

Efectos de la ración de alimento en el desarrollo gonadal de la almeja *Ruditapes decussatus* (L., 1758)

M. Delgado y A. Pérez Camacho

Centro Oceanográfico de A Coruña. Instituto Español de Oceanografía. Muelle de Ánimas, s/n. E-15001 A Coruña. España.
Correo electrónico: alejandro.perez@co.ieo.es

Recibido en julio de 2001. Aceptado en febrero de 2002.

RESUMEN

Se estudió la influencia de la disponibilidad del alimento sobre el desarrollo gonadal de *Ruditapes decussatus* (L., 1758), para lo que se experimentaron distintas raciones de alimento de la microalga *Isochrysis galbana* clone T-ISO: 0,1 %, 0,05 % y 0,025 %, que determinaron situaciones de balance energético positivo, cero y negativo, respectivamente. El grado de madurez sexual se evaluó estudiando dos cuantificadores no específicos: el índice de condición y la variable peso seco de la carne; y otros dos cuantificadores referidos expresamente al tejido gonadal: el índice de ocupación gonadal y el diámetro máximo de ovocitos. Con todas las raciones se alcanzó la maduración sexual, si bien la velocidad con que se produjo el desarrollo gametogénico, así como la cantidad de gónada generada, estuvieron condicionadas por la disponibilidad alimenticia.

Palabras clave: Disponibilidad de alimento, maduración sexual, tasa de ingestión, índice de condición, índice de ocupación gonadal, diámetro máximo del ovocito.

ABSTRACT

Effects of food rations on gonadal development of the clam Ruditapes decussatus (L., 1758)

Influence of food availability on gonadal development of the clam Ruditapes decussatus (L., 1758) was studied. The clams were exposed to three rations (0.1 %, 0.05 % and 0.026 % of the microalgae Isochrysis galbana clone T-ISO) which, respectively, determined situations of positive, null, and negative energetic balances. The degree of sexual maturity was assessed by studying two nonspecific measurements, the dry weight of flesh variable and the condition index parameter, and two measurements specifically referring to the gonada tissue, gonadal occupation index and oocyte maximum diameter. Individuals reached sexual maturity on all of the rations, although both the rate at which the gametogenic development occurred and the volume of gonad generated were strongly influenced by food availability.

Keywords: Food availability, sexual maturity, ingestion rate, condition index, gonadal occupation index, oocyte maximum diameter.

INTRODUCCIÓN

El ciclo reproductivo de una especie es el resultado de la interacción de ritmos endógenos y exógenos (Giese y Kanatani, 1987). Es una respuesta

genéticamente controlada a las variaciones de los factores ambientales, dentro de los que la temperatura y la disponibilidad de alimento son los que adquieren la mayor relevancia (Pérez Camacho y Román, 1987). La temperatura suele iniciar los

procesos reproductivos, además de acelerar los procesos fisiológicos en general y reproductivos en particular (Lubet, 1959), mientras que el alimento sería el responsable de la amplitud del desarrollo gonadal.

La disponibilidad de alimento determina la cantidad de energía adquirida por el animal y, en consecuencia, afecta a todas las características fisiológicas que constituyen la ecuación de balance energético (Bayne y Newell, 1983), condicionando, por tanto, el crecimiento somático y reproductivo del individuo. Dado que los periodos de intenso desarrollo gametogénico simultanean etapas de crecimiento, en las especies en las que el tejido reproductivo no está claramente diferenciado del resto de las estructuras corporales, como en los veneridos, es muy difícil concretar la distribución energética producida entre crecimiento somático y reproducción.

Por estas razones, diferentes autores han recurrido a la utilización de métodos indirectos para estimar la actividad reproductora de *Ruditapes decussatus* (L., 1758). En un intento de separar el crecimiento somático del gonadal, se ha recurrido a analizar la evolución de la materia orgánica y del peso seco de los tejidos blandos del animal (Pérez Camacho, 1980; Beninger, 1982; Arnaiz y Pereira, 1984). Sin embargo, la gran mayoría de los estudios sobre reproducción en bivalvos utilizan como estimador el índice de condición, por la mayor facilidad de cálculo (Lucas y Beninger, 1985).

No obstante, estos métodos deben completarse con estudios histológicos para confirmar que dichas variaciones en el peso o en el índice de condición responden a procesos reproductivos y no a la acumulación o consumo de reservas. En general, se ha venido utilizando escalas histológicas cualitativas en las que el proceso reproductivo se divide en fases concatenadas (Holland y Chew, 1974; Gallois, 1977; Devauchelle, 1990). Otros procedimientos de evaluación del grado de madurez, basados en la observación histológica y, seguramente, más exactos, son los métodos relacionados con la aplicación del análisis esteorológico y el estudio de la distribución de frecuencias de tallas de ovocitos, que permiten la realización de análisis comparativos, tanto interespecífica como intraespecíficamente, con mayor nivel de precisión (Navarro, Iglesias y Larrañaga, 1989; Xie y Burnell, 1994; Laurelle, Guillou y Paulet, 1994; Rodríguez Moscoso, 2000).

