

Efecto de medicamentos homeopáticos de uso humano en la maduración sexual de reproductores de ostión americano *Crassostrea virginica* Effect of homeopathic medicines for human use on the sexual maturation of american oyster *Crassostrea virginica* broodstock

José Manuel Mazón-Suástegui¹, Milagro García-Bernal^{1,2}, Guadalupe Fabiola Arcos-Ortega¹, Jorge Luis Tordecillas-Guillén³, Ulysses Barajas-Ponce³, Carmen Rodríguez-Jaramillo¹, Abel Betanzos-Vega⁴.

¹Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR). Mar Bermejo 195, Col. Playa Palo de Santa Rita, La Paz, B.C.S., México CP23090

²Centro de Bioactivos Químicos. Universidad central de Las Villas (UCLV-CBQ). Carretera a Camajuaní km 5½. Santa Clara, Villa Clara, Cuba CP54830

³Centro Ostrícola Tecnológico de Tabasco (COTET). Carretera Costera del Golfo Magallanes-Paraíso s/n. Ejido San Rafael, CP-86500 Cárdenas, Tabasco, México

⁴Centro de Investigaciones Pesqueras (CIP), Calle 246 y 5ta Ave, CP. 19100. Playa, La Habana, Cuba.

Correspondencia: Milagro García-Bernal, **E-mail:** milagariabernal@gmail.com

Artículo original | Original article

Palabras clave

Homeopatía acuícola
Moluscos ostreidos
Acondicionamiento gonádico
Re-maduración sexual

Keywords

Aquacultural homeopathy
Ostreid molluscs
Gonadal conditioning
Sexual re-maturation

RESUMEN | En el Centro Ostrícola Tecnológico de Tabasco, COTET-México, se evaluó el efecto de medicamentos homeopáticos autorizados para uso humano por la Secretaría de Salud de México y productos homeopáticos diseñados por el CIBNOR, durante el acondicionamiento gonádico de reproductores de ostión americano *Crassostrea virginica*. En el diseño experimental se consideró una muestra inicial (T0), dos tratamientos homeopáticos [T1 (ViP-7C + ViA-7C), T2 (PhA-7C + SiT-7C)] y un tratamiento control T3 (agua destilada). La respuesta fisiológica se cuantificó mediante la frecuencia (%) de estadios de desarrollo gonádico en hembras y machos, durante un periodo de 30 días. Al concluir el bioensayo, los reproductores que recibieron los tratamientos T1 y T2 fueron capaces de re-madurar, desovar y producir larvas viables. Esto sugiere una potencial aplicabilidad de estos tratamientos en la producción comercial de semillas de *C. virginica*.

ABSTRACT | At the Centro Ostrícola Tecnológico de Tabasco (COTET-MX), the effect of homeopathic medicines authorized for human use by the Ministry of Health of Mexico and homeopathic products designed by CIBNOR, were evaluated during gonadal conditioning of american oyster *Crassostrea virginica* broodstock. In the experimental design, an initial sample (T0), two homeopathic treatments [T1 (ViP-7C + ViA-7C), T2 (PhA-7C + SiT-7C)] and a control treatment T3 (distilled water) were considered. The physiological response was quantified by the frequency (%) of gonadal development stages in females and males, during a period of 30 days. At the end of the bioassay, the broodstock that received treatments T1 and T2 were able to re-mature, spawn and produce viable larvae. This suggests a potential applicability of these treatments in the commercial production of *C. virginica* seeds.

INTRODUCCIÓN

Los estudios sobre reproducción en poblaciones de moluscos bivalvos de importancia comercial ofrecen información valiosa para su manejo, conservación, cultivo y explotación pesquera (Gosling, 2015). En materia de cultivo, algunos indicadores como la formación y el crecimiento de las gónadas se relacionan con el rendimiento, textura y sabor de carne, y por lo tanto ayudan a determinar el momento adecuado para la cosecha (Aníbal *et al.*, 2011).

El proceso de reproducción del ostión americano *Crassostrea virginica* (Gmelin 1791) implica numerosos procesos de desarrollo biológico como la gametogénesis que incluye espermatogénesis y ovogénesis como fases fundamentales (Camacho-Mondragón *et al.*, 2015); además de cambios en el patrón de gasto energético, que permiten al animal seguir creciendo y reproducirse de forma saludable (Llodra, 2002). El ostión *C. virginica* es un miembro prolífico de numerosos estuarios localizados en la costa oriental de América (Meyer y Townsend, 2000), desde el Golfo de San Lorenzo en Canadá hasta la península de Yucatán en el Golfo de

México (Buroker, 1983). De acuerdo con George-Zamora *et al.* (2003), su ciclo reproductivo está representado por cinco estadios de desarrollo gonádico [Gametogénesis inicial (I), Gametogénesis avanzada (II), Madurez (III), Reproducción o Desove (IV) y Pos-desove (V)].

