



**Instituto Tecnológico Superior**

**“Luis Arboleda Martínez”**



**PROYECTO DE TITULACION**

Efecto de la densidad e influencia de los factores ambientales en el cultivo de juveniles de *Spondylus limbatus* (G. B. Sowerby II, 1847) en sistemas suspendidos en la Bahía de Ayangué.

Provincia de Santa Elena.

**Previo a la obtención del Título**

Tecnólogo Acuicultor

**AUTOR(A)**

Melania Michelle Gómez Burgos

**TUTOR**

Adrián José Márquez Montiel, MSc.

**CO-TUTOR**

Guadalupe Bravo, Blgo.

**San Pedro, Ecuador**

**2018**

# **CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE REVISIÓN Y DE TITULACION**

Tesis de grado sometida a consideración del tribunal de revisión y sustentación, como requisito previo a la obtención del título de Tecnólogo en Acuicultura.

TEMA: Efecto de la densidad e influencia de los factores ambientales en el cultivo de juveniles de *Spondylus limbatus* (G. B. Sowerby II, 1847) en sistemas suspendidos en la Bahía de Ayangue. Provincia de Santa Elena.

Realizada por:

**Melania Michelle Gómez Burgos**

---

**Blgo. Limber Alcívar**  
**Miembro del tribunal**

---

**Blga. Geormery Mera Loor**  
**Miembro del tribunal**

---

**Ing. Alfredo Lucas Villegas**  
**Miembro del tribunal**

## CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

MSc. Adrián José Márquez Montiel

Director de Tesis

Blga. Guadalupe Bravo Montesdeoca

Codirectora de Tesis

Certifica: Que el trabajo de intervención titulado:

**“Efecto de la densidad e influencia de los factores ambientales en el cultivo de juveniles de *Spondylus limbatus* (G. B. Sowerby II, 1847) en sistemas suspendidos en la Bahía de Ayangue, provincia de Santa Elena** de la Srta. Melania Michelle Gómez Burgos con cédula de identidad 131719718-2, egresada de la especialidad en Tecnología Superior en Acuicultura realizó con honestidad y responsabilidad la tesis siendo así revisada, corregida y aprobada bajo mi dirección, cumpliendo con las disposiciones reglamentarias del Instituto Tecnológico Superior “Luis Arboleda Martínez”

San Pedro, 03/12/2018

---

MSc. Adrián José Márquez Montiel

Investigador CENAIM-ESPOL

C.C: 0961662681

---

Blga. Guadalupe Bravo Montesdeoca

Coordinadora de la carrera de Acuicultura

C.C: 1303447161

## ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Melania Michelle Gómez Burgos C.C: 1317197182**, egresada de la especialidad de **Tecnología en Acuicultura**, acepto que los derechos de autoría y las publicaciones serán compartidos, la autoría le corresponde a mí persona y a la titularidad del **Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas y del Instituto Tecnológico Superior “Luis Arboleda Martínez”**, de acuerdo a lo que dispone la Ley de Propiedad Intelectual.

Manta, 10/12/2018

Atentamente.

---

Melania Michelle Gómez Burgos

Autor

## **AUTORÍA**

Yo, **Melania Michelle Gómez Burgos** con **C.C: 1317197182**, soy la responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis de grado, y el patrimonio intelectual de la misma pertenecen al **Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas** y al **Instituto Tecnológico Superior “Luis Arboleda Martínez”**.

---

Melania Michelle Gómez Burgos

Autor

## **Dedicatoria**

A Dios, por bendecir mi vida de una manera tan gratificante, por guiar mi camino y por brindarme la oportunidad de haber culminado ésta maravillosa etapa junto a los seres que amo.

A mi madre por brindarme su apoyo en todo momento, por estar conmigo en esta lucha, por ser mi guía, y soporte fundamental para poder culminar cada meta propuesta. A mi papá por brindarme su apoyo cuando más lo necesitaba y estar conmigo desde el inicio, a mi pequeña hermana por ser siempre mi fuente de inspiración y sostén en mi vida, los amo inmensamente.

A mis abuelos por brindar su granito de arena con todo su amor a través de sus consejos y siempre brindar en mi vida orgullo y felicidad, aunque madre no estés físicamente conmigo siempre permanecerás latente en cada logro de mi vida, los amo.

A mi familia por ser parte de mi confort y participar conmigo en cada momento especial como el que estoy viviendo.

A ti cariño mío por estar a mi lado en los malos y buenos momentos, por su apoyo incondicional siempre, por brindar felicidad y bienestar a mi vida; que Dios nos siga permitiendo celebrar cada triunfo junto, te amo.

A cada uno de mis amigos y compañeros por haber depositado su confianza y valor en mí así como yo en ellos, por cada anécdota y experiencia compartida.

A mi institución por haberme brindado la oportunidad de poder culminar mis estudios superiores y el haber conocido grandiosas personas y profesionales.

Al señor Neiro Macias por haberme brindado su apoyo en esta fase estudiantil de una y otra manera.

A mis tías Nancy, Magaly y Carmen gracias por el apoyo brindado en todo este tiempo, por cada consejo y ayuda ante cualquier dificultad que se presentase.

A la señora Shirley y a su esposo el señor René por haber extendido sus brazos hacía mí de una manera desinteresada y brindarme su apoyo en todos los aspectos.

A mis futuros colegas y queridos amigos Sandrita, Juancho y Francisco muchas gracias por brindarnos su ayuda desinteresadamente, por ser siempre tan amables, y darnos una mano cuando más lo necesitábamos, son excelentes personas y permanecerán en mí por tanto cariño dado, gracias por su amistad.

A mis amigos Johnny, Eduardo y Carlos que, aunque nuestra amistad no es aún de años en esos meses compartidos nos brindaron su amistad sincera, apoyándonos y ayudándonos en lo que más necesitábamos, gracias por ser tan amables siempre. A mi amiga y colega Angie Mendoza muchas gracias por cada anécdota y experiencia vivida en el transcurso de estos meses, por el apoyo brindado y amistad.

## **Agradecimiento**

A CENAIM-ESPOL por haberme brindado la oportunidad de realizar la tesis de mi pregrado en sus instalaciones y lo necesario para concluir con ella, por haberme dado la oportunidad de realizar mis practicas pre-profesional y estadia durante todo este tiempo laboral.

A la Blga. Yessenia Poso Quimis, jefa del laboratorio análisis ambiental químico del CENAIM-ESPOL quien me brindó la oportunidad de poder realizar la parte experimental de mi trabajo de tesis y utilizar equipos muy necesarios e importantes.

Al ITSLAM por abrir las puertas en mi vida y que se haya presentado ésta gran oportunidad del haber realizado mis prácticas y tesis en el cual pude adquirir valiosos conocimientos y experiencia.

A los biólogos Guadalupe Bravo, Hernán Jiménez y Cesar Estay por haber impartido en mí cada uno de sus conocimientos y hacer que se haga realidad ésta valiosa oportunidad.

Al Dr. José Alió por querer siempre el bienestar de sus alumnos y también hacer posible la oportunidad de ser parte de la familia CENAIM-ESPOL, por brindar su ayuda de una manera incondicional y valorable para cada uno de quienes fuimos sus estudiantes.

A mi tutor de tesis el MSc. Adrián Márquez por cada uno de los conocimientos que impartió hacía mí, por su paciencia y confianza depositada, y por enseñarme a como desempeñar una gran labor con su ejemplo. Al MSc. Jormil Revilla por su amistad, por cada enseñanza que transmitió en mí en el transcurso de este tiempo y por el cariño brindado a cada uno de nosotros, fueron y son excelentes profesionales y es un honor para mí el haber compartido una gran labor y experiencia a su lado. A mi compañera y colega Gabriela Pachay por haberme brindado su ayuda en la fase experimental del proyecto.

## CONTENIDO

Resumen.....	XII
Abstract.....	XIII
El Problema.....	2
Titulo descriptivo del problema.....	3
Formulación del problema.....	3
Introducción.....	5
Marco teórico.....	10
Clasificación taxonómica de <i>Spondylus calcifer</i> está ubicado bajo la siguiente clasificación (Keen, 1971):.....	10
Descripción.....	11
Ciclo de vida y reproducción.....	11
Viabilidad del proyecto.....	13
Justificación.....	14
Objetivos.....	16
Objetivo general.....	16
Objetivos específicos.....	16
Hipótesis.....	17
Materiales y métodos.....	18
Recolecta y siembra de semillas.....	18
Crecimiento y supervivencia.....	20
Factores ambientales.....	21

Análisis estadísticos .....	22
Resultados .....	24
Factores ambientales .....	24
Factores físicos-químicos .....	24
Factores biológicos .....	26
.....	30
Crecimiento .....	30
Longitud de la concha.....	30
Biomasa seca del resto de tejidos, musculo y concha.....	33
Discusión.....	36
Conclusiones .....	41
Recomendaciones .....	42
Anexos .....	43
Referencias.....	45

## INDICE DE GRÁFICOS

Figura. 1 Conchas de <i>Spondylus limbatus</i> adultos, las flechas indican donde se rompió la concha para su extracción.-----	6
<i>Figura. 2 Tanques de cultivo de juveniles de S. limbatus.</i> b-----	8
Figura. 3 Conchas de <i>Spondylus limbatus</i> adultos a. detalle de la zona de la bisagra y b. detalle de la coloración y forma de las espinas. -----	8
Figura. 4 Elementos de confinamiento de juveniles de <i>S. limbatus</i> -----	19
Figura. 5 Variación mensual de la temperatura durante los ocho meses de cultivo de los juveniles de <i>S. limbatus</i> . -----	19
Figura. 6 Medidas de la longitud de concha de los juveniles de <i>S. limbatus</i> -----	20
Figura. 7 Extracción de los tejidos blandos y músculo aductor de los juveniles de <i>S. limbatus</i> --	20
Figura. 8 Extracción del fouling sobre las conchas de los juveniles de <i>S. limbatus</i> para la determinación de su masa seca. -----	22
Figura. 9 Variación mensual de la temperatura durante los ocho meses de cultivo de los juveniles de <i>S. limbatus</i> . -----	24
Figura. 10 Variación mensual de la salinidad durante los ocho meses de cultivo de los juveniles de <i>S. limbatus</i> . -----	25
Figura. 11 Variación mensual del pH durante los ocho meses de cultivo de los juveniles de <i>S. limbatus</i> . -----	25
Figura. 12 Variación mensual del oxígeno disuelto durante los ocho meses de cultivo de los juveniles de <i>S. limbatus</i> .-----	26
Figura. 13 Variación mensual de los factores ambientales biológicos: SST= seston total, MIP= Materia inorgánica particulada y MOP=Materia orgánica particulada. Durante los ocho meses de cultivo de los juveniles de <i>S. limbatus</i> .-----	27
Figura. 14 Variación mensual de la biomasa fitoplanctónica (Clorofila-a) durante los ocho meses de cultivo de los juveniles de <i>S. limbatus</i> . -----	28
Figura. 15 Variación bimensual de la biomasa de la comunidad incrustante (fouling) sobre las conchas de juveniles de <i>S. limbatus</i> mantenidos en sistemas de cultivo en suspensión en un sistema long line cercanas a la comunidad de Ayangue, provincia de Santa Elena. -----	29