En este trabajo se estudian los efectos que la cantidad de alimento disponible ejerce sobre el desarrollo gonadal de individuos adultos de *Ruditapes decussatus*, con especial referencia a situaciones de estrés alimenticio en las que la ración de alimento ofrecida fuese igual o inferior a la ración de mantenimiento. Para ello se estudiaron dos cuantificadores no específicos: la variable peso seco de la carne y el índice de condición; y otros dos referidos expresamente al tejido gonadal: el índice de ocupación gonadal y el diámetro máximo de los ovocitos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño y condiciones experimentales

Para la realización de esta experiencia se contó con almejas de $36 \pm 0,19$ mm de longitud y $9,97 \pm 1,53$ g de peso vivo. Se dispuso de un circuito abierto de acondicionamiento con entrada de agua de mar a 1 m, a temperatura constante (18°C), y salinidad 33, al que se conectó, mediante una bomba peristáltica, la entrada de alimento: la microalga *Isochrysis galbana* clone T-ISO. Las raciones de alimento ensayadas, referidas como peso orgánico del alimento respecto al peso vivo del individuo, fueron R2 (0,1 %), R1 (0,05 %) y, pasados 25 días del inicio, se incorporó una nueva ración inferior a las anteriores, R0 (0,025 %).

El flujo inicial de entrada a las bandejas experimentales de 12 l de capacidad fue de 15 l/h y la concentración de entrada de 70 células/l. Estas variables se reajustaron a lo largo de la experiencia, a medida que se retiraban ejemplares en los muestreos, con el fin de mantener constante la ración ofrecida. El número de individuos por bandeja al comenzar el experimento fue de 50 para la ración R2, 100 para R1 y 140 para R0. El periodo total de acondicionamiento fue de 70 días. Cada 20 días se realizó un muestreo en el que se tomaron 10 individuos para la obtención del peso seco y el índice de condición, y otros 10 para el estudio histológico.

Tasa de ingestión

Se realizó un control diario de la tasa de ingestión, que se determinó según la expresión de Hildreth y Crisp (1976): $TI = (Ce - Cs) F$, donde el flujo F se midió en ml/h y la concentración de entrada (Ce) y de

salida (Cs) de fitoplancton en las bandejas se midió en células por mililitro. La tasa de ingestión específica está referida al peso seco de la carne.

Peso seco de la carne e índice de condición

El peso seco de la carne Ps se obtuvo por liofilización, y el peso seco de las valvas Psv se determinó tras secado en estufa a 100 °C. El índice de condición se elaboró siguiendo la expresión de Walne (1976): $IC = Ps/Psv$.

Histología y análisis de imagen

Se aplicó un protocolo convencional de histología. Los tejidos fueron fijados en líquido de Bouin e incluidos en parafina, y los cortes realizados a 4 m de espesor. La tinción empleada fue hematoxilina de Harris-eosina (Bancroft y Stevens, 1996). De cada individuo se escogieron al azar nueve campos de visión de la gónada. El procesamiento y posterior análisis de imagen se llevó a cabo con el programa MicroImage® (Olympus).

Dado que la maduración sexual en venéridos se caracteriza por el aumento del tamaño de los folículos gonadales y su progresiva ocupación por gametos maduros, que se diferencian y desprenden de las paredes foliculares, nos hemos centrado en contabilizar el área de la gónada que ocuparon los ovocitos, en el caso de las hembras, y el área ocupada por los gametos masculinos, en el caso de los machos, quedando definido el índice de ocupación gonadal como

$$100 \frac{\text{área ocupada por gametos}}{\text{área del campo analizado}}$$

En las hembras, además, la maduración del ovocito contempla un considerable aumento en talla a medida que transcurre el periodo reproductivo, por lo que se midió el diámetro máximo de estos gametos y se estableció una distribución de frecuencias de tallas de ovocitos, considerándose ovocitos en fase final de vitelogenénesis, o maduros, aquéllos con diámetro celular superior a 50 μm (Vilela, 1950).

