



UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD CIENCIAS DEL MAR
CARRERA DE BIOLOGÍA

Influencia del suministro de *Chaetoceros gracilis* en relación con el índice gonadal en *Magallana gigas* en condiciones de laboratorio en la Comuna El Real, Chanduy-Santa Elena, mayo a agosto del 2022.

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previo a la obtención del título de

BIÓLOGA

Autor:

Estefanía Samanta Oña Pérez

Tutor

Ing. Jimmy Villón Moreno, M. Sc

La Libertad-Ecuador

2022



UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD CIENCIAS DEL MAR
CARRERA DE BIOLOGÍA

Influencia del suministro de *Chaetoceros gracilis* en relación con el índice gonadal en *Magallana gigas* en condiciones de laboratorio en la Comuna El Real, Chanduy-Santa Elena, mayo a agosto del 2022.

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previo a la Obtención del Título de
BIÓLOGA

Autor:

Estefanía Samanta Oña Pérez

Tutor

Ing. Jimmy Villón Moreno, M. Sc

La Libertad-Ecuador

2022

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a todas las personas que me apoyaron y estuvieron durante mi época de estudiante, a mis padres y abuelos; en especial a Dayan y Marlitt por apoyarme en los momentos que más necesite de su ayuda, a mis docentes que con su auxilio y conocimiento me respaldaron y estuvieron en cada uno de mis pasos como estudiante y próxima colega.

Agradezco a todos mis amigos y conocidos que fueron parte de mi triunfo y derrota a lo largo de toda mi carrera.

ESTEFANÍA SAMANTA OÑA PÉREZ

AGRADECIMIENTO

A la prefectura de Santa Elena por brindarme su apoyo y confianza durante mi periodo de trabajo dentro de las instalaciones del “Laboratorio de Ostras” en el cual he adquirido mis conocimientos permitiendo ampliar mi campo profesional.

A las autoridades y personal académico de la Universidad Estatal Península de Santa Elena por liderar el proceso de formación profesional.

Al biólogo Xavier Piguave por su ayuda científica, conocimiento y apoyo en mi transcurso como estudiante.

Al licenciado Alberto por brindarme su asistencia y sabiduría en el cultivo de ostras, manejo y manipulación durante mi trabajo investigativo.

En particular al Ing. Jimmy Villón tutor de tesis porque con sus ideas profesionales me orientó en mi trabajo.

ESTEFANÍA SAMANTA OÑA PÉREZ

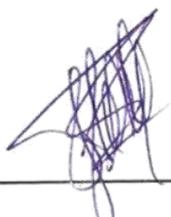
TRIBUNAL DE GRADUACIÓN



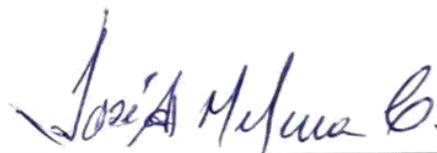
Blgo. Richard Duque Marín, Mgt.
DECANO
FACULTAD CIENCIAS DEL MAR



Ing. Jimmy Villón Moreno, M. Sc.
DIRECTOR
CARRERA DE BIOLOGÍA



Ing. Jimmy Villón Moreno, M. Sc.
DOCENTE TUTOR



Ac. José Melena Cevallos, Ph.D.
DOCENTE DE ÁREA



Ab. Víctor Coronel Ortiz, M. Sc.
SECRETARIO GENERAL

Declaración expresa

La responsabilidad por las ideas, hechos, investigaciones y resultados expuestos en este trabajo de titulación, pertenecen exclusivamente al autor, el patrimonio intelectual de la misma, a la Universidad Estatal Península de Santa Elena.



ESTEFANÍA SAMANTA OÑA PÉREZ

C.I. 1724056211

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	18
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	21
3. JUSTIFICACIÓN	22
4. OBJETIVOS	23
4.1. GENERAL	23
4.2. ESPECÍFICO	23
4. HIPÓTESIS	24
5. MARCO TEÓRICO	25
5.1. <i>Magallana gigas</i>	25
5.2. ANATOMÍA DE <i>Magallana gigas</i>	26
5.3. MICROALGA <i>Chaetoceros gracilis</i>	27
5.4. ALIMENTACIÓN.....	27
5.5. ACONDICIONAMIENTO DE LOS REPRODUCTORES	28
5.6. CULTIVO LARVARIO.....	29
5.7. CONTROL DE CALIDAD.....	30
5.8. PRUEBA DE RESISTENCIA PARA LA FIJACIÓN	31
6. MARCO METODOLÓGICO.....	33
6.1. LOCALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	33
6.2. PROCESO DE OBTENCIÓN DE REPRODUCTORES	33
6.3. LIMPIEZA DE REPRODUCTORES <i>in situ</i>	33
6.4. LAVADO DE REPRODUCTORES EN LABORATORIO	34
6.5. TOMA DE MEDIDAS MORFOLÓGICAS	34
6.6. IMPLEMENTOS TÉCNICOS UTILIZADOS.....	35
6.7. RECOLECCIÓN DE DATOS.....	36
6.8. ACONDICIONAMIENTO DE LOS REPRODUCTORES	38
6.9. MADURACIÓN	38
6.10. ESTADOS DE MADUREZ SEXUAL	39
6.10.1.ESTADIO 1- DESCANSO SEXUAL.....	39
6.10.2.ESTADIO 2- GAMETOGÉNESIS	39
6.10.3.ESTADIO 3- MADUREZ Y DESOVE.....	39
6.10.4.ESTADIO 4- RESTAURACIÓN	40
6.11. ALIMENTACIÓN.....	40
6.12. INDUCCIÓN AL DESOVE.....	41

6.13. ESPERMA Y HUEVOS: PROCESO Y DESOVE	44
6.14. TANQUES PARA DESARROLLO LARVARIO Y SEMILLAS	44
6.15. INICIO DE ESTADIO LARVARIO	45
6.15.1.LARVA D 1-3 DÍAS	45
6.15.2.LARVA UMBONADA 4-13 DÍAS	45
6.15.3.PEDIVELIGER 14-15 DÍAS 0.3 MM	45
6.15.4.METAMORFOSIS 15 DÍAS EN ADELANTE	46
6.15.5.PRESEMILLA SEMILLA 1-3 MM	46
6.15.6.ENGORDE 1 CM	46
6.16. SEPARACIÓN DE LAS SEMILLAS POR TAMICES	47
6.17. FIJACIÓN DE LAS SEMILLAS	48
6.18. PARÁMETROS DE CALIDAD LARVAL	48
6.19. CALIDAD PARA LAS LARVAS DE <i>M. gigas</i>	49
6.20. CRECIMIENTO A PARTIR DE LA FIJACIÓN	49
6.21. COMPARACIÓN DE LOTES	50
6.22. PRUEBA DE RESISTENCIA LARVARIA PARA FIJACIÓN	50
7. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	52
7.1. RELACIÓN PESO-CANTIDAD GONADAL	52
7.1.1. ÍNDICE DE PRODUCCIÓN-DESOVE	52
7.1.2. ÍNDICE DE PRODUCCIÓN-ECLOSIÓN	57
7.1.3. ÍNDICE DE PRODUCCIÓN-FERTILIDAD DE HUEVOS	57
7.2. RELACIÓN CON EL ESTADO SEXUAL MEDIANTE LA SACIEDAD DEL ALIMENTO	59
7.2.1. DATOS MORFOLÓGICOS	59
7.2.2. PESO DE LAS MUESTRAS	61
7.2.3. CRECIMIENTO LARVAL EN CADA UNA DE SUS FASES	64
7.3. PARÁMETROS AMBIENTALES APLICADOS	70
7.4. PRUEBA DE RESISTENCIA PARA LA FIJACIÓN DE LAS SEMILLAS	71
8. DISCUSIONES	73
9. CONCLUSIONES	77
10. RECOMENDACIONES	78
BIBLIOGRAFÍA	79
Anexo 1.	86
Anexo 2.	87

Anexo 3	88
Anexo 4	89
Anexo 5	90
Anexo 6	92

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Concentración diaria a suministrar en las 3 concentraciones de alimento.	41
Tabla 2: Proceso de desove de <i>Magallana gigas</i> en condiciones de cautiverio.	43
Tabla 3: Tabla de calidad para las larvas de <i>M. gigas</i> “CLC”	49
Tabla 4: Tabla de control de talla en laboratorio en relación al crecimiento de <i>M. gigas</i> “CTC”	50
Tabla 5: Tabla para la comparación de lotes (desove se dividirá por lotes).....	50
Tabla 6: Lotes con concentración alta, media y baja.....	52
Tabla 7: Tabla para la comparación de lotes	55
Tabla 8: Porcentaje de desove por machos y hembras	56
Tabla 9: Porcentaje de eclosión	57
Tabla 10: Índice de producción de huevos y sobrevivencia larvaria.....	58
Tabla 11: Crecimiento de la concentración alta	60
Tabla 12: Tabla de machos y hembras según la concentración de alimento	63
Tabla 13: Tabla de calidad para las larvas de <i>M. gigas</i> “CLC” larva D, comparación entre los dos lotes de alimento alto y medio que desovaron.	64
Tabla 14: Tabla de calidad para las larvas de <i>M. gigas</i> “CLC” larva umbonada o veliger, comparación entre los dos lotes de alimento alto y medio que desovaron.....	66
Tabla 15: Tabla de calidad para las larvas de <i>M. gigas</i> “CLC” pediveliger.....	67
Tabla 16: Tabla de calidad para las larvas de <i>M. gigas</i> “CLC” fijación	68
Tabla 17: Resultado entre calidad larvaria, concentración alta vs concentración media	69
Tabla 18: Tabla de control de talla en laboratorio en relación al crecimiento de <i>M. gigas</i> “CTC”	70
Tabla 19: Parámetros de calidad larvaria.....	89

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1: Anatomía de <i>M. gigas</i>	26
Figura 2: Ciclo de vida de la ostra del Pacífico.....	26
Figura 3: Composición química de la microalga <i>Chaetoceros gracilis</i>	27
Figura 4: Representación de las etapas de desarrollo larvario dentro de un criadero. ..	29
Figura 5: Fase de desarrollo gonádico.....	30
Figura 6: Estadios de desove.....	31
Figura 7: Ubicación geográfica del laboratorio.....	33
Figura 8: Limpieza de reproductores de <i>M. gigas</i> en la embarcación de extracción. ...	34
Figura 9: Dimensiones morfométricas tomadas al ostión de <i>M. gigas</i>	35
Figura 10: Tanques de maduración de <i>M. gigas</i> dentro del área de maduración en las instalaciones del laboratorio.	36
Figura 11: Análisis quincenal de las ostras dentro de las instalaciones del laboratorio.	40
Figura 12: desarrollo larvario de <i>M. gigas</i>	46
Figura 13: Separación por tamices de las larvas de <i>M. gigas</i> realizado en cada estadio larvario.....	48
Figura 14: Peso gónadas vs concentración de alimento	52
Figura 15: Proceso de larvicultura, desove.....	53
Figura 16: Porcentaje sobrevivencia larvaria después de la fecundación de <i>M. gigas</i> ..	58
Figura 17: Toma de parámetros morfológicos de <i>Magallana gigas</i>	59
Figura 18: Crecimiento en mm de la concentración alta.....	60
Figura 19: Toma de los pesos individuales de cada lote.	61
Figura 20: Variación de pesos	62
Figura 21: Total de hembras vs la concentración de alimento alto, medio y bajo en relación al desove dentro de las instalaciones del laboratorio.....	63
Figura 22: Larva D	65
Figura 23: Larva umbonada o veliger	66
Figura 24: Medidas de las pediveliger.....	67
Figura 25: Semillas listas a fijación vistas desde el microscopio.....	68
Figura 26: Colocación de los reproductores dentro de las gavetas en cada uno de los tanques para iniciar el tratamiento.....	70
Figura 27: pH vs concentración alimenticia alta, media y baja.....	71

Figura 28: diferencia de fijación en los dos desoves de concentración alta de <i>M. gigas</i>	72
Figura 29: Características morfológicas externas de la concha.....	90
Figura 30: características morfológicas internas de la concha.	90
Figura 31: medidas morfológicas exteriores de alto, grueso y longitud de la concha...	91

GLOSARIO

- **Bivalvo:** Es un molusco acuático marino o dulceacuícola en ciertas especies que tiene el cuerpo protegido por una cubierta denominada como valvas y esta dividida en dos valvas.
- ***Magallana gigas*:** Ostra del Pacífico u ostra japonesa tiene origen en Japón, China y Corea también conocida como ostión, especie comercial.
- **Estimación gonadal:** Relación que tienen la maduración gonadal y la expulsión de huevos durante un tiempo determinado de un bivalvo.
- **Fanales:** Lámpara que sirve de canastilla individual para colocar semillas o crustáceos en crecimiento.
- **Glicógeno:** También conocido como glucosa, es la fuente principal de energía que tienen las células para utilizar durante su desarrollo o crecimiento.
- **Gónadas:** Es el órgano formador de los gametos masculinos y femeninos.
- **Hacinamiento:** Cuando existe un número elevado de organismos en un mismo lugar causando competición en la sobrevivencia de la especie.
- **Hermafrodita:** Relacionado con los organismos vivientes que tienen el sexo masculino y femenino, genera gametos tanto de hembras como de machos según la especie esto puede ser a voluntad.
- **Molusco:** Son invertebrados protóstomos celomados, con simetría bilateral no segmentada, triblásticos de cuerpo blando que es protegido por una concha.
- **Oogonias:** También conocido como ovogonias, es la célula femenina germinativa que dará paso a las células sexuales que generarán ovocitos en animales y en seres humanos crearán los óvulos.

- **Organismos epibiontes:** Son organismos vivos que viven sobre otra especie, muchos de estos no benefician ni perjudican con excepciones al intentar competir por alimento cuando este escasea.

- **Perifitones:** Es el complejo conjunto de organismos de bacterias, hongos, algas y protozoos embebidos en una matriz polisacárida. Comúnmente se utiliza el término como sinónimo de biofilm, aunque hoy se reserva el término perifiton para aquel complejo que se forma sobre las plantas.

- **Protándrico:** Son organismos que se desarrollan como macho y después se transforman en su opuesto según las condiciones del ambiente para su reproducción.

ABREVIATURAS

°C: Simbología de temperatura.

µm: El micrómetro, micrón o micra es una unidad de longitud equivalente a una milésima parte de un milímetro. Su símbolo es µm.

CLC: Tabla de calidad para las larvas de *M. gigas*.

CTC: Tabla de control de talla en laboratorio en relación al crecimiento de *M. gigas*.

Mm: Simbología de medición mm (milímetro).

pH: Simbología de peachimetro.

INFLUENCIA DEL SUMINISTRO DE *CHAETOCEROS GRACILIS* EN RELACIÓN CON EL ÍNDICE GONADAL EN *MAGALLANA GIGAS* EN CONDICIONES DE LABORATORIO EN LA COMUNA EL REAL, CHANDUY-SANTA ELENA, MAYO A AGOSTO DEL 2022

Autor: Estefanía Samanta Oña Pérez
Tutor: Ing. Jimmy Villón Moreno, M. Sc

RESUMEN

En el Ecuador, dentro de la provincia de Santa Elena, se cultiva *Magallana gigas* en la comuna El Real-Chanduy. La finalidad de esta investigación es el determinar el índice gonadal aplicando la metodología de Meléndez-Galicia para una estimación de la maduración con relación al alimento durante mayo-agosto del 2022. Se obtuvieron 150 reproductores de la comuna Monteverde, se transportó hasta el Centro de Reproducción y Cultivo de Ostras en el Ecuador, donde se realizó un lavado eliminando organismos adheridos, se procedió a tomar datos morfológicos cada 15 días durante 45 días. Se acondicionaron los reproductores con 1 hora al ambiente y se colocó en los tanques de concentración alta de 1.8 millones de cel/ml, media de 1.5 millones de cel/ml y baja de 1.2 millones de cel/ml preparados e identificados con antelación. A la 7^{ma} semana se ejecutó el desove, obteniendo 15 hembras con 30 millones de ovocitos de la concentración alta, 5 hembras con 1 millón de ovogonias de la concentración media, sus estadios larvarios estuvieron alrededor de 0-18 días, desde larva D hasta la fijación; el porcentaje de sobrevivencia fue de 13-15 % de la densidad alta; el 50 % de larvas de la concentración media desfallecieron antes de ser pediveliger el cual se eliminó el lote por falta de madurez larvaria. El tratamiento de alimentación alta fue un factor principal dentro de la maduración para la obtención de hembras y ovogonias, el desarrollo de los reproductores influyó en la calidad larvaria.

Palabras claves: *Alimentación, concentración, desove, cel/ml*

INFLUENCE OF THE SUPPLY OF CHAETOCEROS GRACILIS IN RELATION TO THE GONADAL INDEX IN MAGALLANA GIGAS UNDER LABORATORY CONDITIONS IN REAL COMMUNE, CHANDUY-SANTA ELENA, MAY TO AUGUST 2022

Author: Estefanía Samanta Oña Pérez
Tutor: Ing. Jimmy Villón Moreno, M. Sc

ABSTRACT

In Ecuador, within the province of Santa Elena, *Magallana gigas* is cultivated in the El Real-Chanduy commune. The purpose of this research is to determine the gonadal index by applying the Meléndez-Galicia methodology for an estimation of maturation in relation to food during May-August 2022. 150 breeders were obtained from the Monteverde commune, transported to the Center of Reproduction and Culture of Oysters in Ecuador, where a wash was carried out to eliminate adhering organisms, morphometric data was taken every 15 days for 45 days. Breeders were conditioned for 1 hour in the environment and placed in tanks with a high concentration of 1.8 cells/ml, a medium concentration of 1.5 cells/ml and a low concentration of 1.2 cells/ml, prepared and identified in advance. At week 7 spawning was carried out, obtaining 15 females with 30 million oocytes from the high concentration, 5 females with 1 million oogonia from the medium concentration, their larval stages were around 0-18 days, from larva D to fixation; the survival rate was 13-15% in high density; 50% of the larvae of the average concentration fainted before being pediveliger, which was eliminated from the batch due to lack of larval maturity. The high feeding treatment was a main factor in maturation to obtain females and oogonia, the development of the broodstock influenced larval quality.

Keywords: Feeding, concentration, spawning, cell/ml

1. INTRODUCCIÓN

La ostra del pacífico u ostra japonesa tiene origen en Japón, es conocida como el ostión japonés, esta es una especie estuarina la misma que prefiere lugares firmes para adherirse y llevar una vida sedentaria; las larvas de *M. gigas* se alojan en piedras, conchas o desechos en zonas intermareal con una profundidad aproximada de 40 a 50 metros (FAO, 2005-2021).

En el Ecuador su cultivo empezó con el Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM) misma que, inicio con la especie importada desde Chile; esta fue introducida en el comercio nacional local en un tiempo corto desde su llegada, no obstante, debido al poco conocimiento de la población no tuvo el auge esperado a inicio de los primeros años, sin embargo, ha ido avanzando con el paso del tiempo y el mercado de consumidores a nivel nacional e internacional ha tenido mejor acogida (Alvarez, 2008).

En la provincia de Santa Elena el cultivo de esta especie se dio con el CENAIM y en 2017 con el Laboratorio de semillas de *Magallana gigas*, ubicada en la comuna El Real-Chanduy, siendo estas dos instituciones las únicas avaladas en el Ecuador a nivel nacional para su producción y comercio. El laboratorio fue un proyecto por parte de la Prefectura de Santa Elena cuyas instalaciones fueron efectuadas gracias al convenio con la Oficina Comercial del Gobierno de China-Taiwán con el fin de promover el desarrollo de los pescadores artesanales de El Real, Palmar, Ayangué, San Pedro, Valdivia, Anconcito y La Entrada (Cisneros, 2017).

En la actualidad la obtención de las semillas se realiza por medio de las dos entidades gubernamentales antes mencionadas, no obstante, la mortalidad de los reproductores extraídos de mar abierto es alta y el estrés que sufren acarrea consecuencia de mortalidades dentro de las diferentes fases de larvicultura en especial el área de aclimatación con un total aproximado de entre el 40 a 60% de perennidad ya sea por factores naturales (físicoquímicos, alimentación, falta de oxígeno, entre otros..) o por manipulación del hombre (Chávez, 2014).

Por otro lado, Fernández (2012) menciona que, las ostras jóvenes y adultas se alimentan de microalgas que se encuentran en el medio marino, lo que ocasiona una maduración reproductiva dispareja (no se localiza la misma cantidad de alimento en todo el océano) debido a que existe una gran variedad de algas marinas, depredadores y organismos epibiontes que impiden la buena nutrición lo que causa que exista competencia por alimento y espacio.

