significativas (Tabla 1). Lo mismo ocurrió en el caso de la comparación estadística de la media del índice gonadal entre los estadios gametogénicos maduro y en desarrollo (Tabla 1).

En Chaihuín, la correlación de Pearson ($r = 0,56$) entre las variables, porcentaje de ovocitos maduros (% OM) e índice gonadal (% IG), indicó una correlación positiva (Tabla 2). En bahía Yal el resultado de la

correlación de Pearson ($r = 0,15$) entre las variables antes descritas indicó también, una correlación positiva (Tabla 2).

DISCUSIÓN

En los ejemplares de *M. chilensis* de la localidad de Chaihuín la proporción entre sexos presentó una desviación de la proporción 1:1, existiendo un mayor número de hembras. En la literatura se describe a menudo que en poblaciones naturales de bivalvos se presenta una mayor proporción de hembras (Mackie, 1984; Kenchington *et al.*, 2002; Toro *et al.*, 2002; Yusa, 2007); sin embargo, no existe una explicación clara al respecto. Toro *et al.* (2002) observaron este

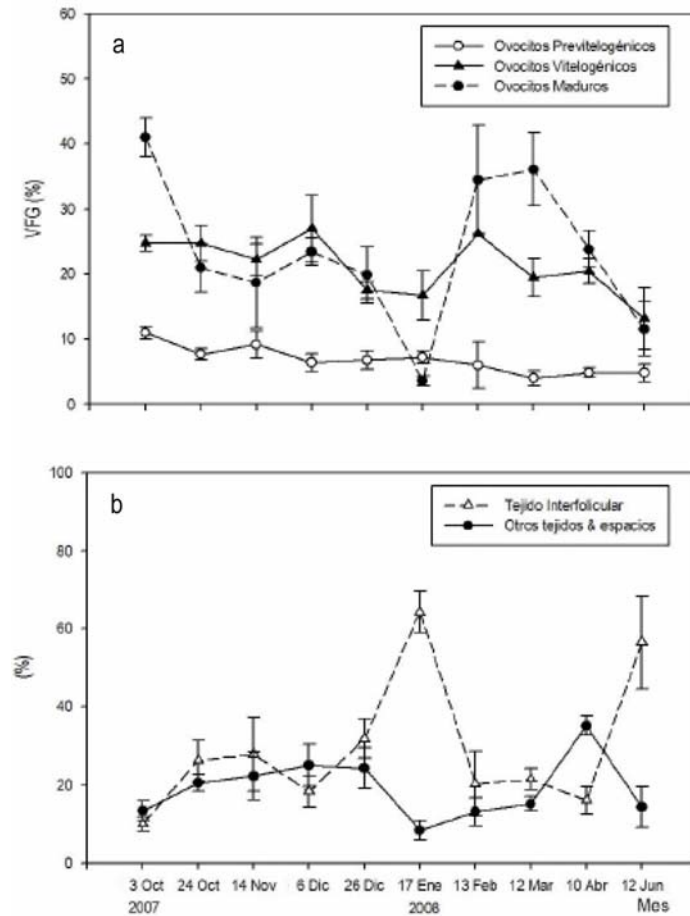


Figura 8. *Mytilus chilensis*. a) Volumen de la Fracción Gamética (VFG) para ovocitos previtelogénicos, vitelogénicos y maduros, b) el porcentaje de tejido interfolicular y otros tejidos (media \pm DE) en bahía Yal, Chile, desde octubre 2007 a junio de 2008. DE: desviación estándar.

Figure 8. *Mytilus chilensis*. a) Gametic Volume Fraction (VFG) for pre-vitellogenic oocytes, vitellogenic oocytes and mature oocytes, b) percentage of inter-follicular connective tissues and other tissues (average \pm SD) at Yal bay, Chile, between October 2007 and June 2008. SD: standard deviation.

Tabla 1. Promedio del índice gonadal (desviación estándar) de *Mytilus chilensis* para los cuatro estadios gametogénicos en las localidades estudiadas. Resumen del ANDEVA y prueba de Tukey. IG: índice gonadal.