Métodos estadísticos

Las comparaciones entre las distintas condiciones alimenticias, tanto en peso seco de la carne, en

índice de condición, índice de ocupación gonadal y porcentaje de ovocitos maduros, se realizaron aplicando el análisis de la varianza (Anova) para un nivel de significación del 95 % y por comparación de pendientes de líneas de regresión. La homogeneidad de las varianzas se comprobó mediante el test de Cochran. Cuando existió una relación directa entre la media y la desviación típica, los datos fueron transformados logarítmicamente para así garantizar la homogeneidad de las varianzas. En el caso de datos porcentuales se modificaron éstos mediante transformación angular (arcoseno de sus raíces cuadradas positivas). Las comparaciones múltiples entre condiciones de ensayo se realizaron con el test de rango múltiple, por el método de las menores diferencias significativas (LSD). Para la realización de todos estos análisis se utilizó el paquete estadístico Statgraphics plus 3.0 y se emplearon los textos estadísticos de Snedecor y Cochran (1980) y Zar (1974).

RESULTADOS

Tasa de ingestión específica (Tie)

La tasa de ingestión específica (Tie), directamente proporcional a la ración ofrecida, presenta una clara diferencia entre tratamientos al inicio del experimento (figura 1). A partir de este momento se observa un paulatino descenso de esta variable en las raciones más altas (R1, R2) y un ligero incremento en la más baja (R0), que hacen que, al final del periodo de acondicionamiento, las diferencias en las Tie entre la ración más baja y las más altas se hayan reducido en más de un 60 %. No obstante, tanto al final como al inicio de la experiencia, las diferencias entre todos ellos resultan estadísticamente significativas (Anova, $p < 0,05$; test LSD de rango múltiple para el 95 % de nivel de confianza).

Peso seco de la carne (Ps) e índice de condición (IC)

Cada una de las raciones experimentadas se corresponde con una situación de balance energético diferente. Así, la ración R2, con un aumento de Ps del 18,6 % respecto al dato inicial transcurridos 41 días de acondicionamiento, se corresponde con

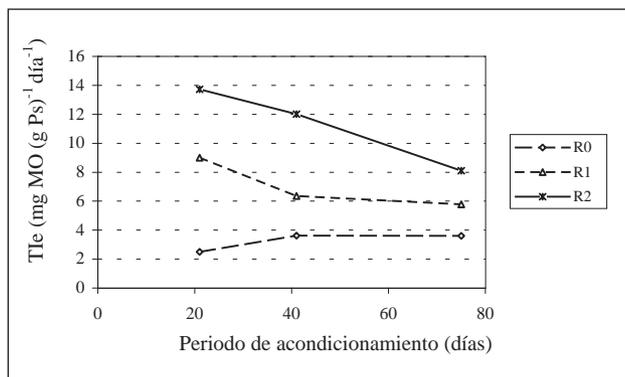


Figura 1. Evolución de la tasa de ingestión específica diaria (Tie) a lo largo del acondicionamiento con cada una de las raciones ofrecidas (R0, R1 y R2) expresada como 10^3 (mg MO g Ps⁻¹ día⁻¹).

una situación de balance energético positivo. La ración R1, con un incremento de Ps casi nulo, se correspondería, aproximadamente, con una situación de balance energético cero. Por último, la ración R0 representa un balance energético negativo, con un descenso de Ps del 19,51 % respecto al peso inicial (tabla I). Las diferencias entre las raciones R1 y R2 resultan estadísticamente significativas a partir del tercer muestreo y hasta el final de la experiencia (Anova; $p < 0,05$).

La evolución de IC sigue pautas muy parecidas al peso seco de la carne (tabla I). La ración más alta (R2) es responsable de los niveles más elevados de esta variable (IC = 0,113), mientras que con la ración R1 se mantiene constante a lo largo de todo el periodo experimental. De hecho, las diferencias entre estas raciones resultan ser estadísticamente significativas a partir del tercer muestreo y hasta el final del ensayo (Anova; $p < 0,02$). Por otro lado, las almejas pertenecientes a la ración R0 experimentan un descenso paulatino del IC desde el comienzo del acondicionamiento hasta el final de este.

Como se aprecia en la figura 2, los individuos pertenecientes a la condición de ensayo R2 incrementan su IC en más del 20 % al final de la expe-

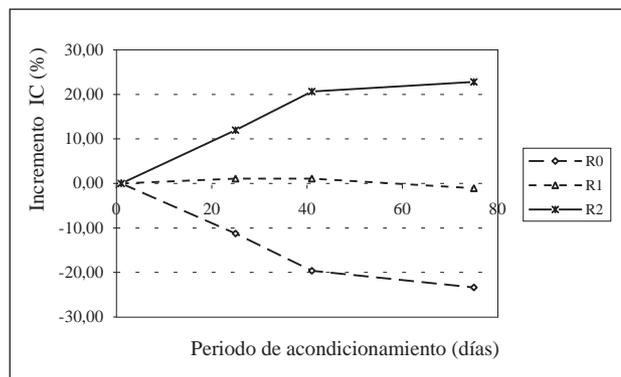


Figura 2. Incrementos porcentuales respecto al dato inicial del índice de condición (IC) para cada una de las raciones ofrecidas durante el acondicionamiento (R0, R1 y R2).

riencia. Justo el caso contrario que R0, en que las pérdidas alcanzan hasta un 22 %. Dado que la experiencia de acondicionamiento con la ración R0 se inició pasados 25 días del comienzo con R1 y R2, el estudio de las diferencias entre las tres raciones se ha abordado mediante la comparación de las pendientes de las rectas de regresión del IC a lo largo del tiempo. De acuerdo con este análisis, estas diferencias resultan estadísticamente significativas entre los tres tratamientos (comparación de pendientes de rectas: R0-R1, $p < 0,05$; R0-R2, $p < 0,05$; R1-R2, $p < 0,01$).