A diferencia de esto, en un medio controlado se pueden examinar las dificultades reduciendo la mortalidad de reproductores para poder inspeccionar los factores negativos que inciden en esta consecuencia y tener una mejor intervención y manejo en larvicultura, no obstante, en mar abierto se desconoce el nivel o grado de maduración que éstas tienen lo que es un control casi imposible y difícil de identificar y como secuela se debe sacrificar al organismo para conocer su grado de madurez, lo que ocasiona pérdidas y reducción de ejemplares con el fin en el que fueron extraídos, a pesar de eso las ostras que se extraen del medio cuentan con un tamaño aproximado de 7 a 9 cm (talla comercial) según lo mencionan Chávez-Villalba (2014), siendo este uno de los principales problemas en la ostricultura debido a que es el factor que determinan la supervivencia de los reproductores fuera de su medio natural; Espinosa (2021), también menciona que la talla promedio para su extracción sea de 9 – 11 cm lo que permite el desove en un entorno controlado consintiendo una eclosión efectiva de los huevos.

Por lo cual, uno de los parámetros importantes en la maduración de la ostra en medios naturales es la disponibilidad alimenticia, puesto que, las hembras dominan la proporción sexual siempre y cuando el alimento sea cuantioso, por otro lado, ocurre lo opuesto al presentarse escasez alimentaria (FAO, 2009). Además, la ostra posee una alta tolerancia a temperatura y salinidad del pacífico con una rápida adaptación a las condiciones marinas locales, por lo que es considerada como una de las especies promotoras para su cultivo, de modo que, dentro de instalaciones tal que el CENAIM y el laboratorio de semillas en El Real se mantiene a una salinidad óptima de 20 a 25 ‰ y a una temperatura de 30 a 35 °C mismos que son recomendados por Quiroz & García (2016), para su correcto cultivo dentro de las dos instalaciones gubernamentales según FAO (2005-2021).

Cómo consiguiente, la finalidad de esta investigación es el determinar el índice gonadal aplicando la metodología de Meléndez-Galicia para una estimación de la maduración con relación al alimento durante los meses de mayo-agosto del 2022, lo que ayudará a desarrollar conocimientos en los manejos de reproductores y semillas en condiciones de laboratorio para identificar el crecimiento de larvas después de la eclosión hasta antes de ser semilla (1 cm) asemejando los componentes positivos en este procedimiento y fomentar su investigación.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El crecimiento de las ostras es incierto y su volumen de cosecha se basa según la cantidad de semillas para engorde, mismas que, tiene relación con la cantidad de alimento que poseen para obtener semillas fijas de buena calidad; en el Ecuador la información relacionada con el desove, maduración y fijación de las semillas son pocas, al igual que la cantidad alimenticia para su mejora gonadal, no obstante, el cultivo de ostras es una actividad novedosa en el país donde su principal objetivo es poder caracterizar un cultivo con concentración de alimento controlado para la obtención de hembras y huevos.

Por ende, la falta de conocimiento a nivel nacional del manejo y alimentación correcta de reproductores y semillas antes de 1 mm son pocas lo que genera pérdidas dado que no se conoce su nivel gonadal sin antes sacrificar organismos, ¿Cómo determinar el nivel adecuado de alimento a los reproductores para obtener un correcto desarrollo gonadal que facilite una mejora larvaria y la obtención de semillas dentro del proceso de larvicultura?

3. JUSTIFICACIÓN

Al presente, la información disponible sobre la reproducción, desove y fijación de larvas de *M. gigas* en condiciones controladas son limitadas y se desconoce un método efectivo de desarrollo gonadal, sin embargo, existen varias metodologías que se enfocan en la semilla ya de 1 o 2 mm, puesto que, su manipulación es más controlable y los riesgos de mortalidades se han convertido en obstáculos superables.

No obstante, la semilla es el principal objetivo de un cultivo de ostras en el Ecuador y la obtención de la misma es un obstáculo, ya que, el poder determinar el nivel adecuado de alimento y tiempo de maduración de los reproductores es un factor que no se puede controlar a simple vista lo que implica abnegaciones de organismos, además, la seguridad del manejo de ostras sin el conocimiento adecuado, no asevera un cultivo con el cien por ciento de garantía; para asegurar una correcta maduración y calidad de larvas los reproductores deben encontrarse en un medio vigilado y rico en alimentación por tal razón, este estudio cuenta con la viabilidad para realizar el proceso y control de las larvas para obtener los datos dentro de esta investigación.

Por tal razón, la importancia de este estudio es el proporcionar la información para brindarla a instituciones públicas y privadas que trabajan en el desarrollo de semillas, que permita generar nuevos conocimientos aplicables en su cultivo, accediendo a profundizar el aprendizaje en la maduración de ostras posibilitando un mayor número de hembras maduras y huevos viables mejorando la proveniencia de larvas y semillas de buena calidad.

4. OBJETIVOS

4.1. GENERAL

Determinar el índice gonadal de *M. gigas* aplicando la metodología de Meléndez-Galicia para una estimación de la maduración con relación a *C. gracilis* durante los meses de mayo-agosto del 2022.

4.2. ESPECÍFICO

- Relacionar el peso de los reproductores con la cantidad gonadal de *M. gigas*, aplicando la metodología empleada en *Rossignoli* para relacionarlos con los índices de producción (desove, eclosión y fertilidad de huevos).
- Describir el crecimiento larval de *M. gigas* en cada una de sus fases, mediante el uso de un microscopio óptico para la determinación de supervivencia de huevos post-eclosión.
- Cuantificar el nivel de alimentación de *C. gracilis* a 3 concentraciones diferentes y su relación con el estado sexual mediante la saciedad del alimento en las réplicas de maduración.

4. HIPÓTESIS

H 1: La concentración de *C. gracilis* influye sobre el desarrollo gonadal y la maduración de *M. gigas*, permitiendo la supervivencia de larvas dentro de un medio controlado.

H 0: La concentración de *C. gracilis* no influye sobre el desarrollo gonadal y la maduración de *M. gigas*, permitiendo la supervivencia de larvas dentro de un medio controlado.

5. MARCO TEÓRICO

5.1. *Magallana gigas*

Magallana gigas tiene una reproducción por sexos separados y su maduración es influenciada por las estaciones climáticas mensuales que posee en su medio natural, mismos que, contribuyen en su desarrollo larvario de manera directa. Asimismo, esta tiene una reproducción externa donde los machos expulsan el esperma al igual que las hembras expulsan los huevos para su fecundación y posterior la fijación (Vásquez, 2007).

Magallana gigas tiene una alimentación por filtración, el cual ingresa por la abertura de las valvas y el agua entra a sus branquias hasta al sistema digestivo, no obstante, en condiciones naturales la ostra no necesita ser alimentadas, ya que esta encuentra su sustento en el medio, *Figura 1* (Vásquez, 2007). Sin embargo, dentro de las condiciones de laboratorio se precisa constante observación y suministro alimentario para evitar mortalidades por inanición, puesto que, dependen de la dosis diaria (Icaro, 2013).

La FAO en el (2005) menciona que: “*El ostión japonés es hermafrodita protándrico, madurando comúnmente primero como machos. En zonas con buena disponibilidad de alimentos, las hembras dominan la proporción sexual en poblaciones de ostras mayores, mientras que lo opuesto se presenta en áreas con menor disponibilidad alimenticia. Las ostras hembras pueden transformarse en machos cuando el alimento escasea, por ejemplo, cuando se encuentran en situación de hacinamiento*”.

Por otro lado, los reproductores tienden a llegar a la madurez sexual a partir del año o de los 2 años en condiciones ambientales naturales, siendo la causa principal la variabilidad de alimento que existe en el medio, así como los cambios climáticos que este posee al largo del tiempo, no obstante, en un laboratorio maduran en un aproximado de 6 a 8 semanas dentro de la preparación en cautiverio lo que permite alcanzar la madurez reproductiva e iniciar la gametogénesis y conseguir el desarrollo de los gametos *Figura 2* (FAO, 2009); las ostras maduras hembras pueden llegar a tener un aproximado de 50 a 200 millones de ovocitos que se fertilizarán con esperma de machos ponderados (FAO, 2005-2021).

Asimismo, el crecimiento y volumen de la siembra de las ostras se ha ido convirtiendo en una actividad económica atractiva para los residentes de la zona costera del Ecuador, rehaciendo en un movimiento comercial a nivel nacional (Sanchez, 2015). Sin embargo, las prácticas o conocimiento básico de su desarrollo larvario perjudican el cultivo, lo que pone en riesgo la supervivencia del reproductor y de las larvas, ocasionando variaciones en su crecimiento y maduración, además, los estadios y maduraciones gonadales tiene a ser factores determinantes para tener una eclosión satisfactoria donde las diferentes fases de larvicultura han de desarrollarse posterior a este paso, no obstante, se han realizado pocos estudios con este tema a causa de que en el Ecuador existe poca información relacionada con el desove, maduración y fijación de las semillas de ostras dentro de un laboratorio (Chávez, 2014).

5.2. ANATOMÍA DE *Magallana gigas*

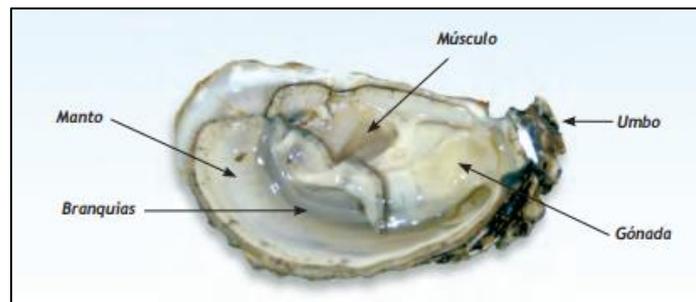


Figura 1: Anatomía de *M. gigas*

Fuente: (Vásquez, 2007).

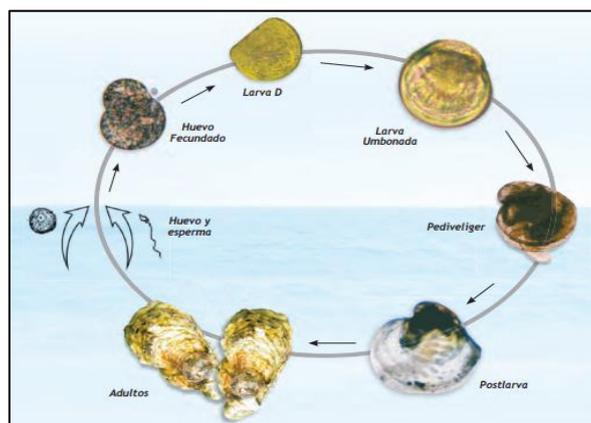


Figura 2: Ciclo de vida de la ostra del Pacífico

Fuente: (Vásquez, 2007).

5.3. MICROALGA *Chaetoceros gracilis*

Chaetoceros gracilis es una microalga que pertenece a las diatomeas céntricas, siendo muy utilizada para la investigación científica, aparte es una de las microalgas más manipuladas para la alimentación de larvas de crustáceos alrededor del mundo (Artiles, 2000).

Esta posee una tolerancia hasta los 40 °C con un valor nutricional del 23.94 % de proteína, 8,69% de lípidos y 19,01% de carbohidratos, tiene un cultivo rápido dentro del medio de la acuicultura con ayuda de nutrientes y fertilizantes en condiciones de laboratorio, esta microalga puede llegar hasta los 2 millones de células por ml bajo una buena dirección llegando a ser cultivada en ciclos naturales (nocturna) o bajo luz obteniendo crecimiento y biomasa que beneficiarán a las larvas *Figura 3* (Parra, 2015).

Microalga	Composición Química	Cuantificación
<i>Chaetoceros gracilis</i>	Densidad celular	8.442 ± 7.07x10 ⁵ cel/L
	Proteína soluble	0,58 ± 0,02 mg/L
	pH	7,7 - 9,5
	Valor de clorofila	7,12 ± 0,61 mg/L
	Nitrato	0,13 ± 0,04 mg/L
	Sodio	0,07 mg/L
	Potasio	0,02 mg/L
	Fosforo	2,09 ± 0,02 mg/L
	Magnesio	14,78 ± 0,08 mg/L
	Sulfatos	0,03 mg/L

Figura 3: Composición química de la microalga *Chaetoceros gracilis*

Fuente: (Parra, 2015)

5.4. ALIMENTACIÓN

En la actualidad, para poder dar alimento se debe de verificar el volumen de la biomasa a alimentar, puesto que, hay que tener en cuenta que este no obstruya la luz, el volumen de agua ni el oxígeno para que no baje la calidad ambiental, ya que, esto podría producir patologías externas que producen mortalidades tanto a reproductores como a semillas, según CENDEPESCA (2007), una manera fácil y rápida de verificar la mortalidad en reproductores es el de observar las valvas abiertas o no (indican mortandad si no se cierran por voluntad), mientras que, en las larvas la coloración en el tanque cambia por

la mala calidad al igual su movilidad disminuye y la nutrición consumida no es la adecuada dentro del depósito, no obstante, recomienda tener más del 50% de *Chaetoceros* en la asimilación (en el caso de que se sostenga con otras microalgas o suplementos) para mejores resultados larvarios y tener un mejor desarrollo de algas si se agrega fertilizantes agrícolas como fuente de alimento celular en los tanques de masivo de las algas (Vélez, García, Zambrano, & Chica, 2016).

Para la ingestión de las larvas se utiliza una Tabla de alimento diario de *Chaetoceros* conforme pasan los días las dosis de porciones de sustento por litros aumenta según la cantidad de larvas que se obtenga al hacer el conteo diario.

5.5. ACONDICIONAMIENTO DE LOS REPRODUCTORES

En las costas de El Salvador, en América Central se ha reportado que la temperatura es la relación directa con la iniciación de la gametogénesis la misma que, esta se activa en invierno cuando el clima posee un ambiente por alrededor de los 20 °C (considerada como tiempo frío), la fase de gametogénesis inicia y se impulsa el crecimiento en la primavera y su maduración en verano cuando la temperatura supera los 22 °C, mientras que su periodo de reabsorción o estado degenerativo ocurre en el otoño ya que, la temperatura ayuda a la proliferación de las gónadas sin importar la etapa fisiológica de las ostras (CENDEPESCA, 2007).

En el Ecuador y Perú las mejores épocas del año es en las frías al igual que el Chile, esto permite que los reproductores tengan un mejor desarrollo gonadal y las semillas estén listas para la época caliente del año puesto que, en América del sur, en el Ecuador existen 2 épocas (lluviosa y seca), es época lluviosa es desde diciembre a mayo donde el clima es cálido y lluvioso, mientras que la época seca es de junio a noviembre con temperaturas frescas dependiendo de las corrientes del Niño/Niña (Baltazar, Bermudez, & Rivera, 2000).

5.6. CULTIVO LARVARIO

Al momento de pasar la fecundación tras el desove, el desarrollo embrionario de las larvas inicia a los 40 minutos las cuales serán colocadas en los tanques temperados para mantener el desarrollo larvario, así mismo, el agua marina para este proceso se encontró libre de contaminación y de agentes patógenos externos, cada tanque dotado de aireación constante de forma suave para que no afecte a las larvas manteniendo la homogeneidad, posterior al transcurso de 1 a 3 días las larvas continúan su proceso de maduración en larvas D, manteniendo una Tabla de alimentación para evitar mortalidades con una medición aproximada de 70 a 100 μm , después de 4 a 9 días esta se convierte en veliger aumentando su actividad natatoria y gran consumo de alimento desarrollando las protuberancias características propias de la especie pasando a ser larvas umbonadas a los 10 u 13 días con un tamaño aproximado entre 132 y 163 μm las cuales tienden a desarrollar un pie como característica de esta fase larvaria al igual que la mancha ocular *Figura 4* llegando a la etapa pediveliger a los 15 días pasados la fecundación; para este paso las larvas ya están listas para la metamorfosis la cual será la fijación de esta para su crecimiento y engorde final (Lodeiros & Lovatelli, 2019).

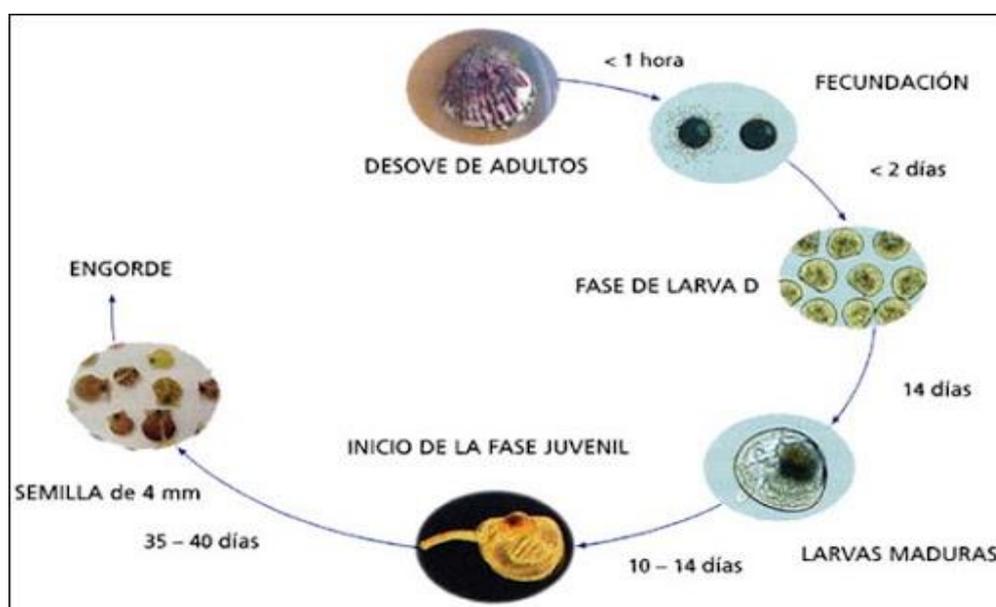


Figura 4: Representación de las etapas de desarrollo larvario dentro de un criadero.

Fuente: (FAO, 2006).

5.7. CONTROL DE CALIDAD

Para una estimación de la maduración gonadal con relación al alimento durante los meses de junio a agosto se toma de guía a la Tabla denominada “Fase del desarrollo gonádico de *Crassostrea iridescens* (Baqueiro *et al.*, 1992; Sevilla, 1993)” Tabla que fue adaptada a *M. gigas* y que se detalla a continuación para identificar cada etapa gonádica de los reproductores *Figura 5* (Meléndez-Galicia, 2015).

Fases	Características	
	Machos	Hembras
Gametogénesis inicial	Espermatogonias y espermatoцитos localizados en la periferia de los folículos. Pocos espermatozoides al centro.	Pocos ovocitos maduros en la luz del túbulo. Ovocitos inmaduros adheridos a la pared folicular.
Gametogénesis avanzada	Tejido conjuntivo reducido. Los espermatoцитos ocupan un estrato grueso. Los espermatozoides se localizan en la luz de los túbulos. Actividad del epitelio germinal.	Folículos grandes y anastomosados. Folículos con relación íntima entre sus membranas conjuntivas basales. Ovocitos maduros predominantes. Gran actividad del epitelio germinal.
Madurez	Tejido conectivo vesicular (TCV) relativamente abundante en la periferia y entre folículos.	Óvulos maduros de formas poliédricas y redondas en corte transversal, desprendidos de la pared folicular. Óvulos con citoplasma abundante y aspecto granuloso. Membrana nuclear delimitada.
Reproductiva o desove	Ambos sexos: La gónada ocupa gran espacio y está en estrecho contacto con el hepatopáncreas. El tejido conectivo interfolicular casi desaparece. Los folículos en su mayoría se ven anastomosados o fusionados, en estrecho contacto con células sexuales, las cuales están uniformemente distribuidas.	
Postdesove	Ambos sexos: Se inicia la expulsión de los gametos. Suele presentarse abundante tejido roto. Disminuye la cantidad de gametos en los folículos, con huecos en la zona ocupada por la gónada. Cesa expulsión y producción de gametos. Pocos folículos y células sexuales. Comienza la concentración de los productos sexuales residuales en los conductos regenerados.	Incremento de gametos “no funcionales” (anormalidad en forma y estructura), núcleo y nucléolo no están claramente definidos. Aumento del número de células del tejido conectivo vesicular.
Indiferenciado o reposo	Gran concentración de productos sexuales residuales. Pueden permanecer funcionales al otro ciclo, o ser reabsorbidos.	El tejido conjuntivo inicia su desarrollo hasta constituir una gruesa capa. Puede presentarse invasión fagocitaria.

Figura 5: Fase de desarrollo gonádico

Fuente: (Meléndez-Galicia, 2015).

Según *Rossignoli* (2006), para poder obtener mejores resultados al momento de realizar el control bajo el microscopio se debe de realizar una extracción de una pieza de tejido (de aproximadamente 5 milímetros de espesor) correspondiente a una sección transversal realizada a la altura de la unión entre los palpos labiales y las branquias que serán examinadas al microscopio óptico con el fin de determinar la maduración gonadal. Mientras que, para cuantificar la maduración gonadal se realizó bajo una escala establecida por *Rossignoli* (2006) que a partir de un esquema propuesto por Mann (1979) y por Steele & Mulcahy (1999), en base a dicha escala se calcula un índice de

maduración gonadal (I.M.G.) (Seed & Brown, 1975) mensual (para el conjunto de la población y, también, para machos y hembras por separado) como una media ponderada conforme a la siguiente categorización de los estados de maduración gonadal (Shafee, 1991).