Table 1. Mean of the gonadal index (standard deviations in parentheses) of *Mytilus chilensis* for the four gametogenics states at the localities studied. ANDEVA summary and the Tukey's test. IG: gonadal index.

Localidades	Estado gametogénico	Promedio del IG (%)	ANDEVA		Tukey
			F	P	
Chaihuín	Maduro	26,38 (5,39)	5,531	0,001	A
	Desove	22,51 (4,26)			B
	Postdesove	22,47 (5,32)			B
	En desarrollo	21,66 (5,33)			B
bahía Yal	Desove	24,17 (4,64)	5,445	0,002	A
	Postdesove	22,57 (4,84)			A
	Maduro	20,33 (4,65)			B
	En desarrollo	20,32 (5,10)			B

Tabla 2. Resultado del análisis de regresión entre el porcentaje de ovocitos maduros (% OM) y el índice gonadal (% IG) de *Mytilus chilensis* en las áreas de estudio.

Table 2. Results of the regression analyses between the percentages of mature oocytes (% OM) and the gonadal index (% IG) of *Mytilus chilensis* in the study areas.

Localidad	Ecuación de regresión	R	P
Chaihuín	% IG = 19,82 + 0,26 % OM	0,56	0,000
Yal bay	% IG = 18,96 + 0,06 % OM	0,15	0,000

fenómeno en poblaciones de *Mytilus trossulus* e híbridos (*M. trossulus* x *M. edulis*) en la costa de Newfoundland. Estos autores proponen que este fenómeno, se debería al tipo de herencia genética materna (Kenchington *et al.*, 2002), aunque no se ha descrito evidencia de cromosomas sexuales en mitílidos (Ahmed & Sparks, 1970; Zouros *et al.*, 1994). Por otra parte, en la población de bahía Yal la proporción entre sexos no presentó una desviación significativa, lo cual coincide con los resultados descritos en el trabajo de Toro *et al.* (2002) con *Mytilus edulis* del hemisferio norte.

Los resultados estadísticos e histológicos permiten concluir que el índice gonadal no es un indicador apropiado del ciclo gonadal y de desoves para *M. chilensis* (Tabla 1). El promedio del IG para cada estadio gametogénico fluctúa para ambas poblaciones. En la población Chaihuín, los mayores valores del IG representan individuos maduros, sin embargo, en bahía Yal los valores mayores corresponden a individuos en desove (Tabla 1). El IG puede ser alterado por factores tales como la cantidad de alimento ingerido previo al muestreo, período de inanición o cantidad de agua presente en las gónadas. Estos factores producen variaciones en el peso de la gónada y/o en el peso corporal obteniendo valores incorrectos que no proporcionan información fidedigna. Por lo anterior, Devlaming *et al.* (1982) propusieron la utilización del peso seco para obtener el IG y así acercarse a la realidad gametogénica. Sin embargo, para otras especies de mitílidos, la obtención del IG fresco sí puede indicar desoves (Jaramillo & Navarro, 1995; Oyarzún *et al.*, 2010). Al relacionar estadísticamente las variables ovocitos maduros e IG los resultados difieren entre una localidad y otra (Tabla 2), sugiriendo que el IG no indica la condición gametogénica del ejemplar ni tampoco eventuales desoves, sino solo variaciones del peso gonadal o corporal para esta especie.

De acuerdo a los análisis histológicos de tipo cualitativo y cuantitativo en las gónadas de *M. chilensis*, se puede inferir que la población de Chaihuín presentó dos eventos de emisión gamética en forma simultánea en ambos sexos (sincronía) (Figs. 5