Seguimiento histológico

a) Hembras

Índice de ocupación gonadal (IOG)

En todos los tratamientos el valor del IOG aumenta conforme avanza el periodo de acondicionamiento, reflejando el desarrollo gonadal que experimentan los individuos (figura 3). En las almejas para las que la ración de alimento determinó una si-

Tabla I. Evolución del peso seco de la carne (Ps) (mg indiv⁻¹) y del índice de condición (IC) con los tres tratamientos experimentales (R2, R1 y R0) durante el periodo de acondicionamiento.

Ración	Estimador	Inicio	25 días	41 días	70 días
R2	Ps (mg indiv ⁻¹)	466,72 ± 85,85	496,22 ± 111,72	574,76 ± 129,29	553,51 ± 72,59
	IC	0,092 ± 0,015	0,103 ± 0,007	0,111 ± 0,016	0,113 ± 0,013
R1	Ps (mg indiv ⁻¹)	466,72 ± 85,85	467,33 ± 53,26	477,53 ± 77,31	482,82 ± 46,27
	IC	0,092 ± 0,015	0,093 ± 0,007	0,093 ± 0,014	0,091 ± 0,009
R0	Ps (mg indiv ⁻¹)	564,23 ± 71,59	516,87 ± 65,22	426,54 ± 53,69	454,16 ± 66,26
	IC	0,121 ± 0,011	0,107 ± 0,016	0,097 ± 0,009	0,093 ± 0,016

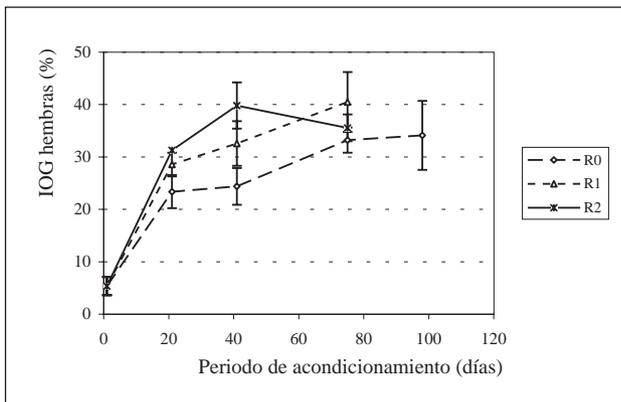


Figura 3. Evolución del índice de ocupación gonadal (IOG) (%) en hembras para todas las raciones ensayadas (R0, R1 y R2). Promedio y desviación estándar.

tuación de balance energético positivo (R2), el IOG alcanza su máximo valor (39,81 %) pasados 41 días del inicio. Este valor, además, se corresponde con individuos en fase final de desarrollo o plena madurez sexual desde el punto de vista histológico. Los individuos pertenecientes a la ración R1, ración de mantenimiento, alcanzan, al parecer, ese mismo punto al final de la experiencia. En el caso de R0, de balance claramente negativo, no se consiguen esas cotas, si bien las altas desviaciones que presentan los datos en el último muestreo, indican la coexistencia de individuos inmaduros junto a otros totalmente maduros. De hecho, no existen diferencias entre los puntos máximos del IOG alcanzados por cada una de las raciones (Anova; $p > 0,05$). Por lo que se puede decir que se alcanza el mismo grado de ocupación con todos los tratamientos.

Teniendo en cuenta la posibilidad de emisiones de carácter parcial a partir del día 41 (a la vista del descenso observado en el tramo final para la ración R2), se realizó el análisis comparativo del grado de madurez entre las distintas raciones hasta esa fecha. Se relacionó logarítmicamente el IOG con el tiempo para cada ración. La comparación de las pendientes de las rectas muestra diferencias entre todas debidas al tratamiento (tabla II).

Evolución del porcentaje de ovocitos maduros

No se advierte la presencia de ovocitos maduros o con diámetro máximo superior a las 50 μm en el inicio de la experiencia, si bien, esta clase de talla se va incrementando a medida que transcurre el acondicionamiento hasta alcanzar cotas que representan casi el 40 % de los ovocitos presentes en la gónada.