Estado 0	Gónadas inactivas o en reposo	0
Estado 1	Actividad temprana	1
Estado 2	Gónadas en desarrollo	2
Estado 3	Madurez	3
Estado 4	Desove	4
Estado 5	Reabsorción	5

Figura 6: Estadios de desove.

Fuente: (Rossignoli, 2006)

Donde, para cada muestra dentro del estudio realizado por el mismo autor, el número de ostras en cada estado fue multiplicado por el “peso” atribuido a cada estado. El producto de esta multiplicación fue sumado y el resultado dividido por el número total de ostras en la muestra. El desarrollo gametogénico fue indicado por un incremento de peso en el índice de maduración gonadal, mientras que, una disminución de esta señalaba que el desove había tenido lugar (Shafee, 1991).

5.8. PRUEBA DE RESISTENCIA PARA LA FIJACIÓN

Baltazar (1999) en su trabajo investigativo denominado como “Cultivo de la ostra *M. gigas* en un vivero artesanal” indica que, la mayoría de las fijaciones exitosas se realizan en conchas molidas, plástico lijado y fibra de vidrio, en algunos casos valvas enteras esto con el fin de tener un mayor éxito y porcentaje fijado puesto que, asimila el medio físico natural en mar abierto. Esto significa que la larva responde de manera diferente a sustratos únicos ya que, para su metamorfosis el sustrato adecuado y mixto incrementa la posibilidad de mejor desarrollo gonádico y larvario. Además, también señala que estos sustratos tuvieron mayor tiempo de exposición al agua salada lo que permitió que se cubriesen rápidamente de una fina película bacteriana no patógena, microalgas y perifitones lo que permitió una fijación completa. Se ha demostrado en

este estudio que las larvas se fijan más a superficies rugosas como mecanismo de asentamiento para mejor desarrollo y fijación a lo largo de su ciclo.

Por otro lado, Durán y otros (2010) indica que *M. gigas* tiene mejor acondicionamiento en temporada fría puesto que, sus resultados indican que durante los meses de julio a septiembre del 2005 *M. gigas* creció de 41 a 46.1 mm no obstante, tiende a tener mayor mortalidad por la adaptación que estas requieren dando un gasto de energía y pérdida de músculo, sin embargo, estima que si se realiza la fijación en estos meses la larva tendrá resistencia en un medio controlado puesto que un lugar controlado como un laboratorio de crianza larvaria limita la mortalidad lo que accede un mayor porcentaje de sobrevivencia a comparación de otras especies o de otro cultivo en medio abierto.

Asimismo, Espinosa (2021) en su trabajo investigativo denominado como “Genes de respuesta a estrés térmico regulados por metilación en el ostión del pacífico *Magallana gigas* ” indica que, la resistencia a cambios ambientales puede reflejarse mediante la transmisión de la información de padres a hijos mediante el genoma y epigenoma, *M. gigas* presenta mejor crecimiento en temporadas cálidas lo que es un factor principal para identificar la preferencia a altas temperaturas para mejor resistencia puesto que no demanda mucha energía su adaptación y acondicionamiento; el cambio a temperaturas bajas causan mortalidades, no obstante, se tiene un rápido crecimiento aunque con pocas probabilidades de sobrevivir y en algunos casos se tiene poca musculatura, no obstante, se tuvo como conclusión que si se realiza una fijación larvaria en medio frío-cálido las larvas tendrían un mejor acondicionamiento y su capacidad de crecimiento aumentaría y la mortalidad en la adultes sería menor.

Por otro lado, para tener una fijación exitosa en un medio artificial se practican varios métodos y técnicas que ayudan a la estimulación de los reproductores que inducen al estrés ocasionando el desove (Baquerizo, 2003); entre estos métodos existen estímulos físicos externos como la exposición al aire libre, cambios de temperatura y salinidad, en especial se utiliza el choque térmico y estimulantes químicos como el peróxido de hidrógeno, cloruro de potasio o inyección de monoaminas como la serotonina, dopamina, esteroides, entre otros (Loor, 2012).

6. MARCO METODOLÓGICO

6.1. LOCALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Este estudio se realizó en la provincia de Santa Elena, dentro de la península de Santa Elena en la parroquia de Chanduy en la comuna El Real, donde se encuentra ubicado el Laboratorio de Semillas para la Reproducción y Cultivo de Ostras *Figura 7*, en las coordenadas 2°23'19"S; 80°43'16"W.

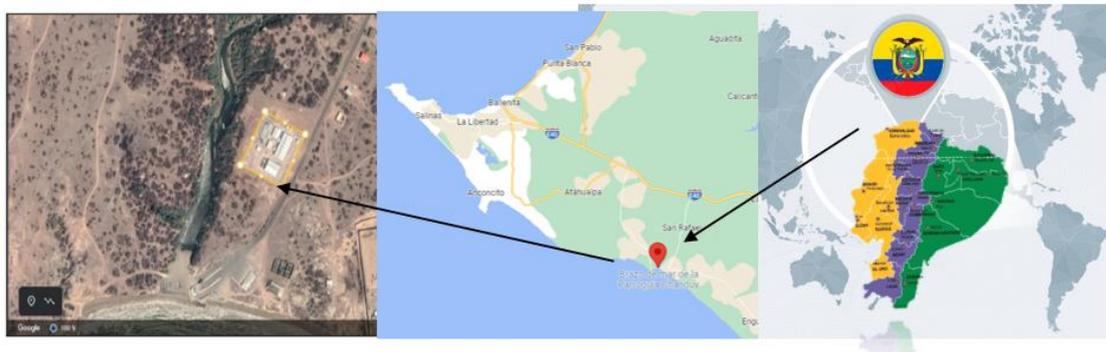


Figura 7: Ubicación geográfica del laboratorio

Fuente: (Google Earth, 2021); modificado por Oña (2022).

6.2. PROCESO DE OBTENCIÓN DE REPRODUCTORES

Los reproductores se obtuvieron de la comuna de Monteverde, 150 ostras, de cultivos de los ostreros de la localidad. Se ubicó dentro de un balde para poder limpiarlas de forma adecuada y posterior se colocó en un balde para su transporte y poder mantener a los organismos vivos hasta su llegada al laboratorio, siempre vigilados que no se golpeen o agrieten a consecuencia del transporte, los cambios producidos inducen al estrés y mortalidades, asimismo, esto podría influir en su maduración.

6.3. LIMPIEZA DE REPRODUCTORES *in situ*

Una vez obtenidas las ostras de las linternas se procedió a extraer de los fanales y se inició la limpieza en un recipiente con agua limpia; con ayuda de un cepillo de cerdas semiduras se frotó cada una, eliminando la fauna marina excedente, esto para evitar que

se transporten algas, ostras adheridas, basura, depredadores, entre otros., que pueden contaminar al agua dentro de las instalaciones del laboratorio *Figura 8*.



Figura 8: Limpieza de reproductores de *M. gigas* en la embarcación de extracción.

6.4. LAVADO DE REPRODUCTORES EN LABORATORIO

Dentro de las instalaciones, se procedió a receiptar las canastas trasportadoras con los ejemplares extraídos y se ubicó en gavetas caladas planas, para complementar la limpieza. La depuración externa, se realizó con un cepillo de cerdas semiduras, para retirar la fauna adherida que persiste luego del primer proceso de limpieza, para retirar organismos perforadores y gusanos se utilizaron pinzas. En ciertas circunstancias se aíslan posibles objetos extraños adheridos después del proceso de depuración externa, como alambres, plásticos, entre otros. Al mismo tiempo, se ubicó en un recipiente con agua dulce limpia con la finalidad de eliminar impurezas y garantizar la ausencia de organismos competidores; por último, se ubica las ostras en gavetas para ser trasladadas al área de maduración.

6.5. TOMA DE MEDIDAS MORFOLÓGICAS

Para las mediciones se utilizó un calibrador vernier metálico donde se midió la longitud, grosor y altura de las valvas de *M. gigas*.

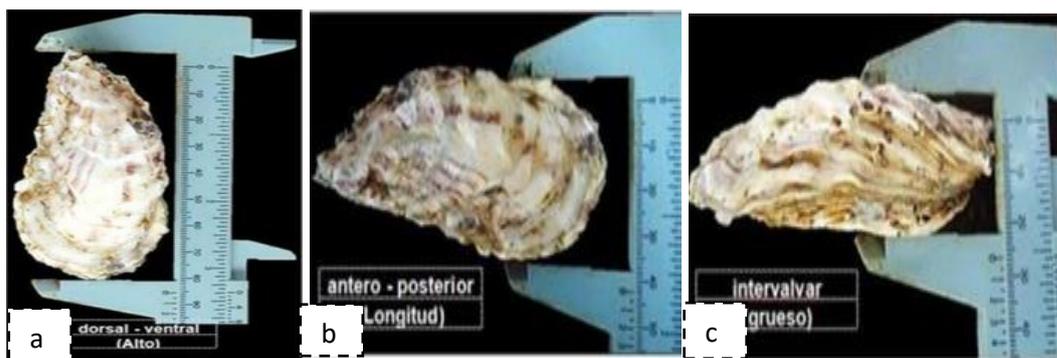


Figura 9: Dimensiones morfométricas tomadas al ostión de *M. gigas*

Fuente: (Rodríguez, 2015).

Para la toma de medidas primero se inicia con el alto de la valva, así como se puede ver en la primera *Figura 9-a* en el cual se coloca desde el umbo hasta los pliegues comisurales moderados dentro del calibrador vernier. En la *Figura 9-b* se logra notar como se obtiene la medida de la longitud que es desde los pliegues comisurales agudos en cada lado. En *Figura 9-c* se mide el grosor del ostión siendo este desde las láminas de crecimiento desde el lado anterior en ambos extremos (desde el umbo) (*ver anexo 5*).

6.6. IMPLEMENTOS TÉCNICOS UTILIZADOS

Se utilizaron 3 tanques plásticos de 5 toneladas, en cada uno se colocaron 50 ostras en gavetas caladas de suspensión, las mangueras de oxígeno fueron ubicadas en el fondo del tanque. En el área de laboratorio se usaron gavetas, tamices de 100, 200 y 300 micras, filtros de agua de 500 micras, y para observación se trabajó con 2 microscopios óptico binocular-Boeco, 1 estereomicroscopio-Boeco y material práctico. Adicionalmente se contó con tanques plásticos de una capacidad de 3 000 litros y de fibra de vidrio con un aforo de 3 toneladas que fueron utilizados para la maduración, desove y fijación de semillas.

El alimento diario de las ostras fue provisto por el laboratorio de algas que se ubica dentro de las instalaciones de cultivo de semillas de *M. gigas*; el mecanismo práctico y material portable de laboratorio que se utilizó fue: equipo de disección, papel absorbente, bisturís, aza bacteriológica, tubos de ensayo, termómetro de mercurio (vidrio) y digital marca TDS-3 (TDS/TEMP), peachimetro marca pH Meter (range 0.00 – 14.00).

El agua utilizada dentro de las instalaciones se trató con ayuda de filtros de 250, 400 y 550 micras para evitar pequeñas partículas ingresen dentro de los tanques y de esta manera ser eliminados, del mismo modo, el agua es obtenida con ayuda de tuberías subterráneas que salen del laboratorio hasta 50 metros dentro del mar que serán almacenadas dentro de reservorios para su posterior uso con una capacidad de 5 toneladas.

6.7. RECOLECCIÓN DE DATOS

La recolección de datos inició el 7 de mayo del 2022; el primer día se realizó la toma de datos morfométricos de los 150 ejemplares efectuando el marcaje con ayuda de una impresora de etiquetas manual, para el registro de datos morfológico de tallas (longitud, grosor y altura) de cada reproductor se usó un calibrador vernier y para el peso se utilizó una balanza gramera, esto se ejecutó después del proceso de limpieza descrito con anterioridad; una vez realizada la toma de datos morfológicos se procedió a producir un desove para iniciar desde la etapa de descanso o reabsorción sexual.

Luego de este ensayo se procedió a colocarlos en gavetas caladas y se las ubicó dentro de los tanques a concentraciones de alimentación alta a 1.8 millones de cel/ml, media de 1.5 millones de cel/ml y baja de 1.2 millones de cel/ml *ver Figura 10*.



Figura 10: Tanques de maduración de *M. gigas* dentro del área de maduración en las instalaciones del laboratorio.

Posterior a esto, después de 15 días, se tomaron las medidas morfológicas de talla y peso de los organismos, este proceso se realizó 3 veces dando un total de 45 días, se llevó un registro en el cual se anotaron los datos obtenidos, en cada muestreo biométrico se sacrificaron 2 organismos para identificar el desarrollo gonadal.

El protocolo a seguir para el sacrificio de los animales fue primero pesar la ostra entera sin abrir, posterior se procedió a dividir la ostra *Figura 11* con la ayuda de un bisturí evitando dañar el manto y el saco gonadal, luego se pesó el agua que se encontraba en el interior de la ostra y se colocó en un vidrio reloj aparte para ser pesado, después se extrajo las gónadas y se las colocó sobre la balanza gramera y por último se comenzó a retirar parte del líquido blanco proveniente del saco gonadal y se observó bajo el microscopio.

Los datos obtenidos se registraron y tabularon para su posterior análisis, se obtuvo un total de 150 organismos muestreados de las 3 concentraciones de alimento, incluidos los sacrificados. Por otra parte, se realizó un muestreo cada 5 días de la condición del agua del tanque, calidad de las algas, presencia de parásitos y/o basura.

Como protocolo de trabajo se efectuaba diario la limpieza del fondo por acumulación de heces y algas muertas, los recambios totales de agua se realizaron cada 3 días. El control de cel/ml fue habitual y relacionado con la cantidad de algas contadas dentro del laboratorio.

El conteo de algas se efectuó con ayuda de una cámara de Neubauer, a las 7 de la mañana, para identificar el total de cel/ml y regular el suministro de alga fresca en cada tanque con concentración alta, media y baja. La vitalidad de las algas se observaba a la vez que se efectuaba el conteo de cel/ml.

Cada 3 días se registraron valores de temperatura con ayuda de un termómetro de Hg., y se tomaron datos de pH., estos valores fueron medidos antes y después de colocar el alimento dentro de los tanques de maduración, también se midieron los parámetros después de un recambio parcial y total de agua.

Para la recepción de datos del proceso de desove, se tomó una muestra de agua de un balde con hembras y se colocó una gota en un portaobjetos y cubreobjetos a 40x debajo el microscopio, asimismo, se situó 2 ml en un vidrio reloj y se ubicó abajo el estereomicroscopio con el fin de identificar presencia de huevos y concentración por ml en el desove. Para la toma de datos del proceso de fecundación, se esperó media hora posterior al desove y se realizó el mismo proceso de observación anteriormente descrito, identificando huevos fecundados.

Para obtener el número de huevos fecundados se realizó una dilución de 1:10 el cual, se obtuvo un conteo de 10 huevos por 0.1 ml. Asimismo, como efecto en 110 litros existe un total de 11 millones de huevos. Cabe destacar que cada tanque larvario tiene capacidad de albergar hasta 3 000 litros.

6.8. ACONDICIONAMIENTO DE LOS REPRODUCTORES

El acondicionamiento de las ostras es importante dentro del proceso de larvicultura de *M. gigas*, para lograr la obtención de semillas, primero se aclimató al reproductor durante 1 hora al aire libre para su adaptación a las condiciones ambientales controladas, posterior, se empezó a ubicarlos en las panaderas caladas y se procedió a suspenderlos en el tanque alrededor de 30 a 50 cm debajo de la superficie para iniciar el tratamiento a cada una de las tres concentraciones de algas para la prueba.

El sistema de acondicionamiento de ostras fue dentro del laboratorio en El Real, se utilizó agua marina tratada y purificada con filtros UV evitando contaminación externa, misma que, el laboratorio cuenta con las instalaciones para esta manipulación; los tanques adquirieron una temperatura inicial de 23 °C manteniéndose en los 25 °C hasta los 27 °C (temperatura que trabaja el laboratorio para maduración).

6.9. MADURACIÓN

El sistema reproductivo de *M. gigas* ocupa alrededor del 60% de su volumen durante la época de maduración, dentro de las diferentes etapas se puede apreciar su crecimiento gonádico, mismos que son observados bajo el microscopio y se lo describe a continuación:

6.10. ESTADOS DE MADUREZ SEXUAL

6.10.1. ESTADIO 1- DESCANSO SEXUAL

En el caso de reproductores no maduros que se encuentran en fase de actividad temprana o de reabsorción, no existe esperma ni huevos formados, los túbulos gonádicos tienen un volumen reducido, la gónada es transparente y pequeña, se encuentran ovocitos y ovogonias de 10 micras (Baquerizo, 2003).

En este estado de madurez todos los huevos se encuentran en fase de previtelogenesis, poseen falta de crecimiento y su desarrollo es muy notorio, además, en esta etapa se inicia la acumulación y producción de vitelo dando así comienzo la madurez gonádica, encontrándose en etapa 1.

6.10.2. ESTADIO 2- GAMETOGÉNESIS

El tamaño de los túbulos gonádicos aumenta al igual que el crecimiento de los ovocitos. Se observa presencia de glicógeno, tejido sanguíneo y en el caso de ser machos se puede ver una iniciación de espermatogénesis y proliferación de elementos conjuntivos caracterizados por la presencia o inicio de espermatogonias (Baquerizo, 2003).

Para la identificación de este estadio se realizó un corte con ayuda de un bisturí cerca del musculo abductor levantando muy leve el manto dejando al descubierto las gónadas, y con ayuda de una aza bacteriológica se procedió a aplastar muy leve los túbulos gonádicos permitiendo la salida de un fluido lechoso con leves movimientos, vislumbrando que se encontraba con gónadas en desenvolvimiento, situándose en etapa 2.

6.10.3. ESTADIO 3- MADUREZ Y DESOVE

En esta etapa se observan los ovocitos redondos, separados y su tamaño oscila alrededor de 50 a 60 micras, en este período el desarrollo es irregular y coincide con los desoves espontáneos de la ostra. En el progreso gonadal, el macho

madura más rápido que la hembra, dando así un predominio de espermatozoides cerca de las paredes gonádicas. Baquerizo (2003), indica que, dependiendo de la reserva de glicógeno, estas pueden comenzar una nueva producción de gametos a la semana del desove y poder continuar con el ciclo.

6.10.4. ESTADIO 4- RESTAURACIÓN

Después del desove la hembra entra en etapa de reposición de gametos expulsados e inicia un nuevo desarrollo, se empieza la acumulación de reservas de glicógeno, y el desarrollo de oogonias, en machos no existe una restauración como tal, sino una regresión progresiva de los gametos (Baquerizo, 2003).

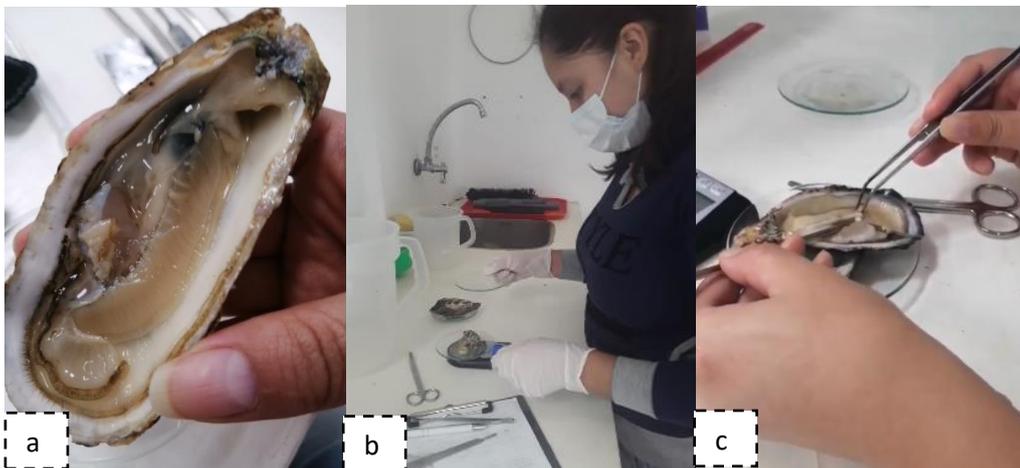


Figura 11: Análisis quincenal de las ostras dentro de las instalaciones del laboratorio.

A la *Figura 11-a* se observa una ostra abierta donde se puede ver su anatomía interna antes de realizar el control quincenal, la siguiente *Figura 11-b* se realiza su control morfométrico y a la *Figura 11-c* la separación de líquido espermático para su visualización en el microscopio.

6.11. ALIMENTACIÓN

Para empezar con el proceso de alimentación con *Chaetoceros gracilis* se procedió a separar en 3 tanques a diferentes concentraciones, el primer depósito se nutrió con 1,2 millones de células por ml., esta se denominó como la densidad baja; en el segundo tanque el sustento medio fue de 1,5 millones de cel/ml., y el tercer tanque con

concentración alimenticia de 1,8 millones de cel/ml considerado como concentración alta.