Figura. 16 variación bimensual de la biomasa de la comunidad incrustante (fouling) sobre las conchas de juveniles de *S. limbatus* mantenidos en sistemas de cultivo en suspensión en un sistema long line cercanas a la comunidad de Ayangue, provincia de Santa Elena. -----30

Figura. 17 Variación bimensual en longitud en sus diferentes axis máximos (anterior-posterior, dorsal ventral y entre valvas) en los diferentes tratamientos, del cultivo de los juveniles de *S. limbatus* que se encuentran mantenidos en suspensión en el sistema long-line, Bahía de Ayangue. -----32

Figura. 18 Variación bimensual en biomasa seca del resto de tejidos, musculo y concha de los diferentes tratamientos, en el l cultivo de juveniles de *S. limbatus* que se encuentran mantenidos en suspensión en el sistema long line cercanas a la comunidad de Ayangue, provincia de Santa Elena.-----34

Figura. 19 Variación bimensual de la supervivencia de los organismos en los diferentes tratamientos, en el l cultivo de juveniles de *S. limbatus* que se encuentran mantenidos en suspensión en el sistema long line cercanas a la comunidad de Ayangue, provincia de Santa Elena. -----35

## Resumen

El efecto de la densidad e influencia de los factores ambientales en el cultivo de juveniles de *Spondylus limbatus* se estudió en condiciones de cultivo intermedio en la Bahía de Ayangue, provincia de Santa Elena, Ecuador. Se evaluaron tres densidades de siembra (5, 15, 20 ind/canasta) con una longitud inicial de concha de  $26,92 \pm 2,82$  mm de axis máximo anterior-posterior, en resto de tejidos  $0,39 \pm 0,124$  g y  $0,31 \pm 0,18$  g en masa del musculo. Inicialmente las semillas fueron producidas por los laboratorios de CENAIM-ESPOL a una densidad de 1 organismo/l con alimento a base de la mezcla de 2 especies de microalgas en proporción 2:1 *Chaetoceros gracilis* e *Isocrysis galbana* con una ración diaria de 160,000 cel/ml.

Los juveniles fueron sembrados en canastas básquet net y posteriormente suspendidos en un palangre superficial (long-line) a 2 m de profundidad. El crecimiento en talla y peso de *S. limbatus* fue mayor a la densidad más baja de cultivo del 10% de cobertura de la canasta obteniendo como longitud de concha  $56,71 \pm 1,31$  mm;  $56,25 \pm 0,84$  mm y  $34,77 \pm 3,22$  mm en sus diferentes medidas anterior-posterior, dorsal-ventral y entre valvas. El peso de los tejidos somáticos fue de  $1,14 \pm 0,487$  g y  $1,24 \pm 0,358$  g en resto de tejidos y musculo aductor.

Los resultados y estrategias para el cultivo de *Spondylus limbatus* sugieren un procedimiento de disminución de la densidad de siembra entre 5 a 15 ind/canasta.

Palabras claves: *Spondylus limbatus*, palangre superficial, Bahía de Ayangue, densidad de siembra

### Abstract

The effect of density and influence of environmental factors on the culture of juvenile *Spondylus limbatus* was studied under intermediate culture conditions in Ayangue Bay, province of Santa Elena, Ecuador. Three seeding densities (5, 15, 20 ind / basket) were evaluated with an initial shell length of  $26,92 \pm 2,82$  of maximum anterior-posterior axis, in rest of tissues  $0,39 \pm 0,12$  g and  $0,31 \pm 0,18$  g in muscle mass. Initially the seeds were produced by the laboratories of CENAIM-ESPOL at a density of 1 organism / 1 with food based on the mixture of 2 species of microalgae in a ratio of 2: 1 *Chaetoceros gracilis* and *Isocrysis galbana* with a daily ration of 160,000 cel / ml.

The juveniles were planted in basketball baskets and later suspended in a shallow longline at 2 m depth. The growth in size and weight of *S. limbatus* was greater than the lowest density of culture of 10% of coverage of the basket obtaining as shell length  $56,71 \pm 1,31$  mm;  $56,25 \pm 0,84$  mm and  $34,77 \pm 3,22$  mm in its different measures anterior-posterior, dorsal-ventral and between valves. The weight of the somatic tissues was  $1,14 \pm 0,487$  g and  $1,24 \pm 0,358$  g in rest of tissues and adductor muscle.

The results and strategies for the cultivation of *Spondylus limbatus* suggest a procedure of decreasing the density of sowing between 5 to 15 ind / basket.

Keywords: *Spondylus limbatus*, surface longline, Ayangue Bay, planting density

Efecto de la densidad e influencia de los factores ambientales en el cultivo de juveniles de *Spondylus limbatus* (G. B. Sowerby II, 1847) en sistemas suspendidos en la Bahía de Ayangue. Provincia de Santa Elena.

## El Problema

La especie *Spondylus* para el Pacífico Oriental en todos los países donde es explotado (México, Perú y Ecuador) es considerado como un recurso pesquero con alto valor histórico, cultural, religioso, ecológico y comercial, este último ha tenido un gran impacto en la explotación del recurso de manera desmedida para su uso gastronómico por su carne y en fabricación de artesanías por su colorida y atractiva concha. Actualmente sus bancos naturales se encuentran severamente diezmados en la costa ecuatoriana según datos publicados por el INP 2010- (Viceministerio de Acuicultura y Pesca 2010) y en veda permanente desde el 2006 mediante el acuerdo Ministerial 136 -2006, Subsecretaría de Recursos Pesqueros del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Pesca y Acuicultura de Ecuador, SA-MAGAP. En concordancia con lo comentado anteriormente el gobierno nacional financiado por el MAGAP en un proyecto implementado y desarrollado por el CENAIM-ESPOL, han generado tecnología para la producción de semillas de *Spondylus limbatus* en laboratorio con fines de restauración ecológica, introduciendo organismos al medio ambiente lo suficientemente cerca como para alcanzar estos su talla adulta y que la reproducción sea más eficiente, al de aumentar la densidad de los bancos naturales diezmados. Dentro de la fase de introducción al medio ambiente y durante el desarrollo del protocolo de siembra, se detectaron diferentes problemas como una severa depredación de los juveniles por peces tetraodóntidos, los cuales trituran sus conchas una vez que éstas son sembradas en el fondo sin confinamiento (Márquez et al., 2017). Para dar solución al problema, se mantuvieron los organismos en cultivo durante un periodo de tiempo en el cual se les permita crecer hasta alcanzar una talla de más de 30 mm, talla identificada como resistente a la depredación, y generar una capa de organismos que crecen sobre y dentro de la concha de los juveniles de *S. limbatus* los cuales ayudan a camuflarlos tanto química como visualmente de los depredadores tal como lo sugieren Logan (1974), Bloom

(1975) y Vance (1978). Estas tallas se alcanzan en condiciones de cultivo suspendido, sin embargo, la densidad de siembra, el efecto de la acumulación del *fouling* sobre la concha e influencia de los factores ambientales en el crecimiento de la especie en sistemas de cultivo suspendidos en la comuna de Ayangue es desconocido. Por lo cual identificar el efecto que tiene estas condiciones sobre el crecimiento y supervivencia de los juveniles de *Spondylus limbatus* en la fase intermedia previo a la siembra en el mar como una estrategia para disminuir la depredación es muy importante para determinar la viabilidad de este tipo de cultivo.

### **Título descriptivo del problema**

El presente trabajo tiene como objetivo determinar el efecto de la densidad y factores ambientales sobre el cultivo suspendido en canastas de juveniles de *Spondylus limbatus* en la Bahía de Ayangue, Santa Elena. El cual se realizó en una línea de cultivo experimental (*long-line*) establecida a 300 m de la costa cercanas a la comunidad de Ayangue. Los organismos fueron sembrados a 2 m de profundidad en canastas por triplicado en las diferentes densidades de cobertura del fondo de las canastas 10%, 50% y 75% que corresponden a 5, 10 y 20 organismos respectivamente. Para esto se seleccionaron y midieron 1080 individuos con tallas promedio de 26,92 mm en su axis máximo anterior-posterior.

### **Formulación del problema**

La densidad de siembra para el cultivo de moluscos bivalvos es uno de los principales factores que condiciona su crecimiento y supervivencia y que, si se establece de manera efectiva, según el ritmo de crecimiento y la influencia de los factores ambientales, favorecerá el rendimiento de los organismos en cultivo (Villanueva, 2011). Uno de los principales factores que afecta a los organismos según la densidad es la competencia intraespecífica por alimento y espacio, e interespecífica con los organismos incrustantes que pueden crecer sobre las conchas y/o las

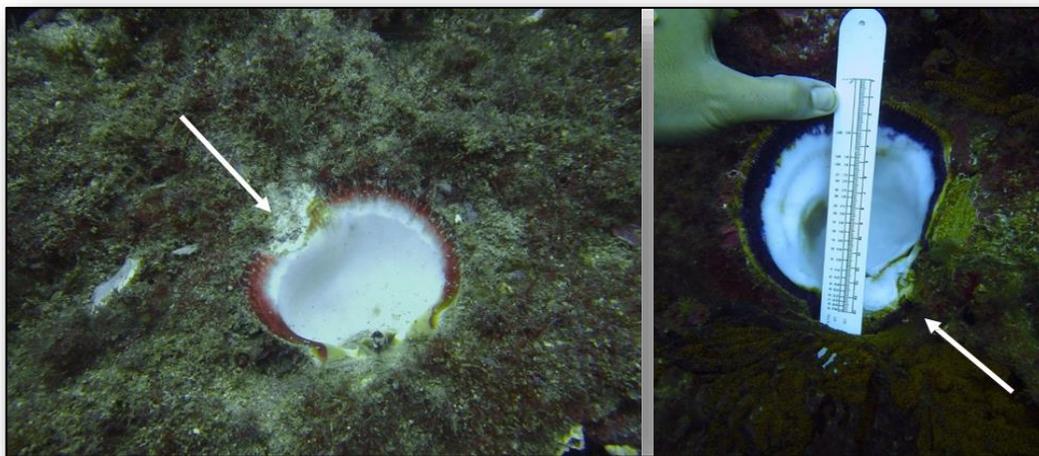
canastas de cultivo lo cual puede afectar negativamente al crecimiento y supervivencia de la especie. Los factores ambientales, especialmente las condiciones limitantes como cambios bruscos de temperatura, baja concentración de biomasa fitoplanctónica, bajos niveles de oxígeno, alta carga de sólidos suspendidos, e inclusive cambios en la salinidad o pH pueden afectar el desarrollo de cultivos de moluscos bivalvos en el mar. Por lo tanto, que conocer las condiciones ambientales dominantes durante el desarrollo del cultivo permite determinar las variables ambientales que pueden tener efecto directo sobre el crecimiento y supervivencia de moluscos bivalvos en cultivo suspendido (Lodeiros et al., 2001).

