



UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA

**“ANÁLISIS COMPARATIVO DE DIFERENTES DIETAS LIQUIDAS EN EL
CULTIVO DE *Crassostrea gigas* (THUNBERG, 1793)”**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previa a la obtención del Título de:

BIÓLOGO

Autor:

EDGAR BRYAN PITA MURILLO.

Tutor:

BLGA. ERIKA SALAVARRÍA PALMA, PhD.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2025

UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA

**“ANÁLISIS COMPARATIVO DE DIFERENTES DIETAS LIQUIDAS EN EL
CULTIVO DE *Crassostrea gigas* (THUNBERG, 1793)”**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previa a la obtención del Título de:

BIÓLOGO

Autor:

EDGAR BRYAN PITA MURILLO.

Tutor:

BLGA. ERIKA SALAVARRÍA PALMA, PhD.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2025

UPSE

DECLARACIÓN DEL DOCENTE TUTOR

En mi calidad de Docente Tutor del Trabajo de Integración Curricular, “**ANÁLISIS COMPARATIVO DE DIFERENTES DIETAS LIQUIDAS EN EL CULTIVO DE *Crassostrea gigas* (THUNBERG, 1793)**”, elaborado por Pita Murillo Edgar Bryan, estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias de Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Biólogo. Me permito declarar que luego de haber dirigido su desarrollo y estructura final del trabajo, se cumple y se ajusta a los estándares académicos. Razón por la cual, apruebo en todas sus partes encontrándose apto para la evaluación docente especialista.

Atentamente



Blga. Erika Salavarría Palma, PhD.

D DOCENTE TUTOR

C.I. 0912260387

DECLARACIÓN DEL DOCENTE DE ÁREA

En mi calidad de Docente Especialista, del Trabajo de Integración Curricular **“ANÁLISIS COMPARATIVO DE DIFERENTES DIETAS LIQUIDAS EN EL CULTIVO DE *Crassostrea gigas* (THUNBERG, 1793)”**, elaborado por Edgar Bryan Pita Murillo, estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Biólogo, me permito declarar que luego de haber evaluado el desarrollo y estructura final del trabajo, éste cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, declaro que se encuentra apto para su sustentación.

Atentamente



Blga. Mayra Cuenca Zambrano, MSc.

DOCENTE DE ÁREA

CI: 0913042008

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios por brindarme la fortaleza, salud y vida para enfrentar todas las dificultades durante mi periodo estudiantil.

A mis padres, Edgar Pita Suarez y Marcia Murillo Hurtado, por creer en mí en todo momento y brindarme su apoyo incondicional, motivándome y acompañándome durante esta etapa de mi vida, gracias a su amor y ejemplo, aprendí que los sueños se alcanzan con esfuerzo y perseverancia.

A mis hermanos Jordy, Godiva y Rancel, por su paciencia, apoyo y compañía incondicional durante las largas madrugadas en las que el cansancio parecía ganar, brindándome la fuerza necesaria para continuar y culminar esta etapa con dedicación y compromiso.

A mis compañeros y amigos, con quienes compartí este viaje académico lleno de aprendizajes, desafíos y grandes momentos. En especial, quiero dedicar estas palabras a Sheyla Yagual, por su capacidad de escuchar, su empatía y por ser una amiga siempre dispuesta a compartir su tiempo y energía; y a Elian Espinoza, por su perseverancia y por demostrar que el trabajo en equipo y la camaradería pueden superar cualquier obstáculo. Ambos no solo fueron compañeros, sino también amigos incondicionales, cuya amistad, largas jornadas de estudio, debates interminables y palabras de aliento en los momentos más difíciles hicieron de este camino una experiencia inolvidable.

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi gratitud hacia la universidad estatal Península de Santa Elena, por brindarme el conocimiento necesario para ser un gran profesional, a sus autoridades por ser esa guía de aprendizaje que con sus enseñanzas aprendí durante estos años.

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a la Prefectura de Santa Elena por brindarme la oportunidad de llevar a cabo mi estudio en las instalaciones del laboratorio proyecto ostras, ubicado en la comuna El Real.

Agradezco a mi tutora Blga. Erika Salavarría Palma, PhD, por la confianza y guía a lo largo de todo este proceso de investigación.

Expreso mi gratitud al Ing. Héctor Baque, administrador del laboratorio proyecto ostra, quien me abrió las puertas brindándome conocimiento así también al técnico Leonardo Robaños por su colaboración y confianza.

TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **Edgar Bryan Pita Murillo** como requisito parcial para la obtención del grado de Biólogo/a de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el: 11 de diciembre del 2024



Ing. Jimmy Villón Moreno, MSc.
**DIRECTOR/A DE CARRERA
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**



Blga. Mayra Cuenca Zambrano, MSc.
**PROFESOR DE ÁREA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



Blga. Erika Salavarría Palma Ph. D
**DOCENTE TUTOR
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



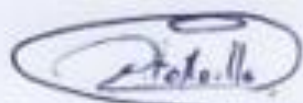
Blg. Richard Duque Marín, MSc.
**DOCENTE GUÍA DE LA UIC II
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



Lic. Pascual Roca Silvestre, MSc.
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL

Declaración expresa

Declaro que las ideas, hechos, investigaciones, opiniones y resultados expuestos en este trabajo de integración curricular son de mi exclusiva responsabilidad y autoría. Y el patrimonio intelectual a la Universidad Estatal Península De Santa Elena y al Gobierno Autónomo De Santa Elena.



Edgar Bryan Pita Murillo

1311477374

INDÍCE

RESUMEN	XVIII
1. INTRODUCCIÓN	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
3. JUSTIFICACIÓN	5
4. OBJETIVOS	7
4.1 Objetivo general.	7
4.2 Objetivos específicos.	7
5 HIPÓTESIS	8
6 MARCO TEÓRICO.....	9
6.1 Ostricultura:.....	9
6.1.1 Producción de <i>Crassostrea gigas</i> a nivel mundial.	9
6.1.2 Rentabilidad de la producción ostrícola.....	10
6.2 <i>Crassostrea gigas</i>	11
6.2.1 Características biológicas.....	13

6.2.2	Ubicación taxonómica de la Ostra del Pacífico (Thunberg, 1793).	14
6.2.3	Descripción de la especie.	14
6.3	Ciclo de vida.	15
6.3.1	Larva D o Prosidoconcha (D velíger).	16
6.3.2	Larva velíger.	17
6.3.3	Larva umbonada.	18
6.3.4	Larvas pediveliger.	18
6.3.5	Fraguado.	19
6.3.6	Metamorfosis.	19
6.3.7	Importancia del cultivo de ostras	20
6.4	Importancia de las microalgas en el cultivo de larvas de <i>Crassostrea gigas</i> .	20
6.4.1	Dieta monoespecífica.	21
6.4.2	Dieta de algas.	21
6.4.3	<i>Isochrysis galbana</i> (Parke, 1949).	22
6.4.4	<i>Tetraselmis chui</i> (Butcher, 1959).	23
6.4.5	<i>Thalassiosira weissflogii</i> (Grunow) G.A. Fryxell & Hasle 1977.	24

7	METODOLOGÍA	26
7.1	Área de estudio.	26
7.2	Diseño experimental.	27
7.3	Obtención de reproductores.	28
7.3.1	Desarrollo gonadal.	28
7.3.2	Desove y fecundación.	29
7.4	Implementos técnicos utilizados en las larvas de <i>Crassostrea gigas</i>	29
7.5	Cultivo de microalgas.	30
7.5.1.	Suministro de Dietas líquidas para el cultivo larvario y fraguado.	31
7.5.2	Mantenimiento de las larvas.	32
7.5.3	Velocidad de crecimiento de las larvas de <i>Crassostrea gigas</i>	33
7.5.4	Supervivencia de larvas de <i>Crassostrea gigas</i>	34
	Tasa de Supervivencia.	34
7.5.5	Tasa de fraguado.	35
7.6	Método de análisis estadístico.	37
7.6.1.	Correlación de velocidad de crecimiento de las larvas de <i>Crassostrea gigas</i>	37

8.	Análisis e interpretación de resultados.....	38
8.1	Eficiencia de las Dietas líquidas en larvas de <i>Crassostrea giga</i>	38
8.1.1	Comparación de la velocidad de crecimiento	38
8.2	Correlación de la velocidad del crecimiento de las larvas de <i>Crassostrea giga</i> y las Dietas.	39
8.2.1	Prueba de Normalidad	39
8.2.2	Correlación entre las variables de las diferentes velocidades de crecimiento.	39
8.3	Tasa de supervivencia.	42
8.3.1	Tasa de Supervivencia con la Dieta control (<i>Isochrysis galbana</i>).	42
8.3.2	Tasa de supervivencia con Dieta 1 (<i>Isochrysis galbana</i> más <i>Tetraselmis chui</i>). 43	
8.3.3	Tasa de supervivencia con Dieta 2 (<i>Isochrysis galbana</i> más <i>Thalassiosira weissflogii</i>).	45
8.3.4	Comparación de la tasa de supervivencia entre las diferentes Dietas. .	46
8.4	Tasa de Fraguado.....	48
8.4.1	Comparación de la tasa de fraguado con las diferentes Dietas.	48
9.	DISCUSIÓN.....	50

9.1	Discusión.....	50
10.	Conclusión	53
11.	Recomendaciones.....	54
	BIBLIOGRAFÍA	55
	ANEXOS.....	63

GRÁFICAS

	Gráfica 1: Producción de acuicultura global del 2018 – 2020.	10
	Gráfica 2: <i>Crassostrea gigas</i> (ostra del Pacífico).....	12
	Gráfica 3: Primer estadio larvario, larvas D de <i>Crassostrea gigas</i>	17
	Gráfica 4: Segundo estadio larvario-larvas veliger.	17
	Gráfica5: Tercer estadio larvario-larvas umbonada.....	18
	Gráfica 6: Cuarto estadio larvario-larvas pediveliger.....	19
	Gráfica 7. Localización del laboratorio de Ostras. Prefectura de Santa Elena.....	26
	Gráfica 8. Etapas experimentales y tiempos estimados de manejo experimental de <i>Crassostrea gigas</i>	27

Gráfica 9. Esquema de cultivo de las microalgas	31
Gráfica 10. Suministro de las microalgas en cada una de las réplicas durante el cultivo larvario.	32
Gráfica 11. Suministro de las microalgas durante la fijación o fraguado.	32
Gráfica 12. Sistema <i>Down Welling</i> o Sistema de inundación	35
Gráfica 13. Comparación de la tasa de supervivencia de larvas de <i>Crassostrea gigas</i> bajo diferentes Dietas.....	38
Gráfica 13. Comparación de la velocidad de crecimiento de larvas de <i>Crassostrea giga</i> bajo diferentes Dietas.....	38
Gráfica 14. Correlación entre la Velocidad de crecimiento de larvas y la concentración de las microalgas.....	41
Gráfica 15. Tasa de supervivencia de larvas de <i>Crassostrea gigas</i> con la Dieta Control (<i>Isochrysis galbana</i>).....	43
Gráfica 16. Tasa de supervivencia de <i>Crassostrea gigas</i> con la Dieta 1 (<i>Isochrysis galbana</i> más <i>Tetraselmis chui</i>).....	44
Gráfica 17. Tasa de supervivencia de <i>Crassostrea gigas</i> con Dieta 2 (<i>Isochrysis galbana</i> más <i>Thalassiosira. weissflogii</i>).....	45
Gráfica 18. Comparación de la Tasa de supervivencia con las diferentes Dietas líquidas suministradas.	47

Gráfica 19. Tasa de fraguado o fijación entre las distintas Dietas líquidas suministradas.	49
---	----

TABLAS

Tabla 1: Concentraciones óptimas en Células/ml calculado en cultivo de 5 larvas/ml. (CENDEPESCA, 2009).	21
Tabla 2: Composición nutricional de la microalga <i>Isochrysis galbana</i>	23
Tabla 3: Composición nutricional de la microalga <i>Tetraselmis chui</i> . Fuente: Árabe, 2024.....	24
Tabla 4: Composición nutricional de la microalga <i>Thalassiosira weissflogii</i>	25
Tabla 5: Supervivencia en porcentajes, día de inicio de fraguado y tasa de fraguado en porcentaje de larvas de <i>Crassostrea gigas</i> alimentadas con diferentes Dietas líquidas administradas en el presente estudio.....	48

ANEXOS

Anexo 1: Recolección y selección de ostras <i>Crassostrea gigas</i>	63
Anexo 2: Desove y fecundación de <i>Crassostrea gigas</i>	63
Anexo 3: Siembra de larvas de <i>Crassostrea gigas</i>	64
Anexo 4: Cultivo de microalgas.	64
Anexo 5: Recolección de larvas de <i>Crassostrea gigas</i>	64

Anexo 6: Medición de larvas de <i>Crassostrea gigas</i>	64
Anexo 7: Conteo de larvas de <i>Crassostrea gigas</i>	64
Anexo 8: Fraguado de larvas de <i>Crassostrea gigas</i>	64
Anexo 9: Conteo de postlarvas de <i>Crassostrea gigas</i>	64
Anexo 10: Tratamiento del agua	64
Anexo 11: Medio de cultivo Guillard F/2	64
Anexo 12: Datos de la velocidad de crecimiento	64
Anexo 13: p valor entre las velocidades de crecimiento.	64
Anexo 14: Prueba de normalidad de las velocidades de crecimiento.	64
Anexo 15: Prueba de normalidad de las concentraciones de microalga (celula/ml). .	64
Anexo 16: Prueba de Spearman A) Dieta control; B) Dieta 1; C) Dieta 2.	64
Anexo 17: Análisis de varianza de la supervivencia de las larvas de <i>Crassostrea gigas</i>	64
Anexo 18: Prueba de Tukey de la supervivencia de las larvas de <i>Crassostrea gigas</i> .	64
Anexo 19: Base de datos.	64

GLOSARIO

Acuicultura

Práctica de cultivar organismos acuáticos, incluidos peces, crustáceos y bivalvos, en condiciones controlada para satisfacer la demanda mundial de productos del mar.

Alimentación exógena

Organismo que empieza a alimentarse de fuentes externas, en lugar de depender exclusivamente de las reservas internas como el vitelo en los huevos.

Charnela

Estructura que une las dos valvas de la concha y facilita su apertura y cierre, formada por un ligamento y un conjunto de estructuras dentadas que se ajustan entre ellas.

Choque térmico

Cambio brusco de temperatura al que se somete a un organismo.

Dieta

Combinación de alimentos y nutrientes que un organismo consume para mantener su salud, crecimiento y desarrollo.

Embriogénesis

Proceso por el cual se desarrolla un embrión desde la fertilización del óvulo hasta formar un organismo multicelular en sus primeras etapas

Haptophyta

Filo de microalgas eucariotas que se encuentra en ambientes acuáticos marinos y de agua dulce, se caracteriza por la presencia de un organelo llamado *haptonema*, que es similar a un flagelo y se usa para capturar partículas de alimento y moverse en su entorno.

Hermafroditismo protandro

Tipo de hermafroditismo en el cual un organismo comienza su vida como macho y, tiempo después, puede cambiar a hembra.

Ostricultura

Rama específica de la acuicultura dedicada al cultivo de ostras y se enfoca en la producción y manejo de ostras para el consumo humano y otros usos, como la restauración de hábitats marinos.

Rendimiento biológico

Capacidad de un organismo o grupo de organismos para transformar los insumos disponibles, como alimento y nutrientes, en biomasa y desarrollo somático.

Tasa de Fraguado

Porcentaje de larvas que consiguen asentarse o adherirse a un sustrato tras un periodo

de tiempo determinado. Este procedimiento es vital durante la fase de crecimiento de los bivalvos, que señala el paso de un estado larval libre a un organismo sésil.

Tasa de supervivencia

Porcentaje de supervivencia de una población de organismos durante un período específico.

Umbo

Parte más prominente y profunda de la concha de un molusco, ubicada en el extremo dorsal de la misma.

Velum

Órgano dotado de cilios que facilitan el movimiento en el agua, posibilitando que las larvas filtren partículas como las microalgas del agua.

ABREVIATURA

ARA: Ácido araquidónico

°C: Grados Celsius

DHA: Ácido docosahexaenoico

EPA: Acido eicosapentaenoico.