Cabe destacar que, esta concentración de alimento es dentro de los tanques de maduración, el cual, se utilizó la siguiente fórmula para la identificación del total de cel/ml “puras” a colocar al día en cada concentración alimenticia.

Entonces, para conocer la dosis se procedió a dividir 7.2 cel/ml para 3 porciones diarias *anexo 6*, este proceso se realizó para las 3 concentraciones de alimento alto, medio y bajo *Tabla 1*.

Tabla 1: Concentración diaria a suministrar en las 3 concentraciones de alimento.

Concentración alimenticia	Dosis en la mañana	Dosis al Medio día	Dosis en la Tarde	Total, cel/ml colocados al día	Concentración en el tanque
Alta	2.5 cel/ml / 1tn	2.5 cel/ml / 1tn	2.5 cel/ml / 1tn	7.5 cel/ml	1.8 cel/ml
Media	2.0 cel/ml / 1tn	2.0 cel/ml / 1tn	2.0 cel/ml / 1tn	6 cel/ml	1.5 cel/ml
baja	1.6 cel/ml /1tn	1.6 cel/ml / 1tn	1.6 cel/ml / 1tn	4.8 cel/ml	1.2 cel/ml

6.12. INDUCCIÓN AL DESOVE

Después de haber pasado a 27 °C dentro de los tanques de maduración durante 45 días, se procedió en la séptima semana a inducir al desove, el cual se provino a identificar los recipientes para colocar los reproductores de las diferentes concentraciones alimenticias, de acuerdo a Cisneros (2017) que indica que esta ocurre entre la 7ma y 8va semana.

El proceso del desove para *M. gigas* *Tabla 2* se llevó a cabo dentro de las instalaciones del laboratorio en el cual, se preparó las ostras para el desove, mismas que, fueron extraídas de los tanques y puestas a reposo durante dos horas, luego se colocó en baldes para una limpieza previa a temperatura ambiente de 24 °C, posterior a este proceso se las ubicó en un recipiente con agua a 35 °C depositándola en gavetas cónicas donde se encontraban por separado los reproductores de la concentración alta, media y baja.

En el caso de este estudio se utilizaron los choques térmicos a temperatura de 24 °C – 35 °C (cambios de temperatura brusca) que permitieron desovar sin estropear a la ostra reproductora.

Tabla 2: Proceso de desove de *Magallana gigas* en condiciones de cautiverio.

	Observaciones previas	Concentración alta	Concentración media	Concentración baja
1	Temperatura del agua a 34-35 °C 10:30 am	Empezaron a depurar (eliminación de heces y pseudoheces)	Empezaron a depurar (eliminación de heces, y parásitos)	Empezaron a depurar (eliminación de heces, y parásitos)
2	Temperatura del agua a 34-35 °C 11:00 am	Comienzan pequeños movimientos de las valvas, se encuentra semiabierto		No hay movimiento, finalizó la depuración
3	Temperatura del agua a 33 °C 11:45 am	Empezaron movimientos de posible desove, las valvas se mantenían abiertas y la depuración disminuyó	Empezaron movimientos leves, eliminación de larvas se insectos, las valvas se empezaron a abrir	Eliminación de parásitos y heces
4	Temperatura del agua a 33 °C 11:55 am	Desove de machos	Valvas abiertas con pequeños movimientos	Eliminación de heces y parásitos
5	Temperatura del agua a 34 °C 12:05	Desove de machos y posible hembra	Desove de machos	Eliminación de heces
6	Temperatura del agua a 34-35 °C 12:30 pm	Desove de hembras y machos en baldes separados	Desove de hembras y machos en baldes separados	No hay desove, se mantiene la depuración
7	Temperatura del agua a 30 °C 13:00 pm	Finalización del desove	Desove continuo	Fin del intento de desove
8	13:30 pm	-----	Finalización del desove	-----
9	Cambio de agua a temperatura de 24 °C en un balde aparte para evitar posible desove en tanques 13:50 – 14:30 pm	Desove de hembras -----	----- Desove de hembras	-----

6.13. ESPERMA Y HUEVOS: PROCESO Y DESOVE

Para la identificación de machos y hembras, durante el desove se observa las expulsiones realizadas dentro de los recipientes principales que fueron rotulados con anterioridad según su concentración alimenticia. Se extrae la ostra que presenta una expulsión en forma de hilo blanco dando a conocer su estado sexual como macho, se procedió a retirar del recipiente y a colocarlo en otro depósito con fondo negro para mejor visualización de la eliminación de esperma; a las hembras se las dejó en el recipiente principal permitiendo su distribución de huevos. Posterior a esto, una vez terminado el proceso de desove, se procedió a realizar los conteos de hembras desovadas por cada lote de concentración de alimento.

Para identificar el macho se observó la expulsión de un chorro blanquecino donde se encontró el esperma, mientras que, las hembras abren las valvas de un solo golpe, desovan los ovocitos y cierran las conchas de forma brusca, causando movimientos de agua esparciendo los óvulos. Asimismo, esta oscilación de valvas estimula a las demás ostras al desove.

6.14. TANQUES PARA DESARROLLO LARVARIO Y SEMILLAS

Luego de comenzar el desove y la expulsión de ovocitos y esperma, se da inicio el proceso de fecundación externa en gavetas preparadas a una temperatura de 32-33 °C donde, se coloca la mitad de agua con esperma y se procede a realizar ligeros movimientos con ayuda de un agitador, posterior a esto, se espera máximo 1 h para la fecundación completa, ya que, este proceso dura un aproximado de media hora.

Una vez realizada la fecundación se procedió a colocarlos dentro de dos tanques de 1 m de alto x 2 m de diámetro a una temperatura de 31- 32 °C para el desarrollo larvario de cada concentración alimenticia desovada, el cual duró 20-24 días hasta su fijación, cada tanque contiene un sistema de aireación y circulación de agua que permite a las larvas desarrollarse de forma adecuada, la alimentación fue provista de parte del laboratorio con *Isochrysis galbana*, misma que, se encontró bajo la tutela del personal a cargo.

6.15. INICIO DE ESTADIO LARVARIO

Para la identificación de los diferentes estadios larvarios se procedió a obtener una muestra de 10 ml por cada tanque, se colocó 1 gota sobre el portaobjetos y cubreobjetos para ser observados al microscopio. Además, se situó 1 ml en un vidrio reloj para analizar la vitalidad de las larvas debajo del estereomicroscopio.

6.15.1. LARVA D 1-3 DÍAS

Alrededor de 6 horas después de la fecundación inicia el estadio larvario D, se observó al microscopio y se visualizó la forma de una “D”, en este estadio no se notó manchas oculares. Según CENDEPESCA (2007), esta fase puede llegar a durar hasta 3 días a consecuencia de no poseer una alimentación acorde.

6.15.2. LARVA UMBONADA 4-13 DÍAS

Este estadio es también conocido como larva prodisconcha o veliger, en esta etapa se pudo observar un velo para su locomoción y alimentación, se logró percibir un crecimiento hasta alcanzar las 250 μm , según Pacheco (2016), se inicia un desarrollo sensorial y se empieza a crear un punto negro llamado el “ojo” cerca de las glándulas por la ranura anterior el cual indica que se encuentra lista para la fijación.

6.15.3. PEDIVELIGER 14-15 DÍAS 0.3 MM

De igual forma, una vez identificado el proceso anterior, dentro de las instalaciones del laboratorio, se preparó el sustrato y los tanques de fijación. En este estadio se visualizó que la concha poseía una secreción y se miró la aparición del “pie” el cual fue utilizado para la fijación, en esta etapa se vio el manto. Pacheco, (2016) indica que en esta etapa el inicio del desarrollo y crecimiento del músculo llega a tener un tamaño aproximado de 280 μm , dando paso para la metamorfosis.

6.15.4. METAMORFOSIS 15 DÍAS EN ADELANTE

Una vez preparado el sustrato y después de haber pasado por pediveliger, se realizó un cambio térmico donde se enfriaron las larvas durante 10 minutos, posterior se las colocó dentro del tanque semillero con agua templada, esto ayudó a la estimulación de la larva a adherirse a un sustrato sólido permitiendo una asimilación al sustrato permitiendo una fijación exitosa.

6.15.5. PRESEMILLA SEMILLA 1-3 MM

En esta etapa se puede ver ya la semilla de *M. gigas*, esto quiere decir, que no se necesita de un microscopio o estereomicroscopio para su observación, puesto que, tiene un tamaño aproximado de 1 a 3 mm, siendo este un valor visible al ojo humano y ya con la forma se una ostra.

6.15.6. ENGORDE 1 CM

En esta etapa se mantienen las semillas hasta que su tamaño sea de 1 cm. Se inicia el proceso de preparación de las canastillas para ser enviadas a mar abierto para su engorde hasta la talla comercial de 7-9 cm *Figura 12*.



Figura 12: desarrollo larvario de *M. gigas*
Fuente: (Loor, 2012)

6.16. SEPARACIÓN DE LAS SEMILLAS POR TAMICES

Por otro lado, después de haber pasado el tiempo de desarrollo larvario y estar listas para la fijación, se realizó una colación por medio de tamices de 100 micras que se utilizó para los estadios de larva umbonada y pediveliger, 200 micras para pediveliger y metamorfosis y 300 micras para presemilla, las larvas muertas y los residuos sólidos como las heces fueron separados al final de cada tamizaje, las larvas pequeñas o con falta de desarrollo se colocaron en otras áreas para que continúen su proceso y no retrasen a las demás por su corto desarrollo.

Posterior, se procedió a colocar dentro de dos tanques semilleros de fibra de vidrio con dimensión de 1.25 m de ancho x 8 m de largo x 0.90 m de alto y con una capacidad de albergar hasta 7 tamices con un diámetro de 45 cm cada uno, estos tienen una capacidad de alojar incluso 700 000 presemillas. Cabe destacar que el volumen de agua de cada tanque es de máximo 3 toneladas. Para una mayor distribución y evitar competencia de espacio o alimento se colocó 500 000 por tamiz.

En la *Figura 13* se aprecia cómo se colocó los tamices para luego verter muy leve las semillas para su separación, se inclina muy ligero el colador y con ayuda de una jarra se toma un poco de agua con semillas y se dispersa, en el primer tamiz quedaron las más grandes, mientras que, en el segundo colador pasaron las que aún no tienen el tamaño adecuado para su estadio.

Este proceso se realizó en el último día de cada etapa larvaria, en larva D fue a los 3 días, larva umbonada al 13^{vo} día, pediveliger al 15^{vo} día, hasta la fijación final, posterior se realizó conteo y registro de los datos obtenidos para luego ser tabulados.

Con esta técnica se evitó que se pierdan semillas en el fondo y sean eliminadas de forma accidental, para esto, se colocó un filtro en el orificio de exclusión de agua de la tina para evitar descartar semillas muy pequeñas, del mismo modo se realizó un análisis al microscopio con el fin de separar larvas móviles.

Las presemillas que son finas y pequeñas que se quedaron en el fondo de los tanques del tamizado fueron separadas y colocadas en el estanque semillero, este fue marcado e identificado para que continúen su proceso larvario bajo seguimiento.

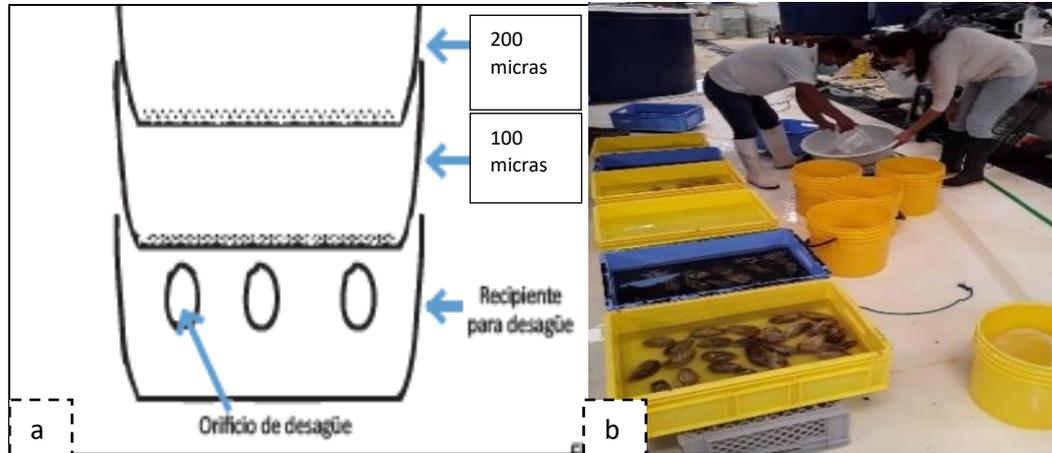


Figura 13: Separación por tamices de las larvas de *M. gigas* realizado en cada estadio larvario.

6.17. FIJACIÓN DE LAS SEMILLAS

Las presemillas de *M. gigas* son muy sensibles a los cambios térmicos lo que permite que busquen un medio sólido y adecuado para su fijación, por tal razón, después de la etapa de metamorfosis se procedió a preparar el sustrato que sirvió como medio de adherencia, este sustrato se compuso de un molido en conchas de *M. gigas*, plástico lijado, fibra de vidrio y valvas enteras.

Asimismo, los tamices utilizados son de 200 micras con un diámetro de 45 cm los cuales se situaron dentro de los tanques semilleros durante 1 h para que se cubriesen de agua y de una fina película bacteriana no patógena, esto permitió una fijación exitosa, las larvas se encontraron con un tamaño similar a 250 - 320 micras permitiendo su adaptación al medio.

6.18. PARÁMETROS DE CALIDAD LARVAL

Con ayuda de Tablas (2, 3 y 4) se pudo identificar la calidad de las larvas de cada lote alimenticio y su evolución en el paso morfológico de larva a semilla, donde se identificó el crecimiento, vitelo y movilidad de las larvas, asimismo, al momento de su fijación se

vio su crecimiento en mm para determinar la competitividad, puesto que, el crecimiento rápido es una señal de buena alimentación y disponibilidad territorial para su desarrollo así lo indica (Baltazar, 1999) en su trabajo denominado “*Cultivo de la ostra M. gigas en un vivero artesanal, La Arena, Casma.*”

6.19. CALIDAD PARA LAS LARVAS DE *M. gigas*

Los parámetros de vitelo, morfología y movilidad fueron considerados para la valoración de la eficacia larvaria donde, se valoró si las larvas conservan vitelo, oscilación, constitución adecuados y enfatizan su desarrollo aumentando las posibilidades y las expectativas estimadas, el cual, se obtiene la valoración final de “A” marcada con una “X” los parámetros mencionados con anterioridad *Tabla 3.*

Tabla 3: Tabla de calidad para las larvas de *M. gigas* “CLC”

	Morfología	Movilidad	Vitelo	Valoración
Excelente (E)	X		X	A
Bueno (B)		X		
Regular (R)				
Malo (M)				
2 - 3 (E): aprobado (A) 1 (E) - 2 (B): aprobado (A) 2 (B) – 1 (R): aceptable (AC) 1 (B) – 2 (R): aceptable con supervisión (AS) 2 (R) – 1 (M): requiere supervisión/ malo (SM) 3 (M): rechazo (RE)				

6.20. CRECIMIENTO A PARTIR DE LA FIJACIÓN

Para conocer el tamaño que tienen las semillas primero se obtiene una muestra de 10 ml y se la coloca 1 gota bajo el microscopio reglado, en cual, permitió conocer su biometría durante sus estadios larvarios.

Posterior a su fijación, se procedió a medir las semillas con ayuda de un calibrador vernier, *Tabla 4*.

Tabla 4: Tabla de control de talla en laboratorio en relación al crecimiento de *M. gigas* “CTC”

Talla / día Crecimiento (lab)	1 mm/ 3 día: buena (B)	Misma hembra varios desoves, generalmente el 1 y 2 do desove son los mejores y conforme van aumentando los desoves disminuye la calidad de huevos.
	1 mm/ 6 día: mala (M)	
	1 mm/ 9 día: pésima (P)	
En mar abierto aproximadamente 10 mm/mes y luego de 8 meses la cosecha		

6.21. COMPARACIÓN DE LOTES

Para la comparación de los lotes a diferentes concentraciones se utilizó la *Tabla 5*, en la cual se identifica por desove, fecha de desove, total de huevos fecundados y la sobrevivencia que estos tuvieron durante su desarrollo larvario. Al igual que la calidad que estos tuvieron.

Tabla 5: Tabla para la comparación de lotes (desove se dividirá por lotes)

Desove # y lote	Fecha	Total, huevos #	Supervivencia %						Calidad (Tabla CLC)	Talla (Tabla CTC)
			Trocófora 0-1 día	Larva D 1-3 días	Veliger 4-13 días	Pediveliger 14-15 días	Metamorfosis Fijación 15 días	Pre-semilla 18 días en adelante hasta 1 cm		

6.22. PRUEBA DE RESISTENCIA LARVARIA PARA FIJACIÓN

Para la prueba de resistencia se utilizaron tanques facilitados por el laboratorio, el cual se dividieron en 3 controles, mismo que, un tanque tubo temperatura cálida, el siguiente depósito adquirió la temperatura fría y el tercer estanque fue de control, existieron temperaturas variadas según sea el caso, estos se distribuyeron de la siguiente manera: El primer cuadro a la izquierda tiene temperatura cálida entre los 30 y 34 °C, el tanque del medio tiene una temperatura fría de 26 y 30 °C, el tanque siguiente su temperatura fue variada según el clima diario dentro del laboratorio.

Después de realizar la última separación entre las semillas más pequeñas se las colocó en el sustrato previamente preparado y mediante un shock térmico se bajó la temperatura rápidamente hasta los 28 °C con el fin de tener un paro y cambio brusco de temperatura para que detenga las semillas en su nado y las obligue a fijarse en un sustrato firme y, al momento de aumentar la temperatura estas se adhirieron al primer sustrato fijo que encontraron con el fin de continuar su proceso y mantener la sobrevivencia y evitando pérdida de energía, esto quiere decir que, las semillas nadan en el medio adaptándose y “explorando el lugar” lo que causa mortalidades o desviaciones en su crecimiento ya que estas se encuentran listas para ser fijadas.

7. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

7.1.RELACIÓN PESO-CANTIDAD GONADAL

7.1.1. ÍNDICE DE PRODUCCIÓN-DESOVE

Con relación a los datos obtenidos en relación a gónadas-alimento durante el tiempo de maduración de los organismos sacrificados en la concentración de alimento alto, el peso gonadal que se registro fue de 3.54 g *Tabla 6* a diferencia de la concentración media que fue de 1.12 g y baja de 1.92 g donde tuvieron una discrepancia de 0.8 g.

Tabla 6: Lotes con concentración alta, media y baja

Concentración de alimento	Peso bruto (entero) sin abrir	Peso del músculo	Peso de las gónadas	Peso de la concha	Peso de la concha, contenido interno y gónadas	TOTAL, de agua con alimento
Alto	71.6	10	3.54	46.52	60.06	11.54
Medio	70.66	9	1.12	49.3	59.42	11.24
Bajo	71.78	7	1.92	44.18	53.1	18.68

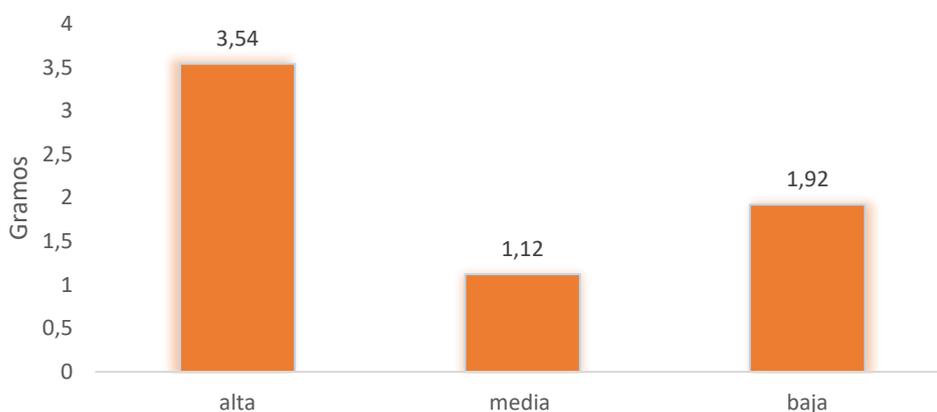


Figura 14: Peso gónadas vs concentración de alimento

Existe una diferencia entre la alimentación alta, media y baja, el peso de las gónadas en la concentración alta tuvo mejor asimilación y madurez dando como resultado un mayor número de hembras y machos desovados *Figura 14*, así lo indica Cáceres & Vásquez (2014) en su trabajo "Manual de buenas prácticas de manejo para el cultivo de moluscos bivalvos", el cual menciona que, después de una concentración elevada de alimento y

mantener la temperatura a 29 °C durante abril-agosto se dio un total del 75 % de desoves y maduraciones a diferencia de noviembre-marzo que solo se consiguió obtener el 50 %, también indica que las diferentes corrientes y estaciones climáticas influyeron en su maduración puesto que, los parámetros físico-químicos se encontraron más estables durante mayo-agosto.