y 7a). El primero de ellos se observó a fines de octubre (2007) y el segundo, entre febrero y marzo (2008) cuando la temperatura del agua fue de 12,3° y 14,4°C respectivamente (Fig. 2a). En los ejemplares de *M. chilensis* provenientes de bahía Yal se identificaron cuatro desoves simultáneos (sincronía sexual) (Figs. 6 y 8a) durante enero (alta magnitud), marzo, abril y junio de 2008, coincidente con la disminución de temperatura del agua (Fig. 2b). Los resultados de López (1975) en el estero de Castro y Winter *et al.* (1984) en Yaldad (Chiloé), indicaron presencia de desoves en primavera-verano, aunque nuestros resultados en bahía Yal (Chiloé), muestran desoves principalmente otoñales e inclusive invernales, información no registrada previamente en la literatura para esta especie. En mitílidos los desoves se relacionaron con las alzas en las concentraciones de alimento (Thorarinsdóttir & Gunnarsson, 2003) y por tener larvas planctotróficas que pueden mantenerse hasta 45 días en la columna de agua (Toro & Sastre, 1995; Toro *et al.*, 2004). Los desoves no simultáneos (asincronía) observados principalmente en hembras, en ambas localidades, se podrían atribuir a comportamientos reproductivos individuales, provocados presumiblemente por cambios en el medio, que no pueden ser asociados a la realidad reproductiva de la población.

En el periodo muestreado se encontraron diferencias en el ciclo gonadal entre ambas poblaciones (Figs. 5 y 6). Avellanal *et al.* (2002) atribuyeron estas diferencias a un efecto latitudinal, como consecuencia de diversos factores, principalmente, ambientales. Las variaciones en las corrientes de las aguas, temperatura, salinidad, fotoperíodo y oferta alimenticia son los más mencionados (Ropes, 1968; Sastry, 1979; Manzi *et al.*, 1985; Urban & Campos, 1994; Thorarinsdóttir & Gunnarsson, 2003). Otra fuente de variación en los ciclos gonadales de poblaciones de mitílidos es la composición genotípica de los individuos que componen una población (Hilbish & Zimmerman, 1988).

Los resultados obtenidos respecto a los periodos de desove permiten sugerir que se debería revisar la

disposición promulgada para el periodo de veda biológica de *M. chilensis*, ya que no se cumpliría con el objetivo de no extraer especímenes maduros, debido a que los choritos de las poblaciones estudiadas maduran antes del periodo de veda actual (Figs. 5 y 6), principalmente en octubre. Es necesario realizar más estudios reproductivos de esta especie, considerando una mayor escala espacial (latitudinal), para así tener una información más completa acerca de posibles diferencias latitudinales en los desoves y de esta forma poder realizar un replanteamiento de esta medida de manejo. Esto es importante si se considera que uno de los principales problemas de la mitilicultura es precisamente la variabilidad anual en la captación de semillas (Bagnara & Maltrain, 2008).

En base a estos resultados y a la escasa literatura científica en este tema (Jaramillo, 2001; Oyarzún *et al.*, 2010), se puede inferir que el método más apropiado para determinar el evento reproductivo de desove en *M. chilensis* es mediante la obtención del volumen de la fracción gamética, ya que permite una correcta estimación del porcentaje de ovocitos maduros.

En ambas localidades analizadas se observó que paralelo a la reducción porcentual de ovocitos maduros, se produjo un aumento de los ovocitos previtelogénicos y del tejido interfollicular o conjuntivo, alcanzando entre 15 y 70% de cobertura gonadal (Figs. 7b y 8b). Al respecto, en la literatura se describe que sustancias como glucógenos y lípidos neutros son almacenadas en células vesiculares y adipogranulares o de Leydig (Galtsoff, 1964; Bayne *et al.*, 1982; Deleon *et al.*, 1984; Gabbott & Peek, 1991), lo cual proporciona a la gónada la energía necesaria para su crecimiento en épocas de adversidad energética. Esta acción de absorción se considera una adaptación que permite contrarrestar periodos de poco alimento, para así producir la mayor cantidad de gametos de calidad (Mathieu & Lubet, 1993).

