



Universidad Austral de Chile

---

Facultad de Ciencias  
Escuela de Biología Marina

**PROFESOR PATROCINANTE:**

DR. LUIS PARDO SUAZO  
INSTITUTO DE CIENCIAS MARINAS Y LIMNOLÓGICAS  
UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE

**PROFESOR CO-PATROCINANTE**

DR. OSCAR CHAPARRO TORRES  
INSTITUTO DE CIENCIAS MARINAS Y LIMNOLÓGICAS  
UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE

**PROFESOR INFORMANTE**

DR. CARLOS BERTRÁN VIVES  
INSTITUTO DE CIENCIAS MARINAS Y LIMNOLÓGICAS  
UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE

**“VIABILIDAD Y CARGA ESPERMÁTICA DEL RECEPTÁCULO  
SEMINAL DE LA JAIBA COMERCIAL *Metacarcinus edwardsii* BAJO  
DISTINTOS ESCENARIOS DE PESCA”**

Tesis de Grado presentada como parte de los requisitos  
para optar al Título de Biólogo Marino.

**CARLA ANDREA CÁRDENAS QUILAPÁN  
VALDIVIA – CHILE  
2016**

## **Agradecimientos**

Hay tantas personas que me han proporcionado una gran cantidad de apoyo y estímulo en estos años de aprendizaje que no sé por cómo empezar; quiero agradecer especialmente a mi profesor guía Luis Miguel Pardo, por la oportunidad de trabajar con él, los conocimientos entregados, y su paciencia infinita. Además, quiero dar las gracias a mis compañeros de laboratorio, especialmente a la Marce, Yeni y Juanpa por la buena disposición, cariño y apoyo en los momentos decisivos.

Agradezco a mi núcleo familiar, la estimulación de mi padre a estudiar Biología Marina, la entrega incondicional de mi madre (mi mejor amiga), y el apoyo de mis hermanos. Sin duda, son lo más importante que tengo, y gran parte de este logro es por ellos.

A las personas que han sido parte de mi vida y mi crecimiento a través de estos últimos años, sobre todo los que han estado presente de alguna u otra forma en los momentos más difíciles; mi grupo de amigos conservado desde la época de la media y las amistades que desarrollé dentro de la carrera. Creo que los grandes lazos de amistad no se rompen ni por la distancia, ni por el tiempo, menos por los problemas.

Por último, quiero dar gracias además al proyecto FONDECYT1110445 por financiar mi tesis, también al profesor Alfredo Ramírez Revecó y su asistente Andrés Vallejos; pertenecientes al Instituto de Ciencias Animal de la Universidad Austral, por la ayuda brindada para realizar uno de los principales análisis de este estudio.

## Índice general

1. Resumen.....	9
1.1. Summary.....	10
2. Introducción.....	11
2.1. Hipótesis de trabajo.....	20
2.2. Objetivo General.....	21
2.3. Objetivos específicos.....	21
3. Materiales y Métodos.....	22
3.1. Área de estudio.....	22
3.2. Metodología y procesamiento de muestras.....	24
3.3. Análisis de viabilidad.....	26
3.4. Experimento manipulativo.....	27
3.5. Conteo del número de espermios por receptáculo seminal.....	28
3.6. Análisis de datos.....	28
4. Resultados.....	29
4.1. Viabilidad espermática de <i>Metacarcinus edwardsii</i> .....	29
4.2. Experimento de viabilidad espermática: comparación de eyaculados frescos y viejos.....	36
4.3. Número de espermios contenidos en el receptáculo seminal de <i>M. edwardsii</i> .....	37
4.4. Peso del eyaculado presente en el receptáculo seminal de <i>M. edwardsii</i> .....	44
5. Discusión.....	50
6. Bibliografía.....	57

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Desembarque del recurso comercial Jaiba <i>Metacarcinus edwardsii</i> durante los años 2010, 2011, 2012, 2013 y 2014 para las principales zonas de extracción .....	14
<b>Figura 2.</b> Estructura reproductiva de la jaiba <i>Metacarcinus edwardsii</i> y su conexión ventral con el oviducto. 1) Receptáculo seminal: gonoporo (G), vagina (V) y conexión oviducto (CO); 2) esquema de conexión para en genero Cancridae: epitelio quitinoso (EQ) y 3) vista ventral de hembra: abdomen (A) .....	15
<b>Figura 3.</b> Ciclo reproductivo de <i>Metacarcinus edwardsii</i> .....	17
<b>Figura 4.</b> Modelo conceptual de un escenario de sobreexplotación pesquera para el recurso jaiba; asume disminución de abundancia de machos más grandes, conlleva disminución frecuencia de apareamiento hembras (i.e. más grandes) y acción facilitada a reproducción a machos pequeños con menores aptitudes. Conlleva a una disminución de calidad y cantidad de esperma que se traduce en disminución de potencial reproductivo de una población.....	19
<b>Figura 5.</b> Sitios de recolección de muestras para <i>M. edwardsii</i> , correspondientes a las localidades de Los Molinos, Calbuco, Ancud, Dalcahue y Quellón.....	22
<b>Figura 6.</b> Receptáculo seminal de varias hembras de <i>M. edwardsii</i> después de la cópula, con presencia de tapón espermático y con diversos grados de pigmentos de melanina .....	24
<b>Figura 7.</b> Imagen proyectada del microscopio de epifluorecencia: espermios vivos (puntos verdes); espermios muertos (puntos rojos). Sistema CASA (Sperm Class Analyzar Sca Microptic) .....	26
<b>Figura 8.</b> Gráfico de dispersión que muestra la relación entre el Porcentaje de Viabilidad espermática del receptáculo seminal <i>versus</i> el ancho de cefalotórax para la jaiba <i>Metacarcinus edwardsii</i> para cada localidad; Los Molinos (43), Calbuco (n=37), Ancud (n=46), Dalcahue (n=71) y Quellón (n=55). Coeficiente de determinación ( $R^2$ )= 0,25.....	29
<b>Figura 9.</b> Porcentaje de viabilidad espermática del receptáculo seminal derecho, para la jaiba <i>Metacarcinus edwardsii</i> . Las barras muestran los valores promedios obtenidos durante la campaña anual. Los errores estándares son indicados para cada estación muestreada: otoño (n= 75), invierno (n=106), primavera (n=87) y verano (n=75). n: número total de individuos recolectados durante la temporada de muestreo. Prueba <i>a posteriori</i> de Tukey Unequal N HSD. Letras iguales indican ausencia de diferencias estadísticas significativas ( $P>0,05$ ) y <i>viceversa</i> .....	32

**Figura 10.** Porcentaje de viabilidad espermática del receptáculo seminal derecho para la jaiba *Metacarcinus edwardsii*. Las barras muestran los valores promedios obtenidos durante la campaña anual. Los errores estándares son indicados para cada localidad muestreada: Los Molinos (n= 53), Calbuco (n=52), Ancud (n=74), Dalcahue (n=89) y Quellón (n=75). n: número total de individuos recolectados durante la temporada de muestreo. Prueba a posteriori de Tukey Unequal N HSD. Letras iguales indican ausencia de diferencias estadísticas significativas ( $P>0,05$ ) y viceversa.....33

**Figura 11.** Viabilidad estacional de espermios presentes en el receptáculo seminal de la jaiba *Metacarcinus edwardsii*. Las barras muestran los valores promedios con error estándar para cada localidad muestreada. Las localidades fueron: Los Molinos (n= 53), Calbuco (n=52), Ancud (n=75), Dalcahue (n=89) y Quellón (n=75). n: número total de individuos recolectados durante la temporada de muestreo .....34

**Figura 12.** Gráfico comparativo que muestra el promedio y error estándar de los porcentajes de espermios viables para cada categoría; hembras antes de la cópula (HAC), hembras recién copuladas (HRC), hembras ovígeras (HO).....35

**Figura 13.** Porcentaje medio de viabilidad espermática presentadas con condición de esperma; eyaculados viejos y eyaculados frescos (mix fresco-viejo) de los ejemplares.....36

**Figura 14.** Número de espermios por receptáculo seminal para la jaiba *Metacarcinus edwardsii*. Las barras muestran los valores promedios obtenidos durante la campaña anual. Los errores estándares son indicados para cada estación muestreada: otoño (n= 75), invierno (n=106), primavera (n=87) y verano (n=75). n: número total de individuos recolectados durante la temporada de muestreo. Prueba a posteriori de Fisher. Letras iguales indican ausencia de diferencias estadísticas significativas ( $P>0,05$ ) y viceversa .....38

**Figura 15.** Número de espermios por receptáculo seminal (derecho) para la jaiba *Metacarcinus edwardsii*. Las barras muestran los valores promedios obtenidos durante la campaña anual. Los errores estándares son indicados para cada localidad muestreada: Los Molinos (n= 53), Calbuco (n=52), Ancud (n=74), Dalcahue (n=89) y Quellón (n=75). n: número total de individuos recolectados durante la temporada de muestreo. Prueba a posteriori de Fisher. Letras iguales indican ausencia de diferencias estadísticas significativas ( $P>0,05$ ) y viceversa .....38

**Figura 16.** Gráfico que muestra la relación exponencial entre el número de espermios presentes en el receptáculo seminal de jaiba *Metacarcinus edwardsii* versus ancho cefalotórax (AC). Los valores promedios obtenidos durante la campaña anual. Los errores estándares son indicados para cada localidad muestreada: Los Molinos (n= 53), Calbuco (n=52), Ancud (n=74), Dalcahue (n=89) y Quellón (n=75). n: número total de individuos recolectados durante la temporada de muestreo.  $R^2=0.48$ .....39

**Figura 17.** Número de espermios presentes en el receptáculo seminal de jaiba *Metacarcinus edwardsii*. Las columnas representan los resultados para cada localidad muestreada: Los Molinos (n= 53), Calbuco (n=52), Ancud (n=75), Dalcahue (n=89) y Quellón (n=75). n: número total de individuos recolectados durante la temporada de muestreo. Prueba a posteriori de Fisher. Letras iguales indican ausencia de diferencias estadísticas significativas ( $P>0,05$ ) y viceversa.....43

**Figura 18.** Número de espermios por receptáculo seminal para; hembras antes de la cópula (HAC) n=31, hembras recién copuladas (HRC) n=76, y hembras ovígeras (HO) n=26..... 45

**Figura 19.** Peso eyaculado por receptáculo seminal para la jaiba *Metacarcinus edwardsii*. Las barras muestran los valores promedios obtenidos durante la campaña anual. Los errores estándares son indicados para cada localidad muestreada: Los Molinos (n= 53), Calbuco (n=52), Ancud (n=74), Dalcahue (n=89) y Quellón (n=75). n: número total de individuos recolectados durante la temporada de muestreo. Prueba a posteriori de Fisher. Letras iguales indican ausencia de diferencias estadísticas significativas ( $P>0,05$ ) y viceversa.....46

**Figura 20.** Gráfico que muestra la relación entre el peso del eyaculado presentes en el receptáculo seminal de jaiba *Metacarcinus edwardsii* versus ancho cefalotórax (AC). Los valores promedios obtenidos durante la campaña anual. Los errores estándares son indicados para cada localidad muestreada: Los Molinos (n= 53), Calbuco (n=52), Ancud (n=74), Dalcahue (n=89) y Quellón (n=75). n: número total de individuos recolectados durante la temporada de muestreo.  $R^2=0.16$ .....45

**Figura 21.** Peso del eyaculado presente en el receptáculo seminal de la jaiba *Metacarcinus edwardsii*. Las columnas representan los resultados para cada localidad muestreada: Los Molinos (n= 53), Calbuco (n=52), Ancud (n=75), Dalcahue (n=89) y Quellón (n=75). n: número total de individuos recolectados durante la temporada de muestreo. Prueba a posteriori de Fisher.....50

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Observaciones; Clasificación del estado de caparazón (EC) y del estado gonadal (EG) para cada individuo.....	25
<b>Tabla 2.</b> Número de jaibas recolectados (n), media, error estándar (SE) de porcentajes de viabilidades de espermios para las estaciones y las localidades muestreadas durante la campaña anual.....	31
<b>Tabla 3.</b> Resultados del Análisis de Varianza factorial (ANDEVA) y comparaciones entre pares de las medias del porcentaje de viabilidad espermática del receptáculo seminal de <i>Metacarcinus edwardsii</i> .....	32
<b>Tabla 4.</b> Resultados del Análisis de covarianza (ANCOVA) para las estaciones otoño e invierno con comparaciones entre pares de las medias del número de espermios del receptáculo seminal de <i>Metacarcinus edwardsii</i> .....	41
<b>Tabla 5.</b> Resultados del Análisis de covarianza (ANCOVA) para las estaciones primavera y verano con comparaciones entre pares de las medias del número de espermios del receptáculo seminal de <i>Metacarcinus edwardsii</i> .....	42
<b>Tabla 6.</b> Resultados del Análisis de varianza factorial (ANDEVA) para las estaciones otoño e invierno con comparaciones entre pares de las medias de peso del eyaculado presente en el receptáculo seminal de <i>Metacarcinus edwardsii</i> .....	47
<b>Tabla 7.</b> Resultados del Análisis de varianza factorial (ANDEVA) para las estaciones primavera y verano con comparaciones entre pares de las medias de peso del eyaculado presente en el receptáculo seminal de <i>Metacarcinus edwardsii</i> .....	48

### **Lista de abreviaturas**

1. Gónada: G
2. Conexión con el oviducto; CO
3. Vagina: V
4. Abdomen: A
5. Epitelio quitinoso: EQ
6. Ancho cefalotorác: AC
7. Estado caparazón: EC
8. Estado gonadal: EG
9. Hembras antes de la cópula: HAC
10. Hembras recién copuladas: HRC
11. Hembras estado ovígera: HO



## 1. Resumen

Las poblaciones de crustáceos Braquiuros, son explotadas con estrategias de manejo que se enfocan principalmente en la protección de las hembras. Esta pesca selectiva tiene como consecuencia que se extraigan los machos más grandes, desencadenando una desproporción sexual en poblaciones adultas bajo escenarios de alta presión pesquera. En poblaciones sobreexplotadas los grandes machos son menos abundantes, aumentando el acceso al apareamiento de machos pequeños con menores aptitudes reproductivas y que podrían copular con varias hembras consecutivamente, sin recuperar su reserva espermática. Las consecuencias reproductivas para hembras en tales condiciones podrían ser; (1) Baja calidad de espermios almacenados, debido a la falta de espermios frescos (recientemente transferidos) o a la menor calidad de espermios provenientes de individuos pequeños. (2) Baja cantidad de espermios almacenados, debido a la baja frecuencia de cópulas o la limitada transferencia de espermios por parte de individuos pequeños. En ambos casos, podría significar futuros escenarios de limitación espermática al obtener insuficientes reservas de espermios viables para fecundar todos los ovocitos producidos. En este estudio, se evalúa la viabilidad y carga espermática del receptáculo seminal de la jaiba comercial *Metacarcinus edwardsii*, en hembras colectadas en poblaciones bajo distintos escenarios de pesca (localidades con bajos y altos índices de extracción) durante las distintas estaciones del año. Los porcentajes de viabilidad espermática en general fueron altos y presentaron baja variabilidad entre localidades con diferente intensidad extracción, en cambio, el número de espermios presentó diferencias significativas entre localidades con alta y baja intensidad de extracción; las hembras de localidades con bajos índices de extracción poseen el doble de reservas que localidades con alto índice de extracción, lo que indica que la pesca selectiva no produce un efecto en la calidad de los espermios, sino en la cantidad de espermios que son transferidos a las hembras. Esto significa que las adaptaciones de las estructuras reproductivas; como el receptáculo seminal, son altamente eficientes para mantener los espermios viables. Sin embargo, es necesario también evaluar el éxito reproductivo de la especie a través de la fecundidad de la hembra para obtener una visión más clara del estado actual del recurso.

### 1.1. Summary

The crustacean populations of Braquiuros, which are under the fishing exploitation, have strategies of management focused on female protection and minimum size extraction of the resource. This is known as selective fishing because it makes a bias to the bigger male extraction, triggering a clear sexual disproportion in adult population under high pressure fishing scenarios. In overexploited populations, bigger males are less abundant, making the access to mating of small males with less reproductive fitness increases. In this way, males may copulate with several females consecutively without recovering their reserve of sperms. The consequences for females in such conditions –as found in other commercial crabs species- might be: (1) the low quality of sperms stored due to the lack of fresh ones (recently transferred) or due to the less quality of the sperms coming from small individuals. (2) the low quantity of sperms stored, due to the low frequency of copulations or the lack of sperm's transference in small individuals. In both cases, there might be future scenarios in which there is a sperm limitation when obtaining limited but viable sperms reserves towards the fertilization of oocytes produced. In this research, the viability and the sperms storage of the commercial crab *Metacarcinus edwardsii* resource is evaluated, by means of the seminal receptacle in females collected in populations under different stages of fishing (locations with high or low rates of extraction) during different seasons of the year. The results, in terms of viable sperm percentage, are generally high and with no significant changes concerning the grade of fishing extraction; however, the numbers of sperms change in locations concerned with the extraction category. In female locations with low rates of extraction, they have double reserve in contrast to locations with higher rates of extraction. This means that the selective fishing has no effect in terms of quality, but it has a quantity of sperms transferred. This means that the transference of gametes from males is being affected; more than the capacity of females to keep the viable sperms and in the reproductive structure, like the seminal receptacle, which is highly efficient to keep the sperms alive. However, it is necessary to evaluate the success of the reproductive species by means of the female fertility in order to get a more clear vision of the current condition of the resource.