## Introducción

A nivel americano *Spondylus* (Mollusca: Bivalvia) es el género con mayor importancia histórica, cultural y religiosa. Este género ha jugado un papel importante desde tiempos prehistóricos, no solo como recursos históricos sino también en asuntos políticos y económicos en la población de América, en particular para las culturas mesoamericanas y andinas (Paulsen 1974, Marcos 2005, Lodeiros et al 2016,). Sin embargo, a partir de una renacida importancia en los años 90 y de la mala interpretación del término “el alimento de los dioses” varias especies de *Spondylus*, se hicieron populares gastronómicamente y como artículos de joyería, convirtiéndose en productos marinos con alta demanda, especialmente a lo largo de las costas de México, Ecuador y Perú. Este incremento desmedido de su extracción ha llevado a las diferentes especies de *Spondylus*, tales como: *S. crassisquama* (Lamarck, 1819), *S. limbatus* (Sowerby, 1847), *S. gloriosus* (Dall, Bartsch & Rehder, 1938) y *S. leucacanthus* (Broderip, 1833) a ser catalogados como sobreexplotados, promoviendo estudios sobre sus poblaciones que reflejan la severidad de su agotamiento.

Los reportes del INP en el 2010 muestran densidades de menos de 1 individuo en 100 m<sup>2</sup> para la provincia de Santa Elena (Viceministerio de Acuicultura y Pesca, 2010). Más recientemente, el CENAIM-ESPOL en muestreos más exhaustivos en la reserva marina del islote el Pelado, reporta densidades cercanas a 3 individuos en 100 m<sup>2</sup> (Sacha Esteiner, CENAIM-ESPOL, 2017, datos por publicar), dejan en evidencia un escenario alarmante, debido especialmente a que esta zona se caracterizaba, según los pescadores locales, como abundante en *Spondylus*. Por ello, se genera la hipótesis de la no recuperación de los stocks naturales por si solos mediante una veda, ya que las densidades de las poblaciones han caído por debajo del umbral de densidad mínima, como se ha observado para otras especies de scallops con tasas de fecundidad similares (Mackenze et al., 2011). A este hecho se suma la asincronía en la reproducción entre las poblaciones, su modo de

vida sésil, la distancia entre los organismos, el efecto de Alle y la pesca furtiva (la cual aún persiste, Figura 1), que disminuyen las posibilidades de mantener tasas de reclutamientos positivas y necesarias para la recuperación de la especie, a pesar de que existen restricciones a su pesca desde principios del presente siglo, como se evidencia en México (SEMARNAT, 2001). Por su parte, en Ecuador se evidencia la desaparición de la especie como un rubro comercial, lo que ha propiciado la entrada en vigencia de una veda permanente (Acuerdo Ministerial 136 -2006, Subsecretaría de Recursos Pesqueros del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Pesca y Acuicultura de Ecuador, SA-MAGAP- actual MAP). La misma estará establecida hasta que existan estudios científicos de población y aprovechamiento que sustenten las medidas de ordenamiento para establecer una pesca responsable, por lo que las regulaciones pesqueras que aplican las iniciativas de conservación para estas especies son pocas.



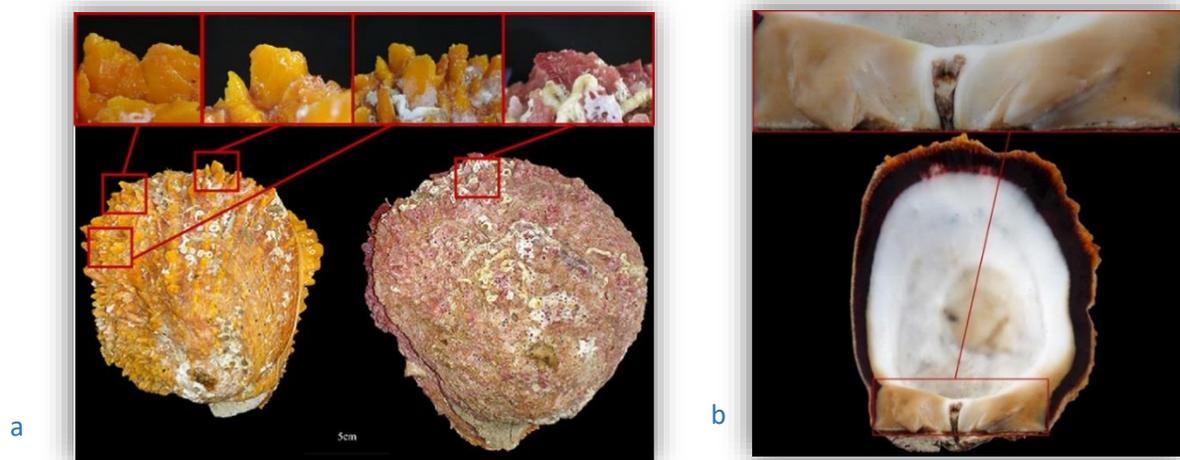
**Figura. 1** Conchas de *Spondylus limbatus* adultos, las flechas indican donde se rompió la concha para su extracción.

Otro punto importante ante la latente desaparición de la especie *S. limbatus*, es la pérdida por degradación de los hábitats que ocupa, debido a la contaminación, aumento de la sedimentación y disminución del pH oceánico (Airoldi et al., 2008).

Hay especies en ambientes marinos con roles que van más allá de interacciones funcionales directas como la alimentación o la competencia, como lo deja en evidencia Mackenzie et al., (2012), en estudios sobre la concha *Spondylus crassisquama* en la provincia de Esmeraldas. Allí, esta especie constituye una especie clave en las comunidades donde está presente, en términos de biodiversidad y funcionamiento del sistema ecológico, particularmente proporcionado un hábitat único y rico en biodiversidad. Ello destaca que la función de las espinas está más relacionada con atraer epibiontes para asentarse y así servir de camuflaje para la especie (Feifarek, 1987; Carlson Jones, 2003), que sería una defensa directa contra depredadores (Zavarei, 1973; Logan, 1974). Esto sugiere un mutualismo entre *Spondylus* y las especies asociadas, donde los epibiontes hacen uso de las corrientes creadas por los organismos que se alimentan por filtración (como *S. crassisquama*), teniendo un mejor acceso a los alimentos (Forester, 1979; Laihonon y Furman, 1986; Wahl, 1989). Un ejemplo clásico con este modo de vida serían los cirrípedos que se encuentran en las conchas y al mismo tiempo, estos organismos incrustantes ocultan las conchas de *Spondylus* de los sentidos táctiles y químicos de los depredadores (Logan, 1974; Bloom, 1975; Vance, 1978).

En concordancia con lo anterior expuesto, el CENAIM-ESPOL con financiamiento del MAGAP, ha realizado esfuerzos para desarrollar tecnología de producción de juveniles de *S. limbatus*, quien posee una distribución Pantropical desde Baja California Sur (25.0 N), en el Golfo de California, hasta Caleta Mero, Tumbes, Perú (3.9 S), encontrándose a profundidades variables hasta 55 m (Coan y Valentich-Scott, 2012). Algunas de sus características principales para distinguirlos de otras especies de *Spondylus*, se basan en las diferentes coloraciones de los dientes de bisagra en la valva izquierda son de color marrón (banda de color interna generalmente alrededor de todo el margen, Figura 2 a), espinas irregulares y espaciadas (Figura 2 b); algunos organismos no poseen

espinas en especial los más grandes; la longitud máxima es de 250 mm. Durante los años 2012 y 2015 se desarrollaron diferentes experimentos (biología básica y técnicas de cultivo) para el desarrollo de protocolos de producción de juveniles con miras a restaurar sus bancos naturales (Loor et al., 2016), develando su comportamiento atípico en la iniciación de la fase bentónica en el ciclo de vida y sus implicaciones para la acuicultura, haciendo posible producir masivamente organismos para la siembra en el mar.



**Figura. 3** Conchas de *Spondylus limbatus* adultos a. detalle de la zona de la bisagra y b. detalle de la coloración y forma de las espinas.

El uso de técnicas de acuicultura para el desarrollo de programas de restauración y mejoramiento de las poblaciones naturales, son alternativas prometedoras para la recuperación de especies de *Spondylus*. Recientemente se han alcanzados avances significativos en la producción de larvas y semilla en criaderos en México y particularmente en Ecuador. Estos logros potencian la posibilidad de creación de programas de conservación periódicos y sostenibles en el tiempo. Para ello, se requiere generar información sobre el crecimiento en las etapas intermedias o de cultivo en confinamiento de la especie, de la cual no existe información y entendiendo que es una de las etapas identificadas como fundamentales para el desarrollo de programas de repoblamiento, ya

que en ensayos previos se ha observado una depredación importante en juveniles de menos de 3 cm de longitud anterior posterior, especialmente por peces del orden Tetraodontiformes, que poseen dientes a modo de placas que son capaces de romper las conchas, en especial los juveniles provenientes del laboratorio, los cuales están desprovistos de la capa natural de epibiontes, que los camufle en el medio ambiente natural (Márquez et al., 2017).

Dentro de un medio de cultivo hay diferentes tipos de factores que son imprescindibles en una producción, y que hay que tener un control sobre ellas para evitar sucesos no deseados, Lodeiros et al., (2001) afirma que los estudios de monitoreo de los factores ambientales en la naturaleza son fundamentales, así como el análisis del crecimiento somático, reproductivo y la supervivencia de los organismos para estimar la influencia de los factores ambientales en la poblaciones naturales o cultivadas.

Cabe destacar que los “factores ambientales de las aguas de la costa ecuatoriana son muy variables dado su enclave con el trópico y los diferentes fenómenos que confluyen en ella como los eventos de surgencia e interacción entre corrientes” (MAGAP, 2016, p. 19). La densidad de siembra es uno de los factores de gran importancia a determinar dentro de un cultivo ya que si se establece de manera efectiva se conoce el ritmo de crecimiento de la población y favorecerá a la obtención de un buen cultivo (Villanueva, 2011).