µm: Micrómetros

µl: Microlitros

RESUMEN

Se analizó el efecto de dos Dietas en la velocidad de crecimiento, tasa de supervivencia y tasa de fraguado de larvas de *Crassostrea gigas* en cultivo intensivo. Se empleó *Isochrysis galbana* como Dieta de control; *Isochrysis galbana* y *Tetraselmis chui* Dieta 1; y Dieta 2 *Isochrysis galbana* y *Thalassiosira weissflogii*. Aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0.1051$) en la velocidad de crecimiento, la dieta 2 mostró mayor velocidad de crecimiento, con un promedio de $14,45 \mu\text{m/día}$, a diferencia del control ($10.83 \mu\text{m/día}$) y dieta 1 ($12.38 \mu\text{m/día}$). La correlación entre la velocidad de crecimiento y las concentraciones de las diferentes dietas no tuvo significancia (control $p=0,403$; Dieta 1 $p=0.5603$; Dieta 2 $p=0.1$); sin embargo, la dieta 2 presentó una correlación positiva alta (0.826) mientras que el control (0.338) y dieta 1 (0.254) tuvieron correlación positiva baja. En cuanto a la tasa de supervivencia, se encontraron diferencias significativas entre la Dieta control y la Dieta 2 ($p=0.046$), donde la Dieta control tuvo la tasa de supervivencia más alta con el 65%, a diferencia de la Dieta 2 que tuvo una supervivencia del 28%. Aunque la dieta 1 no presentó diferencia significativa, tuvo mayor tasa de supervivencia, con el 45%. Respecto a la tasa de fraguado, la dieta 1 presentó mejor rendimiento, con 12,62%; la Dieta control, con 10,5%; y la Dieta 2 que presentó menor valor, con 2,67%. Los resultados obtenidos indicaron que la Dieta 1 tuvo mejor rendimiento biológico durante el cultivo de larvas y fraguado de *Crassostrea gigas*.

Palabras claves: *Crassostrea gigas*, Dietas líquidas, crecimiento larval, Tasa de Supervivencia, Tasa de fraguado.

ABSTRACT

The effect of two diets on the growth rate, survival rate and setting rate of *Crassostrea gigas* larvae in intensive culture was analyzed. *Isochrysis galbana* was used as control diet; *Isochrysis galbana* and *Tetraselmis chui* Diet 1; and Diet 2 *Isochrysis galbana* and *Thalassiosira weissflogii*. Although no statistically significant differences ($p=0.1051$) were observed in growth velocity, diet 2 showed higher growth velocity, with an average of $14.45 \mu\text{m/day}$, in contrast to the control ($10.83 \mu\text{m/day}$) and diet 1 ($12.38 \mu\text{m/day}$). The correlation between growth rate and the concentrations of the different diets was not significant (control $p=0.403$; Diet 1 $p=0.5603$; Diet 2 $p=0.1$); however, diet 2 presented a high positive correlation (0.826) while the control (0.338) and diet 1 (0.254) had a low positive correlation. Regarding the survival rate, significant differences were found between the control Diet and Diet 2 ($p=0.046$), where the control Diet had the highest survival rate with 65%, as opposed to Diet 2 which had a survival of 28%. Although Diet 1 did not present a significant difference, it had a higher survival rate, with 45%. Regarding the setting rate, Diet 1 presented the best performance, with 12.62%; the control diet, with 10.5%; and Diet 2, which presented the lowest value, with 2.67%. The results obtained indicated that Diet 1 had better biological performance during larval culture and setting of *Crassostrea gigas*.

Key words: *Crassostrea gigas*, Liquid diets, Growth rate, Survival rate, Setting rate.

1. INTRODUCCIÓN

Crassostrea gigas o más conocida como Ostión del Pacífico es originaria de Japón, es una especie estuarina que prefiere un sustrato firme, adheridas a las rocas llevando una vida sedentaria; las larvas suelen estar en piedras, desechos y conchas, se las puede encontrar en profundidades de hasta 40 metros y es conocida por su buena tolerancia a condiciones naturales y potencial de rápido crecimiento, ha tenido una muy buena acogida en diferentes partes del mundo (Helm, 2009).

El cultivo de la ostra del Pacífico, es una actividad de gran importancia económica en la acuicultura en el mundo, ya que es la más alta entre todas las especies de moluscos y se ha ido expandiendo desde el año 2003, más que cualquier crustáceo, molusco o pez (FAO, 2024).

Ecuador tuvo la primera acogida de la ostra del Pacífico por el Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM), la especie fue importada desde Chile, aunque no tuvo un buen apogeo por la población; sin embargo, con el tiempo ha ido ganando reconocimiento a nivel nacional (CENAIM, 2008).

En la provincia de Santa Elena se lleva a cabo la producción de semillas de *Crassostrea gigas* en el laboratorio ubicado en la comuna El Real-Chanduy, siendo parte de una de las instituciones avaladas en el Ecuador a nivel nacional. El laboratorio se inauguró en el año 2018 y tres años después se transfirió al Gobierno Autónomo Descentralizado

Provincial de Santa Elena, o Prefectura de Santa Elena, cuyas construcciones se llevaron a cabo mediante un acuerdo con la Oficina Comercial del Gobierno de China-Taiwán, con el propósito de impulsar el crecimiento de los pescadores artesanales (Cisneros, 2017).

Para la obtención de semillas el laboratorio lleva a cabo varios procesos que inicia desde la recolección de reproductores, desove, maduración, fraguado y semilla, donde una de las bases más importantes para su desarrollo es la alimentación que comienza desde que las larvas tienen una concha completa y han desarrollado órganos, entre ellos el sistema digestivo (Helm, 2009). Para que las microalgas puedan ser utilizadas como alimento, deben poseer una forma y tamaño apropiado para que sean consumidas, su biomasa debe tener facilidad de producción (resistencia a condiciones ambientales y alta productividad) fácil de digerir y nutrientes que aporten en su desarrollo (Marrón, 2002).

Las microalgas son conocidas por ser las productoras primarias de la cadena trófica y esto es debido a que fabrican fitonutrientes, carbohidratos, proteínas y lípidos como esteroides y ácidos grasos que son de fundamental importancia en los niveles más altos de la cadena trófica. Gracias a los estudios de los componentes lipídicos de las microalgas se han encontrado que son importantes para el desarrollo temprano de los bivalvos (Sewell, 2005). La mayoría de los animales acuáticos utilizan los ácidos grasos esenciales como fuente de energía para sus funciones metabólicas, y los bivalvos no son una excepción; emplean estos lípidos como fuente de energía, de los cuales aprovechan tres tipos de ácidos grasos esenciales (ARA, EPA, DHA) que contribuyen a su supervivencia y crecimiento (Turchini, 2010). Aunque estos compuestos son reconocidos por su importancia, el presente estudio sólo incluyó la revisión

bibliográfica de los análisis de perfiles de ácidos grasos de las microalgas aplicadas como Dietas líquidas.

Diversos estudios han demostrado que las Dietas monoespecíficas resultan tener menor rendimiento biológico, en comparación con aquellas que incluyen mezclas de dos o más especies de microalgas. De este modo, una Dieta, compuesta por una combinación de diferentes especies de microalgas, tiene el potencial de fortalecer significativamente el estado fisiológico de las larvas al proporcionarles una gama más amplia de nutrientes esenciales, vitaminas, ácidos grasos y otros compuestos bioactivos que no estarían presentes en cantidades óptimas en una Dieta monoespecífica (Cordova, 2015).

La diversidad de microalgas ofrece una ventaja crucial en el desarrollo de las larvas permitiendo un mayor equilibrio metabólico a las especies marinas lo que promueve a que tengan un mejor desarrollo y mayor resistencia a condiciones ambientales a diferencia de aquellos que solo se nutren de una única microalga (Cordova, 2015).

Por lo tanto, el objetivo de este estudio es conocer el efecto de varias Dietas líquidas basadas en microalgas como: *Isochrysis galbana* (control de Dieta), junto con la implementación de otras microalgas como *Tetraselmis chui* más *Isochrysis galbana*, y *Thalassiosira weissflogii* más *Isochrysis galbana*, registrando el rendimiento de la velocidad de crecimiento, la tasa de supervivencia y la tasa de fraguado de las larvas de *Crassostrea gigas*. Cabe destacar, que este trabajo de titulación constituye un aporte al fundamento científico acerca de las Dietas en el rendimiento biológico de las larvas de la ostra del Pacífico en la provincia de Santa Elena.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cultivo de bivalvos, *Crassostrea gigas*, es una especie de gran relevancia económica y ambiental a nivel mundial; sin embargo, uno de los desafíos en la acuicultura de esta especie es mejorar la tasa de supervivencia, velocidad de crecimiento y tasa de fraguado, durante sus primeras etapas de desarrollo, puesto a que estas etapas son muy sensibles y pueden definir el éxito del cultivo a largo plazo (Helm, 2004)

En la actualidad, la alimentación de las larvas de *Crassostrea gigas* se basa principalmente en el uso de microalgas, las cuales constituyen una fuente esencial de nutrientes. A pesar de los avances en el estudio de Dietas monoespecíficas, la efectividad de las combinaciones de diferentes microalgas en el desarrollo larvario no ha sido suficientemente explorada. La mayoría de los estudios han centrado sus esfuerzos en evaluar los efectos de microalgas individuales, dejando una brecha en el conocimiento sobre cómo las mezclas de microalgas pueden impactar en su velocidad de crecimiento, tasa de supervivencia y tasa de fraguado o fijación de las larvas de *Crassostrea gigas*.

Lo anteriormente aplicado da un vacío en la investigación por lo cual se plantea la siguiente pregunta: ¿Es posible mejorar el rendimiento biológico de las larvas de *Crassostrea gigas* mediante el uso de Dietas, en lugar de depender de una Dieta monoespecífica?

3. JUSTIFICACIÓN

En Ecuador, la importancia de *Crassostrea gigas* ha crecido significativamente desde su introducción, particularmente en la provincia de Santa Elena, donde las comunidades locales se dedican al cultivo de semillas de esta especie (Lino, 2020). No obstante, uno de los mayores retos en el cultivo larvario de *Crassostrea gigas* es mejorar la tasa de supervivencia, velocidad de crecimiento y la tasa de fraguado, ya que estas etapas son determinantes para el éxito a largo plazo del cultivo (Murillo, 2018).

A pesar de los avances en el conocimiento sobre la alimentación larvaria con microalgas, la investigación sobre los efectos de Dietas basadas en combinaciones de microalgas en lugar de Dietas monoespecíficas continúa siendo limitada (Cordova, 2015).

El presente estudio busca proporcionar información que contribuya a identificar la combinación más efectiva de microalgas, y en este caso en particular a partir del uso de *Isochrysis galbana* como Dieta control, y combinaciones de *Tetraselmis chui* más *Isochrysis galbana* (Dieta 1) y *Thalassiosira weissflogii* más *Isochrysis galbana* (Dieta 2), que permitan mejorar la velocidad de crecimiento, la tasa de supervivencia y la tasa de fraguado de las larvas de *Crassostrea gigas*.

La implementación de una Dieta podría optimizar el rendimiento biológico en términos de crecimiento, supervivencia y fijación en los cultivos, además de reducir significativamente las pérdidas en las etapas tempranas de desarrollo, ya que las Dietas monoespecíficas podrían limitar el aporte nutricional, estudios han demostrado que una Dieta balanceada y rica en nutrientes es fundamental para el crecimiento y la resistencia de las larvas de ostras (Vivanco, 2014).

La importancia de este estudio reside en su capacidad de fortalecer el conocimiento que permita optimizar prácticas de alimentación en las larvas de *Crassostrea gigas* durante sus fases iniciales del cultivo e incrementando el rendimiento biológico.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general.

- Analizar las diferentes Dietas microalgales aplicadas en el cultivo de *Crassostrea gigas* mediante la comparación de la tasa de crecimiento, tasa de supervivencia y tasa de fraguado durante sus primeras etapas de desarrollo, para la optimización del cultivo de este bivalvo.

4.2 Objetivos específicos.

- Correlacionar los tipos de Dietas microalgales aplicadas con la velocidad de desarrollo larval registrado de *Crassostrea gigas* en condiciones experimentales.
- Calcular la tasa de supervivencia larvaria de *Crassostrea gigas* para la comparación de las Dietas microalgales aplicadas.
- Determinar la tasa de fijación o fraguado de larvas de la ostra de *Crassostrea gigas* según las Dietas microalgales suministradas.

5 HIPÓTESIS

H1. Las Dietas influyen en la velocidad de crecimiento, supervivencia y fijación en el desarrollo larvario de la ostra *Crassostrea gigas*.

6 MARCO TEÓRICO

6.1 Ostricultura:

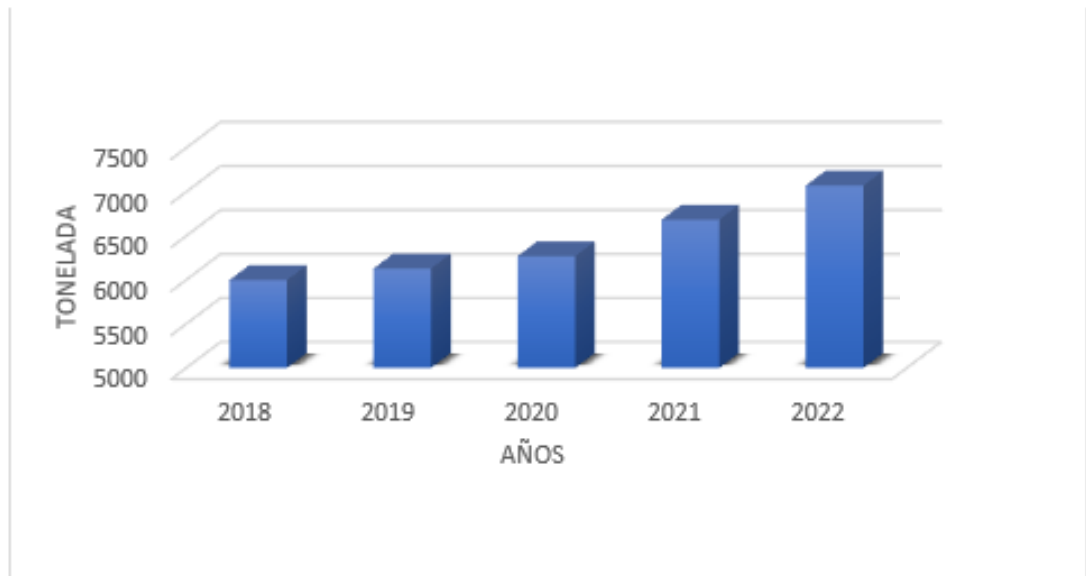
La ostricultura, rama de la acuicultura especializada en la producción de ostras, empieza desde la obtención de las larvas hasta cumplir con el tamaño comercial. Las técnicas se encuentran en desarrollo contante en muchas partes del mundo como una actividad en tendencia que promueve producción y empleo (FAO, 2024). Actualmente el engorde del ostión se realiza en diferentes sistemas de cultivo como la línea de suspensión, en fondo, en costales sobre estantes y camas flotantes y se las colocan en las costas cercanas (FAO, 2009). En Ecuador todas las semillas provienen de laboratorios y estas siguen una secuencia que empieza desde la inducción al desove, fertilización, cultivo larvario, fraguado y metamorfosis, obtención de semillas y pre-engorde de postlarvas (Villon, 2023).

6.1.1 Producción de *Crassostrea gigas* a nivel mundial.

La FAO (2024), señaló que la producción a nivel mundial ha tenido un crecimiento contante durante los últimos años, donde en el año 2018 registraron una producción mundial de 5 998 mil toneladas, para el siguiente año 2019 tuvo un mayor incremento del 2.18% con 6 129 mil toneladas producidas en ese año, durante el año 2020 tuvo un aumento del 2.30% con un total de 6 270 mil toneladas, para el año 2021 se registró a 6 685 mil toneladas y en el año 2022, hubo un incremento del 5.79%, registrándose uno de los mayores aumentos de producción a nivel mundial.

El aumento de esta producción atribuye tanto a la seguridad alimentaria, como a la economía de varios países, siendo encabezado por China que registra mayor cantidad

producida, seguido por otros países asiáticos como Corea y Japón (FAO, 2023; Ruesink et al., 2005).