## 2. Introducción

La explotación de recursos marinos, ha adquirido gran importancia a través de la historia, principalmente, por el sustento económico social y sus repercusiones en el ecosistema marino. Sin embargo, los efectos de la pesca, tales como; las presiones selectivas que actúan sobre la dinámica de especies, tanto a nivel de morfología, comportamiento e historia de vida; no han sido evaluados por la falta de información o porque sólo existen estudios enfocados en especies de gran importancia comercial (Kuparinen & Merilä, 2007).

Durante las últimas décadas, la mayoría de los recursos explotados han disminuido sus niveles de extracción, siendo los crustáceos el único grupo, que desde la década del '50 ha incrementado los niveles de captura (Anderson *et al.*, 2011). Aun así, las posibles consecuencias ecológicas de esta tendencia sobre las poblaciones de crustáceos decápodos en el ecosistema bentónico no son conocidos (Law, 2007).

En Chile, el principal recurso de extracción dentro de los crustáceos Braquiuros es *Metacarcinus edwardsii*, nombrada comúnmente jaiba marmola. Olgín (2006) ha descrito que esta especie ha estado sometida a una fuerte y creciente presión de pesca, especialmente en el sur de Chile. El control pesquero de este recurso involucra estrategias de manejo que se enfocan en la protección de la población reproductora, principalmente mediante la instauración de tallas mínimas de extracción y la prohibición de extracción de hembras ovígeras (*Size and Sex*). A nivel mundial, la protección de crustáceos se guía por planes de manejo conocidos como las estrategias SSS (*Season, Size and Sex*) (Cobb & Caddy, 1989). En general, la sustentabilidad de la población bajo estos modelos de manejo han sido poco evaluados (Pardo *et al.*, 2015). Sin embargo, hay evidencia de que podrían causar desproporción sexual en una población, generando, potenciales problemas de limitación espermática y traspaso insuficiente de fluido seminal (*i.e.* Kendall,

2001). Estudios de ésta índole, proporcionan fuerte evidencia de que la extracción intensiva y desproporcionada de machos reduce el éxito reproductivo de apareamiento en grandes hembras (y por tanto el éxito reproductivo de la población). Esto se produce por el aumento de la frecuencia de apareamiento de machos pequeños (Hankin *et al.*, 1997; Kendall *et al.*, 2002), los cuales tienen insuficiente tiempo para recuperar sus reservas espermáticas (Dewsbury, 1982), impidiendo la fecundación de todos los ovocitos producidos. En jaibas y cangrejos, las hembras de mayor tamaño producen y portan un mayor número de embriones que hembras de menor tamaño (Prager *et al.*, 1990), por lo tanto, necesitan mayor número de espermios para poder fecundar sus ovocitos.

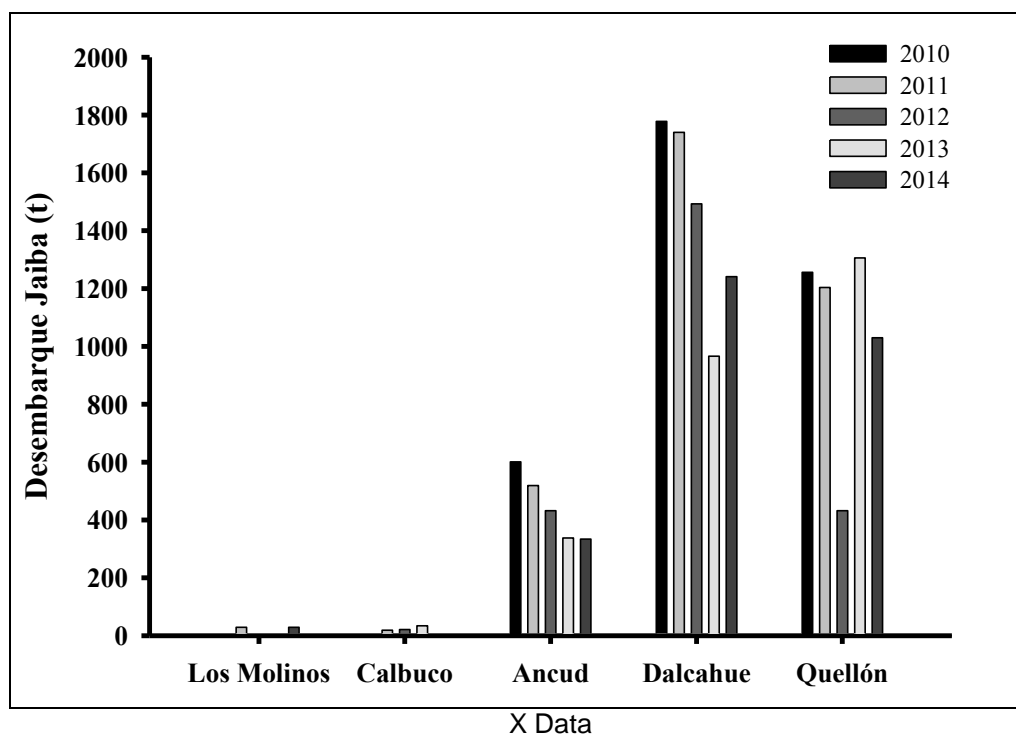
La estrategia de manejo sesgada hacia la extracción intensiva de machos se basa, principalmente, en la capacidad del receptáculo seminal de almacenar espermios por largos periodos, con los cuales es capaz de fecundar los ovocitos hasta 2.5 años después de la cópula (Hankin *et al.*, 2003). Sin embargo, la capacidad del receptáculo de mantener viables los espermios, ha sido probada en muy pocas especies (Wolcott *et al.*, 1995).

Actualmente, los estudios de la capacidad reproductiva de una población de jaibas, se enfocan principalmente en el número de espermios transferidos, ignorando el estado potencial de éstos para fecundar los ovocitos. Siendo, la viabilidad espermática importante en sistemas de apareamiento; donde las hembras almacenan espermios por periodos prolongados que pueden amortiguar los efectos de una baja abundancia de machos en las poblaciones explotadas (Subramoniam, 1993; Kendall, 2001). En el presente trabajo de tesis, se pretende asociar variables como números y calidad de espermios del receptáculo seminal de hembras de la especie *Metacarcinus edwardsii*, teniendo en cuenta su procedencia (localidad) y la estacionalidad, con el

propósito de reconocer las posibles influencias de las presiones selectivas de pesca sobre el desempeño reproductivo de la especie.

*Metacarcinus edwardsii*, es una especie de importancia comercial que está sujeta a extracción pesquera artesanal, por lo que tiene gran relevancia para la economía de pequeña escala en comunidades costeras. En nuestro país, se extraen nueve especies del recurso jaiba, de las cuales *M. edwardsii* representa el porcentaje mayoritario (Sernapesca). A pesar que los antecedentes de extracción son muy escasos y generales, se pueden observar importantes fluctuaciones en los volúmenes de desembarque (Sernapesca). Estas fluctuaciones se deberían, principalmente, a que cuando pescadores artesanales se ven enfrentados a otro recurso de mayor valor económico, postergan la extracción de jaibas por un tiempo dedicándose al recurso de mayor valor o cuando otros recursos escasean se dedican sólo a la extracción de jaibas (Muñoz *et al.*, 2006).

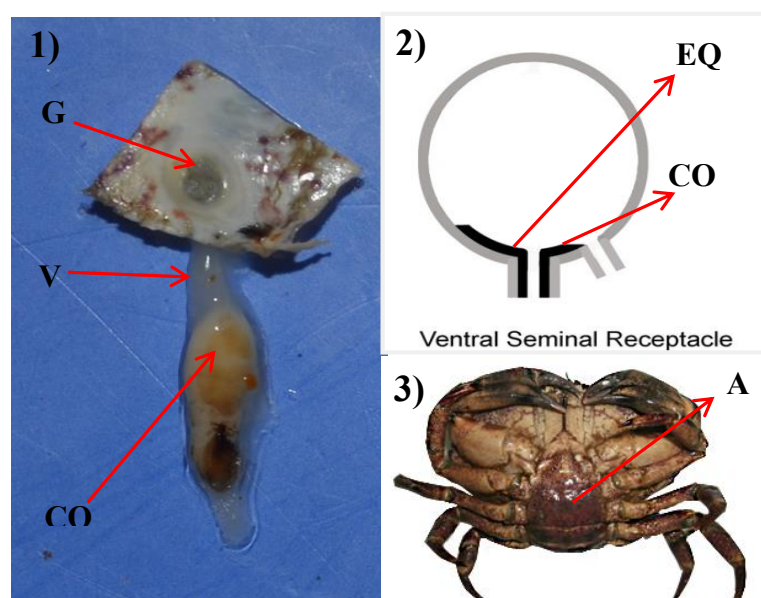
Dentro del plan de regulaciones para la jaiba marmola, existen vedas reglamentarias a nivel nacional (.S. N° 9 del Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción del año 1990) para mantener el recurso (Aranda *et al.*, 1984): 1) Veda indefinida de las hembras ovígeras; y 2) La talla mínima de extracción es de 120 mm de ancho de cefalotórax (Pool & Canales, 1996; Olgún *et al.*, 2006). Se han estudiado las actividades de extracción y desembarque de este recurso a través del tiempo, donde las principales zonas de pesca (de acuerdo a datos históricos), se encontrarían en la X región, Isla grande de Chiloé. En los antecedentes entregados por el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura se menciona que la mayor intensidad de pesca se concentraría en la zona de Dalcahue, siendo seguida por Quellón , moderada en Ancud, pero baja en Calbuco y Los Molinos para los últimos cinco años de monitoreo (Figura 1).



**Figura 1.** Desembarque del recurso comercial Jaiba *Metacarcinus edwardsii* para los años 2010, 2011, 2012, 2013 y 2014 para las principales zonas de extracción (fuente:www.sernapesca.cl).

El aparato reproductor de la hembra de *Metacarcinus edwardsii*, al igual que en la mayoría de los crustáceos braquiuros, se compone por un ovario bilobulado (Overstreet *et al.*, 1992) que posee una forma característica de tipo H (Krol *et al.*, 1992; Goldestein & Dupre, 2010), internamente se unen a los receptáculos seminales, un par de órganos altamente elásticos con forma de saco (Orensanz *et al.*, 1995; Jensen *et al.*, 1996). Los receptáculos seminales se ubican debajo del corazón y el hepatopáncreas, siendo su principal función el almacenaje de esperma (Diesel, 1991; Tavares & Secretan, 1993). El ovario y el receptáculo seminal se conectan a través de una estructura tubular llamada oviducto, este es el canal de transporte de los ovocitos al lugar de fertilización (Goldestein & Dupre, 2010). La posición con respecto al receptáculo seminal donde se produce la conexión del oviducto es de tipo ventral (Figura 2.), característico de los Cancridae (Orensanz *et al.*, 1995; Jensen *et al.*, 1996; Pardo *et al.*, 2013). El

receptáculo seminal se conecta con el exterior a través de la vagina culminando en el gonoporo (Hartnol, 1968; González-Pisani *et al.*, 2012). Como todos los Braquiuros poseen fertilización interna, los machos traspasan la esperma directamente en paquetes espermáticos individuales llamados espermatóforos, los que se componen principalmente por espermios no móviles y líquido seminal (Diesel, 1988; Subramoniam, 1991; Rogers *et al.*, 2011).

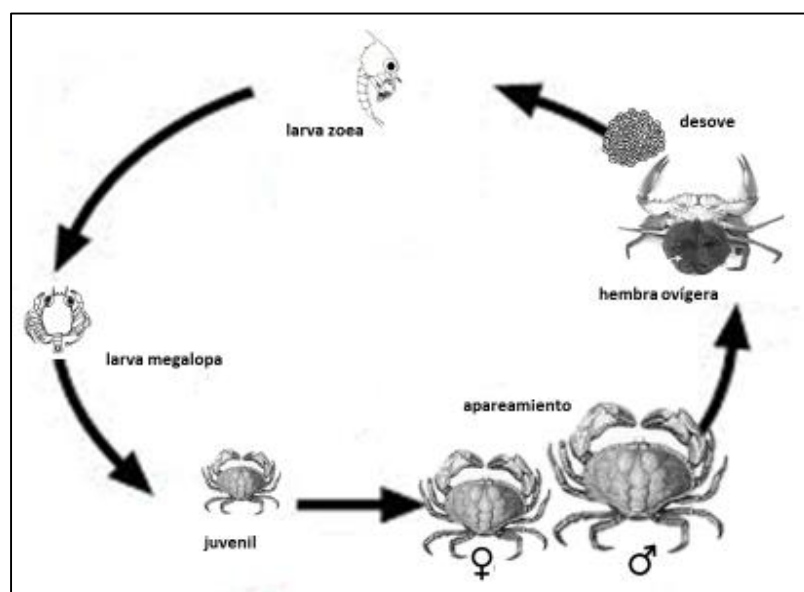


**Figura 2.** Estructura reproductiva de la jaiba *Metacarcinus edwardsii* y su conexión ventral con el oviducto. 1) Receptáculo seminal: gonoporo (G), vagina (V) y conexión oviducto (CO); 2) esquema de conexión para en genero Cancridae: epitelio quitinoso (EQ) (McLay & López Greco, 2011) y 3) vista ventral de hembra: abdomen (A).

La actividad reproductiva de crustáceos Braquiuros, de la familia Cancridae, consiste típicamente en apareamientos basados en el ciclo de muda de la hembra. La cópula sólo es posible por un tiempo limitado después de que la hembra muda (*ecdysis*) y antes de que se endurezca su caparazón (Diesel, 1991). Sin embargo, el período de apareamiento es prolongado, ya que el macho protege a la hembra antes y después de la cópula, este comportamiento es

llamado *guarding* o *abrazo nupcial* (Hartnoll, 1969). *M. edwardsii* es una especie con conducta poligínica y/o poliándrica, es decir, tanto machos como hembras pueden aparearse con varios individuos en un mismo período reproductivo. Estos sistemas se caracterizan por la competencia entre machos por la hembra, donde existe presencia de tapón espermático (Christy, 1987).

La hembra transporta los huevos fecundados en el abdomen, para *Metacarcinus edwardsii* se ha estimado una fecundidad media de 800.000 embriones, en una hembra de 120 mm de ancho del caparazón (Pardo LM. datos no publicados). Cuando los embriones están completamente desarrollados, la hembra los libera a la columna de agua, dando paso a la larva meroplanctónica llamada zoea (McEdward, 2000). Esta larva pasa por sucesivas transformaciones hasta convertirse en una larva megalopa (Pardo *et al.*, 2009). La megalopa se asienta y recluta al ambiente bentónico como juvenil hasta alcanzar la etapa adulta (Crisp, 1984) (Figura 3).



**Figura 3.** Ciclo reproductivo de *Metacarcinus edwardsii*.



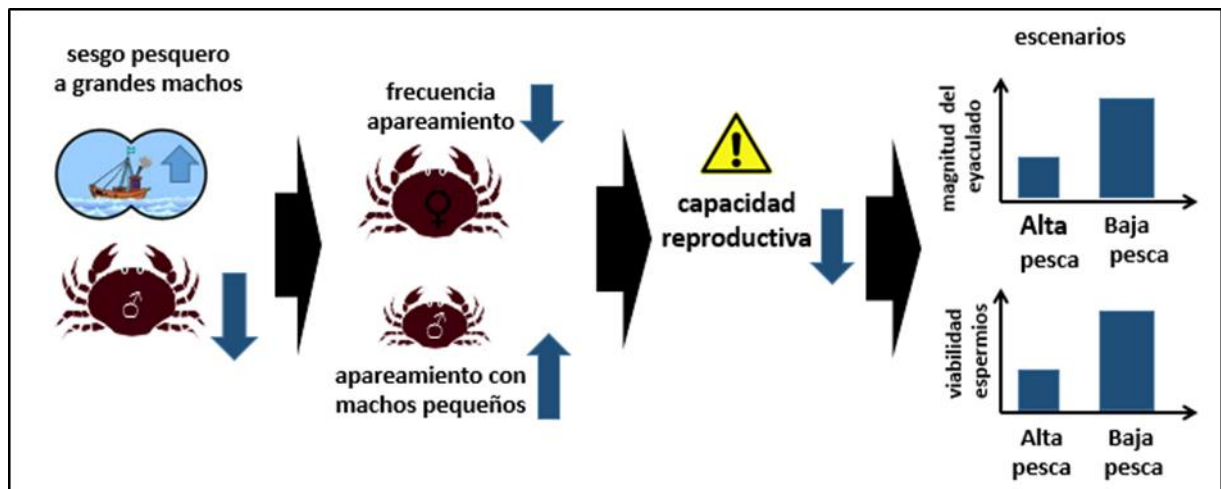
### **Receptáculo seminal: Evaluación de viabilidad y carga espermática**

La evaluación del potencial de fecundación que tienen las hembras, depende de la cantidad y calidad de los espermios almacenados en sus receptáculos. Mientras el conteo de espermios es común en estas evaluaciones, y se realiza mediante conteo directo en un espermocitometro, la calidad de espermios medida vía viabilidad espermática, es poco utilizada.