En el presente estudio se evaluó el crecimiento y la supervivencia de juveniles de *S. limbatus* provenientes del Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas, en la localidad de San Pedro de Manglaralto, provincia de Santa Elena, Ecuador, en relación con la variabilidad de factores ambientales en la zona, como una fase intermedia de cultivo para favorecer la colonización de epibiontes y endobiontes previos a su siembra en el fondo rocoso marino y liberación.

## Marco teórico

**Clasificación taxonómica de *Spondylus calcifer* está ubicado bajo la siguiente clasificación (Keen, 1971):**

Phyllum: Mollusca

Clase: Pelecypoda

Subclase: Pteriomorphia

Orden: Pterioida

Superfamilia: Pectinacea

Familia: Spondylidae

Género: *Spondylus*

Especie: *Spondylus calcifer* (Carpenter, 1857)

Las sinonimias de *Spondylus calcifer* son: *S. limbatus* (Sowerby, 1856), *S. radula* (Reeve, 1985) y *S. smithi* (Fulton, 1915). Actualmente existe controversia sobre su nomenclatura ya que algunos autores sugieren un cambio de nombre a *Spondylus limbatus* (Coan & Valentich-Scott, 2008), sin embargo, hasta que no haya una definición por parte del Código Internacional de Nomenclatura Zoológica se considera correcto mantener el nombre de *S. calcifer* (Cota-Hernández, 2011). (Citado en Vega, 2011, p 12)

## **Descripción**

“*Spondylus limbatus* es la especie más grande de los *Spondylus*, generalmente mide unos 150 mm de talla máxima de la concha, pero puede llegar a tallas de 250 mm, habita en fondos rocosos o pedregosos, y aunque se le puede encontrar en la zona intermareal baja, frecuentemente se encuentra en la zona submareal, hasta 40-55 m de profundidad” (MAGAP, 2016, p. 12). “Su peso total puede ser de hasta 3lb (1.36 kg) o más (Fabara, 2008), las partes blandas alcanzan hasta 122 g del peso total y el músculo abductor o “callo”, puede alcanzar hasta el 55% del peso de las partes blandas (Villalejo-Fuerte & Muñetón-Gómez, 2002)” (Citado en Vega, 2012, p.13).

## **Ciclo de vida y reproducción**

El ciclo reproductivo de esta especie en la zona de Ayangué provincia de Santa Elena es durante todo el año mostrando picos en los meses de octubre y diciembre cuando la temperatura es baja y la concentración de clorofila es alta (Mackensen, 2011). “La especie *Spondylus limbatus* es de sexos separados, gonocórica o dioica (Villalejo Fuerte et al. 2002)” (Citado en MAGAP, 2016, p.18), esta especie puede alcanzar la madurez sexual entre los 2,5 y 4 años de edad y vivir al menos 12 años (Cudney-Bueno & Rowell, 2008).

Estos organismos expulsan sus gametos en la columna de agua y la fertilización es externa (Parnell, 2002). Las larvas nadan libremente y forman parte de la fauna planctónica donde permanecen sujetas a las corrientes durante sus primeras etapas de desarrollo por aproximadamente 15 días (bajo condiciones de laboratorio) (Soria et al., 2010) (Citado en Vega, 2012, p.14). La vida larvaria finaliza con el asentamiento de la “pedil larva” al sustrato, y la metamorfosis la cual puede durar hasta 90 días reptando en búsqueda de un sustrato adecuado para asentarse (Loor et al., 2016), periodo en el cual las larvas dejan de reptar con el pie muscular para comenzar su desarrollo hacia un organismo adulto.

Es una especie con una fecundidad alta de 2.9 a 35 millones de huevos (Mackensen, 2011) y el número total de ovocitos producidos está positivamente relacionado con la talla de los individuos reproductores, el diámetro promedio de los ovocitos es de 56  $\mu\text{m}$  (Soria et al., 2010) (Citado en Vega, 2012, p.14).

## Viabilidad del proyecto

Muchas de las causas de mortandad dentro de un cultivo de moluscos se deben a ciertos parámetros endógenos y exógenos del medio que de una u otra manera afectan a los organismos. Dentro de este estudio se propone investigar la densidad de siembra a la que deben ser sometidos los juveniles de *S. limbatus* y los factores ambientales que influyen en el crecimiento y supervivencia de los organismos en condiciones de cultivo suspendido en canastas. Otro punto importante que se evalúa es la cantidad de *fouling* que se deposita sobre las conchas de los individuos y su influencia en el crecimiento. En la actualidad existen varios trabajos de investigación sobre la densidad de siembra de diferentes organismos filtradores (moluscos). Osuna (2006) evaluó el efecto de la densidad de cultivo de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* (Sowerby, 1835) en dos localidades de México. Este autor probó tres tipos de densidades (40, 60 80%) considerando como variables de respuesta el crecimiento en tallas de la concha, el peso, el índice de rendimiento muscular y la supervivencia, obteniendo como resultados una mayor supervivencia en la menor densidad (40%) y un mayor crecimiento del callo. Este tipo de trabajos de investigación se realizan con el fin de conocer el ritmo de crecimiento de los organismos en condiciones de cultivo suspendido, así como el efecto de la densidad, la influencia de los factores ambientales y la deposición del *fouling* con la intención de desarrollar técnicas de cultivo en el mar optimizadas para el cultivo de juveniles de *S. limbatus*.

## Justificación

Actualmente está en marcha un plan de repoblamiento mediante el cual se está generando tecnología para la siembra sin confinamiento de juveniles de *S. limbatus*, por lo tanto, uno de los principales retos a superar ha sido la depredación (Márquez et al., 2017). Se ha determinado que las especies de peces del orden Tetraodontiformes representan un factor importante en términos de depredación para *Spondylus*, ya que se caracterizan por tener dientes a modo de placas con los que pueden romper conchas como las de juveniles de *S. limbatus* de menos de 30 mm (longitud dorsal-ventral). No obstante, en pruebas de siembras con organismos de más de 35 mm se pudo constatar que resultaban menos afectados por depredación que cuando se sembraban organismos de menor talla. Estudios sobre la biología y ecología de las especies en hábitats naturales de *Spondylus* son escasos, aunque se han realizado investigaciones sobre la estructura de la capa exterior y taxonómica de los epibiontes y endobiontes de la concha (Zavarei 1973, Logan 1974, Feifarek 1987, León González 1988; León-González et al., 1993, Castro-Aguirre et al., 1996, Mienis 2001, Carlson Jones 2003, Linero-Arana y Diaz-Diaz, 2006). En consecuencia, el aparente mutualismo entre *Spondylus* y los organismos que habitan en su concha se presenta como una ventaja que permiten implementar una alternativa de cultivo previa a la introducción en las áreas de repoblamiento. Esta capa de epibiontes se logró formar hasta cubrir más del 50% de la superficie de la concha en 2 meses en cultivo confinado, permitiendo así la siembra de organismos en el fondo marino con supervivencia de hasta un 60%.

El presente trabajo forma parte de la tecnología complementaria al manual sobre la producción de semillas en laboratorios de *S. limbatus*, optimizando las técnicas de cultivo intermedio en condiciones suspendidas en el mar de juveniles de *S. limbatus* y específicamente la determinación de las densidades de siembra más apropiadas, así como la influencia de las diferentes condiciones

ambientales, asociados al tipo de cultivo, garantizando una mejor producción de juveniles dentro del programa de repoblamiento de la especie.

## Objetivos

### Objetivo general

- Evaluar el efecto de la densidad e influencia de los factores ambientales en el cultivo de juveniles de *S. limbatus* en sistemas suspendidos.

### Objetivos específicos

- Determinar el crecimiento y supervivencia de *S. limbatus* con diferentes densidades de 10%, 50% y 75% de la cobertura del fondo de la canasta, en condiciones de cultivo suspendido en la zona de Ayangue, Península de Santa Elena.
- Monitorear los factores ambientales bióticos y abióticos en la zona de cultivo (temperatura, salinidad, seston y clorofila *a* y *fouling*).
- Establecer la influencia de factores ambientales en el crecimiento y la supervivencia de *S. limbatus*.

## **Hipótesis**

La densidad de siembra, los factores biológicos, y los parámetros físicos-químicos presentes durante el ciclo de cultivo suspendido, modulan el crecimiento y supervivencia en juveniles de *Spondylus limbatus* en la Bahía de Ayangue, península de Santa Elena, Ecuador.

## Materiales y métodos

### Recolecta y siembra de semillas

Las "semillas" o juveniles de *S. limbatus* fueron producidas por los laboratorios del CENAIM-ESPOL durante el desarrollo del proyecto intitulado “Producción en Laboratorio de Semilla de la Concha *Spondylus sp.* para la repoblación en la zona del Isote el Pelado provincia de Santa Elena, Ecuador”. Las mismas fueron mantenidas en condiciones de laboratorio (Figura 3) a una densidad de 1 organismo/L en tanques de 300L de capacidad con alimento mezcla de 2 especies de microalgas 2:1 *Chaetoceros gracilis* e *Isocrysis galbana*, con una ración diaria de 160,000 cel/ml que equivale al 5% de la biomasa seca de los organismos en biomasa seca de las microalgas (Millican & Helm, 1994).



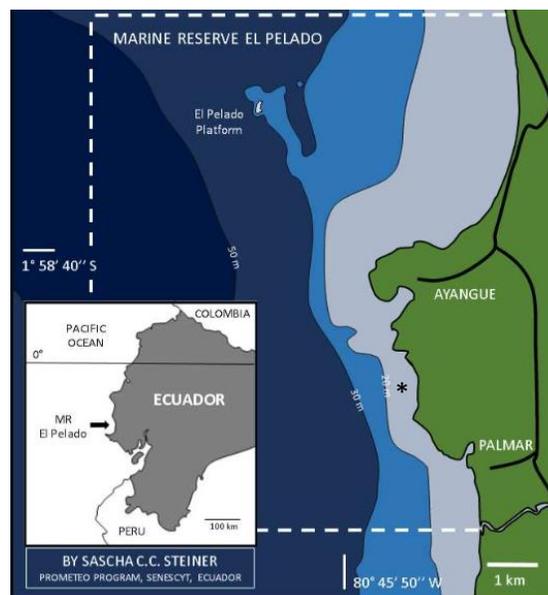
**Figura. 3** Tanques de cultivo de juveniles de *S. limbatus* en los laboratorios de molusco de CENAIM-ESPOL.