Gráfica 1: Producción de acuicultura global del 2018 – 2020.

Fuente: FAO, 2024

6.1.2 Rentabilidad de la producción ostrícola.

La producción de ostras lleva varias fases, donde dependiendo la etapa de cultivo se puede clasificar los gastos, ya que la tecnología usada es diferente. Durante las primeras etapas donde se crían las larvas, estas son producidas en un laboratorio donde demanda de infraestructura apropiada como por ejemplo dentro de los materiales necesarios para su cultivo se encuentran los tanques, filtradoras de agua, sistema de circulación, equipos que permitan la observación de cultivo de su desarrollo y equipos de medición

para mantener parámetros controlados que permitan un buen crecimiento (Rodríguez, 2024).

La estimación inicial de inversión para la fase de producción inicial fue de cerca de USD 2 600 000 (Cisneros, 2017). La elaboración de semillas de ostras consta de diversas fases, que inicia con el desove, continuando con el cultivo de las larvas, el fraguado y, por último, el desarrollo de las semillas. Durante todo el proceso, se hace uso de microalgas que es su alimentación base, y son producidas en el laboratorio. Durante el cultivo de microalgas, el laboratorio también conlleva gastos; por ejemplo, cultivar 50 litros de microalgas en *carboys* se estima un gasto aproximado de USD 30 (Rodríguez, 2024).

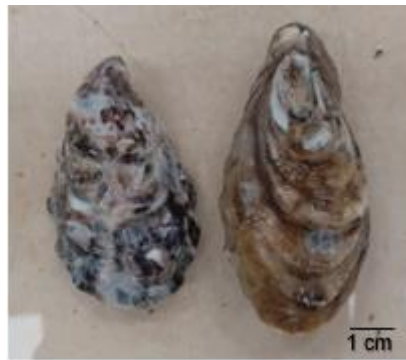
Para el cultivo de engorde de *Crassostrea gigas*, generalmente es elevada la inversión inicial debido a la demanda de infraestructura y equipo, sumado al gasto vinculado a la actividad laboral en las tareas de siembra, vigilancia y conservación. Treviño (2018), en su estudio acerca de los avances en el cultivo de la ostra del Pacífico (*Crassostrea gigas*) en Bahía de Caráquez, en la provincia de Manabí, indicó que el capital invertido se recupera durante la primera cosecha, logrando una rentabilidad del 54,77%. Además, se reportó un valor actual neto (VAN) de \$29 031.23, una tasa interna de retorno (TIR) del 147,25% y un índice beneficio-costo (B/C) de \$1.98. (Treviño, 2018).

6.2 *Crassostrea gigas*.

Crassostrea gigas, o también conocida como la ostra del Pacífico, es una especie de molusco bivalvo que ha tenido un reconocimiento de manera significativa en las

últimas décadas debido al su alto valor comercial, y la capacidad de adaptación a condiciones ambientales. (FAO, 2024).

Son originarias de las costas asiáticas, específicamente del noroeste del Pacífico, y han sido introducidas en diversas regiones del mundo como Belice, Costa Rica, Puerto Rico, las Islas Virgen, Ecuador, entre otros y esto es debido a su gran capacidad de adaptación a una amplia gama de condiciones ambientales (Helm, 2009). Toleran variaciones significativas en la salinidad, en un rango de 15 a 35 ups, y pueden sobrevivir en temperaturas de agua que van desde los 5°C hasta los 35°C. Además, su rápido desarrollo en comparación con otras especies de bivalvos, junto con una alta tasa de reproducción (liberando millones de gametos durante el desove), las convierte en una opción atractiva para su cultivo como alternativa para mejorar los ingresos económicos de las zonas costeras (CENDEPESCA, 2004).



Gráfica 2: *Crassostrea gigas* (ostra del Pacífico).

6.2.1 Características biológicas.

La ostra del Pacífico habita en ambientes estuarinos y prefiere establecerse sobre superficies sólidas en el fondo marino, como rocas, fragmentos de conchas, entre otros materiales en el lecho marino. A pesar de que su principal hábitat son los terrenos firmes, también puede hallarse en terrenos arenosos y lodosos. Aunque su rango salino óptimo es de entre 20 y 25 ups esta especie puede subsistir en concentraciones salinas menores a 10 ups, así como en condiciones de salinidad superiores a 35 ups, aunque es poco probable que crezca en estas condiciones (FAO, 2009).

Presenta hermafroditismo protandro, lo que indica que se desarrolle inicialmente como macho. En zonas con gran cantidad de alimentos, las comunidades de ostras maduras suelen presentar una proporción superior de hembras, en cambio, en zonas con escasez de recursos, la proporción suele ser usualmente masculina. Circunstancias como la escasez de alimento, o en condiciones de hacinamiento, donde las ostras hembras pueden cambiar su sexo a machos (FAO, 2009).

La gametogénesis comienza aproximadamente a los 10 °C y en salinidades de 15 a 32 ups, y a menudo se completa en salinidades superiores. El desove de esta especie ocurre cuando las temperaturas del agua superan los 20 °C, siendo poco frecuente en rangos de 15 a 18 °C. La tasa de fecundación de esta especie es muy grande, ya que las hembras de entre 8cm a 15 cm de largo pueden llegar a producir aproximadamente entre 50 a 200 millones de huevos en un solo desove. Esto puede suceder entre dos y tres semanas, en función de elementos físicos como la temperatura del agua, la salinidad y la presencia de alimentos; durante este lapso de tiempo, son dispersados en una amplia área arrastradas por las corrientes marinas. Como en otras especies de bivalvos, las

larvas maduras de la ostra del Pacífico se fijan de forma permanentemente al sustrato elegido esto lo realiza gracias a que las glándulas del pie generan una secreción de cemento que permite mantenerla adherida. Una vez asentados, las larvas pasan a ser ostiones juveniles. El índice de crecimiento es rápido en buenas condiciones, y alcanzan el tamaño comercial entre 18 y 30 meses (FAO, 2009).

6.2.2 Ubicación taxonómica de la Ostra del Pacífico (Thunberg, 1793).

Reino: Animalia

Phylum: Mollusca

Clase: Bivalvia

Orden: Ostreoida

Familia: Ostreidae

Genero: Crassostrea

Especie: Gigas

Nombre científico: *Crassostrea gigas*

Nombre comun Ostra del Pacifico

6.2.3 Descripción de la especie.

La ostra del Pacífico, presenta una morfología asimétrica, está protegido externamente por una concha compuesta por dos valvas hechas principalmente de carbonato de

calcio. La valva superior o derecha es ligeramente plana, mientras que la valva inferior o izquierda exhibe una ligera curvatura cóncava (Valenzuela, 2004).

Su anatomía interna incluye un manto carnosos de color blanco, branquias que permiten la respiración y la extracción de nutrientes del agua, gónadas donde se encuentran los gametos para la reproducción, y un músculo abductor utilizado para abrir y cerrar las valvas. En su entorno natural, estas ostras se adhieren al sustrato y presentan valvas con charnela, carentes de dientes, con bordes irregulares, finos y frágiles (CENAIM, 2008).

Las ostras poseen un umbo prolongado y generalmente enrollado en la valva izquierda, ya que esta es una de las características distintivas de esta especie. La coloración externa de la valva es blanca con líneas marrones, y en ocasiones con tono gris verdosa y matices azules (Valenzuela, 2004).

6.3 Ciclo de vida.

La reproducción de *Crassostrea giga* es dioica, lo que significa que los sexos están separados. Durante el proceso de reproducción, el macho libera su esperma y la hembra sus óvulos, lo que resulta en una fecundación externa. En este proceso, los espermias fecundan los óvulos en el entorno acuático circundante (Chávez-Villalba, 2003).

Los adultos pueden cambiar de sexo con el tiempo con un primer ciclo reproductivo como machos. En el comienzo del invierno la gametogénesis se reduce, pero aumenta al final de esta temporada. El desarrollo de las células germinales se intensifica en primavera y alcanza la madurez sexual al inicio del verano (Dheilly, 2012)

La gametogénesis en las ostras, al igual que otras funciones biológicas, está intrínsecamente ligada a las variaciones en las condiciones del entorno, tanto bióticas como abióticas. Factores como la disponibilidad de alimento, la temperatura, la concentración de oxígeno y la salinidad desempeñan un papel crucial en este proceso. La gametogénesis, al igual que otras funciones biológicas de la ostra, está directamente relacionada con cambios en las condiciones bióticas y abióticas. (Chávez-Villalba, 2003).

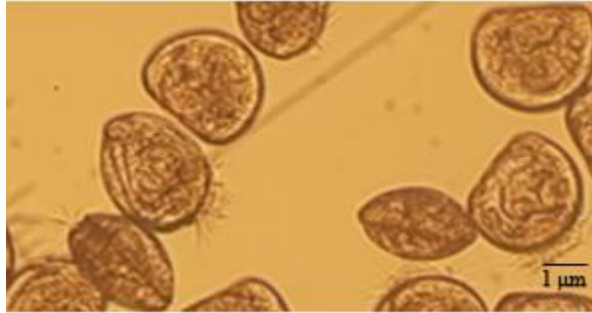
Crassostrea gigas se reproduce ovíparamente, liberando una gran cantidad de ovocitos pequeños (<50 µm) en el medio. Este procedimiento señala una táctica planctotrófica, en la que la fertilización y el crecimiento larvario tienen lugar en el entorno plancton. Como resultado, las larvas tienen una alta demanda de alimento que está directamente relacionada con la disponibilidad de plancton en el entorno (Díaz, 2009).

Una vez que ocurre la fecundación del ovocito, este pasa por las fases multicelulares de blástula y gástrula hasta convertirse en una trocófora con motilidad. La embriogénesis depende en gran medida de las reservas de nutrientes aportadas por los progenitores. Las reservas del ovocito almacenadas son catabolizadas en esta etapa hasta la larva D (24 h post-fertilización) y hasta que la larva pasa a la etapa de alimentación exógena, lo que ocurre aproximadamente al día 6 post fertilización (Berthelin, 2000).

6.3.1 Larva D o Prodisoconcha (D velíger).

La larva D es el primer estadio larval y se la puede identificar por la forma característica de su caparazón, también conocido como prodisoconcha, que adopta una silueta en forma de “D”. El tamaño de la prodisoconcha en esta fase puede llegar a tener un

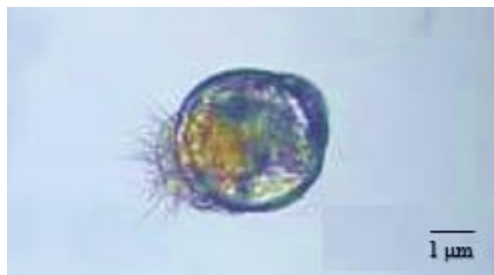
tamaño de 60 μm y 80 μm y su función es proteger al organismo en desarrollo mientras comienza a formar los primeros indicios de una concha bivalva (FAO, 2022).



Gráfica 3: Primer estadio larvario, larvas D de *Crassostrea gigas*

6.3.2 Larva velíger.

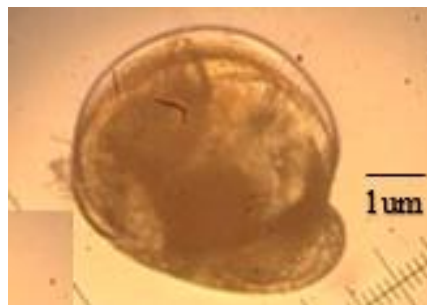
Esta fase larvaria es la que sigue después de larvas D, en donde se la puede reconocer por la formación del velo el cual tiene una gran importancia ya que esta membrana ciliada le permite capturar partículas microscópicas de fitoplancton, la cual constituye como su principal fuente de alimento durante esta etapa, también mediante vibraciones de los cilios se mantiene suspendida en la columna de agua, esta fase larvaria puede durar unos cuantos días dependiendo de las condiciones ambientales como temperatura y disponibilidad de alimento (FAO, 2022).



Gráfica 4: Segundo estadio larvario-larvas veliger.

6.3.3 Larva umbonada.

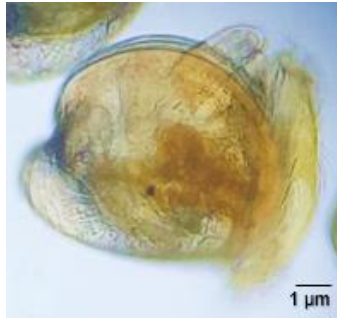
La forma de la prodisoconcha cambia con el desarrollo de las larvas con la aparición de una extensión en forma de gancho que corresponde al umbo, esta protuberancia marca el inicio de una concha más robusta y bien formada, que protegerá al organismo en las fases adultas, y aunque aún posee el velo y continúa alimentándose su capacidad de natación disminuye (FAO, 2022).



Gráfica5: Tercer estadio larvario-larvas umbonada.

6.3.4 Larvas pediveliger.

Cuando las larvas alcanzan un tamaño de 250-280 μm , comienza a formarse un cuerpo sensorial visible como un punto oscuro, ubicado a cada lado entre la glándula digestiva y las valvas. Esto indica que han iniciado o están a punto de iniciar la búsqueda de un sustrato para asentarse, como preparación para el fraguado (a veces también denominado adhesión o agarre). Posteriormente, la secreción de disoconcha comienza y la aparición del pie que permite asentarse al sustrato. Así, las larvas de un tamaño mayor a 280 μm ya están preparadas morfológica y fisiológicamente para iniciar la metamorfosis (FAO, 2022).



Gráfica 6: Cuarto estadio larvario-larvas pediveliger.

6.3.5 Fraguado.

El fraguado es un fenómeno que marca la etapa inicial de la metamorfosis en las larvas. Durante esta fase, las larvas se adhieren al sustrato, lo que les permite convertirse en organismos sésiles. Al fijarse, comienzan a desarrollar su concha, lo que las lleva a una etapa conocida como semilla. Varios factores influyen en el asentamiento en esta fase, incluyendo el tipo de sustrato y aspectos físicos, químicos y biológicos. Estos factores son cruciales, ya que pueden facilitar un asentamiento rápido o, por el contrario, retrasar el proceso si no se cumplen las condiciones adecuadas (Helm, 2006).

6.3.6 Metamorfosis.

La metamorfosis es una etapa crítica del desarrollo larvario donde suceden considerables cambios anatómicos hacia la forma juvenil y pueden presentarse grandes mortalidades. La supervivencia en esta etapa depende de una serie de factores, entre ellos, la disponibilidad de reservas energéticas acumuladas durante la fase larvaria

(Helm, 2006). Durante la metamorfosis, se producen cambios morfológicos que incluyen la reorientación de las estructuras internas para aumentar la complejidad de los sistemas de órganos así mismo se forma la disoconcha o concha adulta. Otros cambios que presenta durante ese proceso es la pérdida del pie, la eliminación del velo y aparición de branquias ciliadas, que también les ayuda en la nutrición de las postlarvas (Chávez, 2014).

6.3.7 Importancia del cultivo de ostras

La extracción de ostra ha sido una práctica que se realiza hace años, lo que conlleva una explotación de las especies nativas causando impactos ecológicos graves. Debido a esto se ha realizado alternativas con la finalidad de mitigar esa sobreexplotación sin tener que afectar a los pescadores (otarola, 2018).

La producción de ostrícola puede causar una disminución de la explotación de ostras nativas, evitando que haya problemas o exista un desbalance natural por escasas de esta especie y asegurando que la economía de los pescadores no se vea afectada (otarola, 2018).

6.4 Importancia de las microalgas en el cultivo de larvas de *Crassostrea gigas*.

Las microalgas son entidades autótrofas las cuales tienen un rol importante tanto en términos ecológicos como económicos y es una de las fuentes más importantes del alimento de las larvas de ostra ya que contienen un alto valor nutricional, y su producción es relativamente sencillo, lo que permite una producción tanto a pequeña como a grandes escalas con fines comerciales (Pei, 2019). Adicionalmente según el centro de desarrollo de la pesca y acuicultura (CENDEPESCA) para el año 2009 las concentraciones óptimas de alimentación han sido reportadas según la siguiente tabla 1:

Tabla 1: Concentraciones optimas en Células/ml calculado en cultivo de 5 larvas/ml. (CENDEPESCA, 2009).