Para el aprovechamiento tecnológico de este recurso es indispensable el acondicionamiento gonádico de los reproductores en condiciones controladas de laboratorio, para asegurar su maduración o re-maduración sexual que puedan ser inducidos a desovar para obtener gametos y larvas viables que permitan la producción de semilla a una escala comercial (Mazón-Suástegui *et al.*, 2011). Para evaluar el desarrollo gonádico y la calidad de los ovocitos, se ha empleado diferentes herramientas y variables, incluyendo índices morfo-histológicos de condición reproductiva y cuantificación de frecuencia de estadios de desarrollo (Rodríguez-Jaramillo *et al.*, 2008; George-Zamora *et al.*, 2003).

Actualmente, no existen nuevos procedimientos y productos eco-amigables que permitan mejorar el proceso de maduración de reproductores de *C. virginica* acondicionados en el laboratorio. Sin embargo, es conocida una nueva alternativa denominada “homeopatía acuícola”, cuyos resultados positivos se han demostrado en moluscos y camarones marinos (Mazón-Suástegui *et al.*, 2018b), e incluso en plantas (Mazón-Suástegui *et al.*, 2019a). Resultados de investigaciones recientes han mostrado que los medicamentos homeopáticos que se derivan de sustancias naturales como plantas o minerales tienen potencial uso en la acuicultura (Ortiz-Cornejo *et al.*, 2017), son eco-amigables (Fortuoso *et al.*, 2018), inducen en los organismos tratados una mayor tolerancia al estrés, e incrementan su crecimiento y rendimiento productivo (Siena *et al.*, 2010). En adición a lo antes expuesto, los medicamentos homeopáticos pueden favorecer de manera notable la maduración gonádica en moluscos bivalvos (García-Corona, 2018). En este sentido, es posible suponer la hipótesis de un potencial efecto benéfico que podría tener aplicación en *C. virginica*.

Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar un potencial efecto positivo de la aplicación de medicamentos homeopáticos de uso humano en adultos reproductores de ostión americano *C. virginica*, una especie comercial de gran importancia para la industria ostrícola en el Golfo de México, considerando como variable de respuesta la frecuencia relativa de estadios de desarrollo gonádico en hembras y machos, que serían indicativos de un avance en su re-maduración sexual, después de una inducción grupal al desove en la población objetivo, al inicio del bioensayo experimental.

MATERIALES Y MÉTODOS

Organismos experimentales y su mantenimiento

El bioensayo experimental se llevó a cabo en la sala de acondicionamiento gonádico para maduración sexual de reproductores, del laboratorio ostrícola de la empresa Productora de Especies Acuáticas S.A. de C.V. (PEASA), en el Centro Ostrícola Tecnológico del Estado de Tabasco (COTET, México), con ejemplares adultos de ostión americano *Crassostrea virginica* previamente inducidos a desovar.

Los reproductores fueron seleccionados por talla y colocados en unidades de maduración que operan con flujo continuo de agua y alimento, y acondicionados a temperatura de 23-24 °C. Estas unidades son cajas plásticas rectangulares con capacidad volumétrica operativa de 80 litros, ubicadas en la sala de maduración del laboratorio, cuya temperatura es controlada. Los reproductores se alimentaron con una mezcla celular 1:1 de las microalgas *Tisochrysis lutea* y *Chaetoceros calcitrans*, procurando mantener una concentración de 75×10^3 cel mL⁻¹, mediante su adición continua para compensar el consumo por filtración.

Diseño experimental y tratamientos homeopáticos

Se aplicó un diseño experimental completamente al azar con grupos experimentales independientes, considerando una muestra inicial (T0), dos tratamientos homeopáticos [T1 (ViP-7C + ViA-7C), T2 (PhA-7C + SiT-7C)] y un tratamiento control T3 (agua destilada), con tres réplicas por tratamiento y 15 ostiones por réplica. El tratamiento T1 fue formulado con medicamentos homeopáticos comerciales para uso humano en 7ª dilución centesimal (1:99) Hahnemaniana [*Phosphoricum acid* 7C (PhA-7C) y *Silicea terra* 7C (SiT-7C)

de Laboratorios Similia® (CDMX, MX)], con registro oficial en la Secretaría de Salud de México. Estos medicamentos se utilizan en humanos para favorecer la asimilación de nutrientes en la dieta y fortalecer el sistema inmune. El tratamiento T2 se formuló con productos homeopáticos desarrollados en el CIBNOR a partir de lisados bacterianos inactivados, en 7ª dilución centesimal (1:99) Hahnemaniana [*Vibrio parahaemolyticus* 7C (ViP-7C) y *Vibrio alginolyticus* (ViA-7C)]. En ambos casos se aplicaron metodologías estandarizadas (Mazón-Suástegui *et al.*, 2018 a,b; 2019a).