Las semillas fueron sembradas en canastas marca Hexcyl (básquet net), las cuales se les delimitó el área utilizable a 21 cm de ancho por 27 cm de largo por 14 cm de alto, 567cm<sup>2</sup> las cuales tienen una luz de malla de 1,5 cm (Figura 4). Estas canastas fueron mantenidas en suspensión en un palangre superficial ("long line") a 2 m de profundidad cercanas a la comunidad de Ayangue, Provincia de Santa Elena (Figura 5, 1°59'16.6"S 80°45'36.2"W). Las 3 densidades fueron establecidas según el área de cobertura del fondo de la canasta determinado por la talla inicial de

los organismos ( $26,92 \pm 2,82$  mm de axis máximo anterior posterior) resultando un total de 5 organismos para una cobertura total del 10%, 15 organismos para el 50% y 20 organismos para el 75%, los cuales fueron establecidos por triplicados. Se evaluó inicialmente una muestra de 20 semillas para estimar las tallas iniciales del cultivo.



**Figura. 4** Elementos de confinamiento de juveniles de *S. limbatus*



**Figura. 5** Zona de la comuna de Ayangue, península de Santa Elena, Ecuador. El Asterisco señala la posición de la línea de cultivo

## Crecimiento y supervivencia

La evaluación del crecimiento y la supervivencia de los organismos se estimaron cada 2 meses, para esto cada mes se sustrajeron aleatoriamente 3 réplicas de cada uno de los tratamientos de cultivo. Se determinó la talla de todos los organismos así seleccionados, midiendo las dimensiones de la concha con un vernier digital Mytutoyo (0,01 mm de precisión), según el largo (distancia máxima antero-posterior) y el ancho (distancia máxima entre las valvas) (Figura. 6). Aparte de ello, se determinó la biomasa seca disecando cada organismo para obtener el músculo, restos de tejido y concha (Figura. 7) para posteriormente someterlos a un tratamiento de deshidratación (60-70 °C/72 h) y pesarlos en una balanza digital (Miller modelo Toledo de 0,001 g de precisión). La supervivencia se evaluó cada 2 meses mediante el recuento de los ejemplares vivos en los tratamientos de cultivo.

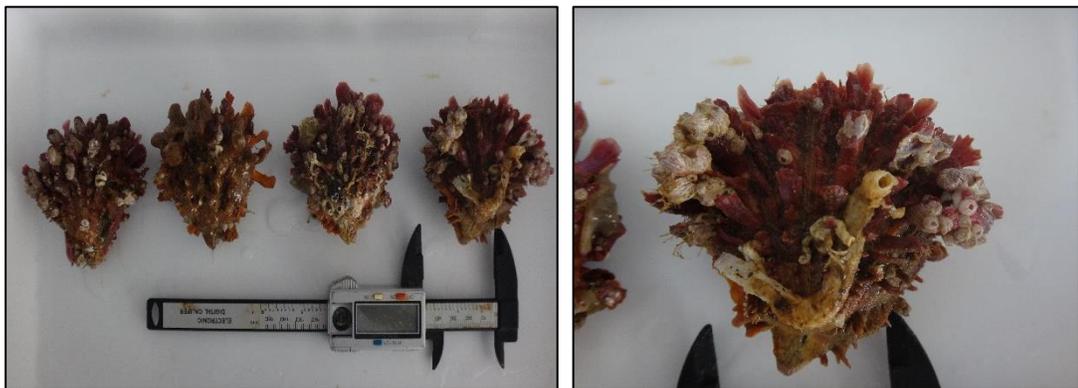


Figura. 6 Medidas de la longitud de concha de los juveniles de *S. limbatus*



Figura. 7 Extracción de los tejidos blandos y músculo aductor de los juveniles de *S. limbatus*

## Factores ambientales

Con una periodicidad semanal se midieron los siguientes parámetros ambientales que pueden influir en el crecimiento y la supervivencia de *S. limbatus*. La temperatura se determinó continuamente, con medidas cada 60 min, utilizando un termógrafo electrónico (Hobo, Data Logger Pro.V2). Se realizaron tomas de agua en el lugar donde se estableció el sistema de cultivo; con una botella Niskin (5 L de capacidad) transfiriéndolas a un contenedor plástico opaco para ser transportadas al laboratorio; previamente el agua fue filtrada a través un tamiz de 153  $\mu\text{m}$ , en función de eliminar macroplankton; posteriormente, 1 L se filtró al vacío con un equipo millipore, a través de filtros Whatman GF/F (0,7  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro) para concentrar el material suspendido; dicho material fue lavado con agua destilada y los filtros se deshidrataron a 60 °C/24 h, para determinar el seston total mediante métodos gravimétricos, se utilizaron filtros Whatman GF/C (1,2  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro), luego tras la incineración de los filtros a 450 °C/2 h en una mufla, se determinó su fracción inorgánica y por diferencia de pesos entre el total y la fracción inorgánica, se determinó la fracción orgánica. La biomasa fitoplanctónica se estimó mediante la concentración de clorofila *a* utilizando el método espectrofotométrico (Strickland &Parsons, 1972).

Para determinar el oxígeno disuelto y la salinidad se tomaron muestras de agua en el sitio de cultivo, la salinidad utilizando un refractómetro Atago S/Mill: 0-100‰, el oxígeno disuelto mediante un oxigenómetro (Marca y modelo). El “fouling”, considerado como material y organismos epibiontes fijados a la concha del bivalvo y sobre la canasta, se consideró como otro factor biótico ambiental y fue extraído de la concha para determinar su masa seca (Figura. 8) mediante un tratamiento de deshidratación a 60-70 °C por 48h. Las canastas fueron secadas por 72 horas a 60 °C y pesadas con el fouling para luego ser retirado y pesado nuevamente obteniendo por la diferencia de peso del material sobre las canastas.



**Figura. 8 Extracción del *fouling* sobre las conchas de los juveniles de *S. limbatus* para la determinación de su masa seca.**

### **Análisis estadísticos**

Previo utilización de los estadísticos paramétricos, se determinó la normalidad y homogeneidad de varianzas en función de cumplir los supuestos para la utilización de los mismos. Para la evaluación del crecimiento en todos sus parámetros (dimensión de la concha, masa seca del músculo, resto de tejido y de la concha) se les aplicará un análisis de varianza de una vía (ANOVA I) al final del experimento. En los casos donde se encuentren diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Para estimar la condición de los organismos a las diferentes densidades se realizaron regresiones de la longitud de la concha vs. la masa de los tejidos, utilizando todos los organismos. Se contrastaron las pendientes de cada una de las regresiones para cada uno de los tratamientos, a través de pruebas de comparación de las pendientes. De manera similar, para estimar la condición de los organismos en los diferentes tratamientos se realizaron regresiones de la longitud de la concha y la masa de los compartimientos (músculo, tejido y concha) utilizando todos los organismos. La pendiente de cada una de las regresiones será contrastada para cada uno de los tratamientos a través de pruebas de comparación de pendientes, de acuerdo con Zar (2010).

Para la evaluación del efecto de los factores ambientales en el crecimiento, se determinó la tasa diaria específica de crecimiento (división del incremento entre muestreos contiguos y dividido por

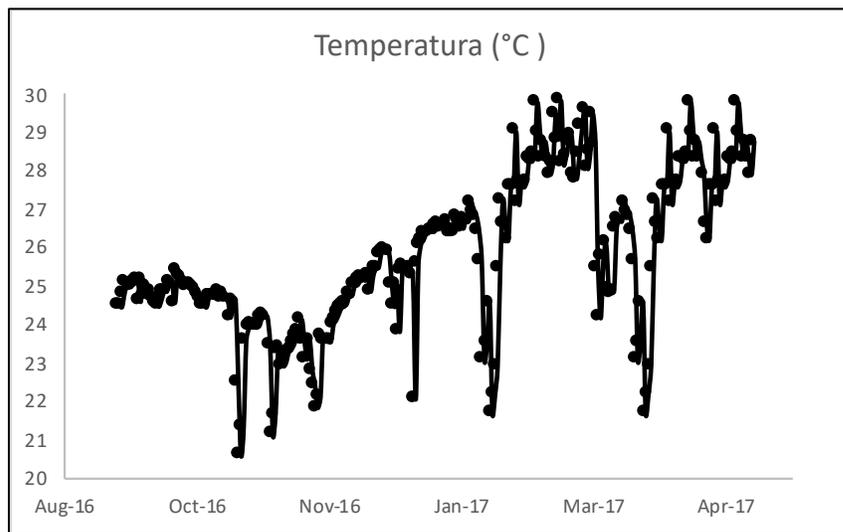
el número de días de dicho periodo) de las dimensiones de concha, su peso y el de los tejidos de los juveniles de *S. limbatus*, contrastando como variables dependientes y los factores ambientales (variables independientes).

## Resultados

### Factores ambientales

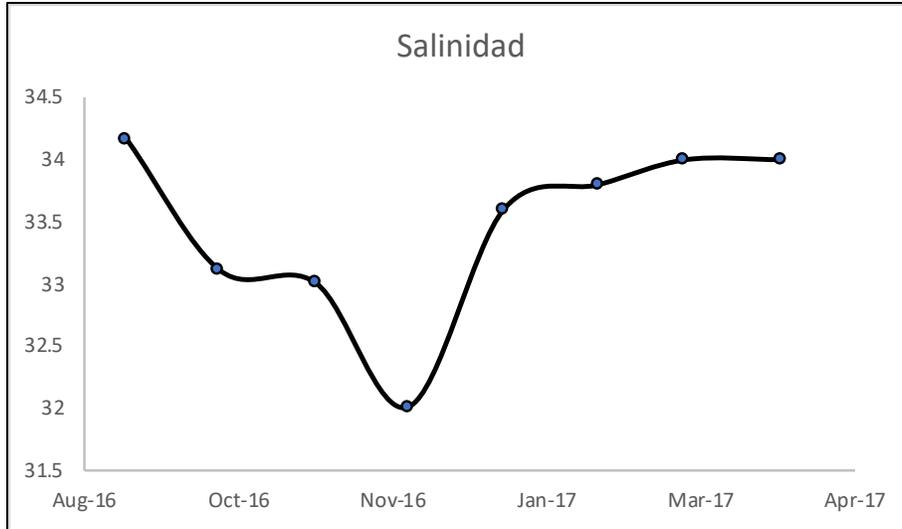
#### Factores físicos-químicos

Durante los ocho meses de cultivo los juveniles de *Spondylus limbatus*, la temperatura registro aguas más frías durante la época de agosto 2016 hasta enero de 2017 observando las mediciones de temperaturas más bajas (20,60°C) durante los meses de febrero a abril de 2017, se registraron las temperaturas más altas de 29,82°C y con un promedio general de 25,38 °C. Se pudo evidenciar una alta variabilidad interdiaria a lo largo del estudio (Figura. 9).