Días de cultivo	<i>Dieta control</i>	<i>Dieta mixta 1</i>		<i>Dieta mixta 2</i>	
	<i>I. galbana</i>	<i>I. galbana</i>	<i>T. chui</i>	<i>I. galbana</i>	<i>T. weissflogii</i>
3-6	10,000	5,000	5,000	5,000	5,000
7-9	15,000	7,500	7,500	7,500	7,500
12-15	50,000	25,000	25,000	25,000	25,000
16-24	95,000	47,500	47,500	47,500	47,500

6.4.1 Dieta monoespecífica.

La implementación de Dietas monoespecíficas en la nutrición de las larvas de ostras, se podría decir que este método requiere el uso de una sola especie de microalga, lo que facilita la personalización de la alimentación a las demandas nutricionales particulares de las larvas. De acuerdo con Rikard y Walton (2017), esto simplifica la administración de la calidad y el volumen de alimento, lo que facilita tanto la gestión como la logística del cultivo. Al entender el perfil nutricional de una especie, se pueden cubrir con mayor eficiencia las demandas nutricionales de las larvas.

6.4.2 Dieta de algas.

Cada clase de microalga posee un perfil nutricional distintivo que, a pesar de que estos componentes son reconocidos por su relevancia, por ejemplo, ciertas microalgas sobresalen por su elevado contenido de ácidos grasos omega-3, vitales para el

crecimiento celular y la salud de las larvas de ostras, mientras que otras pueden ser más abundantes en proteínas, carbohidratos o compuestos bioactivos como los carotenoides, que poseen características antioxidantes. (Valera, 2016)

Debido a esas diferencias de nutrientes que proporcionan las microalgas se puede proporcionar un mejor balance en su nutrición lo que garantiza que promueva un crecimiento rápido y eficiente de las larvas además de brindarle una mayor resistencia a condiciones naturales lo que mejora su tasa de supervivencia (Murillo, 2018).

6.4.3 *Isochrysis galbana* (Parke, 1949).

Es una especie de haptophyta marina la cual tiene un tamaño pequeño, que oscilando entre 3 y 5 micrómetros con una estructura cubierta únicamente por escamas orgánicas y su forma es ovalada y ligeramente alargada, con simetría bilateral. Es reconocida en la acuicultura, gracias a su alto contenido de proteínas y lípidos, también por su capacidad para sintetizar y almacenar ácidos grasos poliinsaturados, como el Ácido araquidónico (ARA), Ácido eicosapentaenoico (EPA) y Ácido docosahexaenoico (DHA) (Luna, 2023).

Esta microalga es ampliamente utilizada como alimento vivo para las etapas larvales de moluscos bivalvos y otras especies, lo que la convierte en un recurso valioso en la industria acuícola (Luna, 2023).

Tabla 2: Composición nutricional de la microalga *Isochrysis galbana*. Fuente: Pérez, 2019

Contenido	Porcentaje
Proteína	29 %
Carbohidratos	12 - 25%
Lípidos	23%
% EPA	10%
% DHA	1 - 2%
% ARA	0,8%
% ALA	10 - 15%

6.4.4 *Tetraselmis chui* (Butcher,1959).

Es una Chlorophyta, microalga marina unicelular, que se caracteriza por su forma ovoide y presenta cuatro flagelos, lo que le permite moverse en la columna de agua, perteneciente a la clase Prasinophyceae. Tiene una estructura celular más flexible y carece de la frústula de sílice que caracteriza a las diatomeas. su tamaño oscila entre 8 y 14 micrómetros y es una de las especies más importante y usadas como alimento vivo en especial durante los cultivos larvarios ya que es una especie de rápido crecimiento, que contiene adecuados porcentajes de carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos grasos que resulta de suma importancia para los organismos (Acharjee, 2024).

Tabla 3: Composición nutricional de la microalga *Tetraselmis chui*. Fuente: Árabe, 2024.

Contenido	Porcentaje
Proteína	40%
Carbohidrato	20-30%
Lípidos	10-20%
% EPA	1-4%
% DHA	0%
% ARA	1%
% ALA	10-15%

6.4.5 *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) G.A. Fryxell & Hasle 1977.

Es una microalga diatomea que tiene un diámetro que oscila entre 5 a 32 micrómetros, y posee una forma cilíndrica, con frústulas silíceas (membranas celulares impregnadas de sílice), que presenta un patrón de poros organizados. Es utilizada en la acuicultura, ya que cuenta con un gran valor nutricional en especial ácidos grasos omega-3, así como también presenta una gran importancia para estudios ambientales ya que tiene una buena capacidad de adaptación (Encinas, 2023).

Tabla 4: Composición nutricional de la microalga *Thalassiosira weissflogii*.

Fuente: Suarez-Vásquez, 2013.

<i>Contenido</i>	<i>Porcentaje</i>
Proteína	42,5 %
Carbohidrato	16%
Lípidos	7%
% EPA	15%
% DHA	0%
% ARA	1%
% ALA	0,5 – 1,5%

7 METODOLOGÍA

7.1 Área de estudio.

El siguiente estudio se realizó en la provincia de Santa Elena en la parroquia Chanduy en la comuna el Real, Laboratorio de Semillas de Ostras de Prefectura, en las coordenadas $2^{\circ}23'18.4''$ S $80^{\circ}43'14.4''$ O (Gráfica 7).

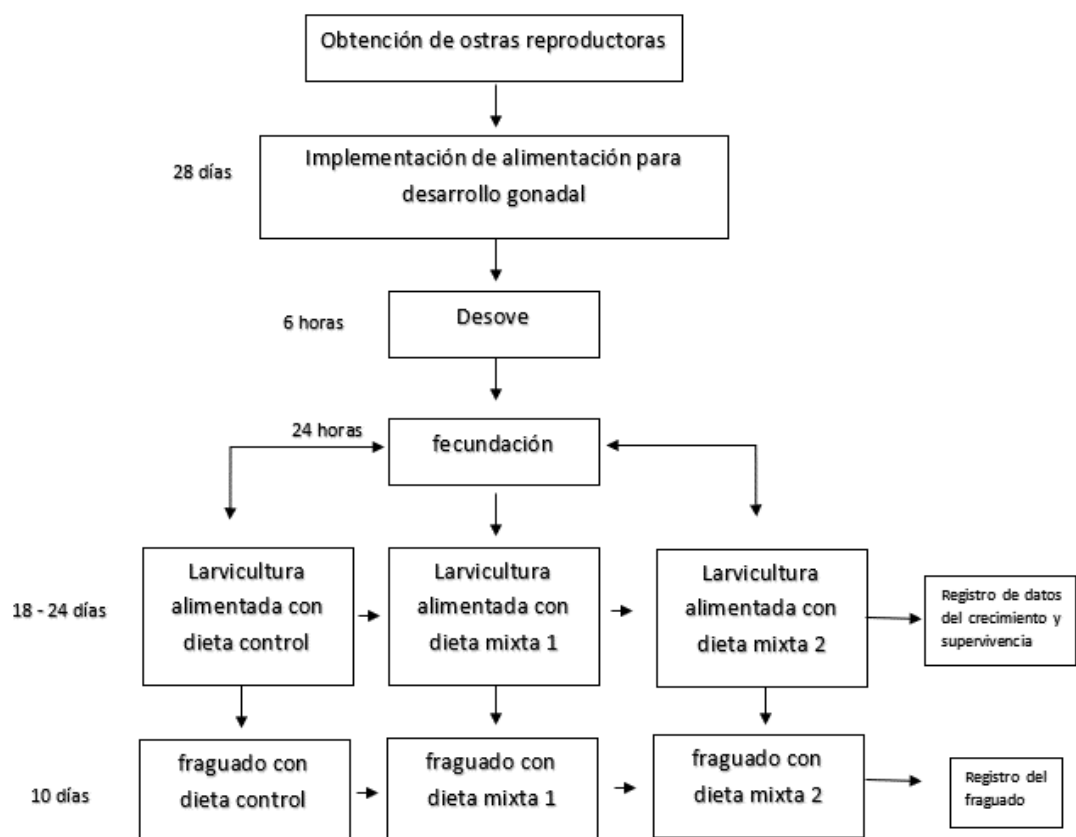


Gráfica 7. Localización del laboratorio de Ostras. Prefectura de Santa Elena

Ubicado en la comuna El Real-Chanduy.

7.2 Diseño experimental.

El cultivo larvario de *Crassostrea gigas* se desarrolló bajo condiciones controladas con una temperatura de 28 a 31 °C, salinidad de 33 ups, y oxígeno disuelto de > 5 mg/L, se establecieron una Dieta control y dos tratamientos, con una densidad de larvas de un millón de larvas en cada uno de los tanques de una tonelada. Se puede sembrar hasta 5 larvas/ml sin generar problemas significativos relacionados con el desarrollo o la competencia por recursos debido a una alta carga larval (CENDEPESCA, 2004). Para ello, realizaron diversos procesos previos a la experimentación (Gráfica 8).



Gráfica 8. Etapas experimentales y tiempos estimados de manejo experimental de *Crassostrea gigas*.

7.3 Obtención de reproductores.

Los reproductores fueron obtenidos de los cultivos de ostras en la comuna de Chanduy. Se seleccionaron 30 ejemplares que, con extremo cuidado, se acomodaron en un balde y se trasladaron hacia la orilla. Allí, utilizando cepillos de cerdas semiduras, se removieron residuos de la fauna marina, tales como algas, depredadores y otras ostras adheridas.

Las ostras se acomodaron cuidadosamente en una hielera de espuma Flex con esponjas húmedas y bolsas de hielo en los extremos con la finalidad de evitar golpes y mantenerlo a una temperatura de 20°C y reducir el estrés de los organismos. Al llegar al laboratorio, se realizó una limpieza adicional donde se colocaron en tanques con agua dulce, para que realicen la depuración eliminando impurezas, y liberarse de posibles competidores.

7.3.1 Desarrollo gonadal.

Previo a la limpieza de los reproductores, se colocaron en dos gavetas plásticas multiusos (@PRISMART) 30 organismos distribuidos 15 individuos en cada gaveta. Estas gavetas se suspendieron en el tanque aproximadamente treinta a cincuenta centímetros debajo de la superficie en un tanque de 5 toneladas, el cual se llenó hasta alcanzar las 3 toneladas de agua de mar previamente tratadas.

Los reproductores se mantuvieron en este ambiente durante 1 mes y se alimentaron con *Chaetoceros neogracilis* (VanLand., 1968).

Según (Pérez, 2022), se ha observado que una alta alimentación de *Chaetoceros neogracilis* con una concentración de 1,8 millones de células/ml favorece un buen desarrollo gonadal en las ostras, lo cual es beneficioso para el momento del desove.

7.3.2 Desove y fecundación.

Nuevamente, se realizó una limpieza de las ostras reproductores con la finalidad de retirar residuos de microalgas que se encuentren adheridas a las valvas, luego se procedió a colocarlas en gavetas cónicas cerradas de 18 cm de alto, con un volumen de agua salada tratada de 15 litro en donde se usó el método de choque térmico donde las ostras pasaron de 24 °C a 31 °C. Durante las primeras horas, las ostras pasaron por un proceso de depuración y después al desove.

El material recolectado se incubó en tanques de 1 tonelada con agua de mar filtrada a 1 µm a una temperatura de 31 °C, y se esperó alrededor de 23 a 24 horas hasta que se desarrolló a larva D (Pérez, 2022).

7.4 Implementos técnicos utilizados en las larvas de *Crassostrea gigas*.

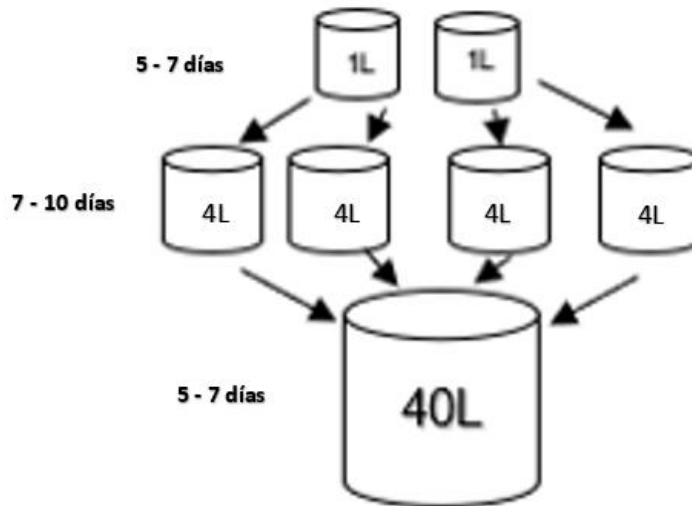
Se emplearon tres tanques de una tonelada, cada uno equipado con válvula para facilitar la extracción de larvas y el recambio de agua. En cada tanque se introdujo un millón de larvas, junto con mangueras de oxígeno ubicadas en el fondo y en el centro del tanque. En el laboratorio se utilizaron tamices de 60, 80, 100, 150 y 200 micras, además de gavetas, filtros de agua de 1 y 50 micras. Para las observaciones se emplearon dos microscopios: un microscopio óptico binocular y un estereomicroscopio Marca Boeco, vidrio reloj, pipeta y porta objeto. Para el proceso de fijación, se utilizaron tanques rectangulares de fibra de vidrio con una capacidad de tres toneladas.

7.5 Cultivo de microalgas.

El agua de mar que se usó para el cultivo de microalgas siguió una serie de pasos donde se usó filtros de 20 a 50 μm para la eliminación de las partículas grandes, luego se volvió a realizar la filtración, con membranas más finas de 1 a 5 μm y así eliminar microorganismos, zooplancton entre otros (FAO, 2006).

Luego el agua se trató con hipoclorito de sodio y se lo dejó reposar por un día para proceder a usar esterilización UV y eliminar patógenos; por último, se utilizó la autoclave por 20 min a una temperatura de 70 – 80 °C y se dejó reposar por un día (FAO, 2006).

Los parámetros y el medio de cultivo empleado para las tres especies de microalgas (*Isochrysis galbana*, *Tetraselmis chui* y *Thalassiosira weissflogii*), fue el Guillard's F/2 (Anexo 11). Empleando los siguientes parámetros: Temperatura de 24 °C, salinidad de 33 ups, aireación constante, e iluminación de 65 a 80 W (FAO, 2006). El cultivo se llevó por separado y para su replicación se utilizaron tubos de ensayo de 25 ml, matraces de 250 ml a 4 litros y carboys de 40 litros (Gráfica 9).

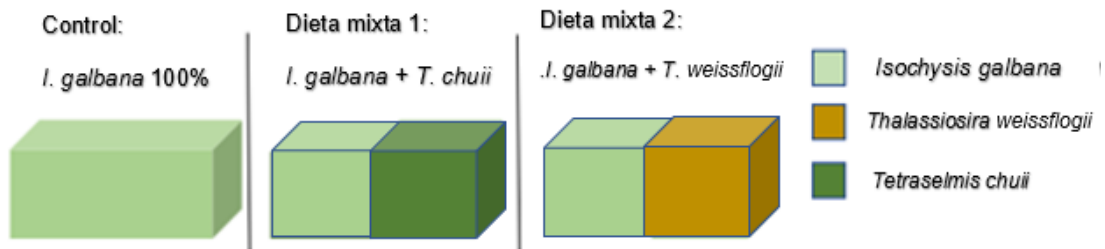


Gráfica 9. Esquema de cultivo de las microalgas

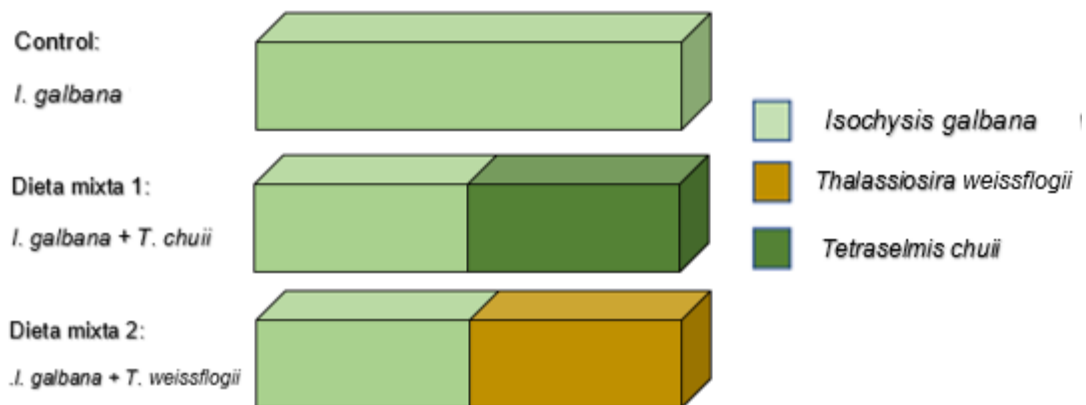
7.5.1. Suministro de Dietas líquidas para el cultivo larvario y fraguado.