Los tratamientos que incluyeron PhA-7C + SiT-7C fueron preparados a partir de medicamentos (dinamizaciones “stock”), resultantes de la dilución/sucusión centesimal (1:99) de *Phosphoricum acid*® 6C y de *Silicea terra*® 6C (Similia® CDMX, MX) en etanol 87 °GL como vehículo de dilución. Las dinamizaciones “experimentales” o “de trabajo” (PhA-7C y SiT-7C) se prepararon mediante una nueva dilución centesimal 1:99 utilizando como vehículo agua destilada.

Los tratamientos homeopáticos ViP-7C y ViA-7C fueron dinamizaciones centesimales obtenidas mediante dilución serial y sucusión, de concentrados o tinturas madre (TM), desarrolladas en el CIBNOR a partir de cultivos bacterianos (1×10^8 UFC mL⁻¹) de cepas patógenas y virulentas de *Vibrio parahaemolyticus* (CAIM-170, ViP) y *V. alginolyticus* (CAIM-57 ViA), relacionadas con altas mortalidades en bivalvos y camarón.

Aplicado el método de Mazón-Suástegui *et al.* (2019b), se realizaron los siguientes procedimientos: a) las células bacterianas fueron cultivadas en placas con Agar Triptona Soya e incubadas a 37°C durante 24-48 h (Beshiru y Igbinsosa, 2018). Posteriormente, b) la biomasa bacteriana fue centrifugada (8000 g, 4 °C, 20 min) y lavada dos veces; c) los pellets se diluyeron en 7.5 mL de agua MilliQ, se inactivaron mediante tres ciclos de congelación-descongelación (-80 °C y 24 °C, respectivamente) y se sonicaron ocho veces, 30 s cada vez, para romper la pared celular y los organelos intracelulares; d) el material particulado y las células no rotas se eliminaron por centrifugación (3000 g, 4 °C, 20 min) y el sobrenadante se diluyó (1:1 v/v) en etanol 87 °GL (Similia® México) y se agitó dos minutos a 3200 rpm (1147 g) (BenchMixer®, Edison, NJ, EE. UU.) para obtener 15 mL de TM de cada cepa bacteriana. Las dinamizaciones “stock” (ViP-6C y ViA-6C) se obtuvieron mediante dilución seriada y sucusión en etanol (1:99) de la TM respectiva. Para las dinamizaciones “experimentales” (ViP-7C y ViA-7C) se procedió igual (Dilución 1:99 y sucusión), pero sustituyendo el etanol por agua destilada, a fin de evitar sus posibles efectos colaterales.

Los tratamientos experimentales se añadieron directamente al agua de mar contenida en las unidades experimentales, a razón de 100 µL L⁻¹ (Mazón-Suástegui *et al.*, 2019b). Al finalizar el experimento (30 días), se evaluó la frecuencia relativa de estadios de desarrollo gonádico de hembras y machos.

Análisis histológico

El análisis histológico de las muestras fue realizado en el laboratorio de histología del CIBNOR, y con el propósito de evaluar los indicadores de maduración sexual, se aplicó la metodología descrita por Rodríguez-Jaramillo *et al.* (2008).

A partir de una muestra de 30 organismos de cada tratamiento, elegidos al azar, se tomó una sección de 3 mm de grosor del cuerpo blando de cada ostión y se fijó en solución Davidson por 48 h; las muestras se colocaron en *cassettes* histológicos, se deshidrataron en una serie de alcoholes de graduación creciente (70 a 100%), y por último se realizó su inclusión en parafina, para su posterior corte en microtomo, tinción y análisis histológico.

A partir de los tejidos incluidos en parafina, se realizaron cortes de 4 µm de grosor utilizando un micrótopo de rotación Leica RM 2125. Los cortes se colocaron sobre portaobjetos de vidrio y se tiñeron con hematoxilina-eosina (Humanson, 1962). Las laminillas resultantes se observaron bajo un microscopio óptico (Olympus BX-50). Se capturaron imágenes a diferentes aumentos (4, 10, 20 y 40 X), del tejido gonadal para determinar a diferente nivel de detalle, las características morfológicas de los gametos masculinos y femeninos y en base a ello definir su grado de madurez.