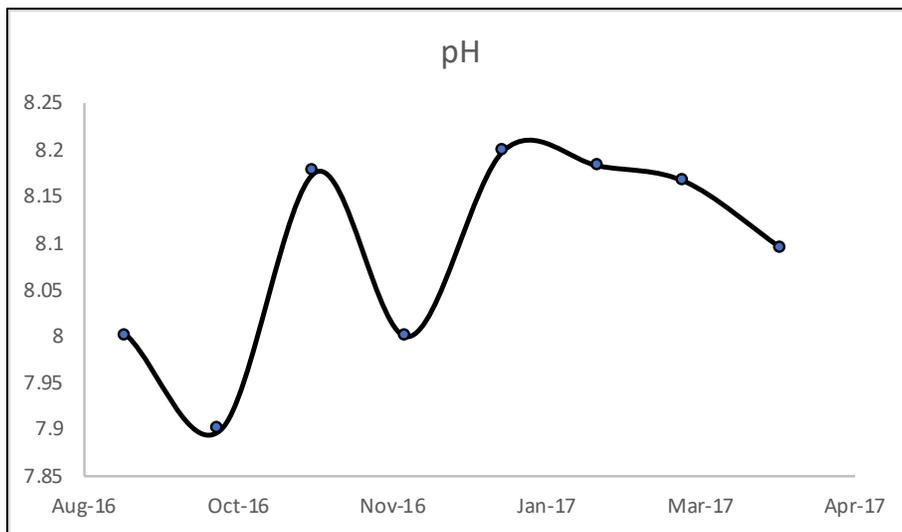
**Figura. 9** Variación mensual de la temperatura durante los ocho meses de cultivo de los juveniles de *S. limbatus*.

La salinidad (Figura.10) mostró una baja variabilidad a lo largo del estudio con un promedio de 32,18 UPS, presentando valores altos (34,15 UPS) a inicios del mes de septiembre, y dos descensos en la salinidad durante los meses de diciembre (2016) a enero (2017).



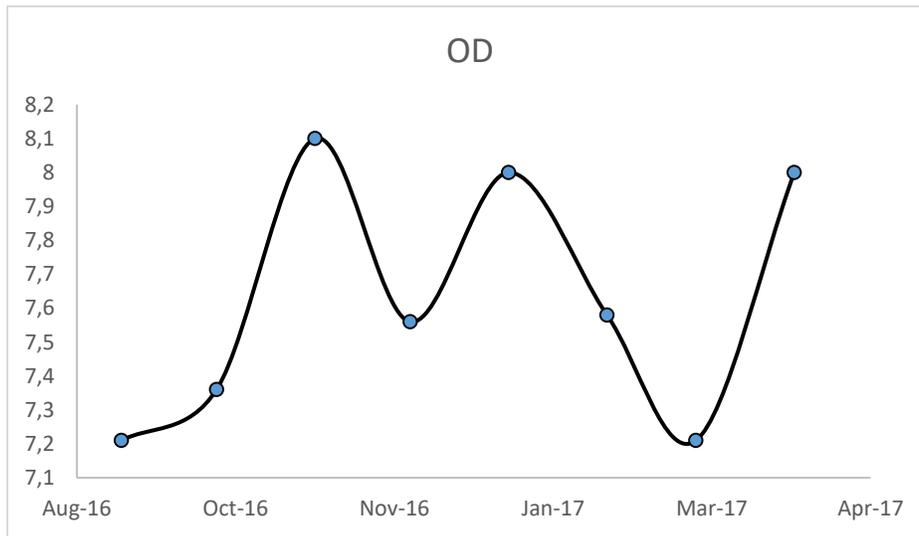
**Figura. 10** Variación mensual de la salinidad durante los ocho meses de cultivo de los juveniles de *S. limbatus*.

El promedio de pH (Figura.11) en el medio de cultivo fue de 8,09 UpH, registrándose el valor mínimo en el mes de octubre del 2016 con 7,9 UpH y el máximo en el mes de enero del 2017 con valores de 8,2 UpH, los cuales representan una baja variabilidad en el ambiente.



**Figura. 11** Variación mensual del pH durante los ocho meses de cultivo de los juveniles de *S. limbatus*.

La concentración de oxígeno (Figura. 12) se mantuvo por encima de los 7 mg/l en el medio de cultivo, observándose valores promedios de 7,62 mg/l, obteniendo valores máximos en el mes de noviembre del 2016 de 8,1 mg/l y mínimos en el mes de marzo del 2017 de 7,21 mg/l.

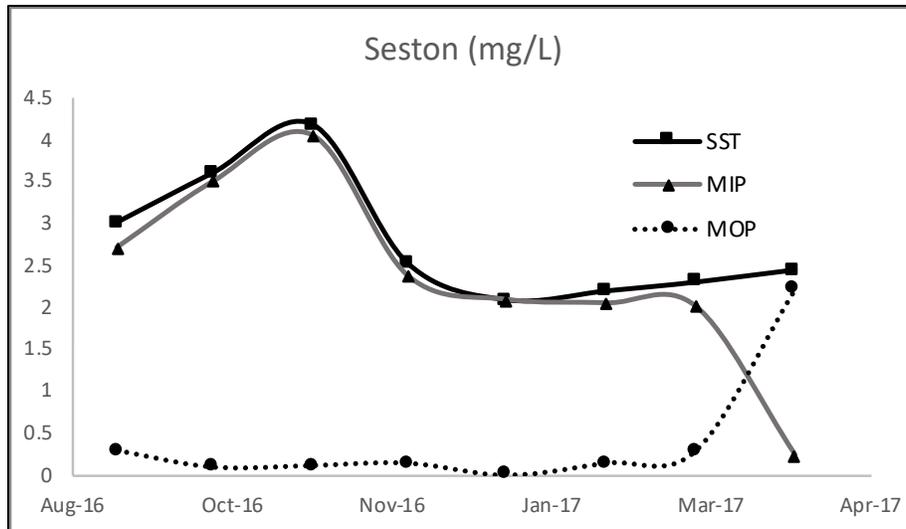


**Figura. 12 Variación mensual del oxígeno disuelto durante los ocho meses de cultivo de los juveniles de *S. limbatus*.**

### **Factores biológicos**

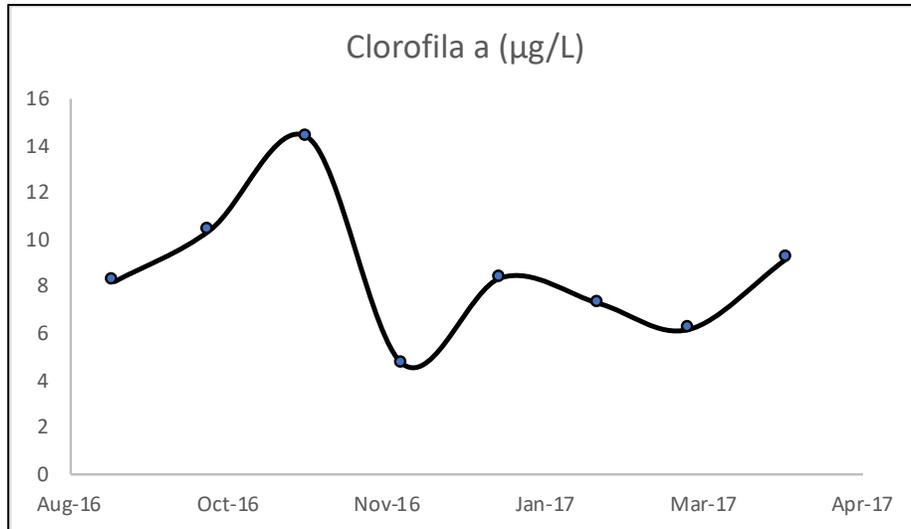
En la figura 12 se muestran los valores del seston total que abarcan la materia orgánica e inorgánica particulada y sólidos suspendidos totales. Para el mes de abril (2017) se presentó una mayor concentración de la materia orgánica particulada de 2,21 mg/L y el menor en el mes de enero (2017) de 0,0026 mg/L. Mientras que la materia inorgánica particulada presentó una mayor concentración en el mes de octubre (2016) con valores de 4,055 mg/L y el menor en el mes de abril (2017) de 0,22 mg/L.

Para sólidos suspendidos totales (SST) presentó valores máximos en el mes de octubre (2016) de 4,175 mg/L y mínimos de 2,088 mg/L en el mes de enero (2017).



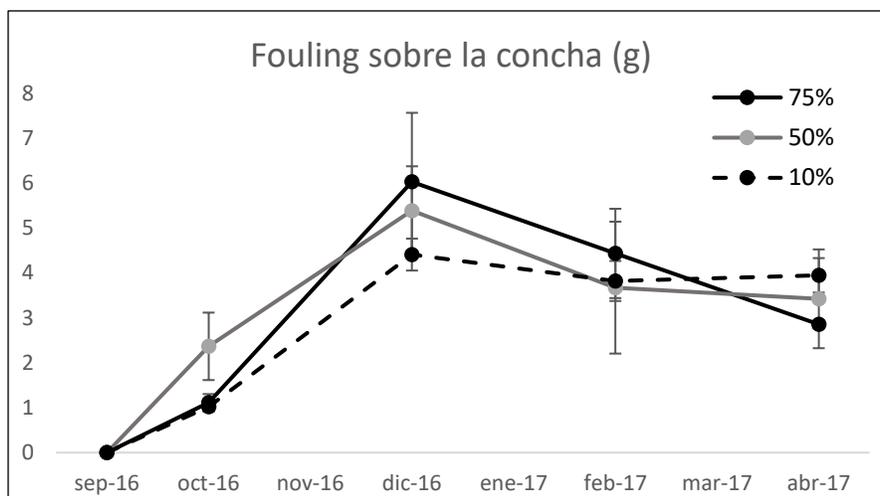
**Figura. 13** Variación mensual de los factores ambientales biológicos: SST= seston total, MIP= Materia inorgánica particulada y MOP=Materia orgánica particulada. Durante los ocho meses de cultivo de los juveniles de *S. limbatus*.

Las concentraciones de biomasa fitoplanctónicas (Clorofila *a*, figura. 13) al compararlas con el comportamiento de la temperatura podemos ver una correlación inversa en la cual en los meses de menor temperatura se observó mayor biomasa fitoplanctónica y en la época de aguas más calientes menor biomasa. En cuanto seston se puede observar que existe una relación entre la concentración de materia inorgánica particulada, la materia total y la concentración de clorofila *a* presente en el medio durante el desarrollo del cultivo, observándose concentraciones siempre mayores a 4  $\mu\text{g/l}$  con registros de máximos de 14,37  $\mu\text{g/l}$  en el mes de noviembre del 2016.