La viabilidad espermática se puede evaluar a través de un ensayo de fluorescencia, el cual se basa en tinciones celulares de espermios donde los tratamientos de ciertos reactivos (naranja de acridina/ Bromuro de etidio) sufren reacciones a nivel de la membrana plasmática, lo que se traduce en colores diferenciados que distinguen las células vivas de las células muertas (porcentaje de espermios vivos en el eyaculado) (Defives *et al.*, 1999). El uso de esta técnica generalmente utilizada en mamíferos terrestres (Rodríguez, 2007), se está implementando fuertemente para abordar estudios de índole reproductivo en otros organismos y para abordar problemas que surgen a nivel de especies marinas. Wolcott (2005) utilizó esta técnica en *Callinectes sapidus*, para determinar cuál era el porcentaje de espermátóforos viables después de la cópula y si estaba asociado a problemas de tipo ecológico. Por lo tanto esta es una herramienta que podría predecir indirectamente, a través del porcentaje de espermios viables, los posibles efectos de la pesca.

En general, la extracción del recurso está enfocada principalmente a la población de machos, debido a que los machos tienden a ser de mayor tamaño y por la protección a hembras ovígeras a través de vedas. Esta clara tendencia en las pesquerías a nivel global, pueden desencadenar futuros efectos en cascada sobre la dinámica y estructura de una población (Kuparinen & Merilä, 2007). Estos efectos se traducen en cambios ecológicos, que pueden

manifestarse en una reducción en la capacidad reproductiva de la especie sobreexplotada. La disminución de la población masculina de mayor tamaño puede desencadenar problemas futuros por el acceso facilitado a reproducirse de machos de menor tamaño; esto puede conllevar a limitación espermática debido a la disminución de la viabilidad espermática e insuficiente traspaso de fluido seminal para fecundar (Figura 4) (Sato & Gochima, 2007). La importancia del líquido seminal radica en que es el medio a través del cual se transfieren los espermios, por lo tanto puede tener un rol significativo para el éxito del almacenamiento espermático (Kendall, 2001) y es descrito en Braquiuros que contienen una gran cantidad de sustancias orgánicas que ayudan al metabolismo del esperma (Subramoniam, 1991). Waddy & Aiken (1986) describen un ejemplo de limitación espermática sufrida en la especie *Homarus americanus* (langosta Americana) y mencionan que este problema puede ocurrir en hembras con múltiples desoves o con una masa ovígera proveniente de una sola cópula (Gosselin *et al.* 2005).



**Figura 4.** Modelo conceptual de un escenario de sobreexplotación pesquera para el recurso jaiba; asume disminución de abundancia de machos más grandes, conlleva disminución frecuencia de apareamiento hembras (*i.e.* más grandes) y acción facilitada a reproducción a machos pequeños con menores aptitudes. Conlleva a una disminución de calidad y cantidad de esperma que se traduce en disminución de potencial reproductivo de una población.

La viabilidad espermática es importante para la fecundación, ya que proporciona la cantidad potencial de espermios para fertilizar los ovocitos (Saint Marie, 2002). En algunas especies la viabilidad disminuye con el tiempo, especialmente si las fuentes de energía metabólica no son suficientes para los requerimientos de los espermios, como ha sido demostrado en la especie de Cangrejo *Scylla serrata* (Subramoniam, 1993).

El análisis espermático de una población, la calidad y cantidad del contenido del eyaculado y el número de espermios, puede dar un conocimiento acerca de los posibles efectos de la sobreexplotación pesquera en la capacidad reproductiva y, también una noción del estado de conservación de la especie en el tiempo.

## 2.1. Hipótesis de trabajo

En localidades donde los machos grandes y dominantes son escasos las hembras copulan con menor frecuencia y principalmente con machos pequeños. Esto tiene como consecuencia que los espermios almacenados en el receptáculo seminal serán menos abundantes. Por otro lado, la poca renovación de la carga espermática en los receptáculos, implicaría que los espermios presenten menor viabilidad en las localidades donde los machos grandes son menos abundantes.

Por lo tanto, en poblaciones intensamente explotadas de *Metacarcinus edwardsii*, existe una disminución en la calidad y cantidad de espermios almacenados en los receptáculos seminales de las hembras, debido a la escases de grandes machos, producto del sesgo de las estrategias de manejo de jaibas usada en Chile.

**H<sub>1</sub>:** Existe una disminución en la calidad y cantidad de espermios almacenados en los receptáculos seminales de la hembra en poblaciones explotadas intensamente, en comparación con aquellas con menor intensidad pesquera.

**H<sub>0</sub>:** No existe una disminución en la calidad y cantidad de espermios almacenados en los receptáculos seminales de la hembra en poblaciones explotadas intensamente.

## **2.2. Objetivo General**

Comparar la viabilidad y la carga espermática (peso y número de espermios) del receptáculo seminal de las hembras de *Metacarcinus edwardsii* de localidades con altas y bajas presiones de pesca.

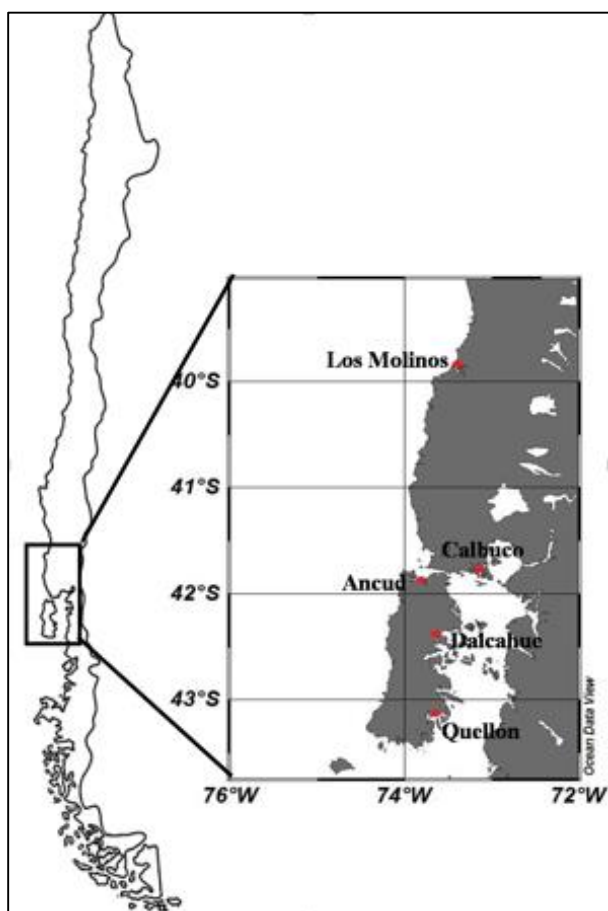
## **2.3. Objetivos específicos**

- Comparar la variabilidad temporal en la viabilidad y cantidad de espermios para cada localidad.
- Determinar e identificar en qué localidades existe una disminución en el contenido de esperma almacenado y la viabilidad espermática asociado con la presión de pesca.
- Comparar las diferencias en la calidad y cantidad de espermios almacenados entre las cinco poblaciones locales de jaibas del sur de Chile
- Comparar la calidad y cantidad de espermios de hembras en diferentes estados reproductivos.
- Comparar la viabilidad entre receptáculos seminales de hembras recién copuladas.

### 3. Materiales y métodos

#### 3.1 Área de estudio

Las muestras de *M. edwardsii* utilizadas en el presente estudio provienen de cinco localidades (Figura 5). Tres de las cuales están descritas por Olgin *et al.*, (2006) y Barahona *et al.*, (2008) como las principales zonas de extracción del recurso, según estos autores la extracción estaría concentrada en la Isla grande de Chiloé, en Ancud ( $41^{\circ}52'14''$  S;  $73^{\circ}48' 58''$  W), Dalcahue ( $42^{\circ}22'45.5''$  S;  $73^{\circ}38'50.1''$  W) y Quellón ( $43^{\circ}7'5''$  S;  $73^{\circ}36'59''$  W). Además, se obtuvieron muestras de las localidades de Calbuco ( $41^{\circ}46'24''$  S;  $73^{\circ}7'49''$  W) y Los Molinos ( $39^{\circ}51'16.7''$ S;  $73^{\circ}23' 40.3''$ W) que presentan menor grado de extracción, de esta forma se realizará un estudio comparativo de las localidades (Pardo *et al.*, 2015). Cabe señalar que con anterioridad las 5 localidades, ya fueron descritas mediante estimaciones directas (estructura poblacional y razón sexual), se determinó que Ancud, Dalcahue y Quellón (alta presión de pesca) eran localidades con un alto sesgo de extracción hacia los machos en comparación con las localidades de Calbuco y Los Molinos (baja presión de pesca) (Pardo *et al.*, 2015).



**Figura 5.** Sitios de recolección de muestras para *M. edwardsi*, correspondientes a las localidades de Los Molinos, Calbuco, Ancud, Dalcahue y Quellón.

### **3.2. Metodología y procesamiento de muestras**

En terreno, se recolectaron un mínimo de 12 hembras por cada localidad (5) y durante las cuatro estaciones del año (otoño: 02-05-2012; invierno: 18-07-2012; primavera: 04 -11-2012 y verano: 18-02-2013), las que fueron inmediatamente trasladadas al Laboratorio Costero de Recursos Acuáticos Calfuco (Universidad Austral de Chile) para los posteriores análisis de viabilidad espermática y de número de espermios contenido en los receptáculos seminales. Durante los días que duró el procesamiento de muestras, los ejemplares se mantuvieron en estanques con alimentación *Ad libitum* con condiciones de temperatura y salinidad similares al medio.

Antes de procesar las muestras, se tomaron medidas de longitud de los individuos (AC), se observó el estado de caparazón (EC) y el estado gonadal (EG), y la presencia de tapón espermático (hembras con cópula reciente). (Tabla 1).

En el laboratorio, al diseccionar los ejemplares recolectados; se extrajeron los dos receptáculos seminales de cada individuo. El receptáculo seminal derecho se destinó al análisis de viabilidad espermática y el receptáculo seminal izquierdo fue utilizado para conteo del número de espermios.



**Tabla 1.** Clasificación del estado de caparazón (EC) y del estado gonadal (EG) para cada individuo. El EG se basa en la caracterización hecha por Pardo *et al.*, (2009).

variable	número	observaciones
estado caparazón (EC)	1	estado sano sin presencia de organismos (recién mudado).
	2	poca presencia de epífitos y mínimo deterioro.
	3	avanzado deterioro con evidente presencia de epífitos (Próximo a la muda). <i>e.i.</i> pre- ecdisis.
estado gonadal (EG)	1	Inmaduro
	2	primordial
	3	desarrollo temprano
	4	desarrollo avanzado
	5	Maduro
	6	en recuperación



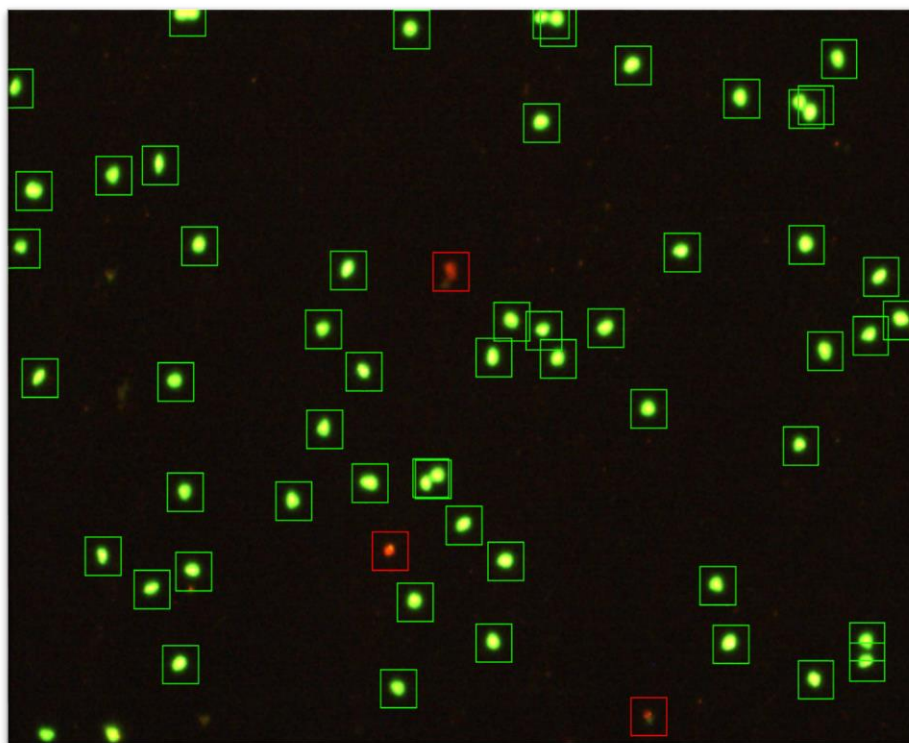
**Figura 6.** Receptáculo seminal de varias hembras *M. edwardsii* después de la cópula con presencia de tapón espermático y pigmentos de melanina.

### 3.3. Análisis de Viabilidad

Para éste análisis, se extrajo el receptáculo seminal derecho de cada ejemplar. El contenido de éste receptáculo se vació en un tubo eppendorf (1 ml), previamente preparado con 0,5 ml de agua de mar artificial a 30 psu. Solución que se mezcló cuidadosamente, para luego extraer una alícuota de 4  $\mu$ l que fue depositada sobre un cubre objeto. A esta alícuota se agregaron 4  $\mu$ l de una solución de tris/citrato con los reactivos de naranja de acridina/ Bromuro de etidio. Cada muestra se observó bajo el al microscopio de epifluorecencia a un aumento de (10x), acoplado al módulo de viabilidad del sistema CASA (Sperm Class Analyzar Sca Microptic), resultando en porcentaje de vivos y muertos. El programa utilizado reconoció los espermios por las emisiones fluorescentes de los espermios (Figura 7), que se traduce en:

- Espermios vivos: son identificados, ya que las moléculas del reactivo naranja de acridina, pueden penetrar en los espermios que poseen la membrana plasmática intacta, proporcionando una fluorescencia verde.
- Espermios muertos: identificados, ya que las moléculas del reactivo Bromuro de etidio (PI) penetra en las membranas dañadas. Por lo tanto, no son viables, proporcionando una fluorescencia de color rojo.

Cada muestra contiene datos de porcentaje de espermios viables correspondientes a la localidad y estacionalidad, para el posterior análisis comparativo.



**Figura 7.** Imagen proyectada del microscopio de epifluorecencia: espermios vivos (puntos verdes); espermios muertos (puntos rojos). Sistema CASA (Sperm Class Analyzer Sca Microptic).

### 3.4. Experimento Manipulativo

Paralelamente en la época de apareamiento (estación primavera), se realizaron experimentos de cópula con ejemplares recolectados en de la localidad Los Molinos (4-11-2012).

En laboratorio, se prepararon estanques con las condiciones similares al medio, donde se colocaron hembras receptoras (pre-ecdisis) y machos con ablación unilateral de pleópodos. El resultado de este experimento, midió las diferencias provenientes entre un receptáculo con eyaculado fresco más eyaculados almacenados previamente y un receptáculo solo con eyaculados anteriores de otros machos. Este método se utiliza para estimar las diferencias en viabilidad espermática de espermios almacenados y frescos, mediante sustracción.

### 3.5. Conteo del número de espermios por receptáculo seminal

Para contabilizar la cantidad de espermios presentes en los receptáculos seminales de las hembras de *M. edwardsii*, se vació el contenido del receptáculo izquierdo en un tubo eppendorf (previamente pesado- de 1.7 ml) con 0,5 ml de agua de mar artificial al 30 psu.