De cada muestra (individuo) se digitalizaron tres imágenes por medio de una cámara digital (CoolSNAP-Pro) instalada al microscopio. Estas imágenes fueron analizadas para la asignación de estadios de desarrollo gonádico o de madurez, utilizando como base la descripción de Rodríguez-Jaramillo *et al.* (2008) y de George-Zamora *et al.* (2003). Los estadios de desarrollo caracterizados para hembras fueron: Estadio 0 o Indiferenciado, Estadio I o Previtelogénesis, Estadio II o Vitelogénesis, Estadio III o Postvitelogénesis, Estadio IV o Desove parcial y Estadio V o Postdesove. Los estadios correspondientes a machos fueron: Estadio 0 o Indiferenciado, Estadio I o Espermatogénesis inicial, Estadio II o Espermatogénesis avanzada, Estadio III o Madurez, Estadio IV o Desove y Estadio V o Posdesove.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis histológico mostró que al inicio del experimento se identificaron cuatro de los seis estadios en los organismos obtenidos, y la frecuencia del Estadio III (Postvitelogénesis) fue mayor. Al concluir el estudio se identificó una mayor frecuencia de organismos en Estadio 0 (Indiferenciado), en Estadio IV (Desove parcial) y en Estadio III (Postvitelogénesis) en tratamientos T1 y T2, en los cuales el Estadio V (Postdesove) fue el de menor frecuencia (Figura 1) en comparación con el grupo control T3. En el tratamiento T1 se identificó un porcentaje de hembras en Estadio II (Vitelogénesis). Estos resultados representan una respuesta fisiológica reproductiva favorable de las hembras que recibieron los tratamientos homeopáticos.

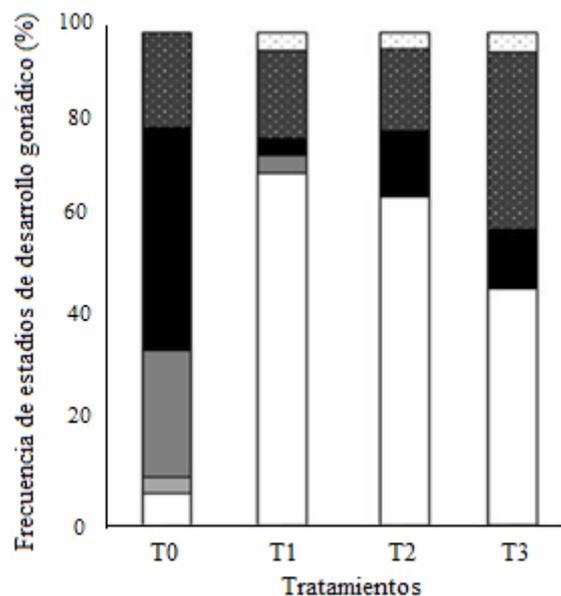


Figura 1. Frecuencia acumulada de estadios de desarrollo gonádico de hembras adultas (reproductores) de ostión americano *C. virginica* al concluir el estudio de evaluación con medicamentos homeopáticos. SIMBOLOGIA: Barras blancas = Estadio 0 o Indiferenciado; Barras Gris Claro = Estadio I o Previtelogénesis; Barras Gris Oscuro = Estadio II o Vitelogénesis; Barras Negras = Estadio III o Postvitelogénesis; Barras Gris con puntos blancos = Estadio IV o Desove parcial y Barras Blancas con puntos negros = Estadio V o Postdesove. T0: muestra inicial, T1: (ViP-7C + ViA-7C), T2: (PhA-7C + SiT-7C), T3: tratamiento control.

En moluscos, la vitelogénesis es un conjunto de procesos complejos, altamente ordenados, que involucran la síntesis de compuestos orgánicos en el ovocito (Arcos *et al.*, 2009); hay vitelogénesis dentro del ovocito (autosintético) y fuera del ovocito, en el tejido somático (heterosintético) de *C. virginica* (Suzuki *et al.*, 1992; Eckelbarger y Davis, 1996). Estos procesos pueden asociarse al objetivo de inducir su re-maduración gonádica para su posterior desove y producción de gametos y larvas viables (Estadios I y II, en T1 y T2).

En la evaluación de machos antes de iniciar el experimento, se identificaron los seis estadios de desarrollo gonádico (0 a V). Al concluir el estudio, en los tratamientos homeopáticos (T1 y T2) se identificó una alta frecuencia de machos en Estadio 0 (Indiferenciado), y la presencia de Estadios II (Espermatogénesis avanzada) y IV (Desove), lo que es indicativo de re-maduración. En contraparte, entre los reproductores que no recibieron medicación homeopática (T3), se identificaron machos en Estadio 0 (Indiferenciado) y IV

(Desove). Al respecto es importante mencionar que al inicio del experimento toda la población de adultos sometidos a los tratamientos experimentales T1, T2 y T3, fueron inducidos a desovar. Los resultados de la frecuencia de los seis estadios de desarrollo gonádico (0 a V), obtenidos de machos aplicando los dos tratamientos homeopáticos (T1, T2) y el tratamiento control (T3), se muestran en la Figura 2.