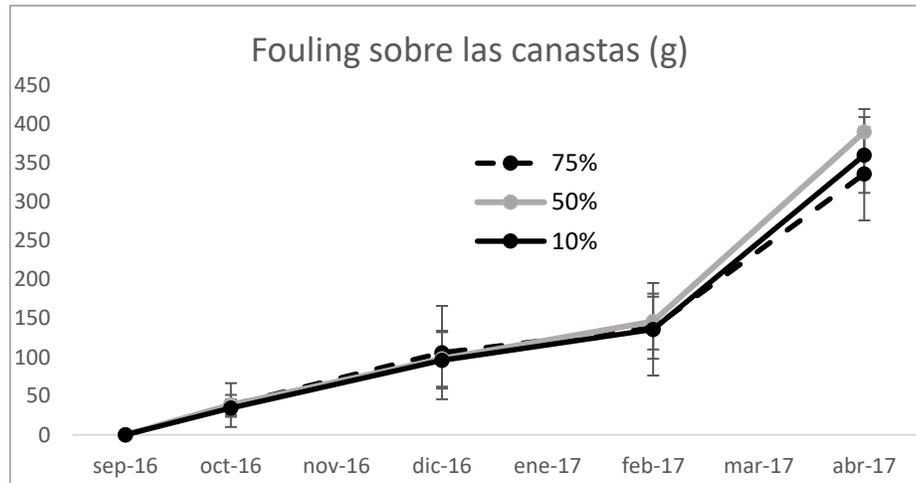
**Figura. 14** Variación mensual de la biomasa fitoplanctónica (Clorofila-*a*) durante los ocho meses de cultivo de los juveniles de *S. limbatus*.

Los valores del *fouling* mostraron un incremento pronunciado desde el inicio del experimento hasta el mes de diciembre alcanzando los valores máximos de  $6 \pm 0,98$  g promedio para los organismos en las canastas el 75% de cobertura,  $5,03 \pm 9,98$  para las canastas de 50% de cobertura y  $4.4 \pm 0,35$  g para 10% de cobertura. Posterior a este máximo, hubo una disminución en la biomasa seca acumulada durante los meses restantes, no encontrándose diferencias significativas de la biomasa seca del *fouling* (ANOVA,  $p > 0,05$ ) entre densidades al final del experimento (Figura. 14).



**Figura. 15** Variación bimensual de la biomasa de la comunidad incrustante (*fouling*) sobre las conchas de juveniles de *S. limbatus* mantenidos en sistemas de cultivo en suspensión en un sistema long line cercanas a la comunidad de Ayangue, provincia de Santa Elena.

El *fouling* sobre las canastas (Figura.15) mostraron un patrón similar para todas las densidades probadas con un incremento leve hasta el mes de febrero 2017, momento en el cual se incrementa la deposición de biomasa seca del *fouling* sobre las canastas de cultivo suspendido hasta el final del ensayo alcanzando máximos para los tratamientos de 75% de cobertura de los organismos de la superficie de la canasta de  $390 \pm 29.3$ g de biomasa seca,  $360 \pm 48.2$ g para el tratamiento del 50% y  $336 \pm 60.3$ g para los de menos cobertura 10%.



**Figura. 16** variación bimensual de la biomasa de la comunidad incrustante (*fouling*) sobre las conchas de juveniles de *S. limbatus* mantenidos en sistemas de cultivo en suspensión en un sistema long line cercanas a la comunidad de Ayangué, provincia de Santa Elena.

## Crecimiento

### Longitud de la concha

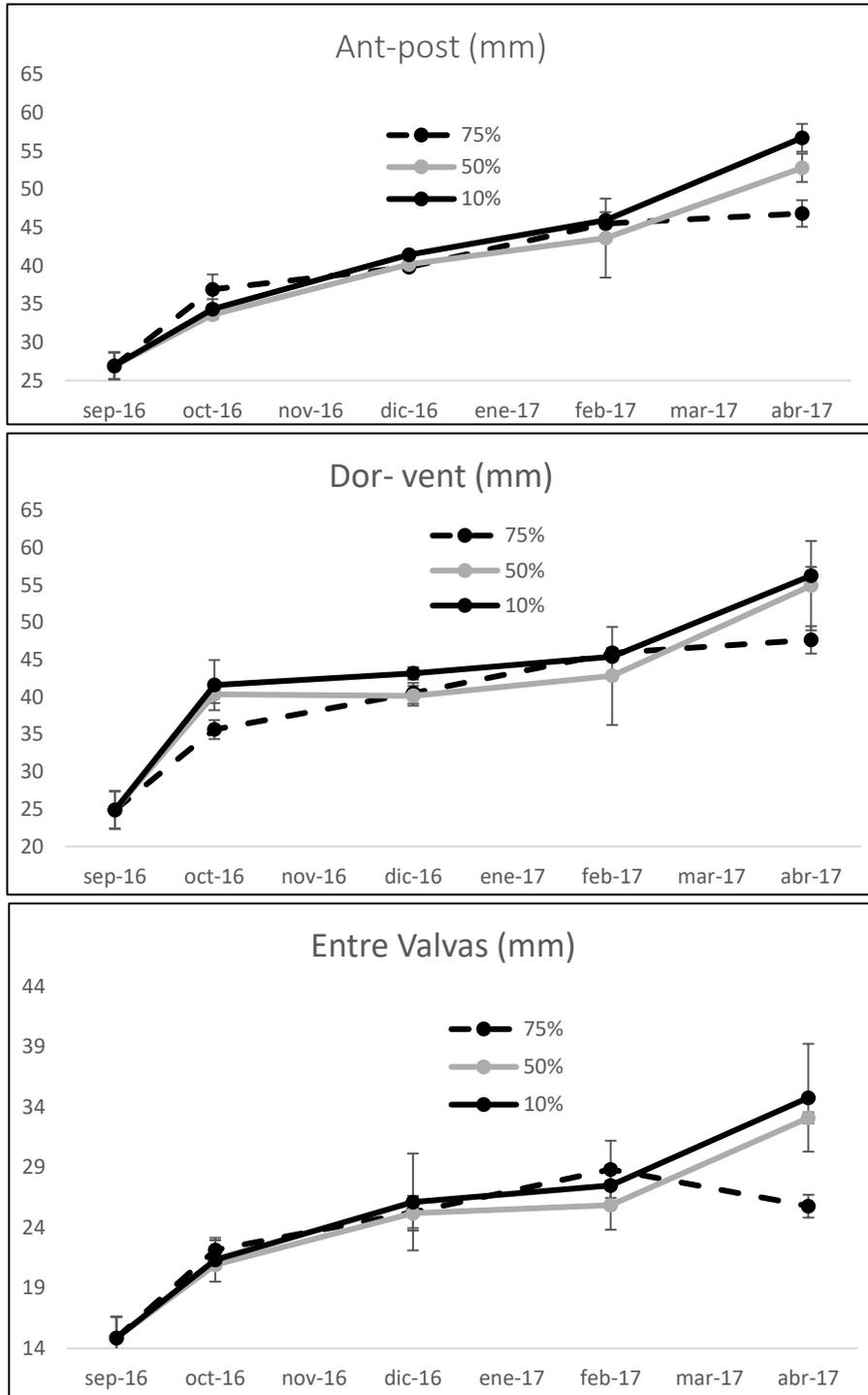
La longitud inicial en las diferentes medidas (eje antero-posterior, eje dorso-ventral y entre valvas) para los organismos sembrados inicialmente en el mes de septiembre del 2016, no presentaron diferencias significativas (ANOVA,  $p > 0,05$ ) entre tratamientos. La talla promedio inicial fue de  $26,92 \pm 2,82$  mm en el eje antero-posterior, en el eje dorso-ventral de  $24,88 \pm 4,43$  mm y entre valvas  $14,85 \pm 3,1$  mm.

Durante el primer mes se observó un elevado crecimiento, que luego se ralentizó entre los meses de octubre 2016 hasta febrero de 2017, momento en el cual se reinicia un crecimiento acelerado en todos los compartimientos medidos, alcanzando tallas promedio al final del experimento para la densidad del 75% de cobertura de  $46,82 \pm 1,77$ ;  $47,65 \pm 1,87$  y  $25,78 \pm 0,96$  mm en sus ejes máximos anterior-posterior, dorsal-ventral y entre valvas, respectivamente. Para la densidad intermedia con 50% de cobertura, las tallas registradas fueron  $52,79 \pm 1,32$ ;  $54,91 \pm 4,31$  y

34,77±0,32 mm en sus 3 ejes de medición y en la menor densidad (10%), las tallas medias resultaron 56,71±1,31 mm, 56,25±0,84 y 34,77±3,22, respectivamente (Figura. 16 a, b y c).

Durante el último mes de experimentación (abril de 2017) la densidad de 10 % de cobertura fueron las que presentaron las mayores tallas en todos los compartimientos medidos anterior-posterior con un incremento promedio total del 52,53%, dorsal-ventral 55,76% y entre valvas 57,26%. La segunda densidad (50%) presentó resultados intermedios con un incremento promedio total de 49%, en su otra medida dorsal-ventral presentó un incremento total de 54,68% y en su medida entre valvas un incremento del 55,11%. El tratamiento de mayor densidad (75%) de cobertura obtuvo el menor crecimiento en los ejes anterior-posterior con un incremento total de 42,50%, dorsal-ventral 47,91% y entre valvas de 42,37%.

Todos los incrementos en talla de la concha (largo, altura y entre valvas), de *S. limbatus* mostraron diferencias significativas en el periodo analizado (ANOVA,  $p < 0,05$ ).



**Figura. 17** Variación bimensual en longitud en sus diferentes axis máximos (anterior-posterior, dorsal ventral y entre valvas) en los diferentes tratamientos, del cultivo de los juveniles de *S. limbatus* que se encuentran mantenidos en suspensión en el sistema long-line, Bahía de Ayangue.