En el proceso de maduración de los gametos, se pudo observar un desfase en el desarrollo de los gametos femeninos respecto a los masculinos. Esta diferencia podría ser atribuida a que los procesos de ovogénesis y espermatogénesis tienen diferentes requerimientos energéticos, siendo la espermatogénesis un proceso menos complejo que la ovogénesis, que requiere menos tiempo y energía para la elaboración de gametos (Clark, 1978; Mackie, 1984; Schroeder, 1987). No obstante, aunque existió sincronía en el desove en ambos sexos, la liberación gamética fue más prolongada en machos, posiblemente a consecuencia de que la espermatogénesis es un proceso más rápido que la ovogénesis y con mayor grado de recuperación (Calvo *et al.*, 1998).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Instituto de Embriología de la Universidad Austral de Chile por su apoyo y asistencia en la técnica estereométrica e histológica. A Valentín Peña por su asesoría en el proceso histológico, a Marcela Riveros por su ayuda en el procesamiento de las muestras y al Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile (SHOA) por facilitar los datos de temperatura. Este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECYT 1050848, 1101007 y 1095061.

REFERENCIAS

- Ahmed, M. & A.K. Sparks. 1970. Chromosome number, structure and autosomal polymorphism in the marine mussels *Mytilus edulis* and *Mytilus californianus*. *Biol. Bull.*, 138: 1-13.
- Alfaro, A.C., A.G. Jeffs & S.H. Hooker. 2001. Reproductive behavior of the green-lipped mussel, *Perna canaliculus*, in northern New Zealand. *Bull. Mar. Sci.*, 69(3): 1095-1108.
- Arsenault, D.J. & J.H. Himmelman. 1998. Spawning of the Iceland scallop (*Chlamys islandica* Muller, 1776) in the northern gulf of St. Lawrence and its relationship to temperature and phytoplankton abundance. *Veliger*, 41: 180-185.
- Avellanal, M.H., E. Jaramillo, E. Clasing, P. Quijón & H. Contreras. 2002. Reproductive cycle of the bivalves *Ensis macha* (Molina, 1782) (Solenidae), *Tagelus dombeii* (Lamarck, 1818) (Solecurtidae), and *Mulinia edulis* (King, 1831) (Mactridae) in southern Chile. *Veliger*, 45(1): 33-44.
- Bagnara, M. & G. Maltrain. 2008. Descripción del sector mitilicultor en la región de Los Lagos, Chile: evolución y proyecciones. In: A. Lovatelli, A. Fariás & I. Uriarte (eds.). Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. FAO, Puerto Montt, pp. 20-24.
- Bahamondes, R.I. & J.E. Muñoz. 1998. Manual de cultivo de mitilidos. Tecnoimprensa Color, Valdivia, 16 pp.
- Barber, B.J. & N.J. Blake. 1991. Reproductive physiology. In: S.E. Shumway (ed.). *Scallops: biology, ecology and aquaculture*. Elsevier, Amsterdam, pp. 377-428.
- Bayne, B.L., D.A. Brown, K. Burns, D.R. Dixon, A. Ivanovici, D.R. Livingstone, D.M. Lowe, M.N. Moore, A.R. Stebbing & J. Widdows. 1985. The effects of stress and pollution on marine animals. Praeger, New York, 384 pp.