Este tubo eppendorf con el contenido del eyaculado, se pesó para poder realizar los cálculos del volumen de la muestra. La herramienta pellet pestle se utilizó para la homogenización de ésta, y para su conservación se le agregaron 100-200µl de formalina diluida al 5 %.

El conteo de los espermios se realizó, a través de la cámara Petroff-Housser Counter (espermocitometro). Dónde 10 µl de una muestra previamente diluida (Factor dilución (FD): 10, 50, 100) fueron depositados en la placa y el cálculo del número de espermios por receptáculo seminal, se realizó con la siguiente fórmula:

$$[(n^{\circ} \text{ espermios} \times 25) \times 50] \times 10^3 \times \text{FD} = n^{\circ} \text{ espermios por receptáculo seminal}$$

### 3.6. Análisis de datos

Se estimó la relación existente entre número de espermios y talla de la hembra, y viabilidad espermática y talla de la hembra. Luego, se compararon la cantidad y calidad de espermios entre las distintas localidades, utilizando el análisis de varianza de dos vías o covarianza de dos vías, dependiendo si la talla de la hembra tiene o no una covariación con las variables dependientes. En todos los casos se verificó la homogeneidad de las varianzas y la distribución normal de los residuales. Para estos casos se realizó un ANDEVA (o ANCOVA, según corresponda) en base a permutaciones.

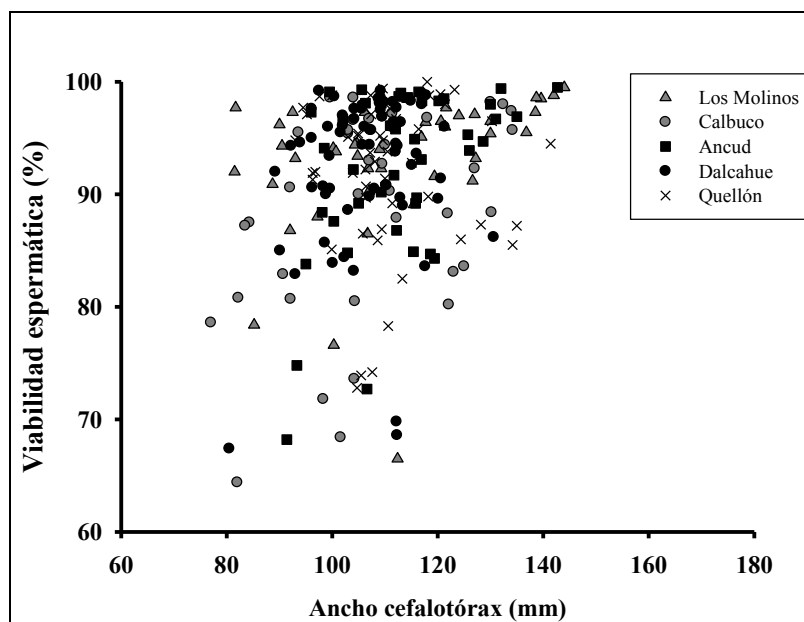
## 4. Resultados

### 4.1. Viabilidad espermática de *Metacarcinus edwardsii*

Durante las campañas de muestreos realizadas en los años 2012 y 2013 se obtuvieron un total de 352 hembras de jaiba *Metacarcinus edwardsii*. Las muestras fueron recolectadas estacionalmente en cinco localidades seleccionadas del sur de Chile; Los Molinos, Calbuco, Ancud, Dalcahue y Quellón (a excepción de Calbuco en la campaña de otoño del año 2012).

Los porcentajes de viabilidad espermática obtenidos para cada localidad y estación muestran que los valores promedios en esperma viable son considerablemente altos, sobre el 80% (Tabla 2). Además, al comparar la viabilidad de los espermios almacenados respecto a la influencia de la talla de la hembra no se muestra ninguna relación (Figura 8), en el análisis de regresión se observa que la variación en el ancho del cefalotórax de las hembras en las distintas estaciones medidas no tuvieron un efecto en la viabilidad espermática en ninguna estación del año (otoño:  $R^2=0,16$ ,  $F=1.96$ ,  $P>0.001$ ; invierno:  $R^2=0,25$ ,  $F= 7.46$ ,  $P>0.001$ ; primavera:  $R^2=0,27$ ,  $F= 6.86$ ,  $P>0.001$  y verano:  $R^2= 0,22$ ,  $F= 3.83$ ,  $P>0.001$ ).

Por otro lado, se observó que la variación en el tamaño del cefalotórax de hembras entre localidades sí tiene un efecto en la viabilidad espermática (Los Molinos:  $R^2=0,26$ ,  $F=22.23$ ,  $P<0.001$ ; Calbuco:  $R^2=0,32$ ,  $F=23.57$ ,  $P<0.001$ ; Ancud:  $R^2=0,25$ ,  $F=19.70$ ,  $P<0.001$ ; Dalcahue:  $R^2=0,26$ ,  $F=22.71$ ,  $P<0.001$  y Quellón:  $R^2= 0,28$ ,  $F=26.19$ ,  $P<0.001$ ). En cuanto a la relación existente entre el tamaño y el porcentaje de viabilidad espermática, es significativa entre localidades. El coeficiente de determinación total para la relación entre ancho de cefalotórax por localidad y viabilidad espermática fue baja, pero significativa ( $R^2=0,25$ ,  $F= 23.73$ ,  $P<0.001$ ).



**Figura 8.** Gráfico de dispersión que muestra la relación entre el porcentaje de viabilidad espermática del receptáculo seminal *versus* el ancho de cefalotórax para la jaiba *Metacarcinus edwardsii* para cada localidad; Los Molinos (43), Calbuco (n=37), Ancud (n=46), Dalcahue (n=71) y Quellón (n=55). Coeficiente de determinación ( $R^2$ )= 0,25.

Al constatar que la influencia de la talla de la hembra es mínima en relación al porcentaje de espermios viables, solo se realizó un Análisis de varianza factorial (ANDEVA) para comparar las variables Estación (Tabla 3 y Figura 9) y Localidad (Tabla 3 y Figura 10) en cuanto a los valores en porcentajes de viabilidad espermática del receptáculo seminal de cada hembra. Ambos factores fueron significativos, sin embargo, la interacción entre los factores Localidad y Estaciones no lo fue (Tabla 3).

La estacionalidad es el factor más determinante en la variación de los porcentajes de viabilidad espermática de los espermias almacenados en cada receptáculo (Tabla 3 y Figura 9) y sus resultados muestran que los valores más altos son alcanzados durante el verano y los valores más bajos en la temporada de invierno (Tabla 2). Siendo todas las estaciones distintas entre sí, a excepción de las comparaciones entre las estaciones otoño y primavera (Tabla 3).

Los valores promedios anuales en la viabilidad de espermios almacenados también varían para cada localidad (Tabla 3 y Figura 10) mostrando diferencias significativas especialmente en la localidad de Calbuco (Tabla 3) que tiene una tendencia distinta a las otras localidades pero valores cercanos a la localidad Ancud. Los valores promedios más altos se encontraron en Dalcahue, y los valores más bajos se encontraron en Calbuco (Tabla 2). Al agrupar estas localidades en categorías de grado de extracción no se observa ninguna tendencia entre baja y alta intensidad de pesca (Figura 10).

**Tabla 2.** Número de jaibas recolectados (n), media, error estándar (SE) de porcentajes de viabilidades de espermios para las estaciones y las localidades muestreadas durante la campaña anual.

<b>Factor</b>		<b>N</b>	<b>media</b>	<b>SE</b>
Estación	otoño	75	91,8	0,8
	invierno	106	82,9	1,4
	primavera	87	91,8	0,8
	verano	75	96,1	0,4
Localidad	Los Molinos	53	91,8	0,9
	Calbuco	52	84,7	2,4
	Ancud	74	89,2	1,2
	Dalcahue	89	92,0	0,8
	Quellón	75	91,1	1,1

**Tabla 3.** Resultados del Análisis de Varianza factorial (ANDEVA) y comparaciones entre pares de las medias del porcentaje de viabilidad espermática del receptáculo seminal de *Metacarcinus edwardssi*. Los valores significativos están indicados en negrita.

<b>ANDEVA</b>				
<b>Fuente de variación</b>	<b>Df</b>	<b>Ms</b>	<b>f</b>	<b>p</b>
Localidad	4	266	2,93	<b>0,020</b>
Estación	3	2774	30,53	<b>0,000</b>
Localidad * Estación	11	137	1,51	0,126
Error	324	91		

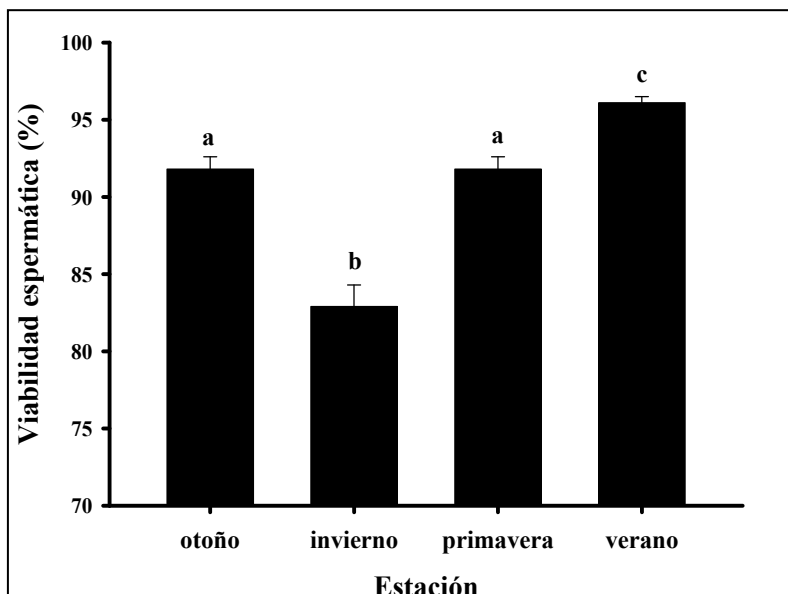
  

<b>Comparaciones <i>a posteriori</i> de Tukey entre grupos desiguales ( "unequal N HSD" )</b>			
<b>ESTACIÓN</b>	<b>otoño</b>	<b>invierno</b>	<b>primavera</b>
Otoño	—		
Invierno	<b>0,000</b>	—	
Primavera	0,999	<b>0,000</b>	—
Verano	<b>0,030</b>	<b>0,000</b>	<b>0,029</b>

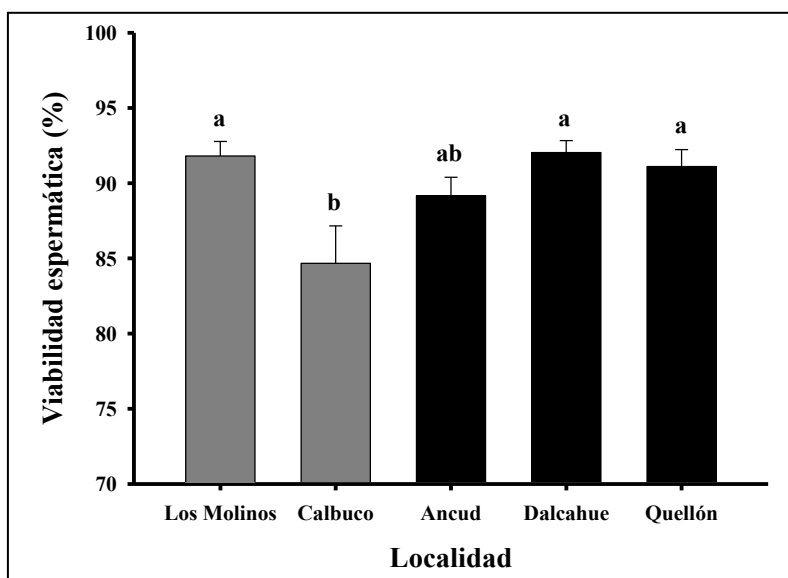
  

<b>Comparaciones <i>a posteriori</i> de Tukey entre grupos desiguales ( "unequal N HSD" )</b>				
<b>LOCALIDAD</b>	<b>Los Molinos</b>	<b>Calbuco</b>	<b>Ancud</b>	<b>Dalcahue</b>
Los Molinos	—			
Calbuco	<b>0,001</b>	—		
Ancud	0,612	0,113	—	
Dalcahue	0,999	<b>0,000</b>	0,356	—
Quellón	0,996	<b>0,005</b>	0,730	0,999



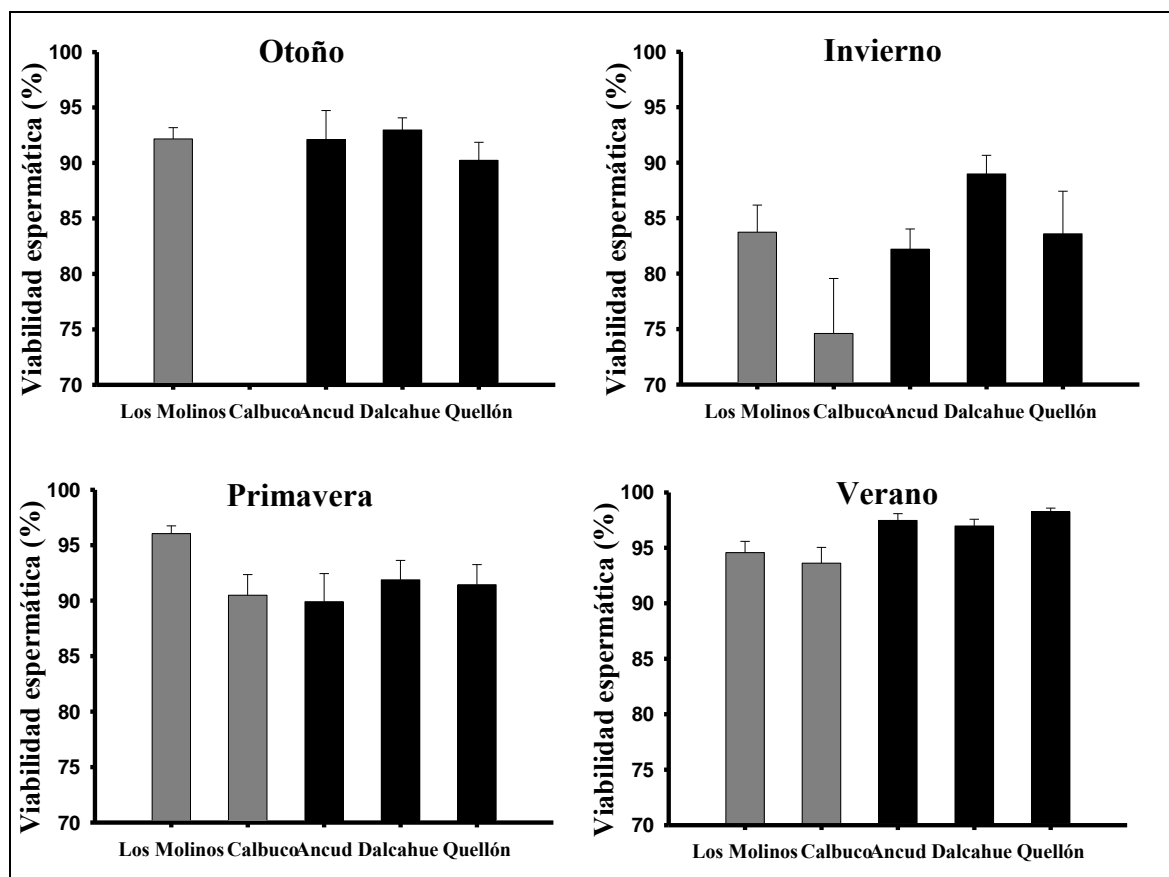


**Figura 9.** Porcentaje de Viabilidad espermática del receptáculo seminal derecho para la jaiba *Metacarcinus edwardsii*. Las barras muestran los valores promedios obtenidos durante la campaña anual. Los errores estándares son indicados para cada estación muestreada: otoño (n= 75), invierno (n=106), primavera (n=87) y verano (n=75). n: número total de individuos recolectados durante la temporada de muestreo. Prueba *a posteriori* de Tukey Unequal N HSD. Letras iguales indican ausencia de diferencias estadísticas significativas ( $P>0,05$ ) y *viceversa*.



**Figura 10.** Porcentaje de Viabilidad espermática del receptáculo seminal derecho para la jaiba *Metacarcinus edwardsii*. Las barras muestran los valores promedios obtenidos durante la campaña anual. Los errores estándares son indicados para cada localidad muestreada: Los Molinos (n= 53), Calbuco (n=52), Ancud (n=74), Dalcahue (n=89) y Quellón (n=75). n: número total de individuos recolectados durante la temporada de muestreo. Prueba *a posteriori* de Tukey Unequal N HSD. Letras iguales indican ausencia de diferencias estadísticas significativas ( $P>0,05$ ) y *viceversa*.