La alimentación de las larvas se realizó diariamente. Para la Dieta control, se alimentó a las larvas exclusivamente con *Isochrysis galbana*. Para la Dieta 1, se proporcionó una mezcla en relación 1:1 de *Isochrysis galbana* y *Tetraselmis chui*. En la segunda Dieta, se administró una mezcla 1:1 en volumen celular de *Isochrysis galbana* y *Thalassiosira weissflogii*.

Se tomaron datos del crecimiento de las larvas cada 3 días, registrando la velocidad de aumento de tamaño en relación con la alimentación suministrada y se monitoreó su tasa de supervivencia (Gráfica 10). Al final de su desarrollo larval, se recolectaron datos sobre la tasa de fraguado en función de la Dieta proporcionada (Gráfica 11).



Gráfica 10. Suministro de las microalgas en cada una de las réplicas durante el cultivo larvario.



Gráfica 11. Suministro de las microalgas durante la fijación o fraguado.

7.5.2 Mantenimiento de las larvas.

El mantenimiento de las larvas se llevó a cabo diariamente para prevenir la acumulación de restos de microalgas y desechos de las larvas. A lo largo del desarrollo larval, se registraron los datos de velocidad de crecimiento y tasa de supervivencia cada

tres días. En cuanto a la tasa de fraguado, se realizó las mediciones diez días después de que las larvas se asentaron en el sustrato.

7.5.3 Velocidad de crecimiento de las larvas de *Crassostrea gigas*.

Para el muestreo de la velocidad de crecimiento de las larvas, se empleó la metodología de (Sakamoto, 1997) se muestreó periódicamente de forma aleatoria para obtener muestras de 30 larvas en cada punto de muestreo. Este procedimiento se llevó a cabo cada 3 días a lo largo del experimento para monitorear el crecimiento larval. Para las mediciones, se utilizó un microscopio óptico binocular Marca Boeco, equipado con una regla graduada en el ocular, lo que permitió medir con precisión la longitud de las larvas desde el umbo hasta el margen opuesto de la concha.

Con base en el crecimiento observado durante los días de muestreo, se utilizó la siguiente fórmula para determinar la velocidad de crecimiento de las larvas:

$$\text{Velocidad de Crecimiento } (\mu\text{m/día}) = \frac{L_t - L_0}{t}$$

donde:

L_t : es el tamaño de la larva en el día de muestreo

L_0 : es el tamaño inicial medido al inicio del experimento

t : es el tiempo en días transcurrido entre ambos puntos de medición.

7.5.4 Supervivencia de larvas de *Crassostrea gigas*.

Para monitorear la supervivencia de las larvas, se realizó un muestreo aleatorio cada 3 días utilizando un estereomicroscopio Marca Boeco con una amplificación total de 50x. Para llevar a cabo el conteo, se siguieron los siguientes pasos:

Se utilizaron los tamices 60, 80, 100, 150 y 200 micras para la recolección y limpieza de las larvas.

Las larvas se concentraron en un contenedor de 5 litros. Se tomó una muestra de 10 ml, a la cual se añadió una gota de Lugol para inmovilizar la actividad larval. Se extrajo una submuestra de 1 ml de la muestra principal y, utilizando una cámara Sedgwick-Rafter de 1mL/1L, se llevó a cabo el conteo de las larvas para determinar la cantidad por cada larva (Vivanco, 2014).

Para calcular la tasa de supervivencia se realizó la siguiente formula (Murillo, 2018).

Tasa de Supervivencia.

$$\text{Tasa de Supervivencia (\%)} = \frac{N_f}{N_i} \times 100$$

donde:

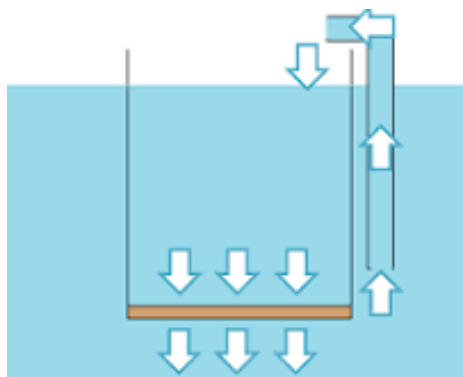
Nf = número final de larvas que sobrevivieron al final del período de estudio.

Ni= número inicial de larvas al comienzo del período de estudio.

7.5.5 Tasa de fraguado.

Para llevar a cabo el fraguado, se esperó a que las larvas presentaran cambios morfológicos, como la retracción del velum, el desarrollo de un pie o glándula adhesiva, y una disminución en su movimiento (CENAIM, 2008)

Para la preparación del sustrato, se utilizaron conchas molidas que fueron filtradas con tamices de 200 μm y esterilizadas para eliminar cualquier microorganismo. Una vez completado este proceso, se colocaron 400 gramos de sustrato, distribuyéndolo uniformemente en los tamices de 200 μm (CENDEPESCA, 2004). Posteriormente, se instaló una manguera de aireación a través del tubo de entrada de agua, generando un flujo descendente en el interior del tamiz, conocido como Sistema *Down Welling* o Sistema de inundación (Gráfica 12).



Gráfica 12. Sistema *Down Welling* o Sistema de inundación

Fuente: (Hinzmann, 2018).

Según el Centro de Desarrollo de la Pesca y Acuicultura (CENDEPESCA) bajo estas condiciones, se pueden colocar hasta 700 000 larvas. Las larvas que pasan a la fase de

fijación se colocaron en los tamices con la dieta que se había utilizado durante su fase larvaria. Para las observaciones del crecimiento de las postlarvas fijadas, se emplearon mallas de 200, 300, 500 μm . Este sistema permitió limpiar y separar las postlarvas por tamaño, así como retirar las conchas que no se utilizaron para la fijación (CENDEPESCA, 2004). Se espero a que tuvieran un tamaño de entre 2,8 mm a 4,8 mm donde se realizó la estimación mediante el peso de la muestra realizado por Vázquez et al. (2007). Se contaron 200 organismos, se eliminó la humedad presente y se pesó la muestra, el procedimiento se repitió tres veces.

Se calculo la cantidad de individuo con la siguiente formula (Murillo, 2018):

$$C \text{ individuos} = \frac{M \text{ total} * C \text{ ind. muestra}}{M \text{ muestra}}$$

ind. muestra: Cantidad de individuos total

M total: Masa total de individuos(g)

M muestra: Masa de la muestra (g)

C individuos: Cantidad de individuos de la muestra

7.6 Método de análisis estadístico.

Para la organización de los datos que se obtuvieron durante la fase experimental de la Dieta control, Dieta 1 y Dieta 2, se registró una base de datos en Excel, las cuales fueron ordenadas en filas en el siguiente orden: Días de experimentación, tamaño en micras, y supervivencia de larvas.

Se determinó el tipo de distribución que presentó cada uno de las variables tras realizar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, y dependiendo de la distribución de los datos se usó la prueba estadística correspondiente según el cumplimiento de los supuestos requeridos.

Para datos no paramétricos se realizó el uso de la prueba estadística de Kruskal-Wallis para conocer las diferencias significativas entre los datos. Para los datos que presentaron una distribución normal, se usó la prueba de análisis de varianza (ANOVA).

7.6.1. Correlación de velocidad de crecimiento de las larvas de *Crassostrea gigas*.

Tras los datos obtenidos se realizó una prueba de normalidad, con la finalidad de conocer si los datos presentan una distribución normal, o si al contrario no presentan una distribución paramétrica.

Teniendo conocimiento sobre el tipo de distribución que se presentó se pudo llevar a cabo el uso de la correlación de Pearson para las pruebas paramétrica y, por el contrario, para los datos que presentaron una distribución no paramétrica o que no tienen una distribución normal, se hizo uso de la correlación de Spearman.

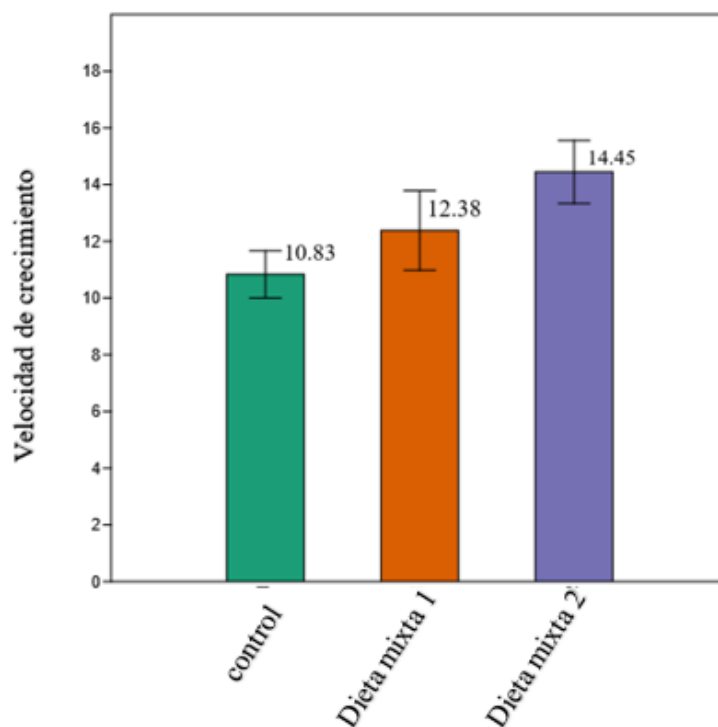
Se realizó el análisis estadísticos y gráficos con el *software* PAST v.4.

8. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

8.1 Eficiencia de las Dietas líquidas en larvas de *Crassostrea giga*

8.1.1 Comparación de la velocidad de crecimiento

El resultado que se obtuvo tras el análisis de varianza ANOVA de la velocidad de crecimiento ($\mu\text{m}/\text{día}$) dio un p valor de 0.1051 que es mayor al umbral de 0.05 (Anexo 13); por lo tanto, no presento diferencia significativa. Sin embargo, se pudo identificar ciertas tendencias las cuales permitieron comparar la velocidad de crecimiento (Gráfica 13). Para la Dieta control se observó una media de 10.83 ± 2.35 , para la Dieta 1 tuvo una media de 12.38 ± 3.71 y en la Dieta 2 presento una media de 14.45 ± 2.72 ; por lo tanto, la mezcla de *Isochrysis galbana* más *Thalassiosira weissflogii* mostró mayor media de velocidad de crecimiento.



Gráfica 13. Comparación de la tasa de supervivencia de larvas de *Crassostrea gigas* bajo diferentes Dietas

8.2 Correlación de la velocidad del crecimiento de las larvas de *Crassostrea giga* y las Dietas.

8.2.1 Prueba de Normalidad

Se realizó la Prueba de Normalidad entre la velocidad de crecimiento de las larvas y la concentración de microalgas de cada combinación de Dietas líquidas. Lo que demostró que los datos siguen una distribución normal para la velocidad de crecimiento (Anexo 14), en cuanto a las concentraciones de microalga (célula/ml) mostro datos no paramétrico (Anexo 15). Por lo tanto, se procedió a aplicar un análisis no paramétrico mediante el coeficiente de correlación de Spearman (Anexo 16).

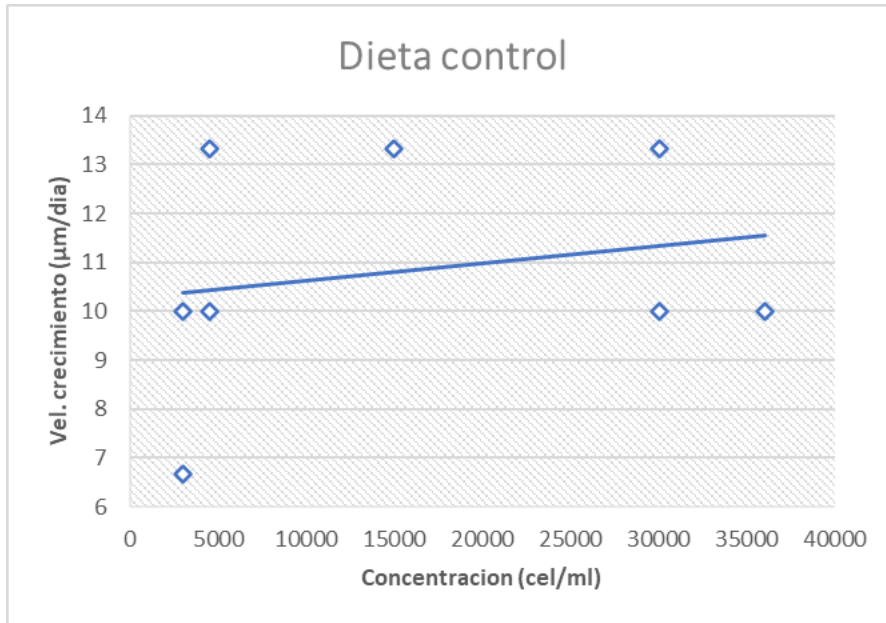
8.2.2 Correlación entre las variables de las diferentes velocidades de crecimiento.

Se realizó una correlación entre la tasa de crecimiento ($\mu\text{m}/\text{día}$) y las concentraciones de microalgas (células/ml) bajo tres dietas diferentes: Dieta Control (*Isochrysis galbana*), Dieta 1 (*Isochrysis galbana* + *Tetraselmis chui*), y Dieta 2 (*Isochrysis galbana* + *Thalassiosira weissflogii*).

La prueba de correlación realizada en la Dieta control (*Isochrysis galbana*) y la concentración celular dio como resultado un valor de significancia de 0,403 superior a 0.05, lo cual indicó que no existe una diferencia significativa y obtuvo un coeficiente de correlación de Spearman de 0.338, que sugirió una asociación positiva baja.

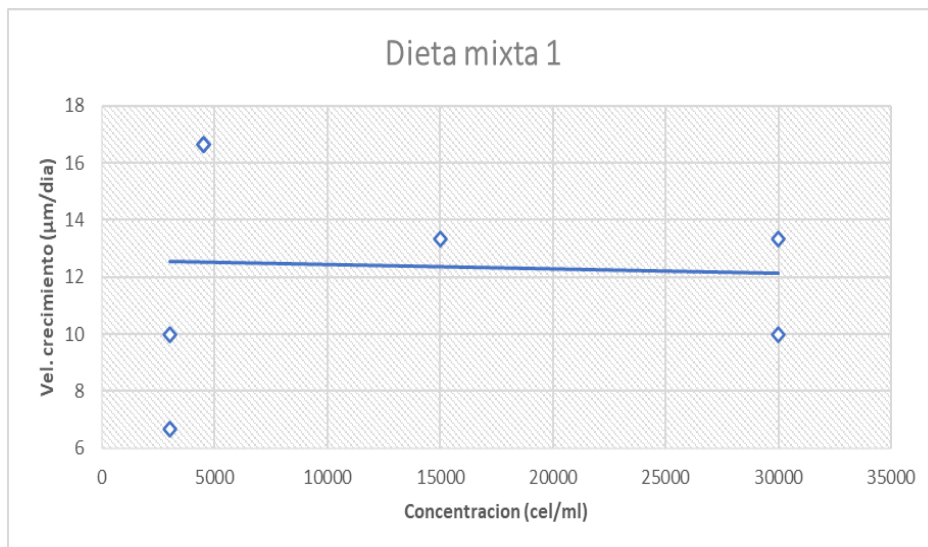
la Dieta 1 (*Isochrysis galbana* + *Tetraselmis chui*) con la concentración celular reporto un valor de significancia de 0.5603, mayor que 0.05, por lo tanto, no existe significancia y una $\rho = 0.254$, que es una asociación positiva baja; La correlación obtenida para la Dieta 2 (*Isochrysis galbana* + *Thalassiosira weissflogii*) presentó un valor de $p=0.1$, superior al umbral de 0.05, y un coeficiente de correlación ρ de 0.826. Esto indica una

correlación positiva alta, pero no lo suficientemente fuerte ni estadísticamente significativa.