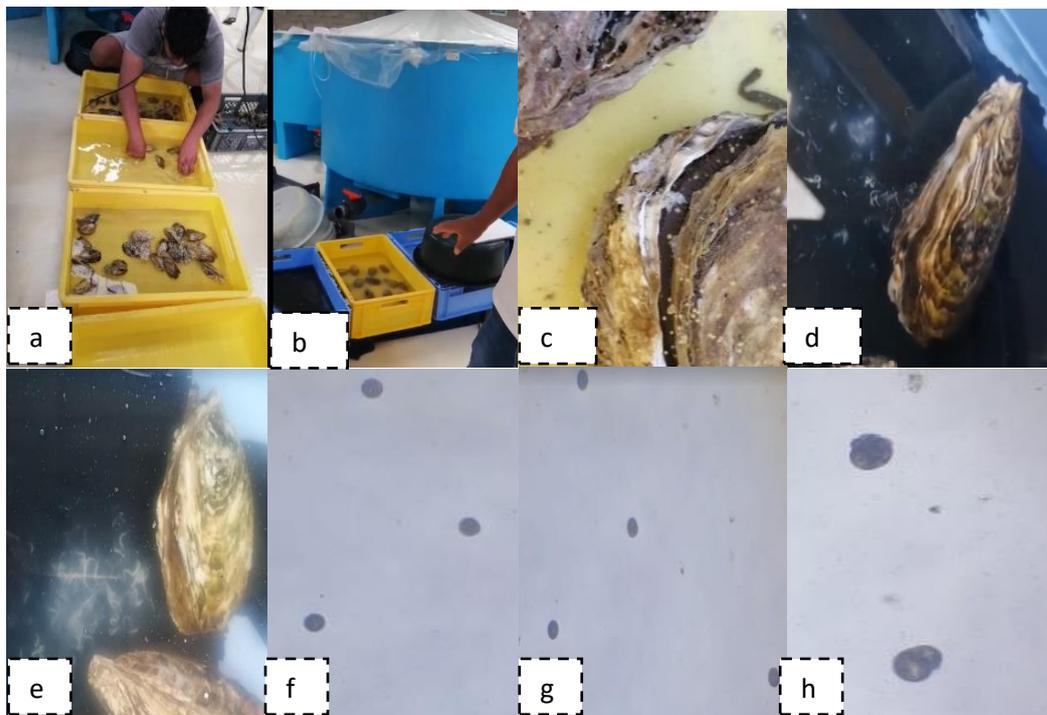


Figura 15: Proceso de larvicultura, desove.

Dentro del proceso de desove descrito en la *Tabla 2* la concentración alta fue exitosa *Figura 15*, además, se obtuvo un pre-desove con un total de 30 millones de huevos; la concentración media adquirió un desove con un millón de huevos y la concentración baja no desovó, los organismos de la densidad baja utilizaron el alimento para la sobrevivencia y para mantenerse vivos dejando en segundo lugar la madurez gonádica, Pacheco (2016), en su trabajo “Protocolos innovadores de criterios de calidad larvaria de ostión japones que permitan incrementar el rendimiento en cultivo y mejorar los sistemas de producción de semilla”, indica que, los moluscos poseen un periodo de adaptación gameto-genética en el cual el porcentaje de alimentación influye de manera directa con el desarrollo gonadal, implicando un mayor esfuerzo y gasto de energía para la adaptación en espacio y tiempo lo que causa que gaste resistencia y almacene

sustento en sus tejidos de almacenamiento como medio de reserva para la escases alimenticia en el medio ambiente.

Por tal razón, la concentración de alimento bajo no hubo desove, sin embargo, la concentración de alimento medio solo tuvo el 26% de desove implicado que hubo competencia de alimento y sobrevivencia al medio.

Por otro lado, para un desove exitoso se utilizó los cambios térmicos permitiendo una puesta del 64 % de la concentración alta y el 26 % de la concentración media, así lo asevera, Baquerizo (2003) en su trabajo “Análisis comparativo de diferentes dietas para el acondicionamiento de reproductores de ostión de mangle, *Crassostrea columbiensis*”, donde indica que, para obtener un desove completo de ostiones en un medio artificial este utilizó los choques térmicos, para estimular a la ostra sin efectos secundarios que incidan en su próxima maduración obteniendo gametos aptos para su fecundación.

Tabla 7: Tabla para la comparación de lotes

Desove # y lote	Fecha	Total, de huevos #	Supervivencia %						Calidad (Tabla CLC)	Talla (Tabla CTC)
			Trocófora 0-1 día	Larva D 1-3 días	Veliger 4-13 días	Pediveliger 14-15 días	Metamorfosis Fijación 15 días	Pre-semilla 18 días en adelante hasta 1 cm		
Concentración alta	21-07-22	11 millones	70 %	67 %	50 %	40 %	20 %	13 %	A	B
Concentración alta	22-7-22	19 millones	73%	57 %	39 %	28 %	25 %	15%	A	B
Concentración medio	22-7-22	1 millón	90 %	75 %	60 %	50 %	-	-	AC	B
Concentración baja	22-7-22	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Dentro de los desoves realizados en esta investigación se observa en la *Tabla 7*, que existieron 2 desoves de la concentración alta misma que, fue ocasionado por el cambio de temperatura ambiental que disminuyó 3 °C la temperatura del agua incitando a la puesta de pocos organismos un día antes de la fecha planeada, la sobrevivencia larvaria en la fijación tiene una diferencia del 2 % con 24 horas de discrepancia entre ambos desoves, lo que permitió obtener un total de 45 % de presemillas para ser fijadas.

Por otro lado, las larvas de la concentración media no tuvieron la calidad óptima para la fijación por lo que fueron desechadas a causa de su poca movilidad, morfología deforme y mortalidad del 50% siendo estos 3 aspectos los principales causantes del descarte total. Así lo indica, Pacheco (2016) donde, señala que el crecimiento de las larvas y adaptación al medio hasta su fijación está relacionado a la cantidad de lípidos, ácidos grasos y componentes bioquímicos adquiridos por los progenitores antes del desove.

Tabla 8: Porcentaje de desove por machos y hembras

Concentración alimenticia	N° organismos por muestra	N° de desove y %		Total, y % de organismos desovados
		MACHOS	HEMBRAS	
Alta	50	17 = 34%	15 = 30%	32 = 64%
Media	50	8 = 16%	5 = 10%	13 = 26%
baja	50	0 = 0%	0 = 0%	0 = 0%

Se reveló que, la alimentación alta dio un total de 32 organismos desovados permitiendo un total de 15 hembras y 17 machos dando el 64% de ostras desovadas, además, se consiguió tener el 26% de ostras puestas de la concentración de alimento medio consintiendo un total de 5 hembras y 8 machos, la concentración de alimento bajo tuvo falta de maduración gonadal *Tabla 8*. Así lo indica, Gómez (2013), en su trabajo denominado como “Evaluación de la calidad gonádica de la concha nácar *Pteria sterna* y su influencia en la viabilidad larvaria”, donde menciona que, el índice alimenticio del alga en la concentración baja permitió la prolongación de la ostra mas no su maduración ya que, se necesita un gasto de energía adicional que no fue solventado a causa de la poca nutrición, también señala que, las altas concentraciones de alimento promueven la

obtención de hembras dándole un resultado de 10 hembras y 7 machos durante los meses de mayo-agosto.

7.1.2. ÍNDICE DE PRODUCCIÓN-ECLOSIÓN

Tabla 9: Porcentaje de eclosión

Desove # y lote	Fecha	Total, de huevos	Trocófora 0-1 día
Concentración alta	21-07-22	11 millones	70 %
Concentración alta	22-7-22	19 millones	73%
Concentración medio	22-7-22	1 millón	90 %
Concentración baja	22-7-22	-	-

Se obtuvo un total de 30 millones de huevos en la concentración alta, misma que, se dio con un desove anticipado no previsto en la fecha 21-07-22 *Tabla 9*, en el primer desove se obtuvo un total de 11 millones de huevos los cuales el 70% llegaron al primero estadio larvario D, al día siguiente se realizó el desove planeado el cual se obtuvo 19 millones de huevos con una fecundación del 73% de óvulos lo que permitió tener un total de 13.87 millones de huevos para el estadio larvario D.

Por otro lado, la concentración de alimento medio resultó con un total de huevos de 1 millón, mismos que, el 90% de los óvulos pasaron al estadio larvario D, no obstante, como se puede ver en la *Tabla 6* hubo un deceso al finalizar cada estadio larvario de cada concentración alimenticia a causa de la competitividad de espacio, alimento y adaptación biológica que estos tuvieron durante sus etapas larvarias lo que determinó la sobrevivencia en cada estadio y la calidad del mismo.

7.1.3. ÍNDICE DE PRODUCCIÓN-FERTILIDAD DE HUEVOS

El porcentaje final de sobrevivencia de cada estadio larvario se dividió en la adaptación ambiental, desarrollo morfológico y alimentación que tuvieron como larvas, obteniendo reducciones en cada etapa larvaria.

Tabla 10: Índice de producción de huevos y sobrevivencia larvaria

Desove y concentración	Larva D 1-3 días	Veliger 4-13 días	Pediveliger 14-15 días	Metamorfosis Fijación 15 días	Pre-semilla 18 días en adelante hasta 1 cm
Concentración alta	67 %	50 %	40 %	20 %	13 %
Concentración alta	57 %	39 %	28 %	25 %	15 %
Concentración medio	75 %	60 %	50 %	-	-
Concentración baja	-	-	-	-	-

Se observa la pérdida del 17 y 18 % de larvas desde el estadio de larvario D hasta veliger en la concentración de alimento alto y la pérdida del 15 % de la concentración de alimento medio a consecuencia de que las larvas no lograron sobrevivir y alcanzar su desarrollo morfológico impidiendo alcanzar la siguiente etapa *Tabla 10*.

Asimismo, de veliger a pediveliger dentro de la concentración alta que disminuyó el 11 y 10 % al igual que la concentración media que perdió el 10 % llegando a un total extraviado del 50 % antes de la fijación obteniendo como secuela la eliminación total del lote por el lento desarrollo que tuvieron lo que implica mayor consumo de alimento, oxígeno y tiempo para su maduración larvaria.

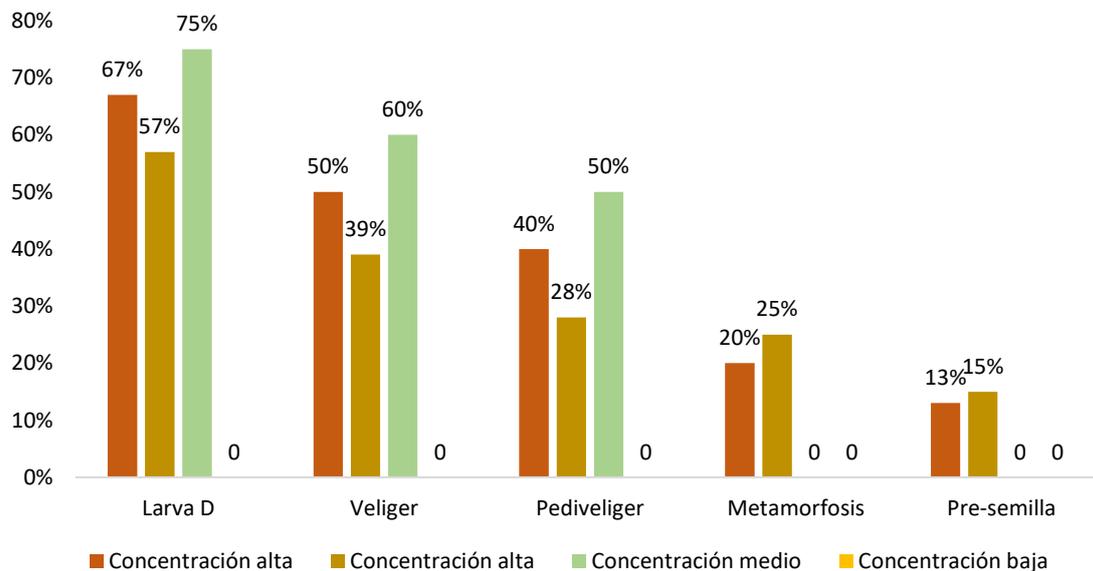


Figura 16: Porcentaje sobrevivencia larvaria después de la fecundación de *M. gigas*

Por otro lado, en el primer desove obtenido de la concentración de alimento alto se dio una pérdida del 20 % a causa de mortalidades y poco crecimiento larvario lo que incito a solo obtener el 20 % fijado y obtención del 13% un total de 1.43 millones presemillas para ser enviadas a engorde *Figura 16*. De igual forma, ocurrió en el segundo desove a diferencia de una pérdida del 3 % en la fijación, no obstante, se perdió el 10 % de las presemillas por la prueba de resistencia a los cambios térmicos las cuales necesitaron un periodo de adaptación más lento.

7.2.RELACIÓN CON EL ESTADO SEXUAL MEDIANTE LA SACIEDAD DEL ALIMENTO

7.2.1. DATOS MORFOLÓGICOS

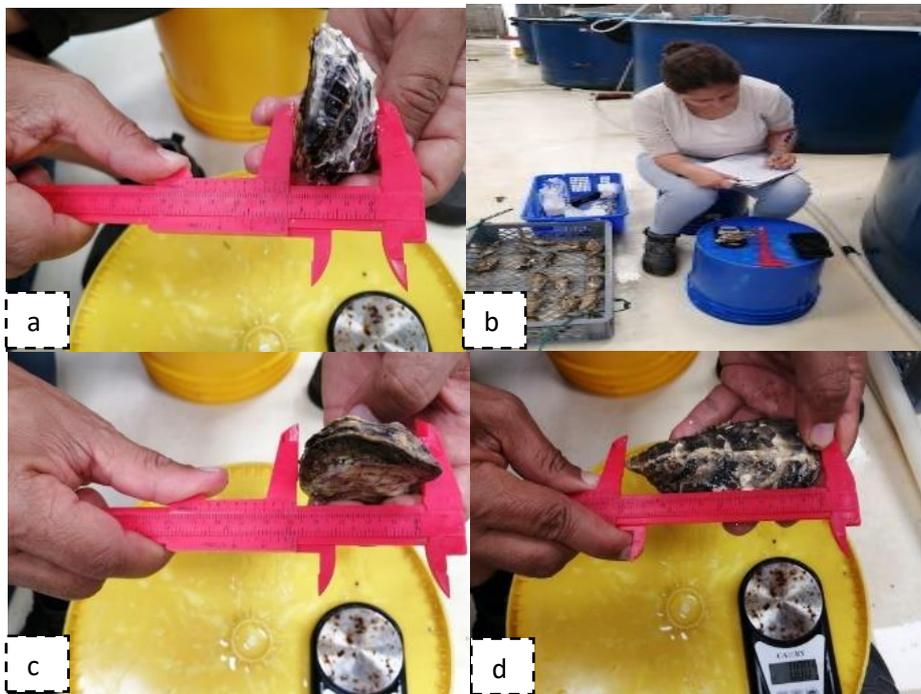


Figura 17: Toma de parámetros morfológicos de *Magallana gigas*

Para este estudio se empezó con las mediciones morfológicas *Figura 17*, lo que permitió obtener un crecimiento en la concentración de alimento alto (1.8 cel/ml) conviniendo el desarrollo de reproductores al igual que su maduración sexual proporcionando un desove elevado *Tabla 8*, por otro lado, las otras 2 concentraciones de alimento (medio 1.5 cel/ml y bajo 1.2 cel/ml) no tuvieron desarrollo morfológico *Tabla 11*.

Tabla 11: Crecimiento de la concentración alta

Concentración alta	Mm inicial	Mm final
altura	94	98
longitud	47	50
grosor	30	30

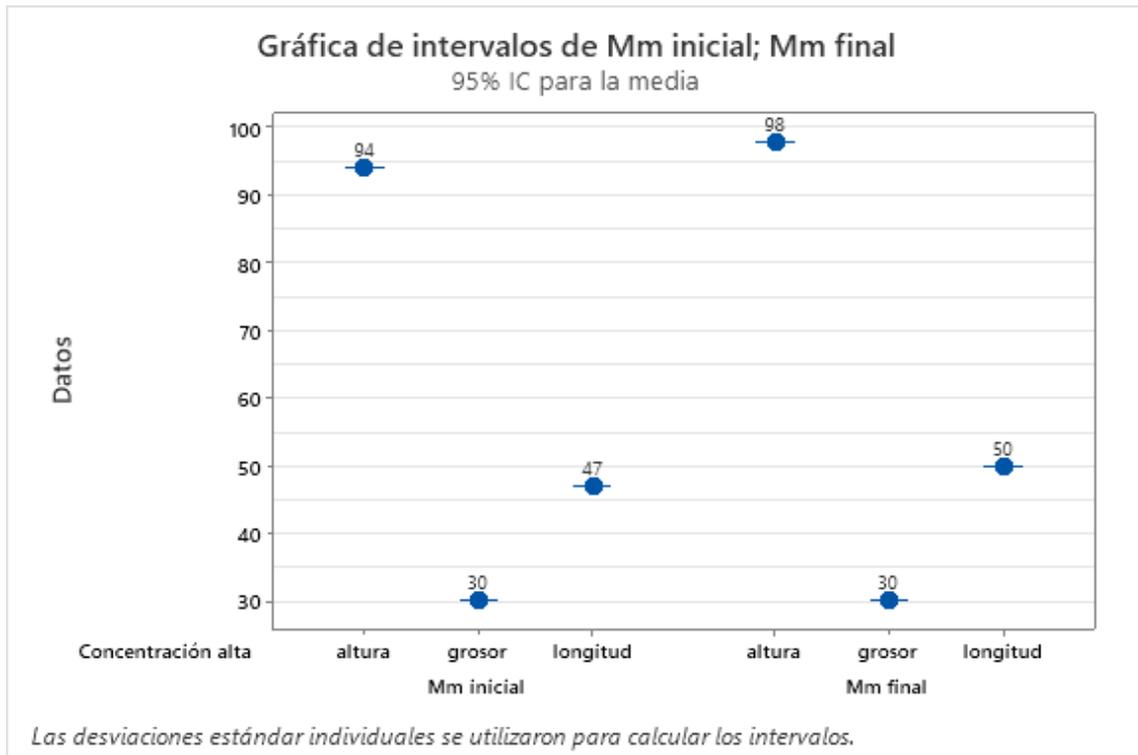


Figura 18: Crecimiento en mm de la concentración alta

Se puede ver que la concentración de alimento alto produjo un crecimiento de las ostras durante el tiempo de estudio, a secuela de que la alimentación se mantuvo constante y los parámetros ambientales estuvieron perpetuos; *Tabla 11* al inicio los especímenes se encontraron con un promedio de 94 mm de alto, 47 mm de longitud y 30 mm de grosor las cuales tendieron un incremento donde la concha aumentó de 47 a 50 mm de longitud y la altura tuvo un incremento de 4 mm proveyendo un acrecentamiento de 94 a 98 mm *Figura 18*, el grosor del ostión no tuvo diferencia alguna, cabe destacar que estas tallas fueron después de 45 días terminada la maduración. Rodríguez, (2015), en su trabajo “Evaluación del crecimiento y la supervivencia de *Magallana gigas*, bajo condiciones de cultivo suspendido en mar abierto, en la comuna Palmar, Santa Elena-Ecuador”,

indica que, el ostión del pacífico durante una alimentación prolongada y abundante llega a tener crecimientos considerable de 4 a 10 mm, dentro de su investigación uno de sus resultados fue el crecimiento de 5.2 mm hasta 27.5 mm con respecto al largo de la valva, de altura fue de 7.5 mm hasta 38.6 mm, finalmente, el grueso de la ostra inició con 3.2 mm llegando a 13.1 mm esto con relación a los 4 meses de estudio que tuvo.

7.2.2. PESO DE LAS MUESTRAS

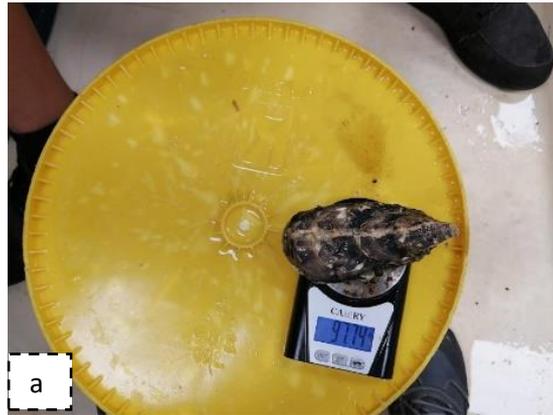


Figura 19: Toma de los pesos individuales de cada lote.

La toma de los pesos fue individual y se dejó reposar por 5 minutos fuera del agua para que eliminen la humedad de la superficie y evitar obtener datos falsos, se inició con la concentración de alimento alto, posterior la alimentación media y por último la concentración baja *Figura 19*, se pudo destacar variaciones gravimétricas dentro de las 3 concentraciones de alimento lo que determinó que el sustento nutricional es un factor clave para su desarrollo gonadal *Tabla 6*.