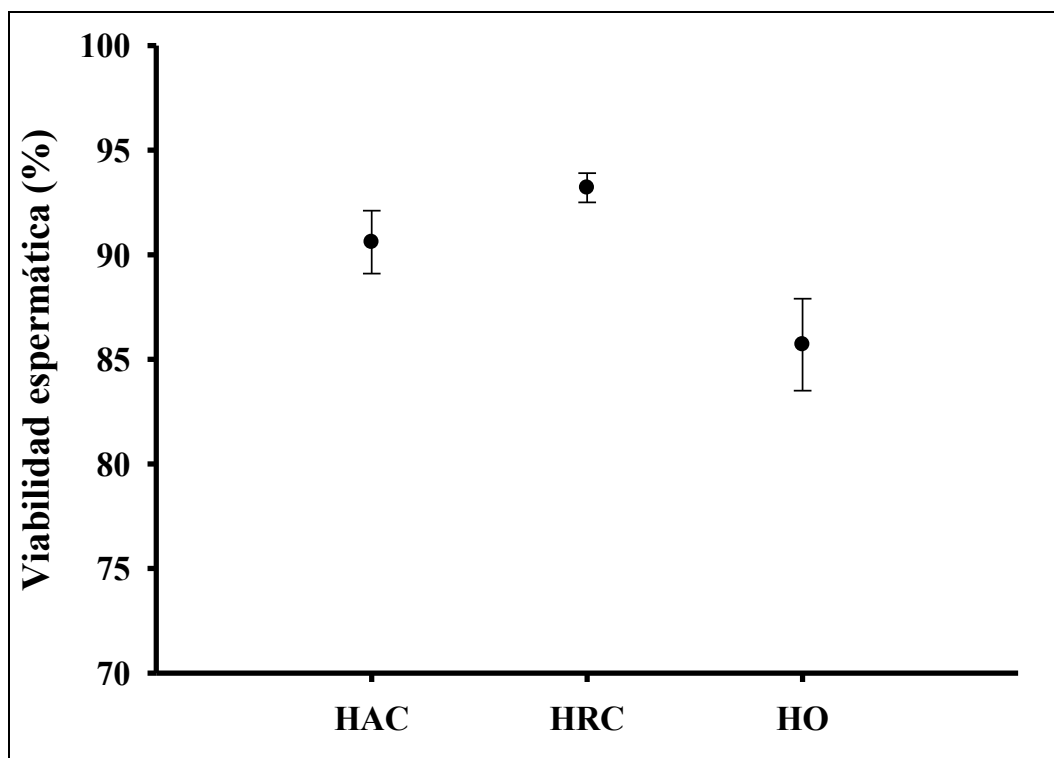
La Figura 11 muestra la viabilidad espacio temporal para los espermios de *M. edwardsii* asociada a localidades con baja (barras color gris) y alta (barras color negro) intensidad de pesca. Los porcentajes de espermios viables fueron más altos en la mayoría de las localidades para la estación de verano (principalmente en las localidades Ancud y Quellón; (Fig. 11) y los más bajos a la estación de invierno (localidades Ancud y Calbuco; Fig. 11), a excepción de la localidad Los Molinos que tuvo su máxima en primavera (Fig. 11). Cuando se agruparon las localidades muestreadas por categorías de grado de extracción, no se observan tendencias estacionales diferentes para las localidades muestreadas (baja y alta intensidad de pesca) (Fig. 11).



**Figura 11.** Viabilidad estacional de espermios presentes en el receptáculo seminal de la jaiba *Metacarcinus edwardsii*. Las barras muestran los valores promedios con error estándar para cada localidad muestreada. Las localidades fueron: Los Molinos (n= 53), Calbuco (n=52), Ancud (n=75), Dalcahue (n=89) y Quellón (n=75). n: número total de individuos recolectados durante la temporada de muestreo.

### Calidad de espermios asociada a la condición reproductiva

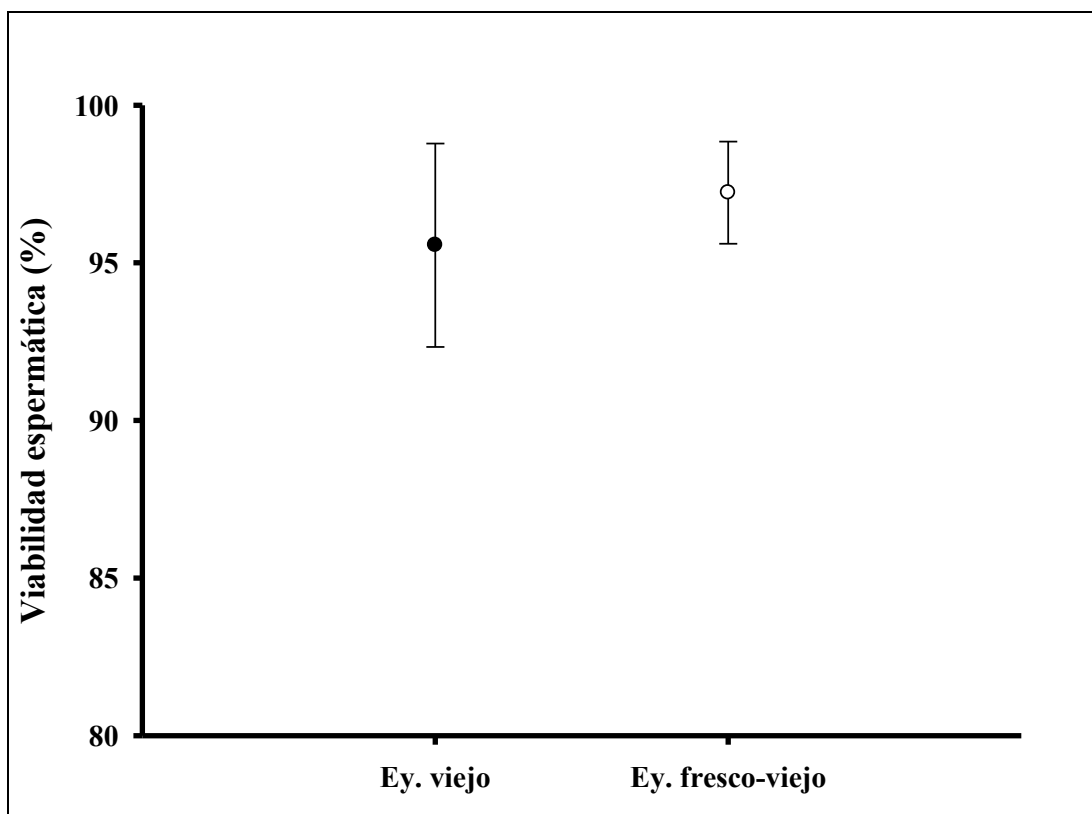
Los resultados comparativos en calidad de espermios muestran que existen diferencias significativas según la condición reproductiva de la hembra ( $F=3.52$ ,  $P=0.033$ ,  $N=127$ ). Hembras antes de la cópula (HAC) con estado de desarrollo gonadal 3 tienen un promedio de espermios viables cercano a 90,6% ( $ES=1,5$ ) mientras que hembras recién copuladas (HRC) con estado de desarrollo gonadal 4-5 y presencia de tapón espermático muestran un aumento del 3% en los porcentajes de esperma viable (93,1%;  $ES=0,7$ ). En contraste, hembras en condición ovígeras (estado desarrollo gonadal 6) muestran una disminución cercana al 10% en sus viabilidades (85,7%;  $ES=2,2$ , Figura 12).



**Figura 12.** Gráfico comparativo que muestra el promedio y error estándar de los porcentajes de espermios viables para cada categoría; hembras antes de la cópula (HAC)  $n=31$ , hembras recién copuladas (HRC)  $n=76$ , hembras ovígeras (HO)  $n=26$ .

#### 4.2. Experimento viabilidad espermática: comparación de eyaculados frescos y viejos.

Los resultados de la prueba de t de Student pareado para hembras que fueron expuestas a experimentos de cópula con ablación unilateral de pleópodos en machos; muestran que al comparar eyaculados transferidos recientemente no se encuentran diferencias significativas de eyaculados viejos que estuvieron al menos presente durante un ciclo de muda ( $T=1.47$ ,  $P=0,17$ ;  $n= 11$ ). Sin embargo, los receptáculos seminales con presencia de espermios viejos tienen un promedio de 95,5% ( $ES=3,2$ ) valores menores que los receptáculo con mezcla de eyaculado fresco-viejo (97,2%) pero no significativa (Figura 13).



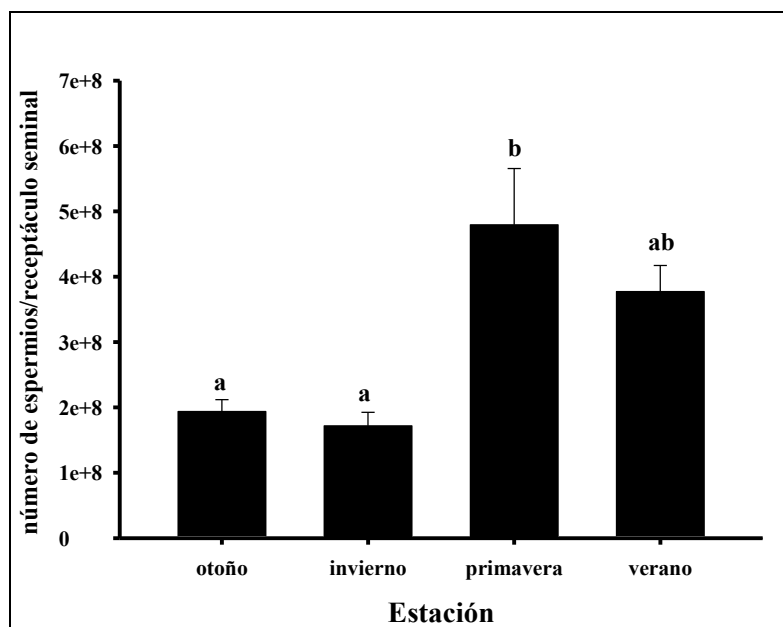
**Figura 13.** Porcentaje medio de viabilidad espermática presentadas con condición de esperma; eyaculados viejos y eyaculados frescos (mix fresco-viejo) de los ejemplares  $n$  total= 11.

### 4.3. Número de espermios contenidos en el receptáculo seminal de *M. edwardsii*

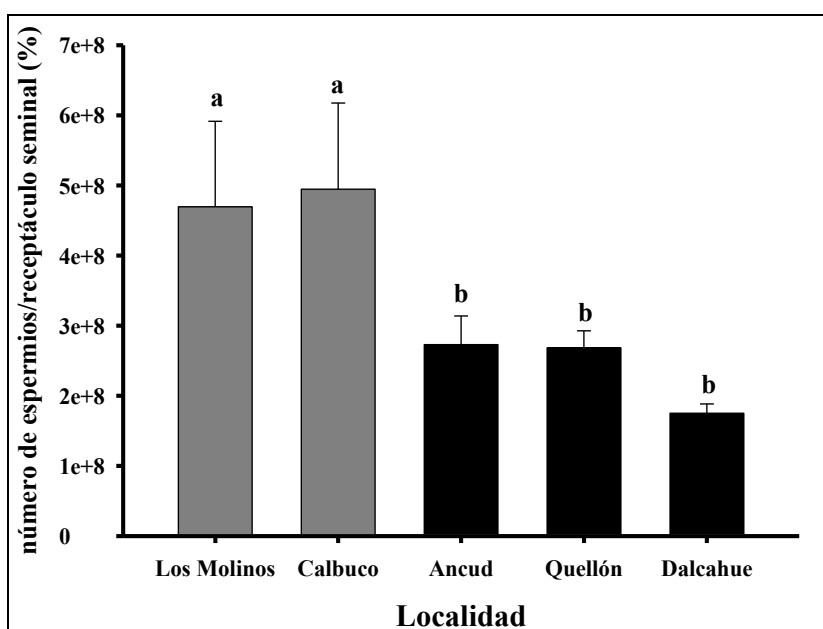
Los resultados generales del contenido en número de espermios presentes en los receptáculos seminales para hembras de *M. edwardsii* muestran la existencia de diferencias significativas entre estaciones (Figura 14) y entre localidades (Figura 15). Los datos de las variaciones temporales muestran que el mayor contenido en número de espermios se encontraría en hembras recolectadas durante la época de primavera y el menor contenido en número de espermios en invierno. En cambio, el promedio anual de las variaciones espaciales en contenido espermático; se concentraría en hembras provenientes de la localidad de Calbuco que poseen un mayor número de espermios, en contraste con la localidad de Dalcahue dónde las hembras tendrían un menor contenido de esperma en sus receptáculos.

Al asociar contenido de espermios a grados de extracción del recurso; se observa que localidades con alto índices de pesca (Ancud, Dalcahue y Quellón) tienen menos número de espermios que localidades con bajos índices de pesca (Los Molinos y Calbuco; Figura 15).

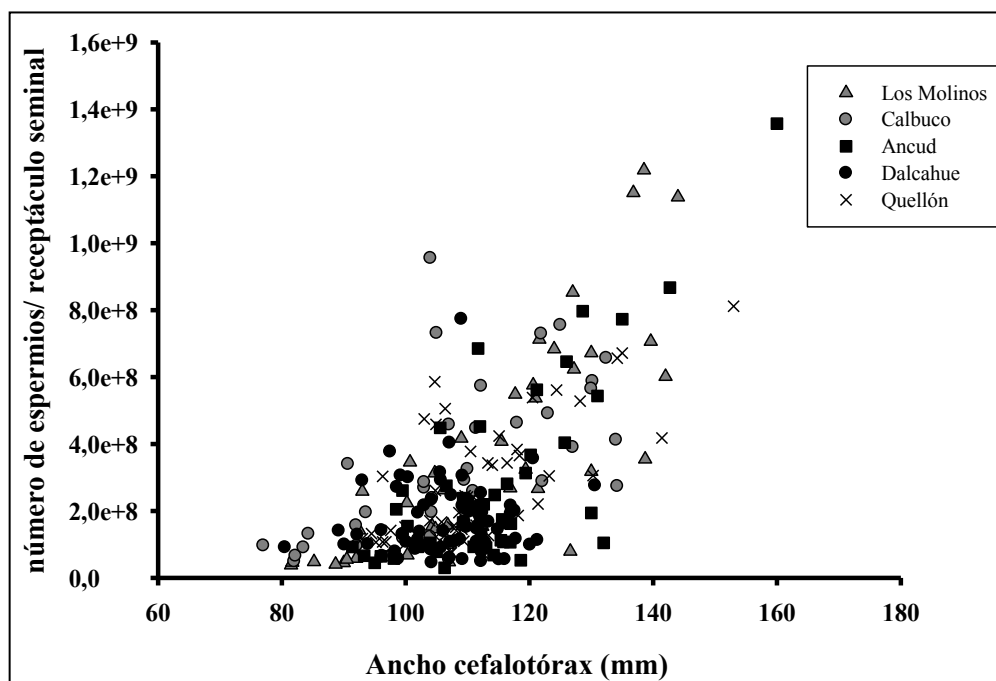
Para tener una mejor precisión de los datos y disminuir el efecto de las tallas de las hembras recolectadas sobre el contenido de espermios se aplicó un análisis de regresión lineal (con transformación ln). Este análisis muestra que la talla tiene relación positiva con el número de espermios pero baja, es decir, hembras más grandes (ancho cefalotórax) almacenan un mayor número de espermios ( $R^2=0,48$ ,  $P<0,0001$ ; Figura 16). La relación positiva muestra una curva exponencial que se ajusta a la fórmula  $Y= 0,12X^{4,54}$ .



**Figura 14.** Número de espermios por receptáculo seminal para la jaiba *Metacarcinus edwardsii*. Las barras muestran los valores promedio obtenidos durante la campaña anual. Los errores estándares son indicados para cada estación muestreada: otoño (n= 75), invierno (n=106), primavera (n=87) y verano (n=75). n: número total de individuos recolectados durante la temporada de muestreo. Prueba *a posteriori* de Fisher. Letras iguales indican ausencia de diferencias estadísticas significativas ( $P>0,05$ ) y *viceversa*.



**Figura 15.** Número de espermios por receptáculo seminal (derecho) para la jaiba *Metacarcinus edwardsii*. Las barras muestran los valores promedio obtenidos durante la campaña anual. Los errores estándares son indicados para cada localidad muestreada: Los Molinos (n= 53), Calbuco (n=52), Ancud (n=74), Dalcahue (n=89) y Quellón (n=75). n: número total de individuos recolectados durante la temporada de muestreo. Prueba *a posteriori* de Fisher. Letras iguales indican ausencia de diferencias estadísticas significativas ( $P>0,05$ ) y *viceversa*.