Tabla II. Parámetros del análisis de regresión entre el índice de ocupación gonadal (IOG) (y, en porcentaje) y el tiempo (x, en días) según la relación logarítmica $y = a + b \ln x$. (r^2): coeficiente de determinación; (p): nivel de significación; (n): número de datos.

Ración	a	b	r^2	p	n
R2	5,69	31,59	0,97	0,0000	9
R1	6,78	26,26	0,91	0,0000	13
R0	6,45	18,63	0,85	0,0001	10

Comparación entre pendientes de rectas	Nivel de significación p (Anova)
R2-R1	0,0500
R2-R0	0,0001
R1-R0	0,0010

Esta variable se incrementa con posterioridad para la ración más baja (R0) (figura 4). Coincidiendo con el final de la experiencia, y en concordancia con la evolución del IOG (figura 3), el descenso sufrido en la ración R2 se relaciona con posibles puestas parciales. Por esta razón se relacionó linealmente la proporción de ovocitos maduros con el tiempo hasta el día 41 de experimentación (tabla III). El análisis comparativo entre las pendientes de dichas rectas indica diferencias entre la ración más baja y las más altas (Anova; $p < 0,05$), mientras que las raciones R1 y R2 presentan pendientes semejantes (Anova; $p > 0,05$). Parece claro, pues, que la tasa de producción de gametos maduros es menor en el caso de la condición alimenticia más pobre.

b) Machos

En los machos, el IOG, partiendo del 18 %, se incrementa a medida que transcurre la experiencia,

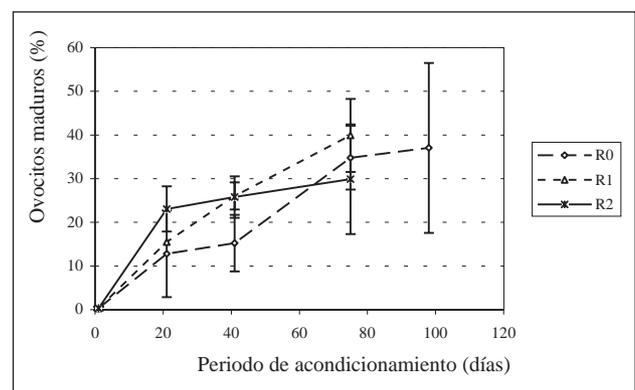


Figura 4. Evolución del porcentaje de ovocitos con diámetro máximo superior a las 50 μm para todas las raciones ensayadas (R0, R1 y R2). Promedio y desviación estándar.

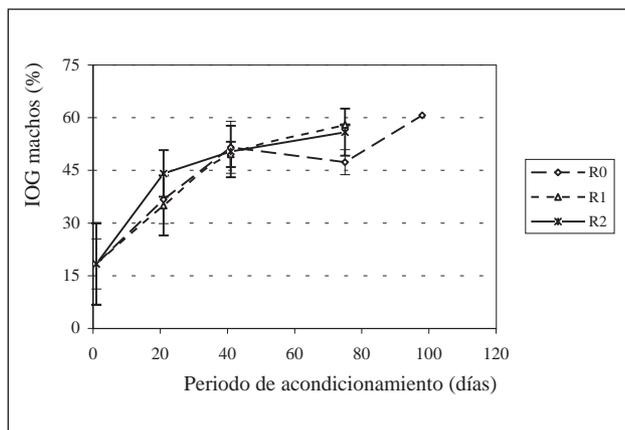


Figura 5. Evolución del índice de ocupación gonadal (IOG) en machos para todas las raciones ensayadas (R0, R1 y R2). Promedio y desviación estándar.

Tabla III. Parámetros del análisis de regresión entre la proporción de ovocitos maduros (y, en porcentaje) y el tiempo (x, en días), según la relación lineal $y = a + bx$. (r^2): coeficiente de determinación; (p): nivel de significación; (n): número de datos.

Ración	a	b	r^2	p	n
R2	11,33	12,74	0,92	0,0001	9
R1	11,66	12,87	0,87	0,0000	13
R0	7,14	7,47	0,73	0,0320	9

y en paralelo al desarrollo de la gónada, hasta alcanzar cotas de aproximadamente el 60 % de ocupación para todas las raciones. Las diferencias entre raciones no resultan significativas en cuanto a sus valores máximos (Anova; $p > 0,05$). El descenso registrado el día 70 en la ración R0, lo atribuimos a la aparición de ciertos individuos aun inmaduros, lo que, además, eleva el grado de variabilidad. La comparación de pendientes entre pares de rectas que relacionan el IOG con el tiempo para cada una de las raciones, no muestra la existencia de diferencias entre ellas (Anova; $p > 0,05$) (tabla IV).