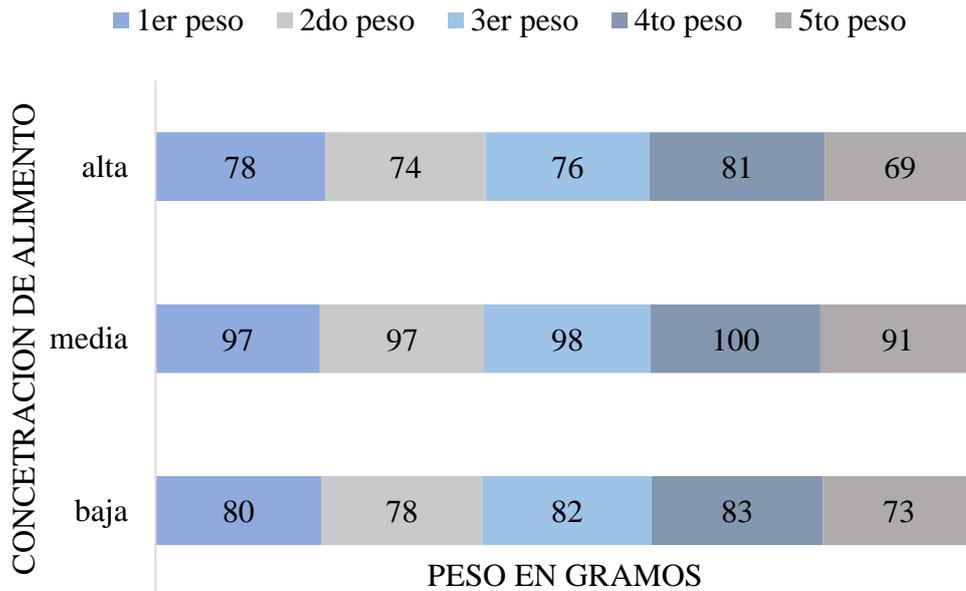


Figura 20: Variación de pesos

El 1^{er} peso que se tomó fue después del desove previo al llegar al laboratorio con el fin de comenzar con organismos en etapa de reabsorción. Una vez tomado los datos biométricos en el 4^{to} muestreo se pudo observar un aumento considerable de peso mismo que, se realizó una valoración gonádica denotando su aumento de estadio o etapa 3 permitiendo continuar con el inicio del proceso para el desove. Los pesos que adquirieron en los días de maduración aumentaban acorde a su alimento, se observa la ascendencia hasta el 4^{to} muestreo encontrándose en auge donde las ostras se hallan maduras y listas para su desove, en el 5^{to} muestreo se puede distinguir que desciende de manera brusca y su peso disminuye lo que es causante del desove y la eliminación de esperma y huevos que tuvieron *Figura 20*.

De igual forma, Rossignoli (2006) en su trabajo “Crecimiento y reproducción de la ostra rizada, *Magallana gigas* (Thunberg, 1793), cultivada en intermareal y en batea en Galicia (Nw España)”, en uno de sus resultados menciona que los valores obtenidos en el peso durante la etapa de maduración se dio un crecimiento tanto biométrico como gravimétrico durante el estadio 2-3-4 dentro del lote cultivado, se encontró con un peso promedio de 70 - 80 g para el desove, además, la talla adquirida superó a la talla comercial estimada, esto quiere decir que, la talla comercial es de 7-9 cm y en ese estudio se obtuvo un promedio de 9-11 cm.

Tabla 12: Tabla de machos y hembras según la concentración de alimento

Total, de machos y hembras en desove			
	Concentración alta	Concentración media	Concentración baja
Machos	17	8	-
Hembras	15	5	-
Sacrificados	5	5	5
No desovo	13	32	45
Total, de huevos fecundados	30 millones	1 millón	-

En el transcurso del desove en la concentración de alimento alta se obtuvieron un total de 15 hembras y 17 machos obteniendo 30 millones de huevos. Asimismo, en la concentración media solo se pudo obtener 1 millón de huevos fecundados puesto que, no se tuvo la maduración esperada a causa de la alimentación lo que determino que tuvieran una expulsión temprana y a consecuencia de esto se puede ver que no desovaron 32 organismos. Finalmente, la concentración baja no se vio desove alguno dentro del periodo como se explica en la *Tabla 12*.

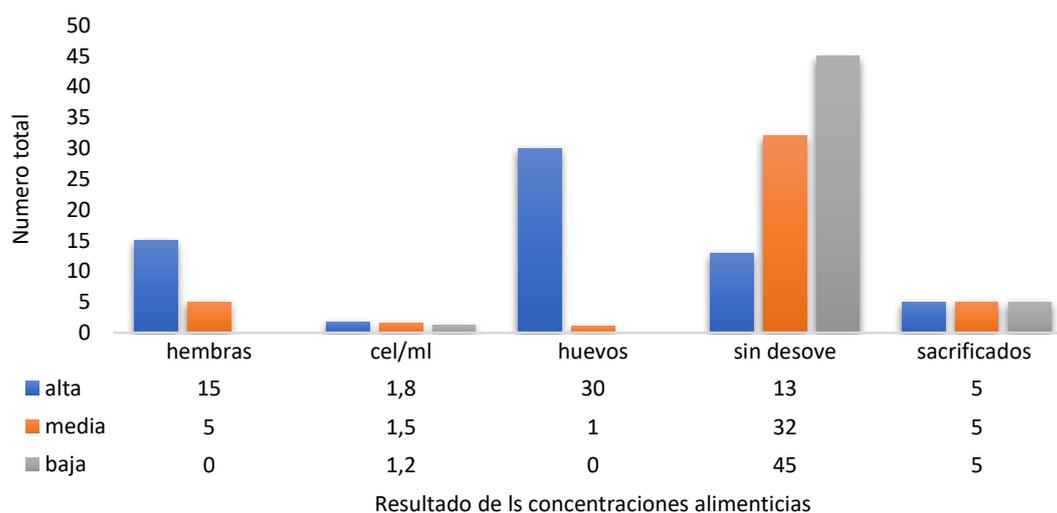


Figura 21: Total de hembras vs la concentración de alimento alto, medio y bajo en relación al desove dentro de las instalaciones del laboratorio.

En la Figura 21 se observa que en la concentración alta posee 15 hembras desovadas a una concentración de alimento de 1.8 cel/ml dando un total de 30 millones de huevos, mientras que, la concentración media tiene un desove de 1 millón de huevos con un total de 5 hembras a una concentración estándar de 1.5 cel/ml.

Por otro lado, la concentración baja de 1.2 cel/ml no produjo desove y se mantuvieron sin ningún cambio durante el periodo de maduración, esto quiere decir que, su desarrollo gonádico fue más lento a causa de tener una menor cantidad de alimento por lo que estas debían almacenar alimento durante el tiempo de espera a la siguiente dosis ocasionando desgaste de energía causando estrés al organismo influyendo en su maduración gonadal.

7.2.3. CRECIMIENTO LARVAL EN CADA UNA DE SUS FASES

Tabla 13: Tabla de calidad para las larvas de *M. gigas* “CLC” larva D, comparación entre los dos lotes de alimento alto y medio que desovaron.

Alta				Media				
	Morfología	Movilidad	Vitelo	Valoración	Morfología	Movilidad	Vitelo	Valoración
Excelente (E)	X	X		A			X	A
Bueno (B)			X		X	X		
Regular (R)								
Malo (M)								
2 - 3 (E): aprobado (A) 1 (E) - 2 (B): aprobado (A) 2 (B) - 1 (R): aceptable (AC) 1 (B) - 2 (R): aceptable con supervisión (AS) 2 (R) - 1 (M): requiere supervisión/ malo (SM) 3 (M): rechazo (RE)				2 - 3 (E): aprobado (A) 1 (E) - 2 (B): aprobado (A) 2 (B) - 1 (R): aceptable (AC) 1 (B) - 2 (R): aceptable con supervisión (AS) 2 (R) - 1 (M): requiere supervisión/ malo (SM) 3 (M): rechazo (RE)				

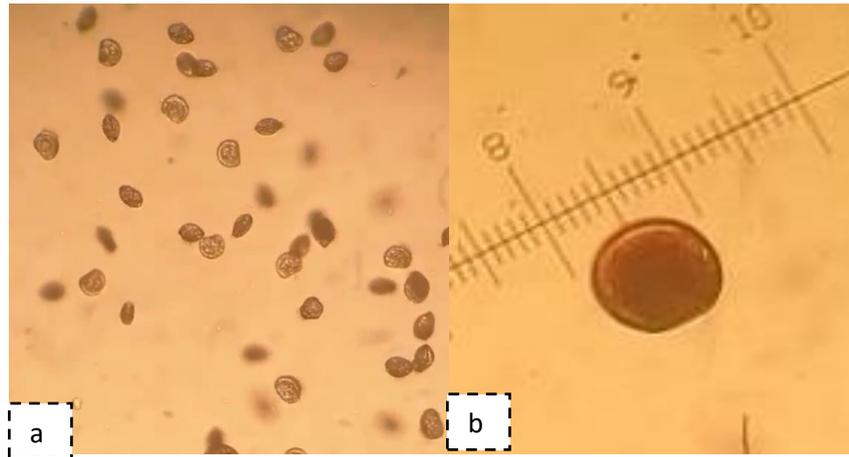


Figura 22: Larva D

Al ver los resultados obtenidos dentro de la valoración de “A” se puede notar que la alimentación alta posee movilidad uniforme, libre y lineal, su morfología tuvo un crecimiento adecuado pero su vitelo se encontraba con coloración café claro o amarillo oscuro (*anexo 5*); lo contrario ocurre con la concentración de alimento medio el cual su morfología solo aumento 1 mm y su movilidad fue regular con 51-75 % lineal con la presencia de movimientos en curva o en forma de ondas, en ningún caso de tuvo la presencia de manchas oculares *Figura 22*. Algo similar ocurre con, Cáceres & Vásquez (2014), en su trabajo “Manual de buenas prácticas de manejo para el cultivo de moluscos bivalvos”, donde su hoja de registro para evaluar la calidad larvaria por parte del productor indica que su coloración es buena si es naranja, regular si es café y malo si es pálido.

Tabla 14: Tabla de calidad para las larvas de *M. gigas* “CLC” larva umbonada o veliger, comparación entre los dos lotes de alimento alto y medio que desovaron.

Alta				Media				
	Morfología	Movilidad	Vitelo	Valoración	Morfología	Movilidad	Vitelo	Valoración
Excelente (E)	X	X		A				AC
Bueno (B)			X		X		X	
Regular (R)						X		
Malo (M)								
2 - 3 (E): aprobado (A) 1 (E) -2 (B): aprobado (A) 2 (B) – 1 (R): aceptable (AC) 1 (B) – 2 (R): aceptable con supervisión (AS) 2 (R) – 1 (M): requiere supervisión/ malo (SM) 3 (M): rechazo (RE)				2 - 3 (E): aprobado (A) 1 (E) -2 (B): aprobado (A) 2 (B) – 1 (R): aceptable (AC) 1 (B) – 2 (R): aceptable con supervisión (AS) 2 (R) – 1 (M): requiere supervisión/ malo (SM) 3 (M): rechazo (RE)				



Figura 23: Larva umbonada o veliger

Se puede ver un crecimiento de la larva y que se encuentra en proceso de metamorfosis para pediveliger, mientras que, en la *Figura 23* se puede ver las partes internas de la presemilla a causa de que la concha es translúcida.

En la *Tabla 14* se puede ver que la semilla continua su crecimiento y desarrollo, cambia su calidad conforme a su alimentación en la fase de maduración y adaptación al medio que tuvieron sus progenitores, se observa que la alimentación alta mantiene su nivel calidad, la alimentación media desciende la movilidad hasta regular lo que significa que las semillas en su mayoría el nado es curvo o circular y presentan movimientos en forma de ondas con desorden. Cáceres & Vásquez (2014), en su trabajo “Manual de buenas prácticas de manejo para el cultivo de moluscos bivalvos” indica que la

motilidad de las larvas es normal si estas tienen del 76 -100 % de las larvas totales, 51 – 75 % es regular, 26 – 50 % mala y 0 – 25 es nula.

Tabla 15: Tabla de calidad para las larvas de *M. gigas* “CLC” pediveliger

Alta				Media				
	Morfología	Movilidad	Vitelo	Valoración	Morfología	Movilidad	Vitelo	Valoración
Excelente (E)		X		A				AC
Bueno (B)	X		X		X		X	
Regular (R)						X		
Malo (M)								
2 - 3 (E): aprobado (A) 1 (E) -2 (B): aprobado (A) 2 (B) – 1 (R): aceptable (AC) 1 (B) – 2 (R): aceptable con supervisión (AS) 2 (R) – 1 (M): requiere supervisión/ malo (SM) 3 (M): rechazo (RE)				2 - 3 (E): aprobado (A) 1 (E) -2 (B): aprobado (A) 2 (B) – 1 (R): aceptable (AC) 1 (B) – 2 (R): aceptable con supervisión (AS) 2 (R) – 1 (M): requiere supervisión/ malo (SM) 3 (M): rechazo (RE)				

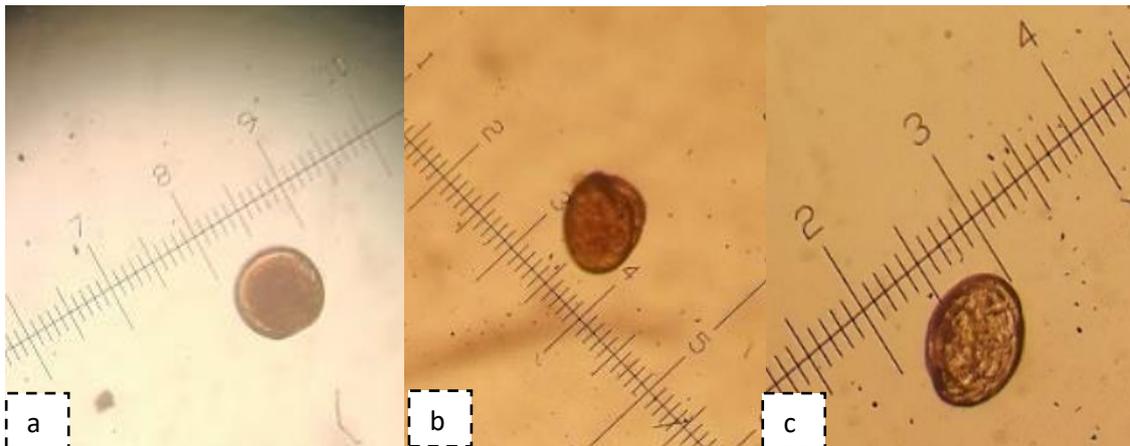


Figura 24: Medidas de las pediveliger.

Se puede ver que se encuentra en etapa de larva D la *Figura 24-a* próxima a ser pediveliger, los alrededores de la concha están formados, *Figura 24-b* se puede ver que su tamaño sobrepasa las 100 micras siento un crecimiento rápido a causa de la buena alimentación que tuvieron los reproductores en la maduración y de la alimentación en su desarrollo como semilla, no obstante, la concentración media tiene desarrollo *Figura 24-c* donde sus partes internas son más visibles e identificables a pesar de esto, no tiene el mismo crecimiento que la concentración alta lo que es un factor clave para la calidad de las semillas y el tiempo de espera para su fijación y crecimiento en mar abierto.

Asimismo, las semillas con la alimentación alta se mantienen en un nivel aprobada la alimentación media descendió a aceptable.

Tabla 16: Tabla de calidad para las larvas de *M. gigas* “CLC” fijación

Alta				
	Morfología	Movilidad	Vitelo	Valoración
Excelente (E)	X	X		A
Bueno (B)			X	
Regular (R)				
Malo (M)				
2 - 3 (E): aprobado (A) 1 (E) - 2 (B): aprobado (A) 2 (B) - 1 (R): aceptable (AC) 1 (B) - 2 (R): aceptable con supervisión (AS) 2 (R) - 1 (M): requiere supervisión/ malo (SM) 3 (M): rechazo (RE)				

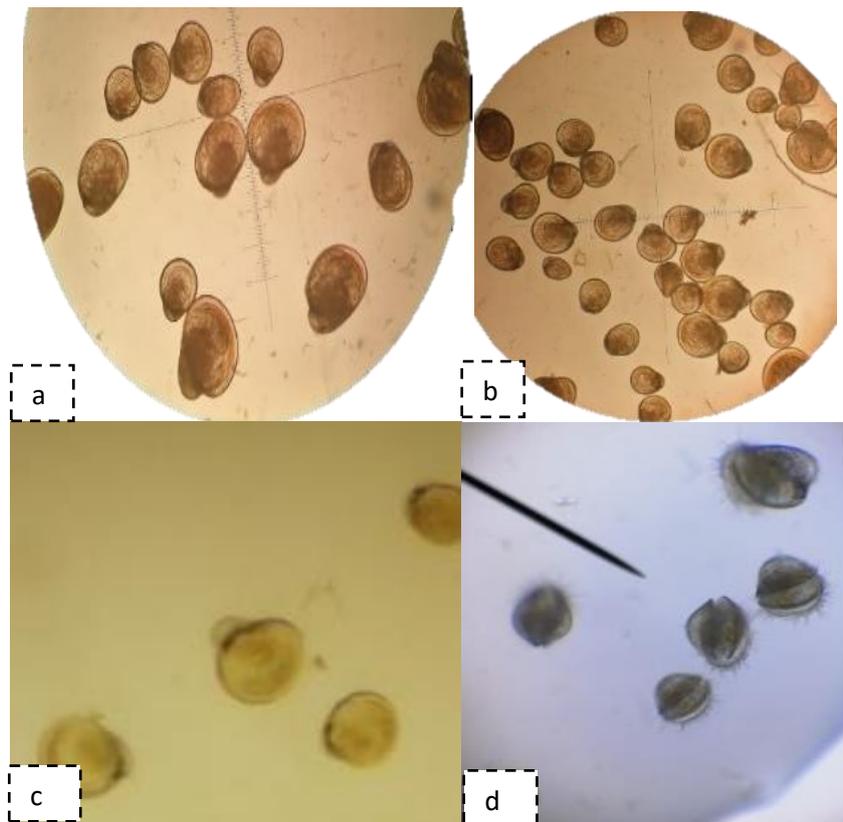


Figura 25: Semillas listas a fijación vistas desde el microscopio.

Una vez pasada la última fase larvaria esta se le puede ver un punto negro más conocido como el “ojo” en el cual está lista para la fijación y con ayuda de su movimiento se sitúa en un lugar firme para poder fijarse en el que podrá crecer, para esto el sustrato para su fijación esta lista y ya han pasado el tiempo de espera.

En la *Figura 25-a* se observa que tienen diferentes tamaños a causa de altercados por el alimento, hace que tenga mejor crecimiento que otras, aunque sean de la misma zona alimentaria, en la *Figura 25-c* se puede ver ya la semilla después de la primera fijación que se encuentra completamente formada y presenta su característica forma ovalada; en la *Figura 25-d* se observa el pie que permite el movimiento de las semillas en busca de alimento y de un sustrato firme para su fijación.

No existe una valoración de la concentración de alimento medio a causa que no cumplieron los parámetros de calidad y la mortalidad fue del 50 % lo que resultó con el descarte total ya que esto implicaría mayor tiempo de crecimiento y desarrollo larvario que no se encuentra dentro de las contemplaciones del laboratorio.

Tabla 17: Resultado entre calidad larvaria, concentración alta vs concentración media

	Alta	Media
LARVA D	A	A
UMBONADA	A	AC
PEDIVELIGER	A	AC
FIJACIÓN	A	-

La concentración de alimento alto en la maduración se obtuvo que las semillas tuvieran una calidad de “A” (aprobado) en todas sus etapas larvarias, no obstante, la alimentación media logró la calidad de “A” solo en la fase larvaria D, y disminuyó a “AC” (aceptable) desde larva umbonada hasta pediveliger, a consecuencia de que sus reproductores se mantuvieron estables y con alimentación estándar de 1,5 cel/ml no fue suficiente para alcanzar la calidad máxima, no obstante, las semillas se mantuvieron dentro del parámetro permitido en la investigación *Tabla 17*.

Tabla 18: Tabla de control de talla en laboratorio en relación al crecimiento de *M. gigas* “CTC”

Talla / día Crecimiento (lab)	1 mm/ 3 día: buena (B)	Misma hembra varios desoves, generalmente el 1 y 2 do desove son los mejores y conforme van aumentando los desoves disminuye la calidad de huevos.
	1 mm/ 6 día: mala (M)	
	1 mm/ 9 día: pésima (P)	
En mar abierto aproximadamente 10 mm/mes y luego de 8 meses la cosecha		

Para determinar la calidad de crecimiento en micras (μm) en el cual se pudo ver un incremento considerable y visible con respecto a la variabilidad alimenticia de cada lote, asimismo, en la *Tabla 18* se puede ver las condiciones de buena (B), mala (M), pésima (P) a comparación del crecimiento en largo, ancho y grosor de las larvas. Para obtener un crecimiento de 1 mm/ 3 días la disponibilidad alimenticia es un factor principal para su desarrollo.