**Figura 16.** Gráfico que muestra la relación exponencial entre el número de espermios presentes en el receptáculo seminal de jaiba *Metacarcinus edwardsii* versus ancho cefalotórax (AC). Los valores promedios obtenidos durante la campaña anual. Los errores estándares son indicados para cada localidad muestreada: Los Molinos (n= 53), Calbuco (n=52), Ancud (n=74), Dalcahue (n=89) y Quellón (n=75). n: número total de individuos recolectados durante la temporada de muestreo.  $R^2=0.48$ .

Debido a que el efecto de la relación existente entre la talla de la hembra (AC) fue significativo y que existió una interacción entre estación y localidad; el contenido de espermios almacenados en el receptáculo seminal, se realizó un análisis de ANCOVA comparando las variables; Localidad (Figura 16), usando el AC (ln del ancho cefalotórax) como co-variable en cada estación del año.

Los resultados del ANCOVA para otoño (Tabla 5 y Figura 17) muestran que la variación de los números de espermios almacenados en los receptáculos está influenciado por la talla (AC) y por el lugar de procedencia de la hembra, estas variables influyen tanto de forma independiente como la interacción estas (Tabla 4). Las principales diferencias en el contenido de espermios entre localidades, se encontrarían en la localidad Ancud que es distinta a las otras localidades

(Los Molinos y Quellón), mientras que la localidad Dalcahue es similar a Ancud y Los Molinos pero distinta Quellón (Tabla 4 y Figura 17).

Invierno (Tabla 4) tiene la misma tendencia que la estación de otoño, las variaciones en el contenido de espermios estarían explicadas por las variables talla de la hembra y la procedencia de las mismas. Además se determinó que la localidad Calbuco tiene diferencias significativamente altas en número de espermios comparadas a las otras localidades (Tabla 4 y Figura 17).

En primavera los resultados de ANCOVA muestran que el localidad es determinante en las variaciones de número de espermios (Tabla 5 y Figura 16). En la estación de verano no se encuentran diferencias estadísticamente significativas en los factores de manera independientes, ni en la interacción de estos (Tabla 5 y Figura 16).



**Tabla 4.** Resultados del Análisis de covarianza (ANCOVA) para las estaciones otoño e invierno con comparaciones entre pares de las medias del número de espermios del receptáculo seminal de *Metacarcinus edwardssi*. Los valores significativos están indicados en negrita.

<b>ANCOVA otoño</b>				
<b>Fuente de variación</b>	<b>Df</b>	<b>Ms</b>	<b>f</b>	<b>p</b>
Localidad	3	6,815740E+16	6,97	<b>0,000</b>
AC	1	1,290998E+17	13,21	<b>0,000</b>
Localidad * AC	3	8,106941E+16	8,29	<b>0,000</b>
Error	53	9,772091E+15		

<b>Comparaciones <i>a posteriori</i> de Fisher entre grupos ( "Fisher LSD")</b>			
<b>LOCALIDAD</b>	<b>Los Molinos</b>	<b>Ancud</b>	<b>Dalcahue</b>
Los Molinos	—		
Ancud	<b>0,000</b>	—	
Dalcahue	0,130	0,080	—
Quellón	0,672	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>

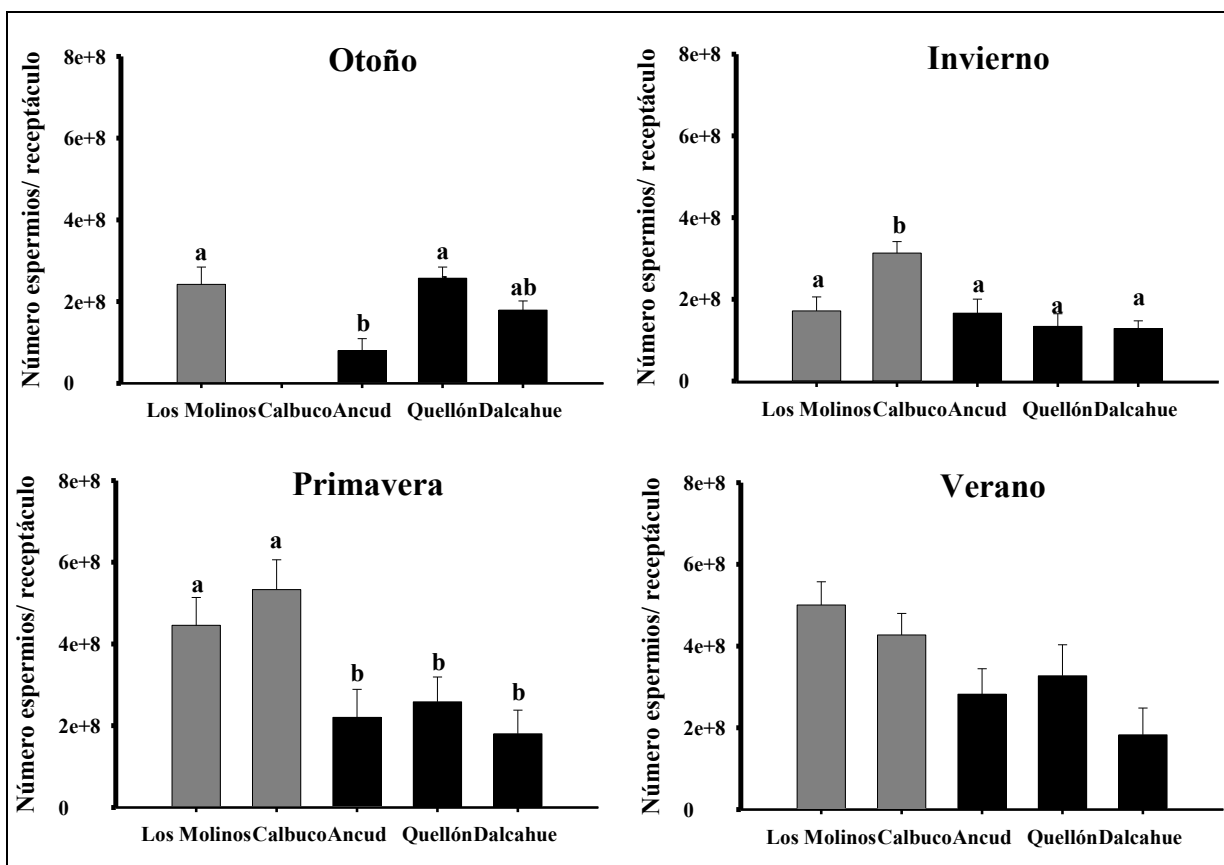
<b>ANCOVA invierno</b>				
<b>Fuente de variación</b>	<b>Df</b>	<b>Ms</b>	<b>f</b>	<b>p</b>
Localidad	4	2,624394E+16	2,82	<b>0,033</b>
AC	1	1,718060E+17	18,46	<b>0,000</b>
Localidad * AC	4	3,367054E+16	3,61	<b>0,010</b>
Error	54	9,302083E+15		

<b>Comparaciones <i>a posteriori</i> de Fisher entre grupos ( "Fisher LSD")</b>				
<b>LOCALIDAD</b>	<b>Los Molinos</b>	<b>Calbuco</b>	<b>Ancud</b>	<b>Dalcahue</b>
Los Molinos	—			
Calbuco	<b>0,003</b>	—		
Ancud	0,991	<b>0,003</b>	—	
Dalcahue	0,333	<b>0,000</b>	0,326	—
Quellón	0,451	<b>0,000</b>	0,444	0,925

**Tabla 5.** Resultados del Análisis de covarianza (ANCOVA) para las estaciones primavera y verano con comparaciones entre pares de las medias del número de espermios del receptáculo seminal de *Metacarcinus edwardsii*. Los valores significativos están indicados en negrita.

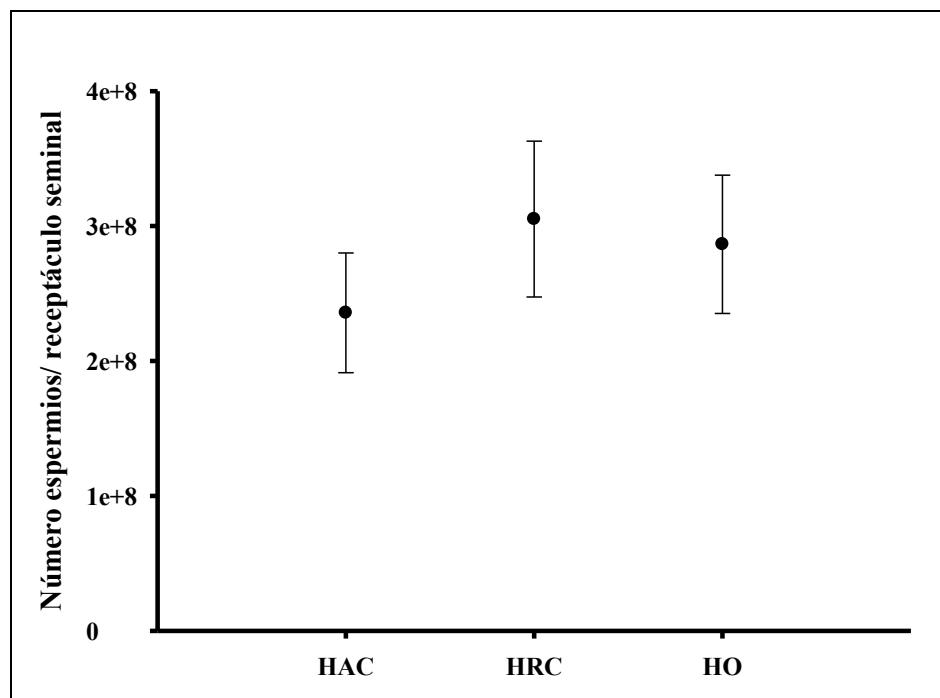
<b>ANCOVA primavera</b>				
<b>Fuente de variación</b>	<b>Df</b>	<b>Ms</b>	<b>f</b>	<b>p</b>
Localidad	4	1,513081E+17	0,71	<b>0,037</b>
AC	1	4,742651E+18	0,12	0,724
Localidad * AC	4	1,906713E+17	2,62	<b>0,042</b>
Error	245	2,021999E+17		
<b>ANCOVA verano</b>				
<b>Fuente de variación</b>	<b>Df</b>	<b>Ms</b>	<b>f</b>	<b>p</b>
Localidad	4	6,473152E+16	1,93	0,121
AC	1	1,225723E+17	3,67	0,062
Localidad * AC	4	6,329688E+16	1,89	0,128
Error	43	3,339427E+16		



**Figura 17.** Número de espermios presentes en el receptáculo seminal de *Metacarcinus edwardsii*. Las columnas representan los resultados para cada localidad muestreada: Los Molinos (n= 53), Calbuco (n=52), Ancud (n=75), Dalcahue (n=89) y Quellón (n=75). n: número total de individuos recolectados durante la temporada de muestreo. Prueba *a posteriori* de Fisher. Letras iguales indican ausencia de diferencias estadísticas significativas ( $P > 0,05$ ) y *viceversa*.

### Número de espermios asociado a condición reproductiva

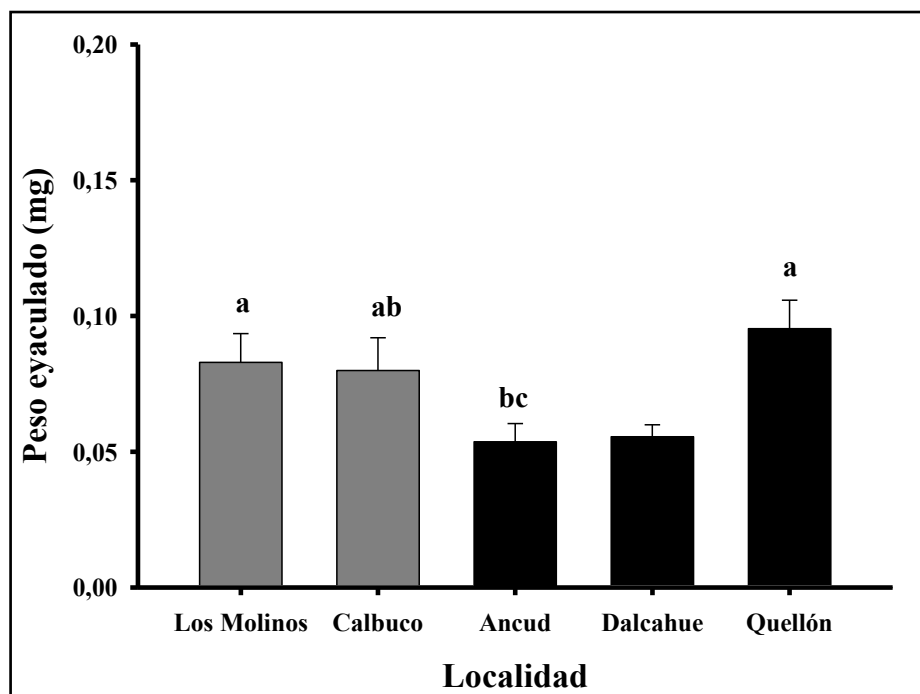
Los resultados comparativos en número de espermios no muestran diferencias significativas para hembras según su condición reproductiva ( $F=0.55$ ,  $P=0,57$ ,  $N=127$ , Figura 18); hembras antes de cópula con estado desarrollo gonadal 3 (HAC) poseen un menor número de espermios  $2,3 \times 10^8$  (ES=44352315), mientras que hembras recién copuladas (HRC) con estado de desarrollo gonadal 4-5 y presencia tapón espermático muestran el contenido de espermios más altos  $3,0 \times 10^8$  (ES=57760163), seguido en un  $2,8 \times 10^8$  (ES= 51273671) para hembras ovígeras en estado ovígera y desarrollo gonadal 6 (HO).



**Figura 18.** Número de espermios por receptáculo seminal para; hembras antes de la cópula (HAC) n=31, hembras recién copuladas (HRC) n=76, y hembras ovígeras (HO) n=26.

#### 4.4. Peso del eyaculado presente en el receptáculo seminal de *M. edwardsii*

Al comparar los resultados del peso promedio anual de los eyaculados almacenados en los receptáculos seminales de hembras de la jaiba Marmola, muestran diferencias en contenido por localidad ( $P= 0.01$ ; Figura 19). Estas diferencias no están asociadas grados de explotación pesquera, que en la localidad de Quellón (altos índices de pesca) exhibe los valores más altos en peso eyaculado (Figura 19).



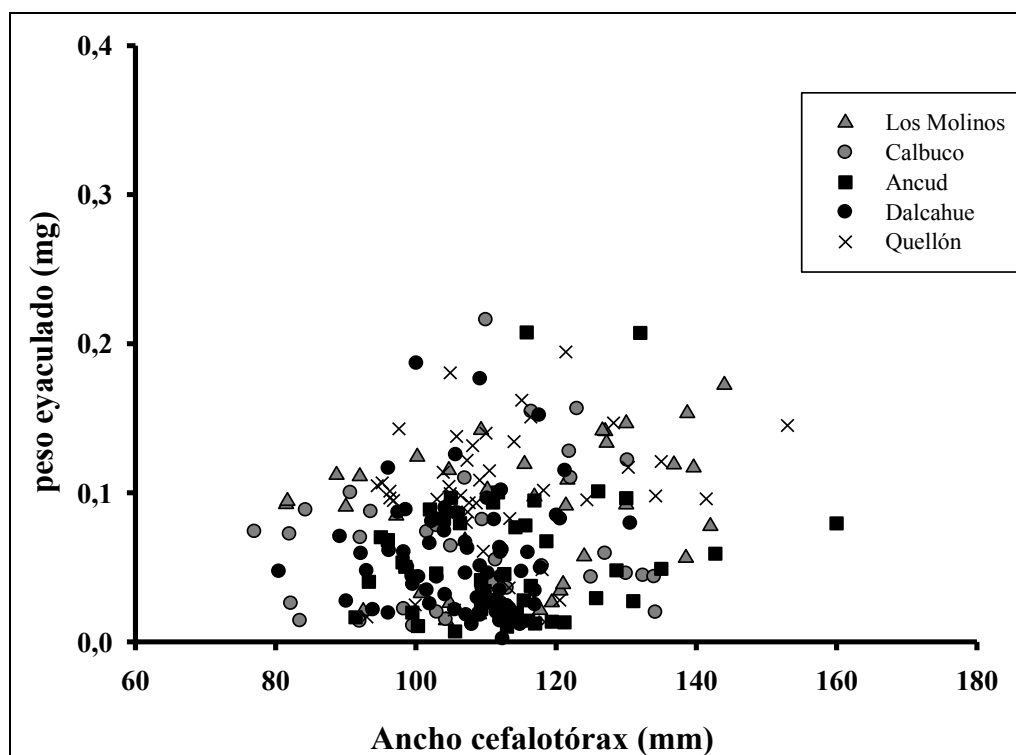
**Figura 19.** Peso eyaculado por receptáculo seminal para la jaiba *Metacarcinus edwardsii*. Las barras muestran los valores promedios obtenidos durante la campaña anual. Los errores estándares son indicados para cada localidad muestreada: Los Molinos (n= 53), Calbuco (n=52), Ancud (n=74), Dalcahue (n=89) y Quellón (n=75). n: número total de individuos recolectados durante la temporada de muestreo. Prueba *a posteriori* de Fisher. Letras iguales indican ausencia de diferencias estadísticas significativas ( $P>0,05$ ) y viceversa.