Tabla IV. Parámetros del análisis de regresión entre el índice de ocupación gonadal (IOG) (y, en porcentaje) y el tiempo (x, en días), según la relación logarítmica $y = a + b \ln x$. (r^2): coeficiente de determinación; (p): nivel de significación; (n): número de datos.

Ración	a	b	r^2	p	n
R2	13,24	13,35	0,66	0,0001	16
R1	9,38	13,25	0,80	0,0004	10
R0	8,41	14,32	0,78	0,0001	13

DISCUSIÓN

En esta experiencia de acondicionamiento se pone de manifiesto una clara diferencia inicial entre las TIE, en relación directa con la cantidad de alimento, que se prolonga durante un tiempo considerable, de al menos 20 días. Luego, estas diferencias disminuyen paulatinamente hasta llegar al término de la experiencia. Este fenómeno, dada la larga duración de estos experimentos de acondicionamiento, inusual en estudios de fisiología energética, y las diferentes situaciones de desarrollo gonadal que tienen lugar en el mismo, puede estar relacionado directamente con el desarrollo gonadal. En este sentido, Soletchnik *et al.* (1997) en *Crassostrea gigas*, y Newell y Thompson (1984) en *Mytilus edulis* Lamarck, 1819, asocian descensos en las tasas de filtración al estado de madurez avanzada y al periodo invernal de puesta, respectivamente.

La reducción de la tasa de ingestión, paralela a la constancia o incremento del IC y al desarrollo gonadal en el caso de las raciones más elevadas (R1 y R2, respectivamente), y el aumento de la misma en la ración más baja (R0), permiten avanzar la hipótesis de que el inicio del desarrollo gonadal, puesto en marcha en este caso por el aumento de temperatura, aumenta los requerimientos nutricionales de las almejas y, consecuentemente, su tasa de ingestión de alimento. Una vez que la gónada ha alcanzado un importante grado de desarrollo, estos requerimientos disminuyen y la tasa de ingestión desciende paulatinamente.

En esta experiencia, la ración R2 es responsable de un balance energético positivo, ya que es la única que consigue un incremento del Ps y del IC. Según la descripción de Bayne y Newell (1983), se trata de una situación en la que el valor de la ración absorbida supera el coste energético que supone la tasa metabólica y la excreción, con la producción somática y de tejido reproductivo como consecuencia inmediata, como se comprueba en los resultados histológicos. La ración R1 implica un comportamiento próximo a la ración de mantenimiento, ya que tanto Ps como IC se mantienen constantes. Y por último, la ración R0, la más baja de las ensayadas, quedaría encuadrada dentro de la definición de situación de balance energético negativo, ya que el aporte energético no llega a cubrir los costes de mantenimiento.

Los resultados histológicos muestran que con todas las condiciones experimentales se alcanza la

madurez sexual. El índice de ocupación gonadal y el porcentaje de ovocitos maduros presentes en la gónada, evolucionan paralelamente al desarrollo gonadal de *R. decussatus*, convirtiéndolos en buenos indicadores del grado de maduración de la gónada. De todos modos, si bien no se evidencian diferencias atribuibles a los distintos tratamientos en cuanto al nivel de desarrollo gametogénico alcanzado, la velocidad con la que transcurre el proceso reproductivo sí que depende de la cantidad de alimento ingerido, siempre que la temperatura permita el desarrollo gonadal. En este mismo sentido diversos autores detectan un desarrollo gametogénico más rápido en condiciones óptimas de alimentación (Buchanan *et al.*, 1998; Kent *et al.*, 1998). Sin embargo, Bayne (1975) asigna un papel acelerador del desarrollo gametogénico a las condiciones de inanición impuestas a *Mytilus edulis*.

A la vista, pues, de estos resultados y teniendo en cuenta la evolución del IC y del Ps en los casos de R1 y R0, este desarrollo gonadal se debe producir gracias a un proceso de traslación energética desde unos compartimentos corporales hacia la gónada, o bien gracias a la existencia de una ruta preferencial de la energía ingerida hacia la gónada en detrimento de otros destinos tisulares. En el caso de R1 no debe producirse un desequilibrio energético que conduzca a la pérdida peso, mientras que en R0 la utilización de reservas energéticas corporales para el mantenimiento de las funciones fisiológicas básicas y las necesidades derivadas de la gametogénesis, resultan ser deficientes para el organismo. Así pues, la estrecha relación entre los incrementos en el IC y el desarrollo gonadal, citada en multitud de estudios sobre *R. decussatus* en el medio natural (Pérez-Camacho, 1980; Arnaíz y Pereira, 1984; Rodríguez Moscoso, 2000), ha sido constatada en este estudio sólo bajo condiciones nutricionales favorables y que han implicado un balance energético positivo (R2). Mientras que las caídas experimentadas en el IC no han reflejado necesariamente la emisión de gametos ni la involución en el desarrollo del tejido gonadal, como interpretan estos mismos autores, sino que pueden ser indicativas de pérdidas de tejido de reserva (no reproductivo) como consecuencia de un régimen alimenticio deficiente.