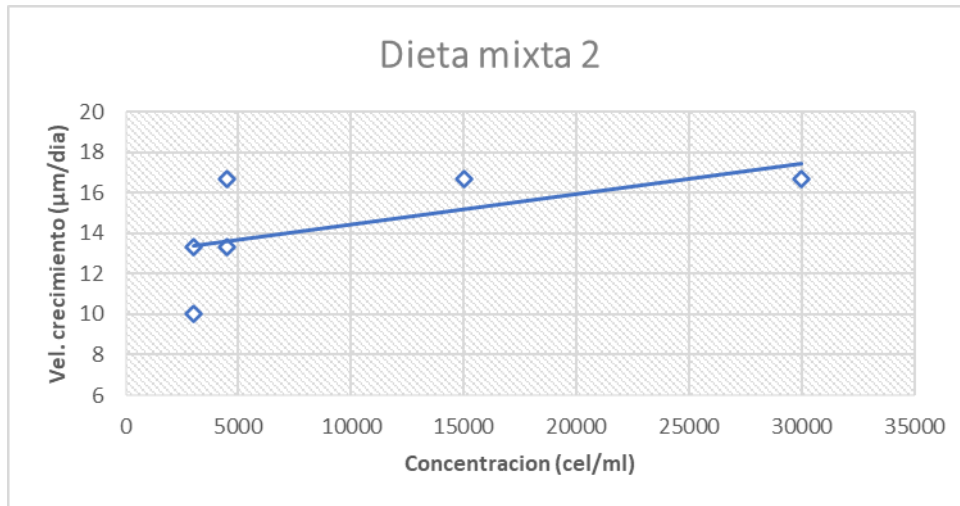
Coefficiente de Correlación de Pearson: 0.338.

(Dieta control)



Coefficiente de Correlación de Pearson: 0.254.

(Dieta 1)



Coefficiente de Correlación de Pearson: 0.826.

(Dieta 2)

Gráfica 14. Correlación entre la Velocidad de crecimiento de larvas y la concentración de las microalgas.

8.3 Tasa de supervivencia.

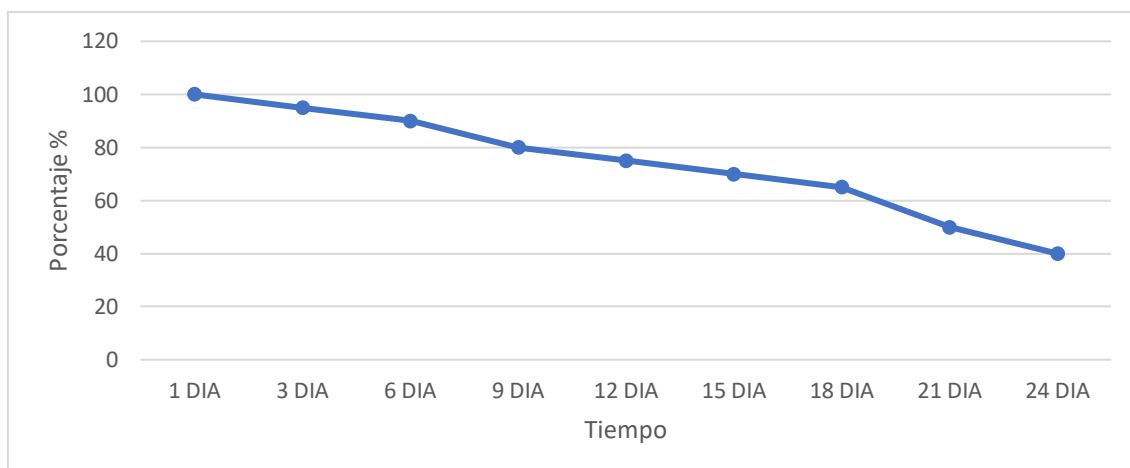
8.3.1 Tasa de Supervivencia con la Dieta control (*Isochrysis galbana*).

En la Gráfica 15 se pudo observar una disminución gradual de la tasa de supervivencia de las larvas de *Crassostrea gigas* a lo largo de los 24 días, momento en el cual las larvas desarrollaron el pie y estuvieron listas para la fijación.

Los datos obtenidos con la Dieta control, donde se usó únicamente *Isochrysis galbana*, reportaron una tendencia decreciente en la tasa de supervivencia de las larvas de *Crassostrea gigas*. En los primeros seis días, la reducción fue relativamente baja: se observa un descenso del 100% (1 000 000 larvas) al 90% (900 000 larvas). No obstante, a partir del noveno día, la supervivencia descendió notablemente.

Entre el día 18 y el 21, la caída en la tasa de supervivencia fue más pronunciada, reduciéndose de 65% a 50% con una cantidad de 500 000 larvas. No obstante, este patrón pudo estar asociado a cambios en las necesidades nutricionales de las larvas a medida que avanzan en su desarrollo, lo que indicó que una Dieta exclusiva de *Isochrysis galbana* podría no ser suficiente para mantener tasas de supervivencia más altas en las etapas más avanzadas del desarrollo larval.

La disminución continuó hasta el día 24 con una tasa de supervivencia del 40% (400 000 larvas) lo que reforzó la hipótesis de que la Dieta basada únicamente en *Isochrysis galbana* no proporciona todos los nutrientes necesarios para un desarrollo larval óptimo.



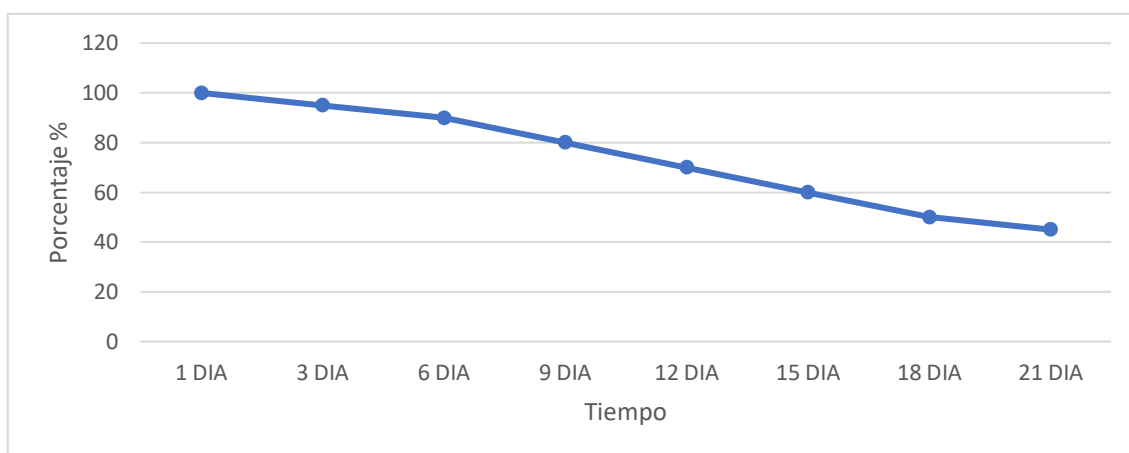
Gráfica 15. Tasa de supervivencia de larvas de *Crassostrea gigas* con la Dieta Control (*Isochrysis galbana*)

8.3.2 Tasa de supervivencia con Dieta 1 (*Isochrysis galbana* más *Tetraselmis chui*).

Durante la experimentación, la tasa de supervivencia larval mostró una disminución progresiva a lo largo del experimento, se empezó con un valor de 1 000 000 larvas que fue el 100% de la tasa de supervivencia en el primer día, durante el tercer día de muestreo se encontró una reducción de la población de larvas, alcanzando el 95%, durante las próximas observaciones se encontraron que este patrón descendente se mantuvo de forma consistente, reduciéndose en un 5-10% aproximadamente cada tres días, como se puede observar en la Gráfica 16.

A partir del día 6, se observó una mayor caída en la tasa de supervivencia, con un descenso del 10% en comparación con los valores iniciales. Para el día 15, la tasa de supervivencia se había reducido al 60%, y al final del experimento, el día 21, solo el 45% de la población inicial de larvas había sobrevivido.

Esta tendencia sugirió que la Dieta 1 (*Isochrysis galbana* más *Tetraselmis chui*) fue la más efectiva en la tasa de supervivencia, Además, es destacable que, en comparación con la Dieta anterior, las larvas alimentadas con esta mezcla de microalgas alcanzaron la fase de fraguado de manera más rápida, con 3 días de adelanto que la Dieta control. Esto podría indicar que la combinación de *Isochrysis galbana* más *Tetraselmis chui* proporcionó nutrientes o estímulos que aceleraron el desarrollo larval, y ayudó levemente en la supervivencia.

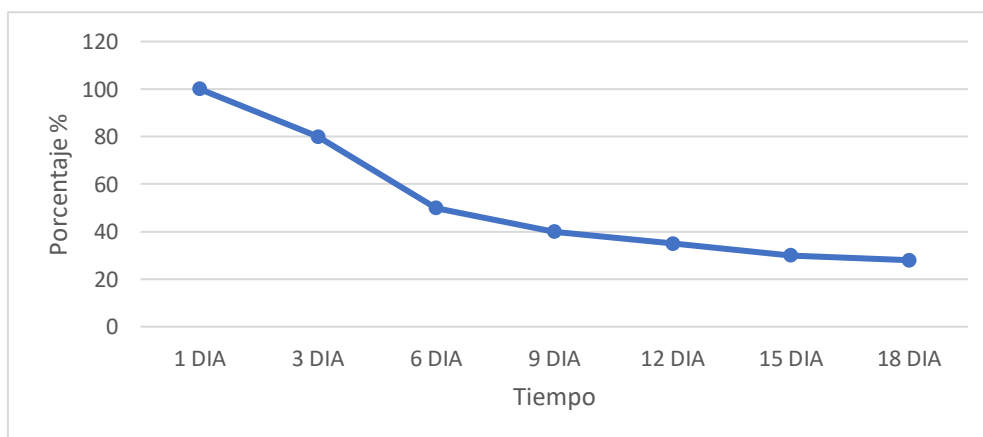


Gráfica 16. Tasa de supervivencia de *Crassostrea gigas* con la Dieta 1 (*Isochrysis galbana* más *Tetraselmis chui*).

8.3.3 Tasa de supervivencia con Dieta 2 (*Isochrysis galbana* más *Thalassiosira weissflogii*).

En el experimento que utilizó la combinación de las microalgas *Isochrysis galbana* más *Thalassiosira weissflogii*, se registró una reducción significativa en la tasa de supervivencia de las larvas (Gráfica 17). Al comienzo del experimento, se inició con una población de 1 000 000 larvas, lo que constituía el 100% de la población durante el primer día. No obstante, para el día 6 la tasa de supervivencia había disminuido considerablemente al 50%, lo que significó que solo 500 000 larvas consiguieron sobrevivir. Esta reducción en la población indicó la escasa efectividad de esta mezcla como fuente de alimento.

A medida que avanzó el experimento, en el día 18 la tasa de supervivencia se situó en un alarmante 28%, resultando en 280 000 larvas vivas. A pesar de esta considerable reducción en la cantidad de larvas, se evidenció un aspecto positivo: la Dieta basada en *Isochrysis galbana* más *Thalassiosira weissflogii* aceleró el proceso de desarrollo larval, y se pudo observar que las larvas habían alcanzado la etapa de fraguado de manera más rápida, presentando pies de fijación y, algunas ya se habían adherido a las paredes del tanque.



Gráfica 17. Tasa de supervivencia de *Crassostrea gigas* con Dieta 2 (*Isochrysis galbana* más *Thalassiosira weissflogii*).

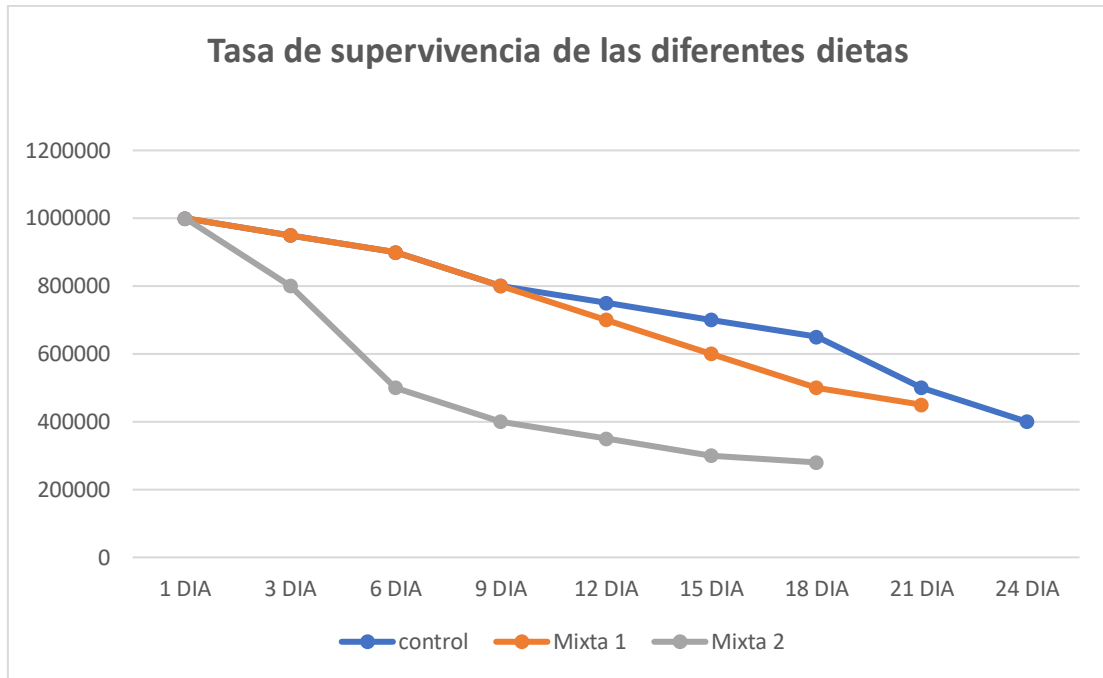
8.3.4 Comparación de la tasa de supervivencia entre las diferentes Dietas.

La prueba de varianza ANOVA presentó diferencia significativa para uno de los grupos con un p valor de 0.038 (Anexo 17). Por lo tanto, se realizó la prueba de Tukey la cual indicó que existió diferencia significativa entre la Dieta control y la Dieta 2 ($p= 0.046$) (Anexo 18).

En la Gráfica 18, se muestra la Tasa de supervivencia de las diferentes Dietas a través del tiempo. Como resultado, la Dieta Control y Dieta 1 presentaron Tasas de supervivencia más consistentes a lo largo del periodo de observación. Ambas comenzaron con una supervivencia del 100% (1 000 000 larvas) en el primer día y experimentaron una disminución gradual obteniendo al final del día 24, en la Dieta Control tuvo una tasa de supervivencia del 40% (400 000 larvas), mientras que la Dieta 1 tuvo una Tasa de supervivencia ligeramente superior, finalizando en el 45% (450 000 larvas) en el día 21. La diferencia en los días de finalización de la recolección de datos se debe a que las larvas alimentadas con la Dieta 1 alcanzaron la etapa de fraguado antes que las de la Dieta Control, con una diferencia de 72 horas.

En lo que respecta a la Dieta 2, esta mostró una tasa de supervivencia considerablemente más baja desde las primeras etapas ya que partir del día 6, las larvas alimentadas con *Isochrysis galbana* más *Thalassiosira weissflogii* presentaron una supervivencia del 50% (500 000 larvas).

Para el día 18, la tasa de supervivencia había caído a solo el 28% (280 000 larvas), Sin embargo, las larvas alimentadas con esta Dieta lograron alcanzar la etapa de fraguado con mayor rapidez en comparación con las de las Dietas previas. Esto indica que, aunque las larvas de la Dieta 2 avanzaron rápidamente hacia la etapa de pediveliger, su tasa de supervivencia fue considerablemente menor.