Al asociar el peso del eyaculado de *M. edwardsii* de cada localidad con el ancho del cefalotórax (Figura 20.) se muestra una relación significativa ( $P= 0.01$ ,  $R=0.16$ ). Sin embargo, el coeficiente de correlación es muy bajo, lo que no implica que la talla influya en el contenido del eyaculado.

Al determinar que el factor talla tiene relación muy baja con variable peso eyaculado se descartó este factor como co-variable. Entonces, para determinar las eventuales diferencias entre las localidades por estación de muestreo, se realizó un ANDEVA Factorial para las distintas estaciones (Tabla 6). En la estación de otoño no se detectan diferencias significativas entre localidades en cuanto a contenido de eyaculado. En cambio, para la estación de invierno si se

observan diferencias en peso de eyaculado entre las localidades sin ninguna tendencia asociada a grados de extracción pesquera (Tabla 6, Figura 21).

Para la época de primavera las diferencias estuvieron representadas en las localidades; Los Molinos, Calbuco y Quellón que fueron mayor a las localidades Ancud y Dalcahue (Tabla 7, Figura 21). En verano, sólo la localidad de Calbuco es distinta y con pesos de eyaculados más altos que las otras localidades (Tabla 7, Figura 21).



**Figura 20.** Gráfico que muestra la relación entre el peso del eyaculado presentes en el receptáculo seminal de jaiba *Metacarcinus edwardsii* versus ancho cefalotórax (AC). Los valores promedios obtenidos durante la campaña anual. Los errores estándares son indicados para cada localidad muestreada: Los Molinos (n=53), Calbuco (n=52), Ancud (n=74), Dalcahue (n=89) y Quellón (n=75). n: número total de individuos recolectados durante la temporada de muestreo.  $R^2=0.16$ .

**Tabla 6.** Resultados del Análisis de varianza factorial (ANDEVA) para las estaciones otoño e invierno con comparaciones entre pares de las medias del número de peso eyaculado del receptáculo seminal de *Metacarcinus edwardssi*. Los valores significativos están indicados en negrita.

<b>ANDEVA otoño</b>				
<b>Fuente de variación</b>	<b>Df</b>	<b>Ms</b>	<b>f</b>	<b>p</b>
Localidad	3	0,009918	2,1935	0,098701
Error	57	0,004522		
<b>ANDEVA invierno</b>				
<b>Fuente de variación</b>	<b>Df</b>	<b>Ms</b>	<b>f</b>	<b>p</b>
Localidad	4	0,019737	14,1127	<b>0,000000</b>
Error	59	0,001399		
<b>Comparaciones entre grupos desiguales ( "unequal N HSD" )</b>				
<b>LOCALIDAD</b>	<b>Los Molinos</b>	<b>Calbuco</b>	<b>Ancud</b>	<b>Dalcahue</b>
Los Molinos	—			
Calbuco	<b>0,000000</b>			
Ancud	0,096406	<b>0,001000</b>		
Dalcahue	<b>0,001701</b>	<b>0,000142</b>	0,235245	
Quellón	0,975079	<b>0,000000</b>	0,075039	<b>0,000626</b>

**Tabla 7.** Resultados del Análisis de varianza factorial (ANDEVA) para las estaciones primavera y verano con comparaciones entre pares de las medias del número de peso eyaculado del receptáculo seminal de *Metacarcinus edwardssi*. Los valores significativos están indicados en negrita.

<b>ANDEVA primavera</b>				
<b>Fuente de variación</b>	<b>Df</b>	<b>Ms</b>	<b>f</b>	<b>p</b>
Localidad	4	0,018083	4,76	<b>0,001</b>
Error	77	0,003791		

<b>Comparaciones entre grupos desiguales ( "unequal N HSD" )</b>				
<b>LOCALIDAD</b>	<b>Los Molinos</b>	<b>Calbuco</b>	<b>Ancud</b>	<b>Dalcahue</b>
Los Molinos	—			
Calbuco	0,826	—		
Ancud	<b>0,025</b>	0,051	—	
Dalcahue	<b>0,021</b>	<b>0,047</b>	0,876	—
Quellón	0,317	0,232	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>

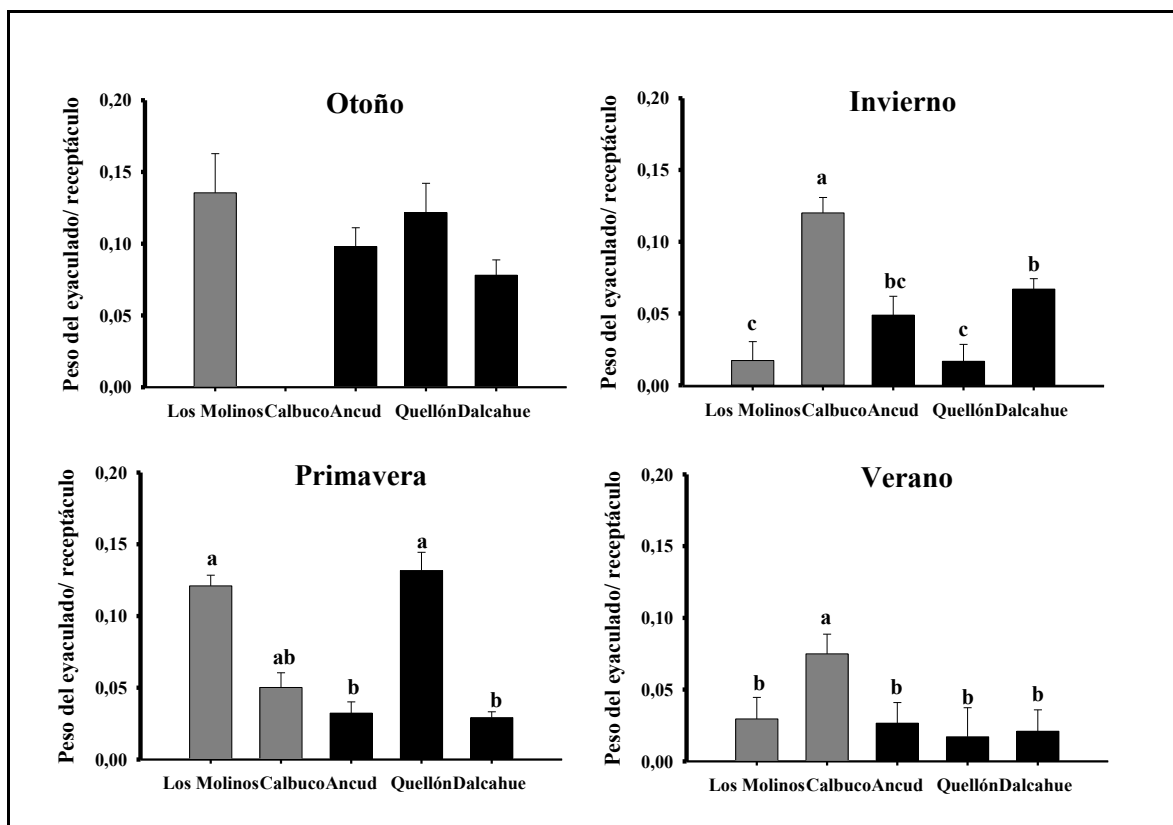
  

<b>ANDEVA verano</b>				
<b>Fuente de variación</b>	<b>Df</b>	<b>Ms</b>	<b>f</b>	<b>p</b>
Localidad	4	0,006435	2,60	<b>0,047</b>
Error	48	0,002467		

<b>Comparaciones entre grupos desiguales ( "unequal N HSD" )</b>				
<b>LOCALIDAD</b>	<b>Los Molinos</b>	<b>Calbuco</b>	<b>Ancud</b>	<b>Dalcahue</b>
Los Molinos	—			
Calbuco	<b>0,030</b>	—		
Ancud	0,887	<b>0,019</b>	—	
Dalcahue	0,685	<b>0,010</b>	0,786	—
Quellón	0,624	<b>0,022</b>	0,704	0,880





**Figura 21.** Peso del eyaculado presente en el receptáculo seminal de la jaiba *Metacarcinus edwardsii*. Las columnas representan los resultados para cada localidad muestreada: Los Molinos (n= 53), Calbuco (n=52), Ancud (n=75), Dalcahue (n=89) y Quellón (n=75). n: número total de individuos recolectados durante la temporada de muestreo. Prueba *a posteriori* de Fisher.

## 5. Discusión

Los resultados obtenidos en la calidad de espermios almacenados en el receptáculo seminal de la jaiba comercial *Metacarcinus edwardsii*, con la metodología empleada, indican que en general los espermios tienen alta viabilidad, presentando muy baja variabilidad por receptáculo, lo cual quedó demostrado en el análisis general y estacional de los datos.

Los valores más altos de viabilidad espermática coinciden con la época de apareamiento de esta especie (primavera-verano), cuando las hembras han sido copuladas recientemente, por tanto portan reservas espermáticas frescas. Además, los valores más bajos corresponden a las hembras ovígeras, donde se han utilizado las reservas espermáticas para la fecundación de los ovocitos (otoño-invierno) (Pardo *et al.*, 2013). Cabe destacar que la diferencia entre primavera – verano y otoño – invierno es aproximadamente del 10%, demostrando una vez más la gran capacidad de los receptáculos seminales para poder almacenar de forma eficiente los espermios (Mclay & López Greco, 2011).

Los espermios remanentes luego del desove llegan a un 85,7 % de viabilidad pero no disminuyen en número de forma significativa. Al no ser móviles, los espermios de jaibas deberían activarse solo cuando los ovocitos pasan a través del receptáculo, y dado que la conexión con el oviducto en esta especie es ventral muy cerca de la vagina (Pardo *et al.*, 2013), el número de espermios utilizados y activados parece ser muy bajo.

Los resultados del experimento manipulativo, muestran nuevamente las cualidades del receptáculo seminal para brindar protección a los espermios, ya que espermios de al menos un año presentan viabilidades similares a los recién transferidos. Esto parece transversal en otras especies de jaibas, donde la fecundidad de la hembra no se ve afectada por el tiempo de almacenaje de los espermios (Nagao & Munehara, 2007). En esta misma línea, otras especies de

Cancridos, como *Cancer magister* ha mostrado fecundar masas de huevos sin necesidad de renovar sus reservas de espermios hasta por 2.5 años (Hankin *et al.*, 2003) o poder fecundar varias masas de huevos en un año, como el caso de *Romaleon polyodon* (Fisher, 2008).

Al observar la calidad espermática asociada a tallas corporales (ancho de cefalotórax) se muestra una respuesta diferente a lo esperado, al suponer que hembras más grandes tendrían reservas espermáticas menos viables que hembras pequeñas, asociado a dificultad de apareamiento por extracción de macho más grande (*e.g.* efecto explotación pesquera) (Pardo *et al.*, 2015). Tal como se menciona anteriormente, la estructura especializada en almacenar los espermios traspasados por el macho es capaz de mantener viable los espermios por períodos prolongados de tiempo, por lo que hembras aún sin ser copuladas en los últimos periodos deberían tener espermios viables. La alta capacidad de almacenaje debido al grado de elasticidad de receptáculo seminal, se ha asociado a la presencia de tejido conjuntivo flexible y epitelio glandular para especies de crustáceos Cancridos (Diesel, 1989). Hembras de la especie *Inachus phalangium* cuando aún no se han apareado poseen receptáculos en forma de pequeñas bolsas de 1-2 mm de largo. Con el tiempo, cuando se llenan estos receptáculos pueden alcanzar pesos de eyaculados cercanos al peso del ovario, eyaculados provenientes de ocho o más cópulas (Diesel, 1988; 1989).

¿Cómo el receptáculo es tan eficiente en la mantención de los espermios vivos? Una de las causas es que en estas estructuras reproductivas se ha descrito la presencia de sustancias como pigmentos de melanina que tendría función bactericida (Wolke *et al.*, 1985; Jensen *et al.*, 1996), comúnmente descrita para receptáculos seminales de Braquiuros (Subramoniam, 1993) y que también están presentes en la especie de estudio (Pardo *et al.*, 2015: y Fig. 6 en este estudio). Se le atribuye además un rol de agente anti-oxidativo reabsorbiendo los radicales libres que se

producen durante el metabolismo (Bianchini & Monserrat, 2007). También, se han descrito sustancias residuales *i.e.* donde enzimas secretadas por el tejido glandular desintegrarían paquetes de espermios viejos (Beninger *et al.*, 1988).

Kendall & Wolcott (2001) mencionan que el fluido seminal tendría un papel clave en la mantención de los espermios y a que contiene gran cantidad de sustancias orgánicas y que son usadas para el metabolismo del esperma (Subramoniam, 1991; Rorandelli *et al.*, 2008). Wolcott (2005) evidencia que el fluido seminal es abundante en hembras recién copuladas, pero empieza a disminuir a medida que la hembra avanza en su ciclo reproductivo *e.g.* en la especie *Callinectes sapidus* tiene un periodo total de aproximadamente tres semanas. Por consiguiente, estas sustancias y estructuras especializadas pueden ser clave en la evolución o desarrollo de estrategias reproductivas de la especie para mantenerse y adecuarse a los cambios ambientales. La ventaja de almacenar espermios en estructuras especializadas por periodos prolongados, disminuyen los costos energéticos y fisiológicos, separando dos procesos altamente costosos como son la muda y la reproducción, obteniendo ventajas para un exitoso proceso de fecundación (Sandell 1990; Crichton, 2000).

Si bien es importante saber sobre la cantidad potencial de reservas disponibles para traspasar a la hembra bajo escenarios de perturbación (Pardo *et al.*, 2015), también, es necesario conocer qué cantidad de estos espermios logra fecundar los ovocitos. Pardo *et al.*, (2015) describe los estados de las reservas espermáticas en machos de la especie *M. edwardsii* bajo distintos escenarios de pesca, la cual es significativamente afectada por la pesquería. Localidades con alto grado de extracción tienen valores más bajos en el peso del vaso deferente e índice vaso-somático que localidades control (baja pesca). Sin embargo, no se conocía hasta ahora si estos efectos eran traspasados a las reservas de las hembras. En este estudio si se observan diferencias de las

reservas espermáticas anuales al comparar las localidades por categoría de extracción pesquera, es decir, el macho estaría traspasando menores reservas espermáticas en las localidades más explotadas (Ancud, Dalcahue y Quellón), ya que en las localidades con baja pesca (Los Molinos y Calbuco) las hembras tendrían aproximadamente el doble de reservas espermáticas en sus receptáculos que en localidades con alta pesca, notoriamente marcado en las épocas reproductivas (primavera y verano).

La estacionalidad de las reservas espermática están muy marcadas y coinciden con los eventos reproductivos propio de la especie, descritos para estas latitudes (Brante *et al.*, 2003; Pardo *et al.*, 2013). Sin embargo, se observan pequeña variaciones en los máximos estacionales. Los patrones reproductivos presentan un desfase estacional marcado para hembras provenientes de las localidades Los Molinos y Calbuco donde el máximo en el contenido de reservas se presentan en primavera, en tanto que para localidades ubicadas en Chiloé (Ancud, Dalcahue y Quellón) en verano. Aun así, estas últimas localidades mantienen sus reservas espermáticas más o menos constante en el tiempo.

Generalmente, la talla (AC) de los individuos es asociada con el contenido de espermios, ya que las hembras más grandes tienen una capacidad de almacenaje mayor que hembras más pequeña (*i. e.* la capacidad alométrica) (Hines, 1982). Lo que no queda muy claramente descrito en este estudio, a pesar que se observa una correlación positiva entre estos factores, la relación aparente es baja pero es determinante para la estaciones invierno y primavera. Es decir, en estas estaciones las variaciones en longitud de los ejemplares de *M. edwardsii* determinan la variabilidad del contenido espermático en los receptáculos de las hembras procesadas por localidad.