7.3.PARÁMETROS AMBIENTALES APLICADOS

La salinidad que se manipuló dentro del laboratorio para los reproductores y semillas fue de 33 ppm, el pH se mantuvo dentro de los rangos establecidos de 8,2 y 8,4.



Figura 26: Colocación de los reproductores dentro de las gavetas en cada uno de los tanques para iniciar el tratamiento.

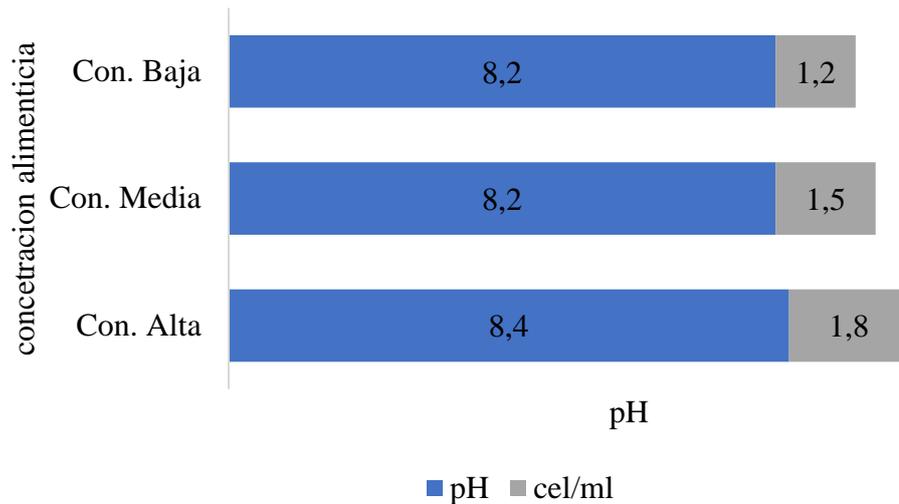


Figura 27: pH vs concentración alimenticia alta, media y baja.

La concentración de alimento alto se encontró en 8.4 lo que se halló dentro de los parámetros establecidos, si bien se encuentra un poco alto está dentro de los parámetros señalados y no tuvo mayor problema con el nivel del CO₂, las algas no ocuparon más del 80% del tanque lo que permite una recirculación para mantener el nivel de vida, la concentración media obtuvo un pH de 8.2 casi en el límite a nivel del mar (el mar posee un pH de 8) al igual que la alimentación baja, en ambos casos el nivel de concentración alimenticia no tuvo influencia de pH variable a pesar de ser concentraciones de alimento diferentes, cabe indicar que el nivel establecido de pH dentro de los parámetros es de 7.9 a 8.4.

7.4. PRUEBA DE RESISTENCIA PARA LA FIJACIÓN DE LAS SEMILLAS

Se obtuvo un total fijado de 13-15 % de la concentración alta, con 1.6 mil y 2.8 mil presemillas fijadas con calidad larvaria de “A” *Tabla 17* para su posterior crecimiento hasta 1.5 cm y ser enviadas a engorde en la zona intermareal de la comuna El Real de la provincia de Santa Elena.

Tabla 19: porcentaje fijado y total de presemillas de *M. gigas*.

Concentración alimenticia	Pre-semilla/fijación 18 días en adelante hasta 1 cm
Concentración alta	13 % = 1.6 mil presemillas
Concentración alta	15% = 2.8 mil presemillas
Concentración medio	-
Concentración baja	-

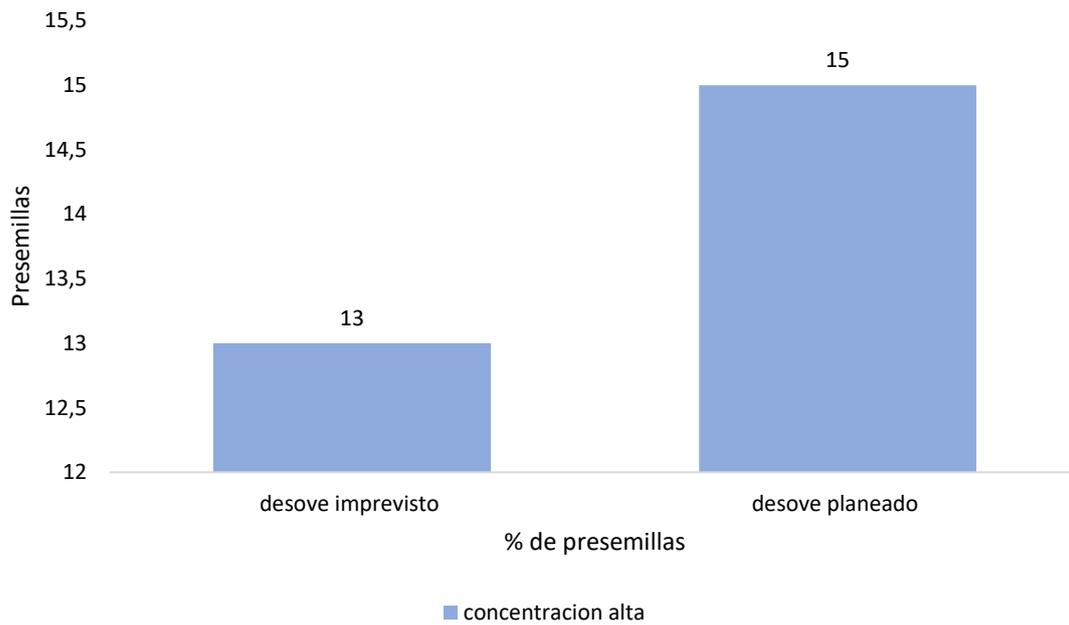


Figura 28: diferencia de fijación en los dos desoves de concentración alta de *M. gigas*.

8. DISCUSIONES

Para determinar la importancia de la alimentación dentro de este trabajo en la especie de molusco *Magallana gigas*, se han realizado algunas investigaciones sobre el tema dando como efecto la viabilidad del cultivo en un medio controlado lo que ha permitido la contemplación de los parámetros ambientales como la temperatura, pH, salinidad y densidad alimenticia convirtiéndose en un papel importante dentro del crecimiento y maduración de la especie, mismos que, tienen aportaciones científicas importantes durante su obtención de resultados.

Ocean vision group (2016), en su trabajo "Sistema de control y vigilancia marina, cultivo de moluscos" en una de sus reseñas señalan que, las fases productivas de moluscos entre ellos la especie de ostra *Magallana gigas* presentan un cuerpo protegido por una concha con dos valvas una plana y la otra gruesa de forma cóncava y que su talla comercial es de 6 a 9 mm y sus semillas de 5 a 3 mm, no obstante, la densidad de compra y la calidad de las semillas se ve visto por el nivel de movilidad, coloración y manchas oculares que esta posea puesto que, en los primeros meses de crecimiento y engorde la densidad no debe disminuir del 30% de mortalidad a excepción de organismos bentónicos y depredadores. No obstante, cuando las ostras alcanzan los 4 o 5 mm se tiene la fase de engorde y han pasado el peligro de desfallecer en su adaptación al medio y se puede transferir con toda seguridad a las linternas en mar abierto para su engorde final.

Loor, (2012) en su trabajo investigativo denominado "Desarrollo de protocolos de manejo para la inducción al desove y larvicultura de la ostra nativa *Crassostrea iridescens*", menciona que en ambientes naturales los bivalvos tienen a desovar cuanto tienen abundancia de alimento, en especial cuando las concentraciones de alimento son altas en especial con una sobredosis de microalgas (3×10^6 a 5×10^6 cel/ml) inducen al desove luego de una hora en ostiones, mientras que una concentración de 2 a 2.5 millones de cel/ml de alga puede ayudar a inducir desoves y maduraciones rápidas con temperaturas altas.

Sin embargo, Jamali (2015), menciona que, al alimentar a larvas de camarón (*L. vannamei*) con *C. gracilis* los niveles de lípidos y energía bruta tienen los mejores

resultados a comparación del crecimiento y supervivencia de otros lotes, así mismo, se confirmó que el desarrollo de las larvas tiene mejores resultados llegando a la conclusión de que esta alga no solo podría servir de alimento a larvas de camarón sino también a otras especies para mejorar su nivel nutricional y composición química como: proteínas, carbohidratos, lípidos y energía, no obstante, dentro de este estudio se pudo determinar que su alimentación en altas concentraciones tienen niveles favorables en el desarrollo gonadal de los reproductores de *M. gigas* y de las larvas que poseen un mejor crecimiento, movilidad y adaptación dentro de los cambios larvarios hasta su fijación.

De esta manera, en una prueba de alimentación durante 30 días a base de pasta de *Chaetoceros* demostraron que estas podrían reemplazar harina de calamar, las vitaminas y minerales que se emplean en las dietas de larvas de todo tipo de crustáceos y moluscos denotando resultados favorables a comparación de las demás muestras de alimento normal (suplementos y vitaminas) y que dentro de estas está jugando un papel importante las microalgas *Chaetoceros* por poseer nutrientes más completos que otras algas u alimento que se emplea, el autor recomienda que se debe de realizar más estudios de alimento con esta alga para confirmar sus resultados en otras especies marinas aptas para el consumo humano, (Naorbe, Garibay, & Serrano ., 2015).

Además, en un trabajo denominado “Alta productividad de ácido eicosapentaenoico y fucoxantina por una diatomea marina, *Chaetoceros gracilis* en un cultivo semicontinuo” mencionan que, evaluaron los efectos de la tasa de dilución sobre la producción de biomasa con altos valores de EPA y fucoxantina con luz intensa, en el cual tuvieron grandes crecimientos aumentando los niveles proteicos, y que los nutrientes naturales, se obtuvieron grandes beneficios al momento de producir en masa ya que se reduce drásticamente los gastos económicos por alimento y que se debe de considerar estudios adicionales para este cultivo ya que es valioso en la producción y biomasa a nivel acuícola, (Tachihana, y otros, 2020).

Para determinar el número de individuos a utilizar en la muestra se siguió de base el experimento realizado con JICA-CENDEPESCA, El Salvador donde utilizaron 49 ostras en el primero grupo, 35 ostras en el segundo y 15 en el tercero, durante el ensayo de acondicionamiento de los reproductores de ostra japonesa (*M. gigas*) a una temperatura de 15 °C y posterior incremento a 20 °C con una alimentación constante se

obtuvo un desove del 85 % solo del tercer grupo de ostras en un periodo de 9 a 10 semanas, esto a causa que tenían una concentración de alimento a saciedad y no competían por el mismo durante todo el proceso de la maduración siendo más eficaz en su desarrollo gonadal (CENDEPESCA, 2007), dejando abierta la posibilidad de realizar otro experimento con un número parejo en tres grupos y variación de alimento para su desarrollo y maduración gonadal durante un tiempo corto a una temperatura alta (según las condiciones ambientales).

Cáceres y Vásquez (2014) en su trabajo denominado “Manual de buenas prácticas para el cultivo de moluscos bivalvos” señala que, para determinar la calidad de las larvas estas deben venir con una distribución adecuada del laboratorio de origen y ser monitoreadas los 5 primeros días desde su llegada puesto que, las semillas se fijan al sustrato en conjunto lo que indica que el medio es bueno y si se obtiene de 7 a 10 semillas fijadas en el sustrato se considera una buena fijación, para esto se tomaron las siguientes características de análisis las cuales consistieron en su base alimentaria, motilidad, movimiento interno del organismo, rango de tallas en micras, % de coloración o manchas oculares y su coloración en las cuales se pudo ver que para evitar mortalidades y daños a futuro en las semillas cada inspección debe de tener entre el 75-100% de aprobación en los caracteres antes mencionados, asimismo, como resultado se obtuvo que, se debe evaluar semanalmente mas no quincenal el crecimiento y calidad de la semilla. Es decir, se debe de tomar una muestra para la biometría correspondiente y la observación de la morfología y características externas de la concha. Como recomendación el autor indica que, en caso de encontrar alguna anomalía, se debe tomar una muestra para su análisis patológico.

Jiménez (2021), señala que uno de los factores externos a considerar en un cultivo de moluscos es el pH, alimentación, temperatura y salinidad los cuales deben ser considerados ser rico e microalgas pertenecen a la clase de *Bacillariophyceae*, *Haptophyceae*, *Prasinophyceae*, *Chlorophyceae* y *Cryptophyceae*, la temperatura debe ser en aguas templadas hasta los 30 °C y su disminución en el periodo larvario ayuda a la fijación puesto que, larvas de ostra cultivadas a 17 °C tardan unos 26 días en fijarse, sin embargo, cultivadas a 20 °C tardan alrededor de 14 días. Asimismo, un pH por debajo de los 6,5 indica que el crecimiento seria lento y lo más recomendable es entre los 7,7 hasta 8.3. Además, indica que un valor alto de nutrientes como *Chaetoceros*

calcitrans y *Tetraselmis suecica*, se puede obtener proporciones altas de nutrientes puesto que son considerados una dieta rica y que permite el crecimiento y desarrollo de las semillas y reproductores. Asimismo, para asegurar la fijación de las larvas es necesario una inspección diaria o semanal puesto que, estas deben encontrarse en etapa de pediveliger en el momento de perder el velo y el pie se empieza a formar para su fijación, estas larvas nadadoras se convierten en semillas de vida bentónica el cual su fijación es por medio de un mucus o “baba” que es utilizado para fijarse al sustrato favoreciendo la agregación de las larvas en condiciones de hacinamiento las cuales se dirigen al fondo para completar su ciclo de fijación.

9. CONCLUSIONES

Dentro de las 3 concentraciones de alimento se colocaron 50 organismos de los cuales de la concentración alta se obtuvo un total de 15 hembras con 30 millones de huevos con una fecundación del 70 % a causa de que algunos huevos eran infértiles, se encontraban muertos o con falta de maduración gametogénica. Además, se obtuvo de la concentración media 1 millón de huevos de 5 hembras, la concentración baja no proporcionó desove.

El alimento influyó dentro del crecimiento y del desarrollo gonadal de los reproductores de concentración alta, los organismos en la concentración media se pudieron observar que estaban acumulando el alimento dentro de la concha y este no era consumido en su integridad lo que muestra que la ostra está tratando de sobrevivir. La concentración de alimento bajo causó que no exista desove por la poca alimentación que existía en el medio lo que ocasiona que haya un gasto de energía en la sobrevivencia dejando a un lado la maduración, siendo el origen del estrés que influyó en su lenta maduración gonadal.

El peso de los reproductores en relación a la cantidad gonadal se vio liderada por la alimentación alta, se obtuvieron mayor número de huevos y hembras en el desove realizado, lo que indica que fue de mayor impacto tener un ambiente rico en alimentación para producir el mayor número de semillas, sin embargo, la alimentación media también desovo pero no con el nivel estimado, esto quiere decir que, si bien se obtuvo desove alguno las semillas no contaban con la calidad y el nivel de crecimiento lo que produjo mortalidades en la fijación y desarrollo larvario.

10. RECOMENDACIONES

Se recomienda utilizar la concentración alta para una maduración y desove exitoso, además, se sugiere que se realice un control de 12 meses manteniendo la concentración alimenticia a una temperatura de 30 °C.

Se sugiere sostener la temperatura de maduración constante, realizar periódicamente baños o enjuagues a los reproductores una vez cada semana para la limpieza de heces y pseudoheces que se quedan sobre el animal.

Se propone continuar con el proceso de maduración y alimentación disminuyendo el nivel de oxígeno para considerar una mejor asimilación alimenticia.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez, R. C. (2008). Estado actual de la acuicultura de moluscos bivalvos en Ecuador. En A. Lovatelli, A. Farías e I. Uriarte (eds). Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. . *Taller Técnico Regional de la FAO. 20–24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. FAO Actas de Pesca y Acuicultura. No. 12. Roma, FAO. pp 129-133.*
- Araceli, R. E. (2006). Crecimiento y reproducción de la ostra rizada, *Magallana gigas* , cultivada en intermareal y en batea en Galicia. Dissertação para a obtenção do grau de mestre em Aquaculture. España: Universidade do Algarve, facultade de ciencias do mar e do ambiente. *Centro de investigacions marina (CIMA).*
- Artiles, M. (2000). Efecto de la concentración de microalgas (*Chaetoceros Gracilis*) sobre la supervivencia larval en el cultivo del camarón blanco (*Litopenaeus schmitti*). *Boletín Del Centro De Investigaciones Biológicas, 34(1)*. Recuperado a partir de <https://produccioncientificaluz.org/index.php/boletin/article/view/216>.
- Baltazar, P. (1999). *CULTIVO DE LA OSTRA Magallana gigas (THUNBERG, 1795) EN UN VIVERO ARTESANAL, LA ARENA, CASMA*. Peru: Revista Peruana de Biología .
- Baltazar, P., Bermudez, P., & Rivera, W. (2000). *Cultivo de la ostra Magallana gigas en un vivero artesanal, la arena, Casma*. Revista Perunana de biologia.
- Baquerizo, J. (2003). *Analisis comparativo de difernetes dietas para el acondicionamiento de reproductores de ostion de mangle, Crassostrea columbiensis*. Guayaquil.
- Betanzos-Vega, A. J.-S.-C. (2018). Una alternativa de desarrollo pesquero para Comunidades Costeras en Cuba. Universidad Autónoma de Campeche. Instituto

- de Ecología, Pesquerías y Oceanografía del Golfo de México (epomex). ISBN 978-607-8444-43-4.
- Caceres, J., & Vasquez, R. (2014). *Manual de buenas practicas de manejo para el cultivo de moluscos bivalvos*. OSPESCA.
- CENDEPESCA. (2007). Manual tecnico de produccion de semillas de ostras del Pacifico. JICA. El Salvador. *Produccion artificial de semilla y cultivo de engorde de ostra japonesa*.
- Chávez, J. (2014). Cultivo de ostión *Magallana gigas* . Análisis de 40 años de actividades en México. *Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), Unidad Sonora, Apartado postal 349, Guaymas, Sonora 85454, México. Hidrobiológica, versión impresa ISSN 0188-8897*.
- Chávez-Villalba, J. (2014). *Cultivo de ostión Magallana gigas : Análisis de 40 años de actividades en Mexico*.
- Cisneros, P. (2017). OSTRAS: REPRODUCCIÓN Y CULTIVO', NUEVO PROYECTO DE LA PREFECTURA. GAD PROVINCIAL, <https://www.santaelena.gob.ec/index.php/noticias-boletines-varias/1095-ostras-reproduccion-y-cultivo-nuevo-proyecto-de-la-prefectura>.
- Duran, A., Villalba, J., Barra, R., & Arreola, A. (2010). *Crecimiento comparativo, condición y supervivencia de juveniles de los ostiones Magallana gigas y C. corteziensis cultivados en verano e invierno*. Mexico: versión impresa ISSN 0185-3880.
- Espinosa, A. (2021). *GENES DE RESPUESTA A ESTRÉS TÉRMICO REGULADOS POR METILACIÓN EN EL OSTIÓN DEL PACÍFICO Magallana gigas* . La Paz, Baja California Sur: Centro de investigaciones biologicas del noreste, S.C.

- Espinosa, R. (2021). *Genes de respuesta a estres ttermino regulados por metilacion en el ostion del pacifico Magallana gigas* . Centro de investigaciones biologicas, California Sur.
- FAO. (2005). Cultured Aquatic Species Information Programme *Magallana gigas* . Programa de información de especies acuáticas. *Texto de Helm, M.M. In: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO [en línea]. Roma. Actualizado . [Citado 1 April 2021].*
- FAO. (2005-2021). Cultured Aquatic Species Information Programme *Magallana gigas* . Programa de información de especies acuáticas. . *Texto de Helm, M.M. In: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO [en línea]. Roma. Actualizado . [Citado 9 July 2021].*
- FAO. (2006). Biología básica de los bivalvos: taxonomía, anatomía y ciclo vital. *Segunda parte*. Obtenido de: <http://www.fao.org/3/y5720s/y5720s06.htm>.
- Fao. (2006). Funcionamiento del criadero: telecaptación en criadero y en semillero. *Sexta parte*. Obtenido de: <http://www.fao.org/3/y5720s/y5720s0b.htm>.
- FAO. (2009). *Magallana gigas* . In Cultured aquatic species fact sheets. Text by Helm, M.M. Edited and compiled by Valerio Crespi and Michael New. CD-ROM (multilingual). *Cultured aquatic species fact sheets*.
- Fernandez, N. (2012). Composición de la microbiota asociada a *Crassostrea gigas*, *Crassostrea corteziensis* y *Cassostrea sikamea* y su variación según etapa de crecimiento y sitios de cultivo del ostión. *Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias, uso, manejo y preservación de los recursos naturales (orientación biotecnología)*. La Paz, California Sur: CIB, centro de investigaciones biológicas del noreste, S.C. programa de estudios de postgrado.