Gráfica 18. Comparación de la Tasa de supervivencia con las diferentes Dietas líquidas suministradas.

8.4 Tasa de Fraguado.

8.4.1 Comparación de la tasa de fraguado con las diferentes Dietas.

En la Tabla 5, se presentan los resultados obtenidos para cada tipo de Dieta, destacando el día en que se inició el fraguado o asentamientos de las larvas de *Crassostrea gigas* en el sustrato hasta el desprendimiento y se procedió a la toma de datos.

Tabla 5: Supervivencia en porcentajes, día de inicio de fraguado y tasa de fraguado en porcentaje de larvas de *Crassostrea gigas* alimentadas con diferentes Dietas líquidas administradas en el presente estudio.

Dieta	Supervivencia global (%)	Inicio de fraguado.	Fraguado (%)
<i>I. galbana</i>	40%	24	10,5%
<i>I. galbana + T. chui</i>	45%	21	12,62%
<i>I. galbana + T. weissflogii</i>	28%	18	2,67%

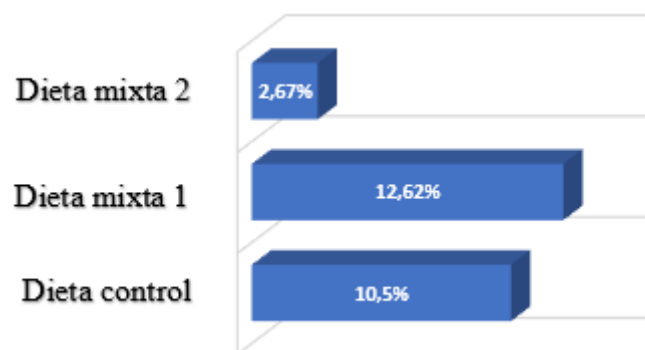
Los datos de la tabla 5 muestran el día en que las larvas pasaron a la fase de fraguado la cual vario según las Dietas, lo que indica que influyeron de forma diferente en el desarrollo de las larval. La Dieta 1 (*Isochrysis galbana* más *Tetraselmis chui*) aceleró el proceso larval, permitiendo que el fraguado comenzara en el día 21. En cuanto a la Dieta 2 (*Isochrysis galbana* más *Thalassiosira weissflogii*) logró iniciar el fraguado en el día 18, siendo la más rápida en alcanzar esta etapa. Finalmente, el tratamiento control (*Isochrysis galbana*) inició el fraguado en el día 24, siguiendo un proceso más tardío en comparación con las Dietas.

Los datos obtenidos mostraron que la combinación que mejor resultado fue de *Isochrysis galbana* más *Tetraselmis chui* que presentó una tasa de fraguado más alta, alcanzando un 12,62%, lo que correspondió a 56 800 larvas fijadas. Este resultado indico que no solo se logró una Tasa de supervivencia mayor, sino que también permitió que una mayor

cantidad de larvas completaran su desarrollo y fraguado de forma exitosa. Esto indica que la adición de *Tetraselmis chui* a *Isochrysis galbana* aportó nutrientes adicionales que ayudan al desarrollo larval.

Por otro lado, la Dieta control de *Isochrysis galbana* mostró una tasa de fraguado del 10,5% que, a pesar de ser considerablemente elevada, fue menor a la alcanzada con la Dieta 1 (*Isochrysis galbana* más *Tetraselmis chui*). Esto señaló que, a pesar de que *Isochrysis galbana* es abundante en ácidos grasos vitales y otros nutrientes imprescindibles para el crecimiento larval, la incorporación de *Tetraselmis chui* ayudó a impulsar el proceso de fraguado, ofreciendo un perfil nutricional más integral y balanceado.

Finalmente, la Dieta 2 (*Isochrysis galbana* + *Thalassiosira weissflogii*) mostró información interesante ya que permitió que las larvas alcanzaran la fijación más rápidamente (día 18), pero la tasa de fraguado fue la más baja de todas, con solo un 2,67%, correspondiente a 7 500 larvas fijadas, lo que indicó que, a pesar de que esta Dieta aceleró el proceso inicial de desarrollo hasta la fase de fraguado, no fue efectiva para sostener el proceso de metamorfosis completo (Gráfica 19).



Gráfica 19. Tasa de fraguado o fijación entre las distintas Dietas líquidas suministradas.

9. DISCUSIÓN

9.1 Discusión

La comparación de la velocidad de crecimiento, la dieta basada en *Isochrysis galbana* y *Thalassiosira weissflogii* mostró una mayor velocidad de crecimiento, aunque no alcanzó significancia estadística y presentó una baja tasa de supervivencia. Un fenómeno similar fue reportado por Villa et al. (2006), quienes observaron que las larvas de *Crassostrea gigas* alimentadas con *Chaetoceros calcitrans* mostraron un crecimiento acelerado a expensas de una menor supervivencia. Este efecto puede atribuirse a la composición de *Thalassiosira weissflogii*, que es rica en ácidos grasos esenciales, como el ácido eicosapentaenoico (EPA), y proteínas, elementos que favorecen el crecimiento larval según el análisis de Árabe (2024). En cuanto a la dieta control y la dieta 1, ambas mostraron una velocidad de crecimiento muy cercana a la obtenida con la dieta 2. Este resultado sugiere que, aunque las dietas pueden favorecer el crecimiento larval, es posible que las larvas de *Crassostrea gigas* hayan seleccionado *Isochrysis galbana* como su principal fuente de alimento, utilizando las otras microalgas presentes en la mezcla como complemento. Este comportamiento es consistente con lo señalado por Cognie et al. (2001), quienes destacaron que las larvas de bivalvos tienen la capacidad de seleccionar una microalga específica dentro de una mezcla.

Los resultados obtenidos en el análisis de correlación entre las velocidades de crecimiento ($\mu\text{m}/\text{día}$) de las larvas de *Crassostrea gigas* y las concentraciones de las dietas líquidas suministradas durante este estudio mostraron una correlación positiva baja. Sin embargo, una de las dietas presentó una correlación positiva alta, sugiriendo que la concentración de microalgas en la alimentación podría influir en el crecimiento larval. Específicamente, la Dieta 2 mostró un coeficiente de Pearson de 0.826, indicando una fuerte correlación positiva y una tendencia consistente. Estudios previos, como los de Palacios et al. (2005), González-Araya et al. (2011) y Murillo (2018), sugieren que tanto la concentración como la combinación de microalgas pueden mejorar el crecimiento larval, y esto se debe al aporte de ácidos grasos de cada microalga que beneficia a las larvas durante su desarrollo. Aunque no se utilizaron las mismas microalgas que en la investigación presentada, algo

similar ocurrió en el estudio de Marrón (2002), donde se encontró que la concentración de microalgas como *Chaetoceros calcitrans* y *Chaetoceros tenuissimus* tiene un impacto significativo en la velocidad de crecimiento y la supervivencia de las larvas ostras.

La Tasa de supervivencia de las larvas de *Crassostrea gigas* vario significativamente en función de la Dieta administrada, siendo la Dieta 1 la más efectiva al mantener una mayor supervivencia y facilitar que las larvas alcanzaran la fase de fijación tres días antes que aquellas alimentadas con la Dieta Control (*Isochrysis galbana*). Estos resultados sugirieron que la combinación de microalgas en la Dieta 1 proporcionó un perfil nutricional más completo, promoviendo tanto la supervivencia como un desarrollo más rápido y eficiente de las larvas. Este hallazgo es consistente con estudios previos, como el de Rico-Villa et al. (2006) y Vivanco et al. (2014), quienes observaron un patrón similar en larvas de *Crassostrea gigas* alimentadas con mezclas de *Chaetoceros calcitrans* e *Isochrysis galbana*, demostrando que la combinación de diversas microalgas puede optimizar la calidad del alimento y favorecer la supervivencia larval.

Por otro lado, *Thalassiosira weissflogii*, que se incluyó en la Dieta 2, resultó ser menos provechosa para las larvas. De acuerdo con Brown et al. (1978), pese a que *Thalassiosira weissflogii* es abundante en ácidos grasos vitales como el ácido eicosapentaenoico (EPA), pero su pared celular de sílice bastante gruesa y compleja puede obstaculizar la digestión en las larvas de bivalvos, restringiendo de esta manera sus beneficios afectando su tasa de supervivencia y fraguado.

Por otro lado, la Dieta 1 además de presentar mayor supervivencia, también ha mostrado mayor tasa de fraguado, con un valor de 12.62% (56 800 postlarvas), estudios realizados por Ben Kheder et al. (2010) han destacado su idoneidad para Dietas debido a su perfil nutricional equilibrado, que incluye ácidos grasos y aminoácidos esenciales. Estos componentes aportan beneficios significativos tanto en la supervivencia, el crecimiento y fijación de las larvas. un análisis realizado por Árabe, 2024 señala que *Tetraselmis chui* es rica en ácido palmítico el cual participa en el almacenamiento de energía y es un componente esencial en la formación de lípidos. Gallager et al., 1986 señalan que durante

la fijación se alimentan menos y hacen uso de las reservas lipídicas lo cual explica la ventaja que tuvo frente a la otra dieta y mono específica.

En cuanto a la Dieta 2 (*Isochrysis galbana* más *Thalassiosira weissflogii*) mostró una Tasa de fraguado considerablemente baja (2.67%) y como anteriormente fue explicado esto puede deberse a que posee muy pocas reservas lipídicas ya que Árabe, 2024 señala que *Thalassiosira weissflogii* no posee ácido palmítico, por lo tanto, aunque las larvas hayan crecido y desarrollado adecuadamente no han podido tener un buen almacenamiento de lípidos necesarios para sobrevivir durante el fraguado.

10. CONCLUSIÓN

La Dieta 2, compuesta por *Isochrysis galbana* y *Thalassiosira weissflogii*, mostró una mayor velocidad de crecimiento de las larvas en comparación con la Dieta 1 y la Dieta control, ya que alcanzó su etapa de fraguado en un menor tiempo.

la Dieta 1 (*Isochrysis galbana*) y la Dieta 3 (*Isochrysis galbana* + *Tetraselmis*) presentaron correlaciones más bajas a diferencia de la Dieta 2 que mostró una correlación positiva alta (coeficiente de 0.826, $p=0.1$), por lo tanto, esto indica una tendencia que sugiere una relación entre la concentración celular y su efecto en el crecimiento de las larvas.

Se presento una diferencia significativa entre la Dieta 2 (*Isochrysis galbana* + *Thalassiosira weissflogii*) y la Dieta Control (*Isochrysis galbana*) con un $p = 0.046$, siendo la Dieta Control la que presentó una mayor tasa de supervivencia. Sin embargo, la Dieta 1 (*Isochrysis galbana* + *Tetraselmis chi*), aunque no mostró una diferencia estadística significativa, superó a la Dieta Control ya que presento mayor supervivencia.

Se determinó que la Dieta 1, presentó mejor rendimiento en la tasa de fraguado a diferencia de la Dieta 2 debido a que tuvo mayor supervivencia durante las metamorfosis.

11. RECOMENDACIONES

Utilizar la Dieta 1 ya que promueve el rendimiento biológico de la larva manteniendo mejor tasa de supervivencia y alcanzando la etapa de fraguado en menor tiempo, además brinda una mayor resistencia durante la metamorfosis.

Ajustar la formulación de la Dieta 1 según las necesidades nutricionales durante las distintas fases de desarrollo.

Continuar investigando la influencia de la Dieta 1 durante la fase de post-fijación o engorde probando su resistencia a mar abierto durante el primer mes de adaptación.

BIBLIOGRAFÍA

- Acharjee, R. (2024). *Crecimiento y Producción Lipídica de Microalgas Marinas Tetraselmis Chuii Cultivadas en Diferentes Concentraciones de Fósforo*. Revista de Acuicultura y Producción Ganadera. Obtenido de <https://www.onlinescientificresearch.com/articles/growth-and-lipid-production-of-marine-microalgae-tetraselmis-chuii-cultured-in-different-phosphorus-concentrations.html>
- Ali, M. N. (2000). *Salinity–temperatura y efectos nutricionales sobre la tasa de fraguado de larvas de la ostra tropical, Crassostrea iredalei (Faustino)*. doi:[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00312-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00312-9)
- Árabe, N. (2024). *Caracterización de Especies de Microalgas Seleccionadas como Fuentes Potenciales de Nutrientes y Antioxidantes*. doi:<https://doi.org/10.3390/foods13132160>
- Ben-Kheder, R. C. (2010). Effect of nutrition on *Crassostrea gigas* larval development and the evolution of physiological índices. *Aquac.*
- Brown, C. L. (1978). *Observations on natural and induced epizootics of vibriosis in Crassostrea virginica larvae*. Ciencia Pesquera. doi:[10.1016/0022-2011\(78\)9](https://doi.org/10.1016/0022-2011(78)9)
- Castell L.L., M. R. (1994). *Optimal staining of lipids in bivalve larvae with Nile Red*. doi:[10.1016/0044-8486\(94\)90445-6](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90445-6).
- CENAIM. (2008). *Proyecto piloto de cultivo de Ostra Japonesa (Cassostrea gigas) en mar abierto*. Obtenido de <http://www.cenaim.espol.edu.ec/node/784>
- CENDEPESCA. (2009). *produccion artificial de semillas y cultivo de engorde de ostra japonesas (Crassostrea gigas)*. Ministerio de Agricultura y Ganadería .

- Chávez-Villalba, J. J.-D. (2003). Effects of temperatura and feeding regimes on gametogénesis and larval production in the oyster *Crassostrea gigas*. *Shellfish Res.*
- Cisneros, P. (2017). *OSTRAS: REPRODUCCIÓN Y CULTIVO', NUEVO PROYECTO DE LA PREFECTURA*. prefectura de santa elena. Obtenido de <https://www.santaelena.gob.ec/index.php/noticias-boletines-varias/1095-ostras->
- Clothilde Berthelin, K. K. (2000). *Histological Characterization and Glucose Incorporation into Glycogen of the Pacific Oyster Crassostrea gigas Storage Cells*. *Marine Biotechnology*. doi:<https://doi.org/10.1007/s101269900017>
- Coon, S. L. (1990). Competence and delay of metamorphosis in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Marine Biotechnology*.
- Cordova. (2015). Uso de Microalgas como Complemento Alimenticio de Especies Acuícolas: Efectos en la Condición Fisiológica, Sanitaria e Inmune. *Avances En Nutrición Acuícola*. Obtenido de <https://nutricionacuicola.uanl.mx/index.php/acu/article/view/34>
- Costello, C. C. (2020). *The future of food from the sea*. doi:<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2616-y>
- Crespi, V. (2009). *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) [Ostreidae]. *FAO* .
- David F. Willer, S. F. (2021). *Microalgas encapsuladas como reemplazo sustentable en la Dieta de reproductores en laboratorios productores de moluscos*. Obtenido de <https://panoramaacuicola.com/2021/08/22/microalgas-encapsuladas-como-reemplazo-sustentable-en-la-Dieta-de-reproductores-en-laboratorios-productores-de-moluscos/>

- Dheilly, N. M.-P. (2012). *Gametogénesis en la Ostra del Pacífico Crassostrea gigas: Un Análisis Basado en Microarrays Identifica Genes Específicos de Sexo y Etapa*. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036353>
- Díaz, M. P. (2009). *Gametogenesis, reproductive investment, and spawning behavior of the Pacific giant oyster Crassostrea gigas: evidence of an environment-dependent strategy*. *Aquacult.* doi:<https://doi.org/10.1007/s10499-008-9219-1>
- Enrique-Díaz, M. S.-V. (2009). Gametogenesis, reproductive investment, and spawning behavior of the. *Aquatic International*.
- Espinosa, E. P. (2009). *Lectins associated with the feeding organs of the oyster Crassostrea virginica can mediate particle selection*. *Biological Bulletin*. doi:[10.1086/BBLv217n2p130](https://doi.org/10.1086/BBLv217n2p130)
- FAO. (2009). *Crassostrea gigas (Thunberg, 1793) Ostreidae*. Obtenido de https://www.fao.org/fishery/docs/CDrom/aquaculture/I1129m/file/es/!32795!es_pacific_cuppedoyster.htm
- FAO. (2022). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022. Hacia la transformación azul*. doi: <https://doi.org/10.4060/cc0461es>
- FAO. (2024). *Programa de información de especies acuáticas Crassostrea gigas (Thunberg, 1793)*. Obtenido de <https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/cd0683es>
- Farías, A. (2008). *Nutrición y alimentación en moluscos bivalvos*. 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*.
- Georgoulis, I. P. (2024). *Increased seawater temperature triggers thermal, oxidative and metabolic response of Ostrea edulis, leading to anaerobiosis*. *Comparative*

Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology. doi:
<https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2024.110943>

- Gouletquer, P. (1997). Natural reproductive cycle of *Crassostrea gigas*. *Ifremer*.
- Han Pei, L. Q. (2019). *A Review on the Use of Microalgae for Sustainable Aquaculture*. Innovative Water and Wastewater Treatment Technologies for Supporting Global Sustainability. doi:<https://doi.org/10.3390/app9112377>
- Hasle, G. R., & Heimdal, B. R. (1970). *Some Species of the Centric Diatom Genus Thalassiosira Studied in the Light and Electron Microscopes*. *Nova Hedwigia, Beihefte*. doi:10.1127/nova.beihefte/31/1970/543. S2CID 85688848.
- Hebert Ely Vásquez, R. J. (2007). Guía para el cultivo de Ostra del Pacífico. *Proyecto para el Desarrollo de la acuicultura de moluscos en el Salvador* .
- Helm, M. (2009). *crassostrea gigas*. In *Cultured aquatic species fact sheets*. FAO. Obtenido de https://www.fao.org/fishery/docs/CDrom/aquaculture/I1129m/file/es/!32795!es_pacificcuppedoyster.htm
- Helm, M. M. (2004). *Hatchery culture of bivalves, a practical manual*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO Fisheries Technical Paper 471.
- Héral, M. (1991). La ostricultura francesa tradicional. *Acuicultura*. Ed. Omega, 295-336.
- Hinzmann, M. (2018). *Manual de boas práticas na ostreicultura em Portugal*. Obtenido de <https://www.researchgate.net/profile/Mariana-Hinzmann/publication/323749135/figure/fig3/AS:632696111915009@1527857916422/Figura-9-Sistema-de-ressurgimento-a-com-fluxo-ascendente-upwelling-e-b-com-fluxo.png>

- Hofmann, E., Powell, E., Bochenek, E., & Klinck, J. (2004). A modelling study of the influence of environment and food supply on survival of *Crassostrea gigas* larvae. ICES Journal of Marine Science. doi:10.1016/j.icesjms.2004.03.029
- Jennifer, R., Hunter S, L., Trimble, A., & Heiman, K. (2005). *Introduction of Non-Native Oysters: Ecosystem Effects and Restoration Implications*. doi:10.1146/annurev.ecolsys.36.102003.152638
- Kenneth, C. (1982). Proceedings of the North American Oyster Workshop . *University Division of Continuing Education*.
- Lino, J. (2020). *El cultivo de ostras crece en la península de Santa Elena*. expreso. Obtenido de <https://www.expreso.ec/actualidad/economia/cultivo-ostras-crece-peninsula-santa-elena-95937.html>
- Lodeiros, C., & Lovatelli, A. c. (2019). *Producción de semillas de la ostra perla Pinctada imbricata*. FAO. Obtenido de <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/1460f404-0291-4758-913f-f74fe62201c3/content>
- Luna, R. R. (2023). *Asimilación de diferentes fuentes de nitrógeno por la microalga Isochrysis galbana*. Baja California: Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. Obtenido de <http://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/3855>
- Marrón, M. ., (2002). *Preparación y evaluación de concentrados de microalgas como alimento para ostras del Pacífico larvarias y juveniles (Crassostrea gigas)*. Obtenido de <https://ui.adsabs.harvard.edu/abs/2002Aquac.207..289B/abstract>
- Martínez, J. C. (2021). *semilla de moluscos*. Obtenido de <https://dgetaycm.sep.gob.mx/storage/recursos/2022/08/HSUrTMr22f-MODULO%20IV%20SM2%20Obtiene%20semilla%20de%20moluscos.pdf>

- Murillo Ríos, A. (2018). *Evaluación del efecto de la alimentación con diferentes Dietas durante las primeras etapas de cultivo de Crassostrea gigas y el primer mes en el mar*. Obtenido de <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/199100>
- Parra, M. d. (2004). Variación de las reservas energéticas de la *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1794) en relación a la gametogénesis. *Tesis doctoral. Universidad de Vigo*.
- Pérez, E. S. (2022). *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*. UPSE, BIÓLOGIA. Obtenido de <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/8858/1/UPSE-TBI-2022-0047.pdf>
- Perez, M. (2019). *Evaluación del perfil de ácidos grasos de Isochrysis galbana mediante el uso de métodos ácidos y alcalinos dea Medina-Pérez transesterificación*. doi:<https://doi.org/10.23850/22565035.1574>
- Proberto, B. V. (2020). *Nuevas microalgas para la ostra del Pacífico Crassostrea gigas larvas*. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.09.011>
- Qiu, T. L. (2015). *A feeding model of oyster larvae (Crassostrea angulata)*. *Physiology & Behavior*. doi:10.1016/j.physbeh.2015.04.043
- Ramírez, R. A. (2023). Asimilación de diferentes fuentes de nitrógeno por la microalga *Isochrysis galbana*. Obtenido de <https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/3855#:~:text=La%20microalga%20marina%20Isochrysis%20galbana,gran%20valor%20nutrimental%20y%20econ%C3%B3mico>.
- Rodríguez. (2024). *PRECIO DE ANÁLISIS Y PRODUCTOS*. Obtenido de http://www.cenaim.espol.edu.ec/precios_analisis_y_productos

Rodríguez, M. A. (2014). *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. Obtenido de <https://produccioncientificaluz.org/index.php/boletin/article/view/216>

Sakamoto, K. O. (1997). *Effects of Microalgal Live Foods on the Growth for the Larval Pacific oyster, Crassostrea gigas*. Obtenido de <https://doi.org/10.11233/aquaculturesci1953.45.527>

Sakamoto, M. (1997). *Larval Growth of Bivalves: A Comparative Study.* *Journal of Marine Science and Technology*.

Sewell, M. A. (2005). *Utilization of lipids during early development of*. Obtenido de <https://www.int-res.com/articles/meps2005/304/m304p133.pdf>

Suárez-Vásquez, M. G. (2013). *Crecimiento y composición bioquímica de Thalassiosira pseudonana (Thalassiosirales: Thalassiosiraceae) bajo cultivo semi-continuo en diferentes medios y niveles de irradiancias*. Revista Scielo. Obtenido de https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442013000400002

Turchini, G. (2010). *Effects of different Dietary microalgae on survival, growth, settlement and fatty acid composition of blue mussel (Mytilus galloprovincialis) larvae*. Obtenido de <https://findanexpert.unimelb.edu.au/scholarlywork/1676700-effects-of-different-Dietary-microalgae-on-survival--growth--settlement-and-fatty-acid-composition-of-blue-mussel-%28mytilus-galloprovincialis%29-larvae>

Urbano, T. (2014). Cultivo de la ostra. *agrotendencia*.

- Valenzuela, M. d. (2004). *Variación de las reservas energéticas de *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) en relación a la gametogénesis*. Universidad de Vigo. Dialnet. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=220206>
- Valera, J. (2016). *Aislamiento y caracterización bioquímica de microalgas de*. Obtenido de <https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/523/1/245161.pdf>
- Villa, R. (2006). *Influencia de las Dietas únicas y pluriespecíficas en el consumo de larvas y el desarrollo de la ostra del Pacífico *Crassostrea gigas* (Thunberg)*. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/29495026_Influence_of_sole_and_plurirespecific_diets_on_larval_consumption_and_development_of_Pacific_oyster_Crassostrea_gigas_Thunberg
- Villon, A. (2023). Evaluación del crecimiento, condiciones de supervivencia y parámetros ambientales de *Magallana gigas* (Ostra del Pacífico) puerto de Changuy. Obtenido de <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/10120/1/UPSE-TBI-2023-0088.pdf>
- Vivanco, G., Oliva, D., & Abarca, A. (2014). Efecto de Dietas en base a microalgas tradicionales, Efecto de Dietas en base a microalgas tradicionales, y supervivencia en larvas velígeras de la almeja taquilla, *Mulinia edulis*. Obtenido de <https://www.scielo.cl/pdf/revbiolmar/v49n2/art12.pdf>
- Walton, R. y. (2017). Use of Microalgae Concentrates for Rearing Oyster Larvae, *Crassostrea virginica*. Obtenido de https://shellfish.ifas.ufl.edu/wp-content/uploads/product_shellfish_diet_1800_Rikard_Walton_2012.pdf
- Whyte, J. N. (1990). Biochemical and energy changes. *Marine Biotechnology*.

ANEXOS



Anexo 1: Recolección y selección de ostras *Crassostrea gigas*



Anexo 2: Desove y fecundación de *Crassostrea gigas*.



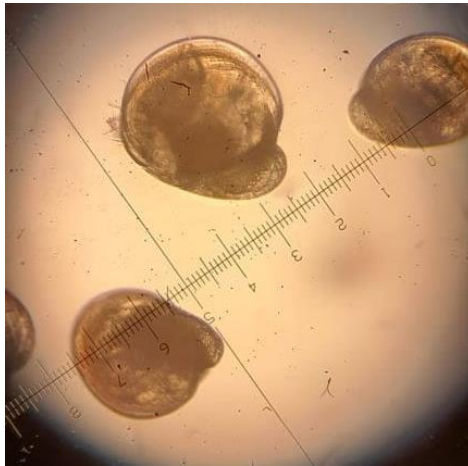
Anexo 3: Siembra de larvas de *Crassostrea gigas*.



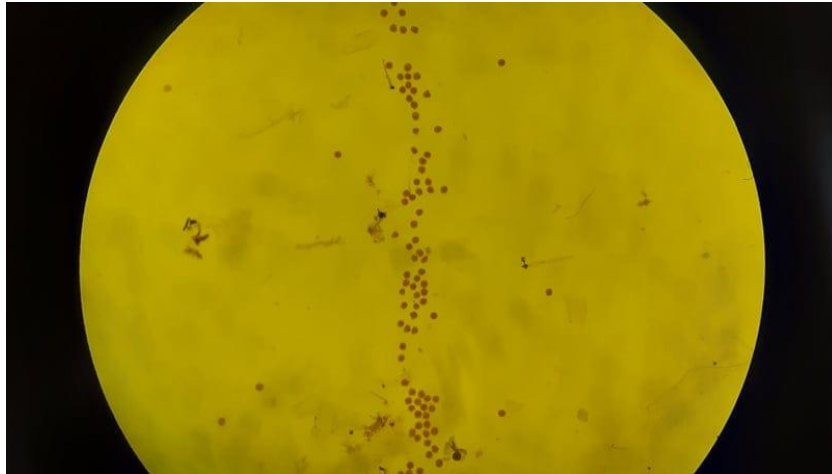
Anexo 4: Cultivo de microalgas.



Anexo 5: Recolección de larvas de *Crassostrea gigas*.



Anexo 6: Medición de larvas de *Crassostrea gigas*.



Anexo 7: Conteo de larvas de *Crassostrea gigas*.



Anexo 8: Fraguado de larvas de *Crassostrea gigas*.



Anexo 9: Conteo de postlarvas de *Crassostrea gigas*.

Tratamiento	Componentes/Ingredientes	Cantidad/Condiciones
Hipoclorito + Tiosulfato + EDTA	Hipoclorito de sodio, Tiosulfato de sodio, Ácido etilendiamino tetraacético (EDTA)	- Hipoclorito: 1-2 ml/L de agua - Tiosulfato: 0.1-0.2 g/L de agua para neutralizar el cloro residual - EDTA: 0.1-0.5 g/L de agua (según necesidad)

Anexo 10: Tratamiento del agua

Fuente: (Rodríguez, 2020)

Medio de Cultivo	Componente	Concentración / Detalles
F/2 de Guillard	Nitrato (NaNO_3)	75,0 g/L
	Fosfato ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	5,0 g/L
	Silicato ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)	30,0 g/L
	Metales Traza	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (3,5 g), Na_2EDTA (4,36 g), más 1 ml de soluciones individuales de Cu, Zn, Co, Mn y Mo.
	Vitaminas	Biotina (1 mg), B_{12} (1 mg), Tiamina HCl (20 mg). Añadir 0,5 ml/L de agua de mar

Anexo 11: Medio de cultivo Guillard F/2

Fuente: (FAO, 2006)

Días	Dieta control	Dieta mixta 1	Dieta mixta 2
3	6,67	6,67	10,00
6	10,00	10,00	13,33
9	10,00	16,67	16,67
12	13,33	16,67	13,33
15	13,33	13,33	16,67
18	10,00	13,33	16,67
21	13,33	10,00	
24	10,00		

ANOVA- $p=0.1051$

Anexo 12: Datos de la velocidad de crecimiento

One-way ANOVA	Residuals	Tukey's pairwise	Kruskal-Wallis	Mann-Whitney pairwise	Dunn's post hoc
---------------	-----------	------------------	----------------	-----------------------	-----------------

Test for equal means

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
Between groups:	44,7434	2	22,3717	2,541	0,1066
Within groups:	158,454	18	8,80298		Permutation p (n=99999)
Total:	203,197	20			0,1051

Anexo 13: p valor entre las velocidades de crecimiento.

Tests for normal distribution			
	control	mixta 1	mixta 2
N	8	7	6
Shapiro-Wilk W	0,8272	0,9216	0,8217
p(normal)	0,05552	0,4821	0,09124

Anexo 14: Prueba de normalidad de las velocidades de crecimiento.

Tests for normal distribution			
	control	mixta 1	mixta 2
N	8	7	5
Shapiro-Wilk W	0,8076	0,7573	0,6717
p(normal)	0,03453	0,01513	0,004726

Anexo 15: Prueba de normalidad de las concentraciones de microalga (celula/ml).

A)

	celula/ml	um/ml
celula/ml		0,40357
um/ml	0,33865	

B)

	celula/ml	um/dia
celula/ml		0,56032
um/dia	0,25472	

C)

	celula/ml	um/dia
celula/ml		0,1
um/dia	0,82633	

Anexo 16: Prueba de Spearman A) Dieta control; B) Dieta 1; C) Dieta 2.

Several-sample tests — □

One-way ANOVA	Residuals	Tukey's pairwise	Kruskal-Wallis	Mann-Whitney pairwise	Dunn's post hoc
---------------	-----------	------------------	----------------	-----------------------	-----------------

Test for equal means

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
Between groups:	3,0111E11	2	1,50555E11	4,104	0,034
Within groups:	6,60271E11	18	3,66817E10		Permutation p (n=99999)
Total:	9,61381E11	20			0,03862

Anexo 17: Análisis de varianza de la supervivencia de las larvas de *Crassostrea gigas*.

	control	mixta 1	mixta 2
control		0,9978	0,04636
mixta 1	0,08917		0,06045
mixta 2	3,663	3,473	

Anexo 18: Prueba de Tukey de la supervivencia de las larvas de *Crassostrea gigas*.

Dieta	Días	Concentración (cel/ml)	Vel crecimiento	Supervivencia
control	3	3000	6,67	950000
control	6	3000	10	900000
control	9	4500	10	800000
control	12	4500	13,33	750000
control	15	15000	13,33	700000
control	18	30000	10	650000
control	21	30000	13,33	500000
control	24	36000	10	400000
mixta 1	3	3000	6,67	950000
mixta 1	6	3000	10	900000
mixta 1	9	4500	16,67	800000
mixta 1	12	4500	16,67	700000
mixta 1	15	15000	13,33	600000
mixta 1	18	30000	13,33	500000
mixta 1	21	30000	10	450000
mixta 2	3	3000	10	800000
mixta 2	6	3000	13,33	500000
mixta 2	9	4500	16,67	400000
mixta 2	12	4500	13,33	350000
mixta 2	15	15000	16,67	300000
mixta 2	18	30000	16,67	280000

Anexo 19: Base de datos.