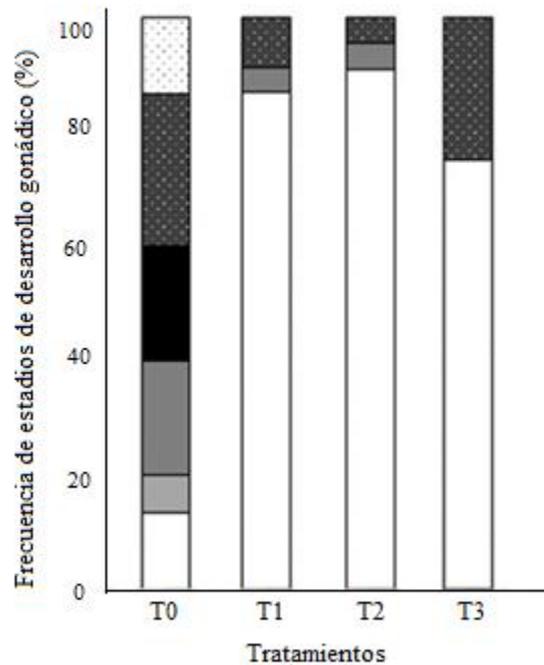


Figura 2. Frecuencia relativa de estadios de desarrollo gonádico de machos adultos (Reproductores) de ostión Americano *C. virginica*, al concluir el estudio de evaluación del efecto de tratamientos homeopáticos en su proceso de maduración sexual controlada. SIMBOLOGIA: Barras blancas = Estadio 0 o Indiferenciado; Barras Gris Claro = Estadio I o Espermatogénesis inicial; Barras Gris Oscuro = Estadio II o Espermatogénesis avanzada; Barras Negras = Estadio III o Madurez; Barras Gris con puntos blancos = Estadio IV o Desove y Barras Blancas con puntos negros = Estadio V o Posdesove. T0: muestra inicial, T1: (ViP-7C + ViA-7C), T2: (PhA-7C + SiT-7C), T3: tratamiento control.

El ciclo reproductivo en ostiones consta de una serie de fases consecutivas y la sucesión de las fases puede ser sincrónica o asincrónica dentro de una población, y la duración y el número de ciclos gametogénicos pueden variar dependiendo de varios factores geográficos y ambientales (Giese y Katanami, 1987). En especies que emiten gametos varias veces en la misma época o tiempo, existe un estado transitorio llamado de restauración entre puestas sucesivas, que viene a ser un sinónimo de re-maduración. El desarrollo de este periodo parece darse con mayor rapidez en machos que en hembras, y la velocidad que define este proceso parece estar determinada por factores nutricionales y ambientales. En este sentido, los estudios realizados en *C. virginica* indican que los eventos reproductivos son coordinados por factores endógenos (almacenamiento de nutrientes y compuestos neuroendocrinos) y exógenos como salinidad, temperatura, pluviometría, corrientes y feromonas (Giese y Pearse, 1979; Martínez *et al.*, 1995; George-Zamora *et al.*, 2003; Mazón-Suástegui *et al.*, 2011). Sin embargo, hasta el presente no existe ningún estudio sobre la aplicación de tratamientos homeopáticos buscando favorecer la re-maduración gonádica de reproductores de *C. virginica*, durante su acondicionamiento gonádico en condiciones controladas de laboratorio.

Los medicamentos homeopáticos han demostrado desde la era antigua su efectividad para el tratamiento de humanos, animales y plantas, habiendo tenido incluso mayor eficacia que la alopatía -en humanos-, hasta antes del desarrollo de agentes quimioterapéuticos como los antibióticos, que dieron gran ventaja a la alopatía. No obstante, la bondad de la medicina homeopática es debida a la ausencia de efectos secundarios, residuales y contraindicaciones, al hecho de ser más eficiente en el tratamiento de algunas enfermedades crónicas o constitucionales, y también a su bajo costo económico (Pinkus, 2009).

En la acuicultura, los medicamentos homeopáticos se han utilizado con éxito (Mazón-Suástegui *et al.*, 2017; Merlini *et al.*, 2014), y tienen aplicabilidad para reducir el estrés asociado a una gradual y progresiva intensificación, que es una tendencia irreversible en los modernos sistemas de producción acuícola (Mazón-Suástegui *et al.*, 2018a). Esta alternativa médica ha sido ampliamente utilizada en la acuicultura de agua dulce sobre todo en tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). Valentim-Zabott *et al.* (2008) evaluaron el “complejo homeopático” comercial denominado Homeopatila RS[®], sobre la supervivencia, proporción sexual y características morfofuncionales en hígado y branquias. De acuerdo con estos autores, este producto homeopático patentado favorece el metabolismo de los lípidos, reduce el estrés en los peces tratados, eleva supervivencia y respuesta inmune y promueve el desarrollo del tejido muscular, lo cual redundará en mayor productividad biológica y rentabilidad del cultivo de tilapia.

Relativo a la presente investigación experimental con adultos reproductores de ostión Americano *C. virginica*, los organismos que recibieron los tratamientos homeopáticos T1 (ViP-7C + ViA-7C) y T2 (PhA-7C + SiT-7C) mostraron una respuesta positiva en la frecuencia relativa de estadios de desarrollo gonádico de hembras adultas. El tratamiento T1, utilizado en este estudio (ViP-7C + ViA-7C) fue desarrollado en el CIBNOR, a partir de lisados bacterianos de cepas patogénicas de gran virulencia e importancia acuícola comercial. A este tipo de productos o medicamentos homeopáticos se les conoce como “nosodes”, y son preparaciones homeopáticas de amplio espectro, desarrollados a partir de material biológico como cultivos o muestras clínicas de microorganismos (por ejemplo, bacterias, hongos y virus) o de parásitos, tejidos enfermos, tejidos cancerosos, e incluso de productos en descomposición de humanos o animales (Shah, 2014).