- GARCÍA-CUBAS, A. (1984). *Taxonomía y anatomía comparada de las ostras en las costas de México*. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. Contribución 484 del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM.
- Gomez, M. (2013). *Evaluación de la calidad gonádica de la concha nacar *Pteria sterna* y su influencia en la viabilidad larvaria*. La Paz, Baja California.
- Gonzalez, C., Crescini, R., Villalba, W., Maldonado, A., Vásquez, G., & Soto, G. (2016). *Estructura de tallas, crecimiento y mortalidad de *Crassostrea rhizophorae* en la laguna de la Restinga, Isla de Margarita, Venezuela*. Venezuela: versión On-line ISSN 2343-6468.
- group, O. v. (2016). *Sistema de control y vigilancia marina, cultivo de moluscos*. España.
- HERNÁNDEZ, L. C. (2012). EFECTO DE LA DIETA EN EL DESARROLLO Y COMPOSICIÓN DE LA GÓNADA Y TEJIDOS SOMÁTICOS DE LA CONCHA NÁCAR *Pteria sterna* (GOULD, 1851). *Tesis para obtener el grado de Mestro en Ciencias*. Centro de investigaciones biológicas del noroeste, S.C. La Paz, Baja California Sur.
- Icaro, A. (2013). Cultivo, biología reproductiva y bioquímica de la ostra japonesa *Magallana gigas* en la Ria de Arousa. *Tesis doctoral, Universidade da Coruña*.
- Jamali, H. (2015). Evaluación del crecimiento, supervivencia y composición corporal de larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentadas con la combinación de tres tipos de algas. *Int Aquat Res* 7, 115–122 (2015). <https://doi.org/10.1007/s40071-015-0095-9> DOI <https://doi.org/10.1007/s40071-015-0095-9>.
- Jiménez, A. (2021). *carrera técnica en acuicultura, producción de moluscos* . Mexico.

- Lodeiros, C., & Lovatelli, A. c. (2019). 9. Producción de semillas de la ostra perla *Pinctada imbricata*. Un manual práctico. *FAO Documento técnico de pesca y acuicultura. No. 636. Roma, FAO. 88 pp. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.*
- Loor, A. (2012). Desarrollo de protocolos de manejo para la inducción al desove y larvicultura de la ostra nativa *Crassostrea iridescens*. *Escuela Superior Politécnica del Litoral*. Facultad de ingeniería marítima, ciencias biológicas, oceanicas y recursos naturales.
- Meléndez-Galicia, C. (2015). Madurez gonádica del ostión de roca *Crassostrea iridescens*, de la costa de Michoacán, México. *Ciencia Pesquera* (2015) 23(1): 25-36.
- Naorbe, M. C., Garibay, S. S., & Serrano ., A. E. (2015). Reemplazo simultáneo de proteínas, vitaminas y minerales con pasta de *Chaetoceros calcitrans* en la dieta de las larvas de camarón tigre negro (*Penaeus monodon*). *EBSCO. Biología animal y cría de animales*. 2015, vol. 7 Edición 1, p28-36. 9p.
- Pacheco, N. (2016). *Protocolos innovadores de criterios de calidad larvaria de ostion japones que permitan incrementar el rendimiento en cultivo y mejorar los sistemas de producción de semill*. La Paz, Baja California Sur: CIB, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
- Parra, E. (2015). CULTIVO DE LA MICROALGA *Chaetoceros gracilis* UTILIZANDO COMO MEDIO DE CRECIMIENTO AGUA DE COCO MODIFICADA. *UNIVERSIDAD DEL SALVADOR, SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTROAMERICA.*
- Quiroz, G., & García-Ulloa, M. (2016). *Relación del crecimiento, condición y supervivencia del ostión del Pacífico Magallana gigas y las variables ambientales, cultivado en suspensión en el sistema lagunar Navachiste-*

Macapule, Sinaloa, México. Mexico : Revista de Biología Marina y Oceanografía, Vol. 51, N°3: 541-551.

Rodriguez, H. (2015). Evaluacion del crecimiento y la supervivencia de *Cassostrea gigas*, bajo condiciones de cultivo suspendido en mar abierto, en la comuna Palmar, Santa Elena-Ecuador. *Trabajo de titulacion previa a la obtencion del titulo de biologo marino.* Obtenido de: <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/2181/1/UPSE-TBM-2015-025.pdf>.

Rossignoli, A. E. (2006). “CRECIMIENTO Y REPRODUCCIÓN DE LA OSTRA RIZADA, *Magallana gigas* (Thunberg, 1793), CULTIVADA EN INTERMAREAL Y EN BATEA EN GALICIA (NW ESPAÑA)”. *CENTRO DE INVESTIGACIONES MARIÑAS (CIMA) Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura XUNTA DE GALICIA.* Universidade do Algarve, FACULDADE DE CIÊNCIAS DO MAR E DO AMBIENTE.

Roy, S. P. (2014). Microalgae in Aquaculture: A Review with Special References to Nutritional Value and Fish Dietetics. *Proc Zool Soc* 68, 1–8 (2015). <https://doi.org/10.1007/s12595-013-0089-9>.

Sanchez, K. (2015). Efecto del biofouling sobre el crecimiento y supervivencia en cultivo suspendido infralitoral de la ostra del pacifico *Magallana gigas* , bajo dos sistemas de saneamiento en el puerto real alto de diciembre 2014 a julio 2015. *Previo a la obtencion del titulo de Biologo marino. Libertad, Ecuador: Universidad Estatal Peninsula de Santa Elena.*

Shafee, M. &. (1991). Gametogenesis and spawning in the carpet - shell clam, *Ruditapes decussatus* (L.) (Mollusca: Bivalvia),. *from the Atlantic coast of Morocco. Aquaculture & Fish. Management* 22: 203-216.

Tachihana, S., Nagao, N., Katayama, T., Hirahara, M., Yusoff, F. M., Banerjee, S., . . .

Furuya, y. K. (2020). Alta productividad de ácido eicosapentaenoico y fucoxantina por una diatomea marina *Chaetoceros gracilis* en un cultivo semicontinuo. *NCBI* . Doi: 10.3389 / fbioe.2020.602721, PMID: 33363132, PMCID: PMC7759640 .

Vásquez, H. E. (2007). Guía para el cultivo de Ostra del Pacífico (*Magallana gigas*).

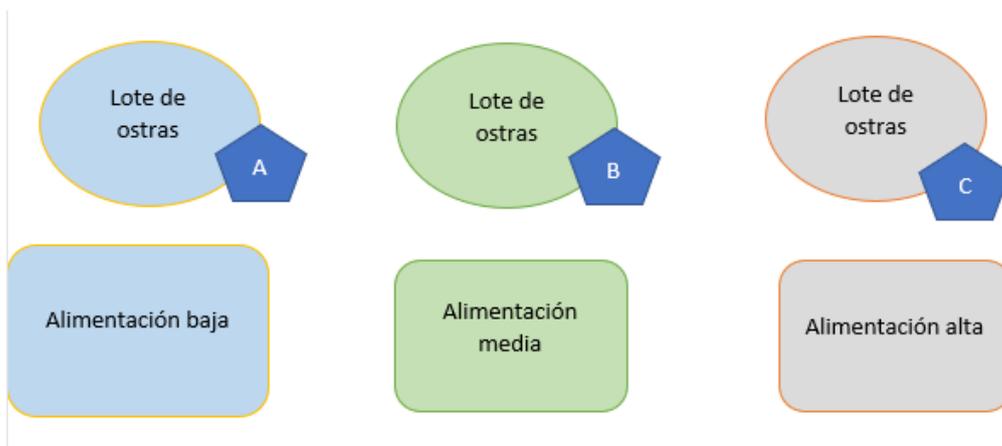
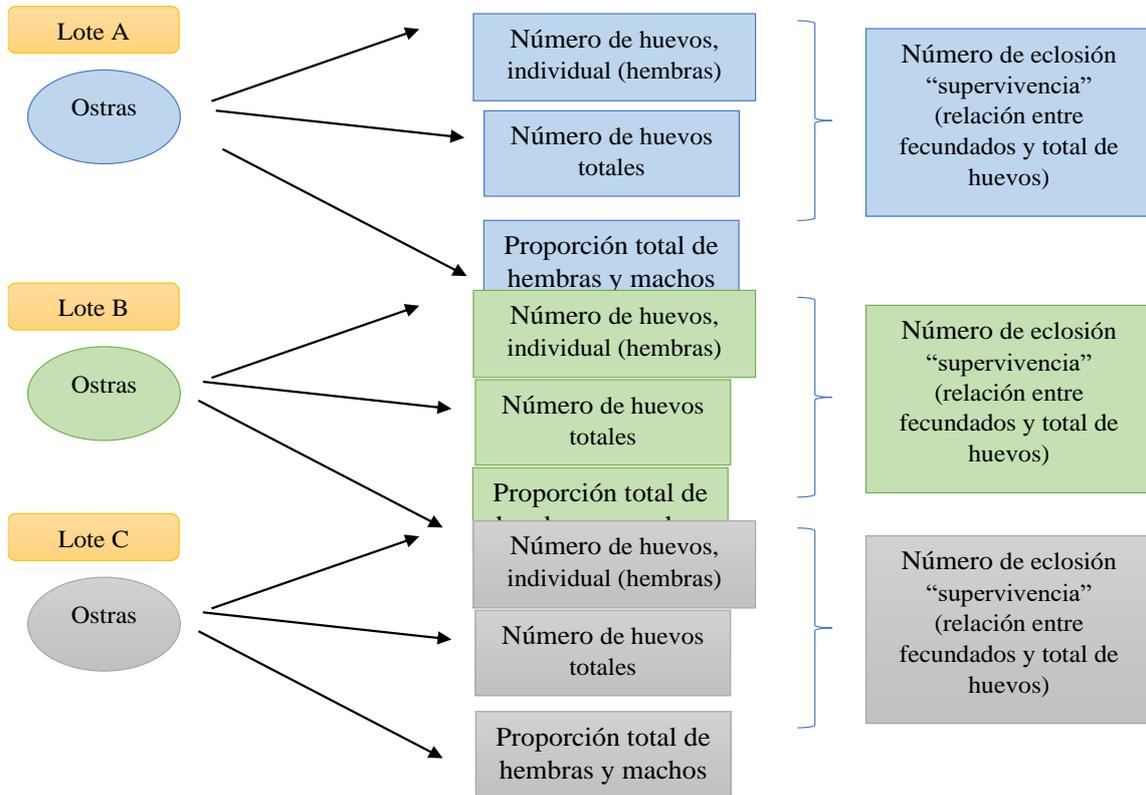
JICA. Obtenido de:
https://www.jica.go.jp/project/elsalvador/2271029E1/materials/pdf/2007/2007_04.pdf.

Vélez, R., García, A., Zambrano, E., & Chica, C. (2016). Crecimiento de las microalgas *Chaetoceros gracilis* e *Isochrysis galbana* con fertilizantes agrícolas, en laboratorio. *Dialnet, La Técnica*, ISSN 1390-6895, ISSN-e 2477-8982, N°. 16, 2016 (Ejemplar dedicado a: Julio-Diciembre), págs. 44-55.

ANEXOS

Anexo 1.

Modelo de los lotes y observaciones a tomar en cada lote y la distribución de alto medio y bajo de alimento.



Anexo 2.

Mediciones de las ostras.



Figura 1: Medidas morfológicas de la semilla.

De izquierda a derecha se puede ver las diferentes medidas de la semilla iniciando con el grueso, ancho y largo respectivamente y su crecimiento que se puede ver en la curva de la semilla de una manera translúcida y una parte opaca lo que denota su desarrollo diario.

Anexo 3.



Figura 2: Fijación y pie de *M. gigas*.

En la Figura 2 de la derecha se observa las semillas que están en fijación por lo que son visibles a simple vista, tienen un tamaño aproximado de 1 a 3 mm, y de la izquierda se visualiza el pie al igual que su estadio larvario en pediveliger.

Anexo 4.

Tabla 20: Parámetros de calidad larvaria

Calidad	movilidad	Vitelo (coloración)	morfología
Excelente (E)	La movilidad de las larvas o semillas tiene que ser uniforme, sin variaciones en su movimiento libre, esto quiere decir, movimiento lineal o normal y no en “sic sac”.	La coloración del vitelo es por lo regular de color naranja, o amarillento pajizo de forma natural sin alguna enfermedad o alguna mancha ocular que dificulte su movimiento y este se encuentre entre el 75-100% libre de manchas.	Dentro de este parámetro se basa directo en su tallaje en micras como se puede ver en el <i>anexo 2</i> el cual su crecimiento sea entre 1 a 3 mm, así como se indica en la <i>Tabla 3 y 12</i> .
Bueno (B)	La movilidad de las larvas o semillas es regular entre un 51-75 % aun es lineal pero ya empieza a presentar movimiento en curva o en forma de ondas.	La coloración del vitelo cambia a color café claro o amarillo oscuro y presenta el 51-75% de manchas oculares	La morfología de las semillas se puede ver solo aumentan de 1 a 2 mm y otras se mantienen.
Regular (R)	La movilidad de las larvas o semillas es de 26-50 % y en su mayoría su nado es curvo o circular y presentan nado en forma de ondas con desorden.	La coloración es pálida o amarillo claro, en ciertas ocasiones se puede ver de color gris. Las manchas oculares se encuentran entre el 26-50%.	Las semillas no crecen o demoran en su crecimiento y solo es de 1 mm.
Malo (M)	Su movilidad es nula o 25% del total.	Coloración no distinguible y presenta manchas al 100%.	Las semillas no tienen crecimiento y en su mayoría son decesos.

Fuente: (Caceres & Vasquez, 2014) modificado por Oña (2022)

Anexo 5

Características morfológicas externas de la concha en diferentes especies de ostión.

Figura 29: Características morfológicas externas de la concha.

Fuente: (GARCÍA-CUBAS, 1984)

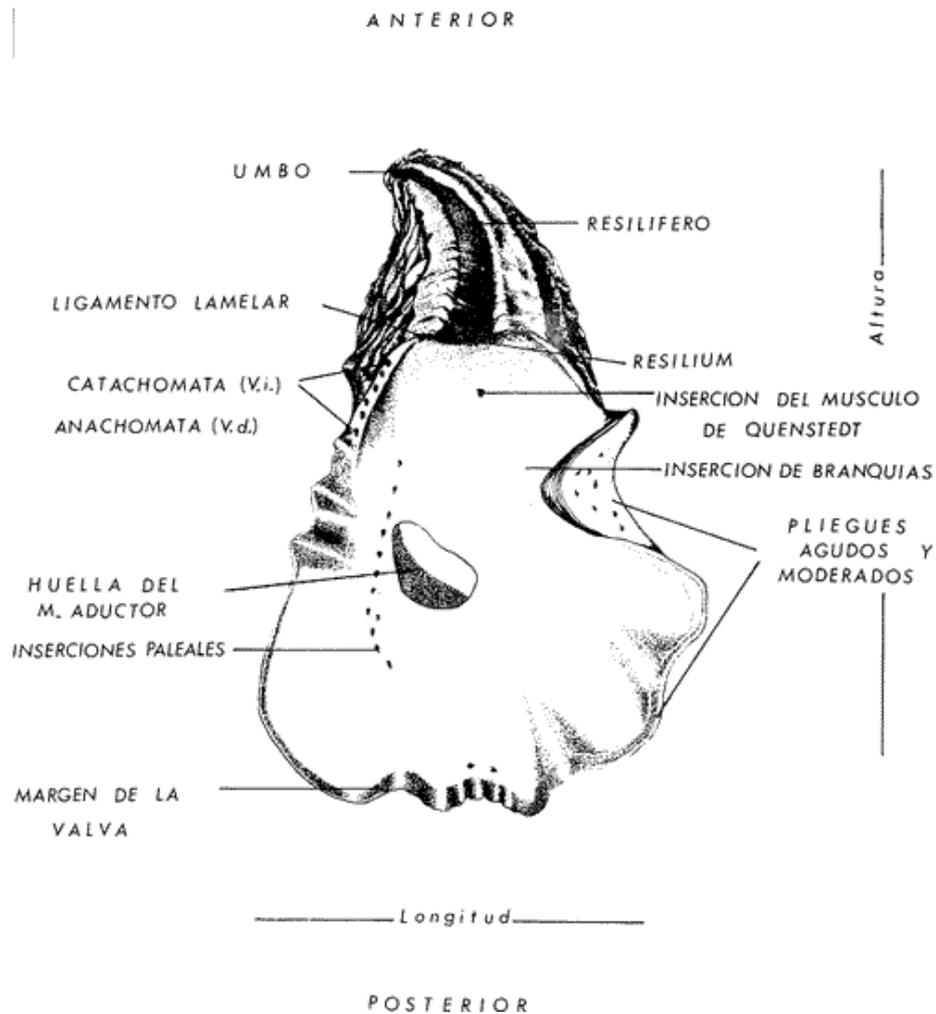


Figura 30: características morfológicas internas de la concha.

Fuente: (GARCÍA-CUBAS, 1984)

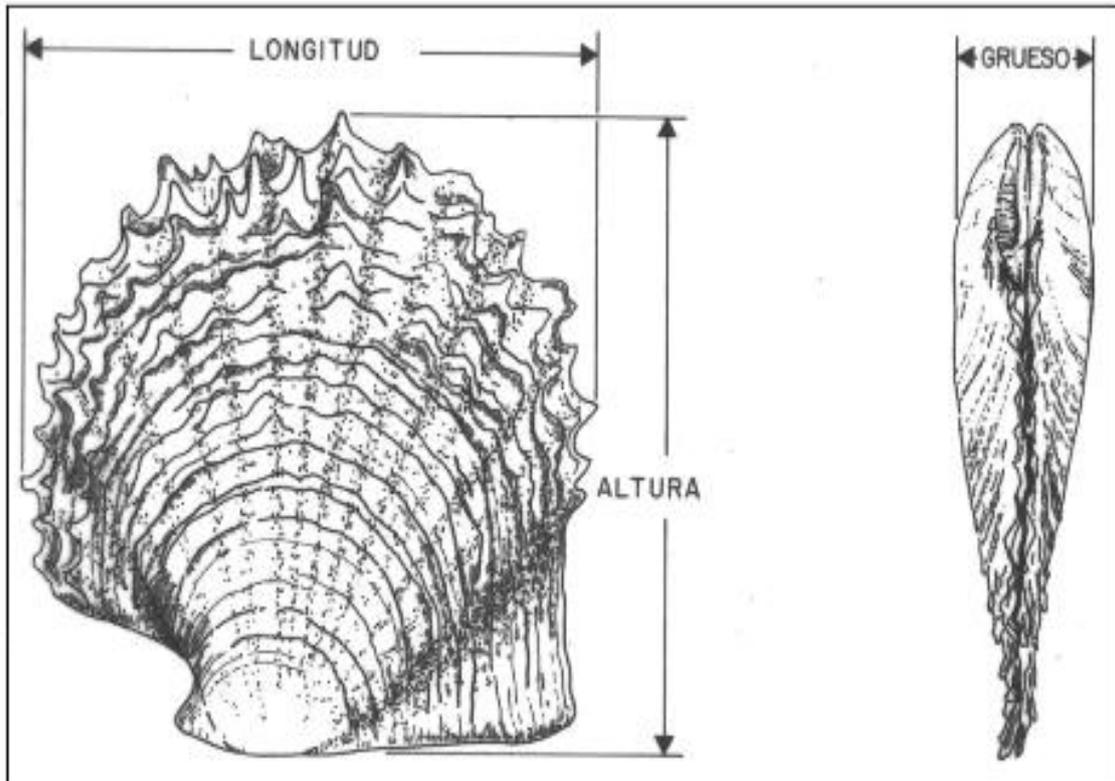


Figura 31: medidas morfológicas exteriores de alto, grueso y longitud de la concha.
Fuente: (GARCÍA-CUBAS, 1984)

Anexo 6

Fórmula para identificar el total de cel/ml a ser agregadas al día para obtener las diferentes concentraciones de alimento establecidas.

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

Donde,

C1= concentración inicial C2 = concentración final

V1= volumen inicial V2 = volumen final

Por ejemplo, aplicando a las concentraciones de alimento alto, medio y bajo se obtiene,

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

$$C1 = \frac{C2 \times V2}{V1}$$

$$C1 = \frac{1.8 \text{ cel/ml} \times 4 \text{ ton}}{1 \text{ ton}}$$

$$C1 = 7.2 \text{ cel/ml.}$$

Concentración alta

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

$$C1 = \frac{C2 \times V2}{V1}$$

$$C1 = \frac{1.5 \text{ cel/ml} \times 4 \text{ ton}}{1 \text{ ton}}$$

$$C1 = 6 \text{ cel/ml.}$$

Concentración media

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

$$C1 = \frac{C2 \times V2}{V1}$$

$$C1 = \frac{1.2 \text{ cel/ml} \times 4 \text{ ton}}{1 \text{ ton}}$$

$$C1 = 4.8 \text{ cel/ml}$$

Concentración baja