Como ya se ha mencionado, la cantidad de alimento influye en la consecución de los distintos valores de Ps e IC. Teniendo en cuenta que la maduración de la gónada se alcanza con todas las

raciones, ambos cuantificadores se convierten en indicativos indirectos de la cantidad de gónada generada. Diversos autores sugieren, del mismo modo, una correlación entre el grosor de gónada y la abundancia de alimento en el medio (Loosanoff, 1965; Sastry, 1968; Rheault y Rice, 1996)

Según Bayne (1975) y Bayne *et al.* (1978), mientras los gametos no sean fisiológicamente maduros, la gametogénesis continúa bajo los efectos del estrés nutritivo y térmico en *M. edulis*, si bien ésta concluye con la reabsorción de espermatozoides y ovocitos y, consecuentemente, con la recesión gonadal. En el presente caso, sin embargo, la reabsorción de gametos no adquiere una relevancia importante, y bajo todos los tratamientos, al final de la experiencia, se encuentra una elevada proporción de gametos maduros e indicios claros de alguna emisión de carácter parcial. Las diferencias existentes entre los ciclos biológicos y las características anatómicas de la gónada de cada una de las especies *R. decussatus* y *M. edulis*, así como la metodología empleada en cada uno de los trabajos, podrían explicar, en parte, las desigualdades observadas y derivadas de la aplicación de condiciones nutricionales deficitarias entre los estudios de estos autores y el presente.

AGRADECIMIENTOS

Al personal técnico del departamento de cultivos por la asistencia prestada. Este estudio ha sido realizado gracias a la financiación aportada por el proyecto Determinación das condicións óptimas para a maduración sexual da ameixa fina (*Ruditapes decussatus*) (PGIDT 99MAR60401) de la Xunta de Galicia, así como por las becas otorgadas a Marina Delgado por el Instituto Español de Oceanografía (1998-1999) y por el Consello Regulador do Mexillón de Galicia (2000-2001). Al Dr. Oscar García y al Dr. Joaquín Espinosa por haber puesto a disposición de este grupo de investigación los medios e infraestructura del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y del Departamento de Fisiología, respectivamente, de la Universidad de Santiago.

BIBLIOGRAFÍA

Arnaíz, R. y J. R. Pereira. 1984. Estudio de crecimiento, índice de condición y composición bioquímica de una población de *Venerupis decussata* (L.), procedente de la costa