Mazón-Suástegui *et al.* (2019b), demostraron el efecto de nosodes “homeopatizados” de *Vibrio* spp. sobre la respuesta inmune y antioxidante del pez marino *Seriola rivoliana* y López-Carvallo *et al.* (2019, 2021) demostraron que estos tratamientos homeopáticos nosódicos desarrollados a partir de bacterias patógenas, son compuestos bioactivos altamente diluidos (CBAD) que tienen capacidad para modular el sistema inmune y aumentar la cuenta hemocítica y la actividad de las enzimas antioxidantes en juveniles de almeja Catarina *Argopecten ventricosus*. Al parecer, los tratamientos nosódicos ViP y ViA pudieron tener un efecto positivo en la condición general de salud e inmunidad de los reproductores de *C. virginica*, y gracias a ello, pudieron canalizar más energía a su re-maduración sexual. Según Mazón-Suástegui *et al.* (2020), una fórmula homeopática que reduce estrés (PaV-30C) y un medicamento homeopático que fortalece la respuesta inmune en seres humanos (SiT-30C), son alternativas potenciales para optimizar la nutrición, maduración gonádica y calidad ovocitaria en reproductores de almeja catarina *A. ventricosus*. Sin embargo, es necesario ampliar y profundizar las investigaciones con el ostión americano *C. virginica*.

Por otro lado, se ha demostrado que los medicamentos homeopáticos de uso humano que contienen *Phosphoricum acidum* y *Silicea terra* (Similia[®]) tienen efectos funcionales y biológicos incluso superiores a los antibióticos (Mazón-Suástegui *et al.*, 2017). Estos mejoraron el crecimiento, la supervivencia y la respuesta inmune en juveniles de almeja catarina *A. ventricosus*, durante un bioensayo experimental con reto final contra una cepa patogénica y altamente virulenta de *V. alginolyticus*, que causa mortalidades masivas en el cultivo de moluscos y camarones.

Un aspecto de fundamental importancia durante el acondicionamiento gonádico de reproductores de moluscos bivalvos, es la oportunidad y posibilidad de incrementar la calidad ovocitaria, ya que la mayoría de los bivalvos tiene larvas inicialmente lecitotróficas, cuyo desarrollo temprano depende de las reservas bioquímicas previamente acumuladas en los ovocitos durante la vitelogénesis (Holland, 1978; Bayne y Newel, 1983; Rodríguez-Jaramillo, 2004).

Los resultados obtenidos al final del bioensayo (30 días), sugieren que el proceso de re-maduración sexual pudo haberse presentado mayormente en los reproductores tratados con medicamentos homeopáticos, con respecto al grupo control no-tratado con homeopatía. Esto es relevante porque todos los grupos experimentales provienen de una misma población y se acondicionaron en iguales condiciones de manejo, dieta y temperatura. La importancia de incrementar la recuperación post-desove en un tiempo determinado, reside en que favorece la re-maduración gonádica y en consecuencia, incrementa la posibilidad de disponer de reproductores maduros aptos para la inducción al desove. Los resultados positivos obtenidos durante el

acondicionamiento gonádico y re-maduración sexual de adultos reproductores de *C. virginica* son de suma importancia por su potencial aplicabilidad para incrementar la disponibilidad de gametos viables y de larvas competentes cuyo cultivo-fijación permita sustentar la producción de semillas en tiempo, calidad y cantidad. Estos aspectos han sido fundamentales para sustentar la productividad biológica y la rentabilidad económica en un laboratorio ostrícola comercial, como el COTET-Tabasco-MX.

CONCLUSIONES

Los adultos de ostión americano *C. virginica* que fueron sometidos a un proceso rutinario de acondicionamiento gonádico para su re-maduración, aplicando diferentes tratamientos homeopáticos experimentales, *versus* un tratamiento control sin adición de estos compuestos bioactivos altamente diluidos, fueron capaces de re-madurar y desovar. La aplicación de estos tratamientos eco-amigables y de alta inocuidad por su alta dilución, ha favorecido las actividades del Centro Ostrícola Tecnológico de Tabasco (COTET-Tabasco, MX). Este es el primero y el único laboratorio ostrícola mexicano existente en la región Golfo de México, que produce comercialmente semillas de esta especie nativa de gran importancia pesquera y potencial acuícola.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Agradecimientos

El estudio fue financiado por CONACYT, a través del Programa Presupuestario F003 “Programas Nacionales Estratégicos de Ciencia, Tecnología y Vinculación con los Sectores Social, Público y Privado”, proyectos Ciencia Básica No. 258282 “Evaluación experimental de homeopatía y nuevos probióticos en el cultivo de moluscos, crustáceos y peces de interés comercial” y PROINNOVA No. 241777 (CIBNOR-PEASA/COTET), bajo la responsabilidad académica de JMMS.