Sin embargo, al comparar los pesos de los eyaculados de cada receptáculo seminal, no se observan ninguna relación aparente con la talla del ejemplar, a pesar de que eyaculado es todo el material que es traspasado por el macho tanto en espermátóforos (paquetes de esperma) como líquido seminal, y en conjunto tienen un importante rol y está demostrado que tanto el número de espermios traspasados y la cantidad de fluido seminal, varían notoriamente entre especies y conductas reproductivas. En la especie *Scylla serrata* el plasma seminal contiene gran cantidad de sustancias orgánicas utilizadas para el metabolismo del esperma y es fundamental para mantener la viabilidad de los espermios en el tiempo (Subramoniam, 1993); lo que no sucede en la especie *Callinectes sapidus* (Wolcott et al., 2005). Esto permite inferir que los machos son capaces de manipular la cantidad de fluido seminal que transfieren a las hembras ya sea para preservar sus espermios, disminuir la competencia u optimizar sus recursos reproductivos. En una especie de arácnido el macho puede manipular su fitness reproductivo, ajustando su conducta de apareamiento, si detecta que la hembra no es virgen (Triberg, 1972; Jones & Elger, 2008). En el crustáceo *Inachus phalangiium* existe la presencia de un velum (característica de receptáculos más complejos) que separa la cámara de inseminación durante la oviposición como posible control de la cantidad de esperma que es usado durante el desove (Diesel, 1989). Escenarios donde los machos podrían pasar un mayor contenido de líquido seminal, que en las otras zonas donde machos se aparean con una mayor frecuencia y reiteradas veces, por tanto no alcanzan a reestablecer sus reservas espermáticas completas.

La variabilidad de éstas reservas en los distintos estados reproductivos de la especie no muestran grandes diferencias significativas, pero si se observa diferencia significativa en el número de espermios en hembras con cópula reciente (presencia de tapón espermático) y hembras ovígeras. Disminución biológicamente explicable, ya que existe una pérdida de

espermios después de la cópula cuando son ocupados por la hembra para fecundar sus ovocitos (6.6 %), también se observa que después del estado ovígera viene el estado HAC donde existe una pérdida de espermios cercana del 17,8 % aproximadamente que apoya los otros estudios que sugieren que existe reabsorción de espermios.

La especie *Metacarcinus edwardsii*, es un buen modelo de estudio para evaluar los efectos de la pesca intensiva, sobre la dinámica de vida de una especie. Permite medir indirectamente los efectos reproductivos en poblaciones con desproporción sexual, por el estado de los gametos y el grado de fecundidad de éstos. En sí, la calidad de los espermios en esta especie no se ve aún afectada por eventos antropogénicos de ninguna índole, pero si presenta las variaciones en el número disponible para usar en el proceso de fecundación. *M. edwardsii* posee espermios almacenados viables, lo que aumenta la probabilidad de una inseminación exitosa potencial de ovocitos, y una disminución en el contenido total de espermios, la cual se observa en este estudio bajo distintos escenarios de pesca, lo que representa riesgo de limitación espermática.

El desarrollo de estructuras de almacenamiento de esperma pueden ser consideradas como un mecanismo seguro, que permite a la hembra maximizar la probabilidad de éxito de embriones después de la fecundación (Beninger *et al.*, 1993). Sin embargo, el almacenamiento de esperma en circunstancias normales para la especie *Chionoecetes bairdino* no es el mejor camino para la fertilización, debido a que en algunas ocasiones una sola inseminación es insuficiente para un segundo clúster de huevos exitosos (Paul & Paul, 1984). Pero también, se puede almacenar espermios provenientes de más de un macho (conductas observadas en *M. edwardsii*) para fecundar ovocitos de más de un desove, esto también ocurre en especies de Majidae (Krol *et al.*, 1992), lo cual, resulta beneficioso en sistemas donde existe baja probabilidad de encontrar un macho maduro en el mismo período que la hembra (Bauer & Martin, 1991) como esta especie

perteneciente a localidades con poblaciones fuertemente explotadas y con alta tendencia a la promiscuidad (Pardo *et al.*, 2016).

### **Conclusión**

La pesca selectiva de la jaiba comercial *Metacarcinus edwardsii*, tiene un efecto sobre la cantidad pero no la calidad de espermios almacenados en los receptáculos seminales. Esto significa que la transferencia de gametos por parte de los machos esta siendo afectada más que la capacidad de la hembra de mantener los espermios viables. Es más, se destaca el receptáculo seminal como una estructura reproductiva muy eficiente en mantener los espermios vivos. Este estudio evidencia la necesidad de un monitoreo permanente del éxito reproductivo (fecundidad de las hembras) en las poblaciones explotadas de esta y otras especies de crustáceos con pesca sesgada hacia los machos, para la detección de eventuales limitaciones espermáticas en el proceso de reproducción.



## 6. Bibliografía

- Anderson, S., Flemming, J., Watson, R., & Lotze, H. (2011). Rapid global expansion of invertebrate fisheries: trends, drivers, and ecosystem effects. *PLOS one*, 6, 4735.
- Aranda, E., Lizama, G., Nilo, M., Ortiz, J., Badilla, M., & Mendoza, G. (1984). Perfil indicativo del recurso jaiba. Ubicación (Código IFOP).
- Barahona, N., Olguín, A., Vicencio, C., Pezo, V., Young, Z., Nilo, M., Palta, E., Ortego, M., Miranda, H., Gálvez, P., Romero, C. & Toledo C. (2003). Investigación situación pesquerías bentónicas 2002. Informe Final. IFOP. 138 pp.
- Bauer, R., & Martin, J. (1991). Crustacean sexual biology. Columbia University Press, New York. 351pp.
- Beninger, P., Elner, R., Foyle, T., & Odense, P.(1988). Functional anatomy of the male reproductive system and the female spermatheca in the snow crab *Chionoecetes opilio* (O. Fabricius) (Decapoda: Majidae) and a hypothesis for fertilization. *Journal of Crustacean Biology*, 8, 322–332
- Bianchini, A. & Monserrat, J. (2007). Effects of methyl parathion on *Chasmagnathus granulatus* hepatopancreas: Protective role of Sesamol. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67, 100–108.
- Brante, A., Fernández, M., Eckerle, L., Mark, F., & Pörtner, H. (2003). Reproductive investment in the crab *Cancer setosus* along a latitudinal cline: egg production, embryo losses and embryo ventilation. *Marine Ecology Progress Series*, 251, 221–232.
- Christy, J. (1987). Competitive mating, mate choice and mating associations of Brachyuran crabs. *Bulletin of Marine Science*, 41, 177-191.

Cobb, J., & Caddy, J. (1989). The population biology of decapods. Marine invertebrate fisheries: their assessment and management, John Wiley & Sons, USA. 327pp.

Crichton, E. (2000). Sperm storage and fertilization. In: Crichton, E.G., Krutzsch, P.H. (Eds.), Reproductive Biology of Bats. Academic Press, London. 25 pp.

Crisp, D. (1984). Overview of research on marine invertebrate larvae, 1940–1980. En: Costlowand JD & Tipper RC (eds.), Marine biodeterioration: An interdisciplinary study. U.S. Naval Institute, Annapolis. 22 pp.

Defives, C., Guyard, S., Oularé, M., Mary, P., & Hornez, J. (1999). Total counts, culturable and viable, and non-culturable microflora of a French mineral water: a case study. *Journal of Applied Microbiology*, 86, 1033-1038.

Dewsbury, D. (1982). Ejaculate cost and male choice. *The American Naturalist*, 119: 601-610.

Diesel, R. (1988) Male-female association in the spider crab *Inachus phalangium*: the influence of female reproductive stage and size. *Journal of Crustacean Biology*, 8, 63-69.

Diesel, R. (1989) Structure and function of the reproductive system of the symbiotic spider crab *Inachus phalangium* (Decapoda: Majidae): observations on sperm transfer, sperm storage, and spawning. *Journal of Crustacean Biology*, 9, 266-277.

Diesel, R. (1991). Sperm competition and the evolution of matting behavior in Brachyura, with special reference to spider crabs (Decapoda, Majidae). Raymond T. Bauer & Joel W. Martin Edition. Columbia University Press. 15 pp.

Fischer, S., & Thatje, S. (2008). Temperature-induced oviposition in the brachyuran crab *Cancer setosus* along a latitudinal cline: aquaria experiments and analysis of field-data. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 357, 157-164.

- Goldstein, M. & Dupré, E. (2010). Sistema reproductivo de hembras y machos en *Cancer setosus* (Molina, 1782) (Decapoda: Brachyura). *Latin American Journal of Aquatic Research*, 38, 274-280.
- González-Pisani, X., Baron, P., & Lopez Greco, L. (2012): Functional anatomy of the female reproductive systems of two spider crabs (Decapoda, Majoidea). *Invertebrate Biology*, 131, 61-74.
- Gosselin, T., Sainte-Marie, B., & Bernatchez L. (2005). Geographic variation of multiple paternity in the American lobster, *Homarus americanus*. *Molecular Ecology*, 14, 1517-1525.
- Hackett, S., Krachey, M., Dewees, C., Hankin, D., and Sortais, K. (2003). An economic overview of Dungeness crab (*Cancer magister*) processing in California. *California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations Report*, 86-93.
- Hankin, D. (1997). Does intense fishing on males impair mating success of female Dungeness crabs?. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54, 655-669.
- Hartnoll, R. (1968). Morphology of the genital ducts in female crabs. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 47, 279-300.
- Hartnoll, R. (1969). Mating in the Brachyura. *Crustaceana*, 16, 161- 181.
- Hines, A. (1982). Allometric constraints and variables of reproductive effort in brachyuran crabs. *Marine Biology*, 69, 309-320.
- Hines, A., Jivoff, P., Bushmann, P., van Montfrans, J., Reed, S., Wolcott, D. & Wolcott, T. G. (2003). Evidence for sperm limitation in the blue crab, *Callinectes sapidus*. *Bulletin of Marine Science*, 72, 287-310.

Jensen, P., Orensanz, J., & Armstrong D. (1996). Structure of the female reproductive tract in the Dungeness crab (*Cancer magister*) and implications for the mating system. *The Biological Bulletin*, 190, 336-349.

Jones, T., & Elgar, M. (2008). Male insemination decisions and sperm quality influence paternity in the golden orb-weaving spider. *Behavioral Ecology*, 19, 285-291.

Kendall, M., Wolcott, D., Wolcott, T., & Hines, A. (2001). Reproductive potential of individual male blue crabs, *Callinectes sapidus*, in a fished population: depletion and recovery of sperm number and seminal fluid. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 1177, 1168-1177.

Kendall, M., Wolcott, D., Wolcott, T., & Hines, A. (2002). Influence of male size and mating history on sperm content of ejaculates of the blue crab *Callinectes sapidus*. *Marine Ecology Progress Series*, 230, 235-240.

Krol, R., Hawkings, W. & Overstreet, R. (1992). Reproductive components. Microscopy and anatomy of invertebrates. Decapod Crustacean. Wiley-Liss, New York. 45 pp.

Kuparinen, A., & Merilä. J. (2007). Detecting and managing fisheries- induced evolution. *TRENDS in Ecology and Evolution*, 22, 652-659.

Law, R. (2007). Fisheries-induced evolution: present status and future directions. *Marine Ecology Progress series*, 335, 271-277.

McEdward, L.R. (2000). Adaptive evolution of larvae and life cycles. *Seminars Cell Devel. Biology*, 11, 403-409.

McLay, C., & López Greco, L. (2011). A hypothesis about the origin of sperm storage in the Eubrachyura, the effects of seminal receptacle structure on mating strategies and the evolution of

crab diversity: How did a race to be first become a race to be last? *Zoologischer Anzeiger. A Journal of Comparative Zoology*, 250, 378-406.

Muñoz, C., Pardo, L., Henriquez, L. & Palma, A. (2006). Variaciones temporales en la composición y abundancia de cuatro especies de *Cancer* (Decapoda: Brachyura: Cancridae) capturadas con trampa en bahía San Vicente, Concepción (Chile Central). *Investigaciones Marinas*, 34, 9-21.

Nagao, J., & Munehara, H. (2007). Characteristics of broods fertilized with fresh or stored sperm in the helmet crab *Telmessus cheiragonus*. *Journal of Crustacean Biology*, 27, 565-569.

Olguín, A., Barahona, N., Bernal, C., Young, Z., Orensanz, J., Montenegro, C., Quiroz, J., Toledo, C., Baez, P., & Bahamonde, R. (2006). Monitoreo de la pesquería artesanal de jaibas en la X y XI Regiones. Final report FIP 2004-16. 114 pp.

Orensanz, J., Parma, A., Armstrong, D., Armstrong, J., & Wardrup, P. (1995). The breeding ecology of *Cancer gracilis* (Crustacea: Decapoda: Cancridae) and the mating systems of cancrid crabs. *Journal of Zoology*, 235, 411-437.

Overstreet, R., Heard, R., & Lotz, J. (1992). *Microphallus fonti* sp. n. (Digenea: Microphaliidae) from the red swamp crawfish in southern United States. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87, 175-178.

Paul, A., & Paul, J. (1992). Second clutch viability of *Chionoecetes bairdi* Rathbun (Decapoda: Majidae) inseminated only at the maturity molt. *Journal of Crustacean Biology*, 12: 438–441.

Pardo, L., Fuentes, J., Olguín, A. and Orensanz, J. (2009). Reproductive maturity in the edible Chilean crab *Cancer edwardsii*: methodological and management considerations. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 89, 1627-1634.

Pardo, L., Riveros, M., Fuentes, J., and López Greco, L. (2013) Functional morphology of the seminal receptacle in the crab *Metacarcinus edwardsii*. *Invertebrate Biology*, 132, 386-393.

Pardo, L., Rosas, Y., Fuentes, J., Riveros, M., & Chaparro, O. (2015). Fishery induces sperm depletion and reduction in male reproductive potential for crab species under male-biased harvest strategy. *PloS one*, 10, e0115525.

Pardo *et al.*, (2016) An effective sperm competition avoidance strategy in crabs drives genetic monogamy despite evidence of polyandry. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, in press.

Pool, H., & Canales, C. (1996). Investigación optimización stock jaiba vía rendimiento por recluta. Ubicación (Código IFOP): 960014.

Prager, M., McConaughy, J., Jones, C. & Geer, P. (1990). Fecundity of blue crab, *Callinectes sapidus*, in Chesapeake Bay: biological, statistical and management considerations. *Bulletin of Marine Science*, 46, 170-179.

Rorandelli, R., Paoli, F., Cannicci, S., Mercati, D., & Giusti, F. (2008). Characteristics and fate of the spermatozoa of *Inachus phalangium* (Decapoda, Majidae): description of novel sperm structures and evidence for an additional mechanism of sperm competition in Brachyura. *Journal of Morphology*, 269, 259–271.

Rodgers, P., Reaka, M., & Hines, A. (2011). A comparative analysis of sperm storage and mating strategies in five species of brachyuran crabs. *Marine Biology*, 158, 1733-1742.

Rodríguez, J., & Ramirez, A. (2007). Expression of the GM-CSF receptor in ovine spermatozoa: GM-CSF effect on sperm viability and motility of sperm subpopulations after the freezing–thawing process. *Theriogenology*, 67, 1359-1370.

Sainte-Marie, B., Sévigny, J. & Carpentier, M. (2002). Interannual variability of sperm reserves and fecundity of primiparous females of the snow crab (*Chionoecetes opilio*) in relation to sex ratio. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59, 1932-1940.

Sandell, M. 1990. The evolution of seasonal delayed implantation. *Quarterly Review of Biology*, 65, 23-42.

Sato, T., & Goshima, S. (2007). Effects of risk of sperm competition, female size, and male size on number of ejaculated sperm in the stone crab *Hapalogaster dentata*. *Journal of Crustacean Biology*, 27, 570-575.

Subramoniam, T. (1991). Chemical composition of spermatophores in decapod crustaceans. In *Crustacean sexual biology*. R. T. Bauer and J.W. Martin Edition. Columbia University Press, New York. 13 pp.

Subramoniam, T. (1993). Spermatophores and sperm transfer in marine crustaceans. *Advances in Marine Biology*, 29, 129-214.

Tavares, M. & Secretan, S. (1993). La notion de thelycum et de spermathèque chez les Crustacés Décapodes. *Sciences de la vie*, 316, 133-138.

Trivers, R. (1972). Parental investment and sexual selection. In: Campbell B, editor. *Sexual selection and the descent of man, 1871–1971*. Chicago: Aldine-Atherton.

Waddy, S. & Aiken, D. (1986). Multiple fertilization and consecutive spawning in large American lobsters, *Homarus americanus*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 43, 2291-2294.

Wolcott, D., Hopkins, C. & Wolcott, T. (2005). Early events in seminal fluid and sperm storage in the female blue crab *Callinectes sapidus* Rathbun: Effects of male mating history, male size, and season. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 319, 43-55.

Wolke, R., George, K., & Blezer, V. (1985). The accumulation of pigmented macrophage, a possible index of the health of fish. *Journal of Applied Ichthyology*, 25, 62-69.