- tunecina y sembrada en la isla de Arousa. En: *Actas do IV simposio ibérico de estudos do benthos marino* (21-25 de mayo, 1984. Lisboa, Portugal.). V. Monteiro (ed.) 2: 257-266.
- Bancroft, J. D. y A. Stevens. 1996. *Theory and Practice of histological techniques*. Churchill Livingstone. Nueva York: 765 pp.
- Bayne, B. 1975. Reproduction in bivalve molluscs under environmental stress. En: *Physiological ecology of estuarine organism*. F. J. Verberg (ed.): 259-277. University of South Carolina Press. Columbia (Carolina del Sur), EE UU.
- Bayne, B. L. D. L. Holland, M. N. Moore, D. M. Lowe y J. Widdows. 1978. Further studies on the effects of stress in the adult on the eggs of *Mytilus edulis*. *J. Mar. Biol. Ass. (UK)* 58: 825-841.
- Bayne, B. y R. C. Newell. 1983. Physiological energetics of marine molluscs. En: *The Mollusca*. K. M. Wilbur y A. S. M. Saleuddin (eds.) 4: 407- 499. Academic Press. Nueva York.
- Beninger, P. G. 1982. *Étude biochimique comparée de deux populations de bivalves*. Tesis doctoral. Departamento de Biología, Universidad de Bretaña Occidental: 193 pp.
- Buchanan, J. T., G. S. Roppolo, J. E. Supan y T. R. Tiersch. 1998. Conditioning of eastern oysters in a closed, recirculating system. *J. Shellfish Res.* 17 (4): 1183-1189.
- Devauchelle, N. 1990. Sexual development and maturity of *Tapes philippinarum*. En: *Tapes philippinarum. Biologia e sperimentazione*. (Ente Sviluppo Agricolo Veneto) 3: 47-62. Verona, Italia.
- Gallois, D. 1977. Sur la reproduction des palourdes, *Venerupis decussata* (Linné) et des clovisses, *Venerupis aurea* (Gmelin) de l'étang de Thau (Herauld). *Vie et Milieu* 28 (2A): 233-254.
- Giese, A. y H. Kanatani 1987. Maturation and spawning. En: *Reproduction of marine invertebrates*. A. C. Gise, J. S. Pearse y V. B. Pearse (eds.) 9 (4): 251-330. Blackwell-Boxwood. Boston, EE UU.
- Hildreth, D. I. y R. C. Crisp. 1976. A corrected formula for calculation of filtration rate of bivalve molluscs in an experimental flowing system. *J. mar. Biol. Ass. (UK)* 56: 111-120.
- Holland, D. A. y K. K. Chew. 1974. Reproductive cycle of the Manila clam (*Venerupis japonica*) from Hood Canal, Washington. En: *Proceedings of the National Shellfisheries Association*: 53-58.
- Kent, G., G. B. Maguire, J. Martin, M. Crop y K. Frankish. 1998. Broodstock conditioning, spawning induction, and larval rearing of the stepped venerid, *Kateleyisia scalarina* (Lamarck, 1818). *J. Shellfish Res.* 17 (4): 1065-1070.
- Laruelle, F., J. Guillou e Y. M. Paulet. 1994. Reproductive pattern of the clams, *Ruditapes decussatus* and *Ruditapes philippinarum* on intertidal flats in Brittany. *J. Mar. Biol. Ass. (UK)* 74: 351-366.
- Loosanoff, V. L. 1965. Gonad development and discharge of spawn in oysters of Long Island sound. *Biol. Bull.* 129 (3): 546-561.
- Lubet, P. 1959. Recherches sur le cycle sexuel et l'émission des gametes chez les Mytilides et les Pectinides (Mollusques bivalves). *Rev. Trav. Inst. Peches. Marit.* 23: 389-548.
- Lucas, A. y P. G. Beninger. 1985. The use of physiological condition index in marine bivalve aquaculture. *Aquaculture* 44: 187-200.
- Navarro, E., J. I. P. Iglesias y A. Larrañaga. 1989. Interannual variation in the reproductive cycle and biochemical composition of the cockle *Cerastoderma edule* from Mundaca estuary (Biscay, North Spain). *Mar. Biol.* 101: 503-511.
- Newell, R. I. E. y R. J. Thompson. 1984. Reduced clearance rates associated with spawning in the mussel, *Mytilus edulis* (L.) (Bivalvia, Mytilidae). *Mar. Biol. Lett.* 5: 21-33.
- Pérez Camacho, A. 1980. Biología de *Venerupis pullastra* (Montagu, 1803) y *Venerupis decussata* (Linné, 1767) (Mollusca: Bivalvia) con especial referencia a factores determinantes de la producción. *Boletín del Instituto Español de Oceanografía* 281: 353-358.
- Pérez Camacho, A. y G. Román. 1987. La reproducción en los moluscos bivalvos. En: *Reproducción en acuicultura*. J. Espinosa de los Monteros y U. Labarta (eds.): 133-184. CAICYT (Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica). Madrid.
- Rheault, R. B. y M. A. Rice. 1996. Food-limited growth and condition index in the eastern oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791), and the bay scallop, *Argopecten irradians irradians* (Lamarck, 1819). *J. Shellfish Res.* 15 (2): 271-283.
- Rodríguez Moscoso, E. 2000. *Histofisiología de la reproducción de almeja fina Ruditapes decussatus (Linné, 1758) en la Ría de Arosa (Población natural y Población de cultivo)*. Tesis doctoral. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, y Departamento de Fisiología. Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela, España: 202 pp.
- Sastry, A. N. 1968. The relationship among food, temperature, and gonad development of the bay scallops *Aequipecten irradians* Lamarck. *Physiol. Zool.* 41: 44-53.
- Snedecor, G. W. y W. G. Cochran. 1980. *Métodos estadísticos*. Continental. Buenos Aires: 703 pp.
- Soletchnik, P., D. Razet, P. Geairou, N. Faury y P. Gouletquer. 1997. Écophysiologie de la maturation sexuelle et de la ponte de l'huître creuse *Crassostrea gigas*: réponses métaboliques (respiration) et alimentaires (filtration, absorption) en fonction des différentes stades de maturation. *Aquatic Living Resources* 10 (3): 177-185.
- Vilela, H. 1950. Vida bentónica de *Tapes decussatus*. *Travaux de la Station de Biologie Marine de Lisbonne* 53: 1-120.
- Walne, P. R. 1976. Experiments on the culture in the sea of the Butterfish *Venerupis decussata* L. *Aquaculture* 8: 371-381.
- Xie, Q. y G. M. Burnell. 1994. A comparative study of the gametogenic cycles of the clams *Tapes philippinarum* (Adams y Reeve) and *Tapes decussatus* (Linnaeus) on the south coast of Ireland. *J. Shellfish Res.* 13 (2): 467-472.
- Zar, J. H. 1974. *Biostatistical analysis*. Prentice-Hill, Englewood Cliffs. Nueva Jersey, EE UU: 620 pp.