REFERENCIAS

- Aníbal J., Esteves E., Rocha C. (2011). Seasonal variations in gross biochemical composition, percent edibility, and condition index of the clam *Ruditapes decussatus* cultivated in the Ria Formosa (South Portugal). *Journal of Shellfish Research*, 30(1): 17-23. DOI: 10.2983/035.030.0104.
- Bayne B.L., Newell R.C. (1983). Physiological Energetics of marine Molluscs. pp. 407-515. En: Saleuddin A.S.M. y K.M. Wilbur (Eds). *The Mollusca*, vol. 4. Physiology, part 1. Academic Press, Orlando. 523p.
- Beshiru A., Igbiosa E. O. (2018). Characterization of extracellular virulence properties and biofilm-formation capacity of *Vibrio* species recovered from ready-to-eat (RTE) shrimps. *Microbial pathogenesis*, 119: 93-102. DOI 10.1016/j.micpath.2018.04.015:
- Buroker N. (1983). Genética de poblaciones de la ostra americana *Crassostrea virginica* a lo largo de la costa atlántica y el Golfo de México. *Biología Marina*, 75: 99-112.
- Camacho-Mondragón M. A., Ceballos-Vázquez B. P., Uría-Galicia E., López-Villegas, E. O., Pipe R., Arellano-Martínez M. (2015). Ultrastructural and histological study of oogenesis and oocyte degeneration in the penshell *Atrina maura* (Bivalvia: Pinnidae). *Malacologia* 59: 1-12. DOI: 10.4002/040.059.0102
- Fortuoso B. F., Volpato A., Rampazzo L., Glombowsky P., Griss L. G., Galli G. M., Stefani L. M., Baldissera M. D., Ferreira E. B, Machado G., da Silva A. S. (2018). Homeopathic treatment as an alternative prophylactic to minimize bacterial infection and prevent neonatal diarrhea in calves. *Microb. Pathogenesis*, 114: 95-98. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.11.041

- George-Zamora A., Sevilla M., Aldana D. (2003). Ciclo gonádico del ostión americano *Crassostrea virginica* (Lamellibranchia: Ostreidae) en Mecoacán, Tabasco, México. *Revista de Biología Tropical*, 51(4): 109-117.
- Gosling E. (2015). *Marine bivalve molluscs*. Fishing News Books, Oxford, pp. 157-202.
- Holland D.L. (1978). Lipid reserves and energy metabolism in the larvae of benthic marine invertebrates. En: Malin, D.C., Sargent, J.R. (eds). *Biochemical and biophysical perspectives in marine biology*. Academic Press, London. 85-123p.
- Llodra E. R. (2002). Fecundity and life-history strategies in marine invertebrates. *Adv. Mar. Biol.* 43, 87-170.
- López-Carvallo J. A., Mazón-Suástegui J. M., Hernández-Oñate M. Á., Tovar-Ramírez D., Abasolo-Pacheco F., Morelos-Castro R. M., Arcos-Ortega G. F. (2020). Transcriptome analysis of Catarina scallop (*Argopecten ventricosus*) juveniles treated with highly-diluted immunomodulatory compounds reveals activation of non-self-recognition system. *PloS one*, 15(5): e0233064.
- López-Carvallo J.A., Mazón-Suástegui J.M., Arcos-Ortega GF, Hernández-Oñate M.A., Tovar-Ramírez D., Abasolo-Pacheco F., García-Bernal M. (2021). Highly-diluted bioactive compounds in marine aquaculture: A potential alternative for sustainable production. Running title: HDBC and sustainable aquaculture. *Reviews in Aquaculture* DOI: 10.1111/raq.12644
- Martínez I., Aldana D., Brule T., Cabrera E. (1995). Crecimiento y desarrollo gonadal del ostión *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791) (Mollusca: Ostreidae), en la Península de Yucatán, México. *Avicennia*, 3: 61-75.
- Mazón-Suástegui J.M., García-Bernal M., Avilés-Quevedo A., Campa-Córdova A.I., Salas-Leiva J., Abasolo-Pacheco F. (2018a). Assessment of homeopathic medicines on survival and antioxidant response in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Rev. MVZ Córdoba*, 23: 6850-6859.
- Mazón Suástegui J.M., Tovar Ramírez D., Salas Leiva J. S., Arcos Ortega G.F., García Bernal M., Avilés Quevedo M.A., López Carvallo J.A., García Corona J.L., Ibarra García L.E., Ortíz Cornejo N.L., Teles A., Rosero García A., Abasolo Pacheco F., Campa Cordova A.I., Saucedo Lastra P.E., Barajas Frias J.D., Ormart Castro P., Rodríguez Jaramillo M.C., González González R., Barajas Ponce,U., Tordecillas Guillén J.L., Álvarez Gil F.A., Pineda Mahr G., Peiro López J., Robles Mungaray M. (2018b). *Aquacultural Homoeopathy: A Focus on Marine Species*. In: Diarte-Plata G and Escamilla R (eds), "Aquaculture: Plants and Invertebrates". IntechOpen Books. DOI: 19.5772/intechopen.78030.
- Mazón-Suástegui J. M., Ojeda-Silvera C. M., García-Bernal M., Avilés-Quevedo M. A., Abasolo-Pacheco F., Batista-Sánchez D., Tovar-Ramírez D., Arcos-Ortega F., Murillo-Amador B., Nieto-Garibay A., Ferrer-Sánchez Y., Morelos-Castro R. M., Alvarado-Mendoza A., Díaz-Díaz M., Bonilla-Montalvan B. (2019a). Agricultural homeopathy: New insights into organic's. In: Jan Moudry (ed.) "Multifunctionality and Impacts of Organic Agriculture". IntechOpen Books. DOI: 19.5772/intechopen.84482.
- Mazón-Suástegui J., Ruíz-García C., Chávez-Villalba J., Rodríguez-Jaramillo C., Saucedo P. (2011). Analysis of growth and first reproduction of hatchery-reared juvenile Cortez oyster (*Crassostrea corteziensis*) in northwestern Mexico: proposal of a minimal fishing size. *Aquaculture Research*, 42: 1558-1568. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2010.02748.x
- Mazón-Suástegui J.M., García-Bernal M., Saucedo P.E., Campa-Córdova Á., Abasolo-Pacheco F. (2017). Homeopathy outperforms antibiotics treatment in juvenile scallop *Argopecten ventricosus*: effects on growth, survival, and immune response. *Homeopathy*, 106(1): 18-26. DOI: 10.1016/j.homp.2016.12.002