- Bayne, B.L., A. Bubel, P.A. Gabbott, D.R. Livingstone, D.M. Lowe & M.N. Moore. 1982. Glycogen utilization and gametogenesis in *Mytilus edulis*. Mar. Biol. Lett., 3: 89-105.
- Brattström, H. & A. Johanssen. 1983. Ecological and regional zoogeography of the marine benthic fauna of Chile. Sarsia, 68: 289-339.
- Calvo, J., E. Morriconi & P.M. Orlear. 1998. Estrategias reproductivas de bivalvos y equinoideos. In: E.E. Boschi (ed.). El mar argentino y sus recursos pesqueros. Offset Vega, Mar del Plata, pp. 195-231.
- Clark, W.C. 1978. Hermaphroditism as a reproductive strategy for metazoans; some correlated benefits. N.Z. J. Zool, 5: 769-780.
- Clasing, E., A. Oñate & H. Arriagada. 1998. Cultivo de choritos en Chile. Imprenta Universitaria, Valdivia, 36 pp.
- Day, R. & G. Quinn. 1989. Statistical comparisons of the treatments after analysis of variance. Ecol. Monogr., 59: 430-460.
- Deleon, R.I., A.J. Pérez & F. García. 1984. Descripción morfológica y análisis histoquímico del tejido conjuntivo del ostión *Crassostrea virginica* (Gmelin). An. Esc. Nac. Cienc. Biol. (México), 28: 183-191.
- Devlaming, V., G. Grossman & F. Chapman. 1982. On the use of the gonosomatic index. Comp. Biochem. Physiol, 73: 31-39.
- Gabbott, P.A. & K. Peek. 1991. Cellular biochemistry of the mantle tissue of the mussel *Mytilus edulis* L. Aquaculture, 94: 165-176.
- Galtsoff, P.S. 1964. The American oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. Fish. Bull., 64: 1-480.
- Garrido, O. 1996. Biología comparada de la reproducción en moluscos bivalvos *Mytilidae*. Ph.D. Thesis, Universidad Austral de Chile, Valdivia, 129 pp.
- Hernández, J.M. & L.E. González. 1976. Observaciones sobre el comportamiento de mitílidos chilenos en cultivo suspendido. I chorito (*Mytilus chilensis*), Hupe, 1854. Inv. Pesq. Chile, 22: 1-50.
- Hilbish, T.J. & K.M. Zimmerman. 1988. Genetic and nutritional control of the gametogenic cycle in *Mytilus edulis*. Mar. Biol., 98: 223-228.
- Humason, G.L. 1962. Animal tissue techniques. Freeman & Company, San Francisco, 468 pp.
- Jaramillo, J.R. 2001. The effect of a seasonal pulse of sinking phytodetritus on two benthic deposit-feeding species, *Yoldia hyperborea* and *Ctenodiscus crispatus*. Ph.D. Thesis, University of Newfoundland, Newfoundland, 116 pp.
- Jaramillo, J.R. & J.M. Navarro. 1995. Reproductive cycle of the Chilean ribbed mussel *Aulacomya ater* (Molina, 1782). J. Shellfish Res., 14(1): 165-171.
- Jaramillo, J.R., J.E. Winter, J. Valencia & A. Rivera. 1993. Gametogenic cycle of the Chiloe scallop (*Chlamys amandi*). J. Shellfish Res., 12(1): 59-64.
- Kenchington, E., B. MacDonald, L. Cao, D. Tsagkarakis & E. Zouros. 2002. Genetics of mother-dependent sex ratio in blue mussels (*Mytilus* spp.) and implications for doubly uniparental inheritance of mitochondrial DNA. Gen. Soc. Am., 161: 1579-1588.
- López, M.T., I. Rollieri, O. Aracena & E. Lozada. 1975. Captación y crecimiento de *Mytilus chilensis* en Putemún, Estero de Castro (Moll. Biv. Mytilidae). Bol. Soc. Biol. Concepción, 49: 87-97.
- Lowe, D.M., M.N. Moore & B.L. Bayne. 1982. Aspect of gametogenesis in the marine mussel *Mytilus edulis* L. J. Mar. Biol. Assoc. UK., 62: 133-145.
- Macdonald, B.A. & R. Thompson, J. 1986. Influence of temperature and food availability on the ecological energetics of the giant scallop *Placopecten magellanicus*. Mar. Biol., 93: 37-48.
- Mackie, G. 1984. Bivalves. In: A. Tompa, N. Verdonk & J. Van den Biggelaar (eds.). The Mollusca. Academic Press, New York, pp. 351-418.
- Malachowsky, M. 1988. The reproductive of the rock scallop *Hinnites giganteus* (Grey) in Humboldt Bay, California. J. Shellfish Res., 7(3): 341-348.
- Manzi, J., M. Bobo & V. Burrell. 1985. Gametogenesis in a population of the hard clam, *Mercenaria mercenaria* (Linnaeus), in North Santee Bay, South Carolina. Veliger, 28: 186-194.
- Mathieu, M. & P. Lubet. 1993. Storage tissue metabolism and reproduction in marine bivalves a brief review. Inv. Repr. Develop., 23: 123-129.
- Oyarzún, P.A., J.E. Toro, R. Jaramillo, R. Guiñez, C. Briones & M. Astorga. 2010. Análisis comparativo del ciclo gametogénico de *Perumytilus purpuratus* (Lamarck, 1819) (Bivalvia: Mytilidae), en las localidades de Taltal y Huasco, norte de Chile. Rev. Biol. Mar. Oceanogr., 45(1): 43-58.
- Ropes, J. 1968. Reproductive cycle of the surf clam *Spisula solidissima* in offshore New Jersey. Biol. Bull., 135: 349-365.
- Sastry, A.N. 1979. Pelecypoda (excluding Ostreidae). In: A.C. Giese & J.S. Pearse (eds.). Reproduction of marine invertebrates. Academic Press, New York, pp. 113-292.
- Schroeder, P.C. 1987. Endogenous control of gametogenesis. In: A.C. Giese & J.S. Pearse (eds.). Reproduction of marine invertebrates. Blackwell Scientific, California, pp. 180-251.
- Seed, R. 1976. Ecology. In: B.L. Bayne (ed.). Marine mussels their ecology and physiology. University Press, Cambridge, pp. 13-66.

- Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile (SHOA). 2011. Datos hidrográficos y oceanográficos de Chile, Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile, Valparaíso.
- Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA). 1984. Anuario estadístico de pesca, 1983. Servicio Nacional de Pesca, Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción, 47 pp.
- Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA). 2009. Anuario estadístico de pesca. <http://www.sernapesca.cl>, Valparaíso.
- Sokal, R. & F. Rohlf. 1995. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. W.H. Freeman, New York, 887 pp.
- Thompson, J.T., R.I. Newell, V.S. Kennedy & R. Mann. 1996. Reproductive processes and early development. In: V.S. Kennedy, R.I. Newel & A.F. Eble (eds.). The eastern oyster *Crassostrea virginica*. Maryland Sea Grant Book, pp. 335-370.
- Thorarinsdóttir, G.G. & K. Gunnarsson. 2003. Reproductive cycles of *Mytilus edulis* L. on the west and east coasts of Iceland. *Polar Res.*, 22(2): 217-223.
- Toro, J.E., A.C. Alcapán, A.M. Vergara & J.A. Ojeda. 2004. Heritability estimates of larval and spat shell height in the Chilean blue mussel (*Mytilus chilensis* Hupe 1854) produced under controlled laboratory conditions. *Aquacult. Res.*, 35: 56- 61.
- Toro, J.E. & H.D. Sastre. 1995. Induced triploidy in the Chilean blue mussel, *Mytilus chilensis* (Hupé, 1854), and performance of triploid larvae. *J. Shellfish Res.*, 14(1): 161-164.
- Toro, J.E., R.J. Thompson & D.J. Innes. 2002. Reproductive isolation and reproductive output in two sympatric mussel species (*Mytilus edulis*, *M. trossulus*) and their hybrids from Newfoundland. *Mar. Biol.*, 141(5): 897-909.
- Urban, H. & B. Campos. 1994. Population dynamics of the bivalves *Gari solida*, *Semele solida* and *Protothaca thaca* from a small bay in Chile at 36°S. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 115: 93-102.
- Weibel, E.R. 1969. Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. *Int. Rev. Cytol.*, 26: 235 - 302.
- Weibel, E.R. & D.N. Gomez. 1962. A principle for counting tissue structures on random section. *J. Appl. Phys.*, 1: 343.
- Winter, J.E., J.E. Toro, J.M. Navarro, G.S. Valenzuela & O.R. Chaparro. 1984. Recent developments, status and prospects of molluscan aquaculture on the Pacific coast of South America. *Aquaculture*, 39: 95-134.
- Yusa, Y. 2007. Causes of variation in sex ratio and modes of sex determination in the Mollusca-an overview. *Am. Malacol. Bull.*, 23(1): 89-98.
- Zouros, E., A.O. Ball, C. Saavedra & K.R. Freeman. 1994. An unusual type of mitochondrial DNA inheritance in the blue mussel *Mytilus*. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 91: 7463-7467.

Received: 15 November 2010; Accepted: 8 October 2011