- Mazón-Suástegui J.M., Salas-Leiva J., Teles A., Tovar-Ramírez D. (2019b). Immune and antioxidant enzyme response of Longfin yellowtail (*Seriola rivoliana*) juveniles to ultra-diluted substances derived from phosphorus, silica and pathogenic *Vibrio*. *Homeopathy*, 108: 43-53. DOI: 10.1055/s-0038-1672197
- Merlini LS, Vargas L, Piau R, Ribeiro PR, Merlini NB. (2014). Effects of a homeopathic complex on the performance and cortisol levels in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Homeopathy*, 103: 139–142. DOI: 10.1016/j.homp.2013.08.005
- Meyer L., Townsend C. (2000). Faunal utilization of created intertidal eastern oyster (*Crassostrea virginica*) reefs in the southeastern United States. *Estuaries*, 23: 34-45.
- Ortiz-Cornejo N. L., Tovar-Ramírez D., Abasolo-Pacheco F., Mazón-Suástegui J. M. (2017). Homeopathy, and alternative for aquaculture. *Revista. Médica. de Homeopatía*. 10: 18-24.
- Pinkus T. (2009). Exciting research from Cuba. *Homeopathy in Practice (ARH)*, Autumn, 21-23.
- Rodríguez-Jaramillo C., Hurtado M.A., Romero-Vivas E., Ramírez J. L., Manzano M., Palacios E. (2008). Gonadal development and histochemistry of the tropical oyster, *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951) during an annual reproductive cycle. *Journal of Shellfish Research*, 27(5): 1129-1141. DOI: 10.2983/0730-8000-27.5.1129
- Rodríguez-Jaramillo M.C. (2004). Efecto de la temperatura sobre la gametogénesis en el callo de hacha *Atrina maura* (Sowerby, 1835) (Bivalvia: Pinnidae). Tesis de Maestría, Centro Interdisciplinario de ciencias Marinas, México.
- Shah R. (2014). Scientific method of preparing homeopathic nosodes. *Indian Journal of Research in Homoeopathy*. 8: 166-173.
- Siena C. E., Natali M. R. M., Braccini G. L., de Oliveira A. C., Ribeiro R. P., Vargas L. (2010). Effect of core homeopathic homeopatila 100[®] in productive efficiency of fingerlings reverted from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Semina: Ciências Agrárias*. 31: 985-994. DOI: 10.5433/1679-0359.2010v31n4p985
- Valentim-Zabott M., Vargas L., Ribeiro R. P. R., Piau R., Torres M. B. A., Rönnau M., Souza J. C. (2008). Effects of a homeopathic complex in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) on performance, sexual proportion and histology. *Homeopathy*, 97: 190-195. DOI: 10.1016/j.homp.2008.08.007

Recibido: 28-03-2022
Aprobado: 11-06-2022
Versión final: 21-06-2022