### **Biomasa seca del resto de tejidos, musculo y concha**

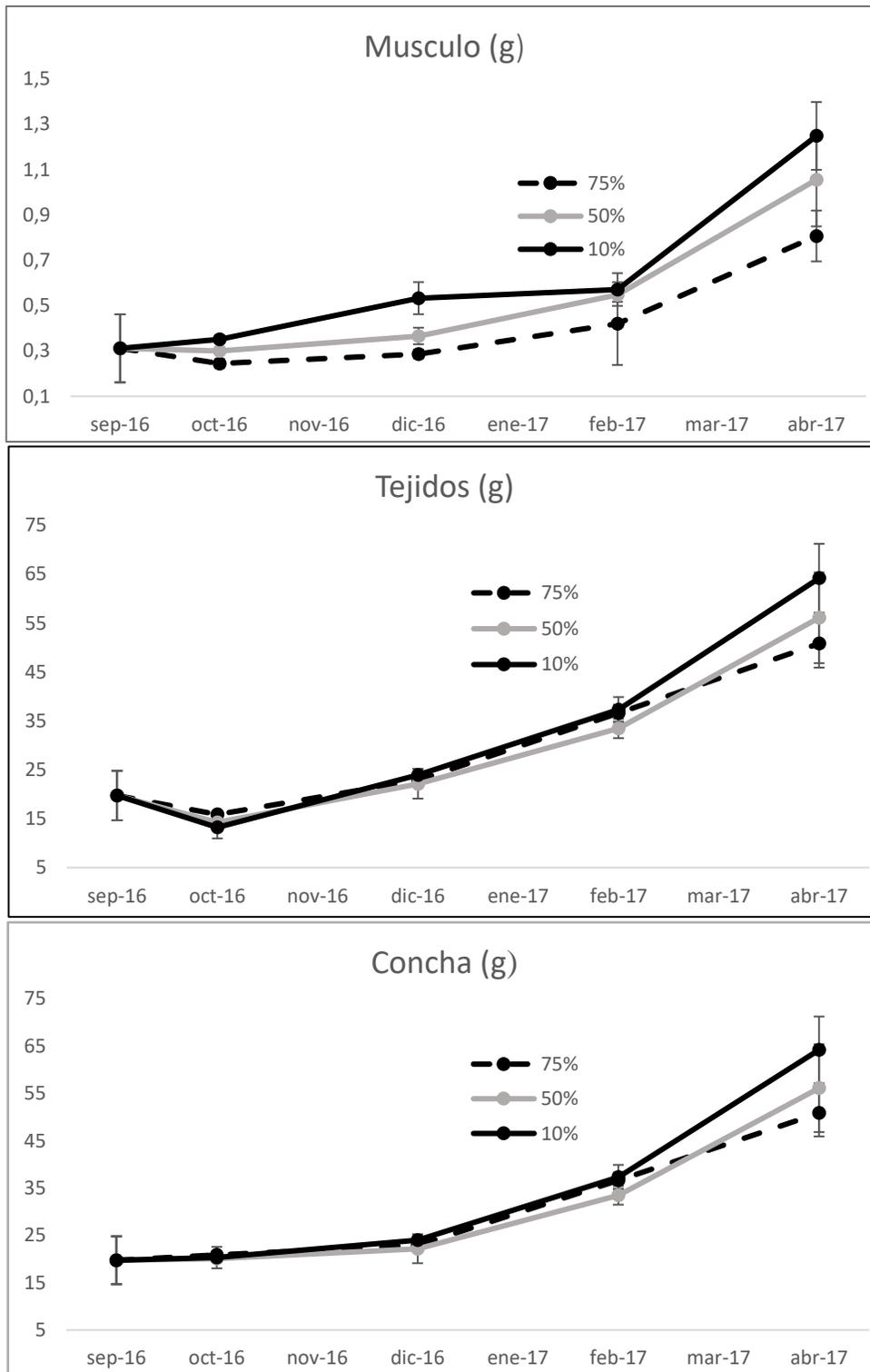
Los análisis estadísticos sobre los compartimientos de la biomasa seca del musculo y resto de tejidos no presentaron diferencias significativas (ANOVA,  $p>0,05$ ) entre los tratamientos al final del experimento, a diferencia de la masa seca de la concha que si mostró diferencias significativas (ANOVA,  $p<0,05$ ) entre los tratamientos de 10% y 75% de cobertura.

La masa seca inicial del resto de tejidos en todos sus compartimientos no presentó diferencias significativas (ANOVA,  $p>0,05$ ) al inicio del experimento con masas promedio de,  $0,39\pm 0,12$  g de resto de tejidos, mientras que la masa seca del músculo fue de  $0,31\pm 0,18$  g y la masa seca de la concha  $19,73\pm 6,31$  g.

Durante el último mes de experimentación (abril 2017), la densidad del 10% de cobertura obtuvo la mayor masa en todos los compartimientos pesados, presentando  $1,144\pm 0,48$  g en el resto de los tejidos con incremento total de 82,02%, la masa del musculo alcanzo  $1,24\pm 0,35$  g con un incremento total de 75,05% y la masa de la concha  $64,16\pm 5,07$  g y un incremento total de 69,24%.

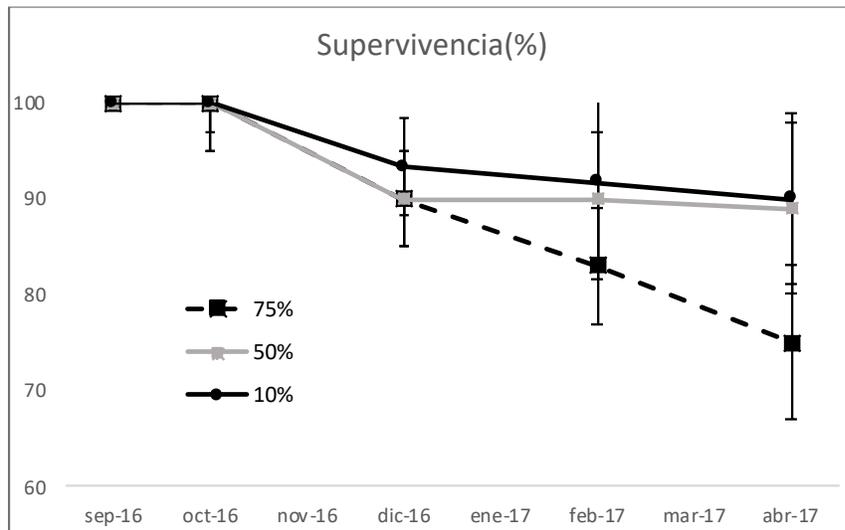
En la segunda densidad del 50% de cobertura presentó valores intermedios con masas de  $0,89\pm 0,073$  g en los restos de tejidos e incremento total del 56,13%, la masa de musculo obtuvo  $1,05\pm 0,14$  g y 70,48% de incremento total y la masa de la concha obtuvo  $56,07\pm 6,69$  g e incremento de 64,80% (Figura. 17 a, b y c).

La mayor densidad del 75% de cobertura presentó un menor crecimiento obteniendo valores de  $0,67\pm 0,11$  g con un incremento total de 41,89% en los restos de tejido, en la masa del músculo presentó valores de  $0,80\pm 0,11$  g con un incremento total de 61,39% y la masa de la concha obtuvo  $50,81\pm 5,01$  g con un incremento total de 61,71% (Figura. 17 a, b y c).



**Figura. 18** Variación bimensual en biomasa seca del resto de tejidos, musculo y concha de los diferentes tratamientos, en el I cultivo de juveniles de *S. limbatus* que se encuentran mantenidos en suspensión en el sistema long line cercanas a la comunidad de Ayangué, provincia de Santa Elena.

En todos los elementos de cultivo, los promedios mensuales de los juveniles de *S. limbatus* mantuvieron una supervivencia >70% al final del experimento, sin variaciones importantes entre tratamientos durante todo el periodo de estudio, encontrando diferencias significativas en la supervivencia solo entre 10% de cobertura y 75% (Figura. 18).



**Figura. 19** Variación bimensual de la supervivencia de los organismos en los diferentes tratamientos, en el I cultivo de juveniles de *S. limbatus* que se encuentran mantenidos en suspensión en el sistema long line cercanas a la comunidad de Ayangue, provincia de Santa Elena.

## Discusión

El presente trabajo se originó por la necesidad de establecer una correcta densidad de cultivo para la especie *S. limbatus*, con el objetivo de llevar a cabo una buena producción en la etapa intermedia del desarrollo de protocolos de repoblamiento y recuperación de los bancos naturales diezmos por la sobreexplotación de este recurso marino. En la actualidad no existen trabajos sobre la influencia de los factores ambientales y de los métodos de cultivo en el mar para el género *Spondylus* por lo cual, las comparaciones serán realizadas con organismos que poseen una anatomía interna similar y parentesco en el orden Pectinoidea, como los pectínidos que poseen ciertas características fisiológicas y morfológicas comparables y cuentan con una amplia bibliografía que respalda el arte de cultivo de estas especies.

Juveniles de *Spondylus limbatus*, mostraron después de 8 meses un incremento casi continuo y lineal en talla, en masa de la concha y tejidos blandos, típico de los moluscos bivalvos (Urban, 2002). En general, este comportamiento sugiere que los organismos no estaban estresados fisiológicamente, identificando que la densidad tuvo un efecto significativo en el crecimiento, mas no en la supervivencia. Los organismos en densidades de 10 y 50% no mostraron ser afectadas significativamente por la densidad, con ligeras diferencias en el crecimiento (Figuras 16 y 17 a, b y c), mientras que la densidad más alta (75%) mostro una disminución importante del crecimiento, que concuerda con lo descrito para otras especies de pectinoides, los cuales al ser sometidos a altas densidad de juveniles o adultos ocasionan la disminución de su crecimiento y/o supervivencia (Félix-Pico, 1991; Hardy, 1991; Freitas et al., 1995; Maeda-Martínez et al, 1997; Román et al., 1999; Acosta et al., 2000 y Rupp, 2007) debido principalmente a la disponibilidad de espacio, alimento y oxígeno se ven limitados y la interacción entre individuos aumenta generando estrés.

Es importante destacar que aun cuando no era parte del trabajo determinar la madurez sexual de los organismos en cultivo, esta suele ser evidente en *Spondylus* maduros (color naranja intenso hembras y crema en machos), estas características no fueron observadas macroscópicamente durante el desarrollo del experimento. Por lo cual estimamos que no hubo maduración gonadal durante el periodo de cultivo. La talla máxima alcanzada por los organismos en cultivo fue de 56,7 mm en su eje anterior-posterior, lo que está por debajo de la talla mínima reportada para la primera reproducción sexual de *S. limbatus* y *S. crassisquama* de 84 mm en México (Villalejo-Fuerte et al. 2002 y Del Río-Jay 2018). Los juveniles de *S. limbatus* en cultivo mostraron incrementos de 3,7 mm por mes para las densidades más bajas 3,2 mm por mes para las densidades intermedias y 2,5 mm por mes para las densidades más altas (10%, 50% y 75% de la cobertura del fondo de la canasta correspondientemente), estos incrementos resultan ser bajos en comparación con otros pectinoides comerciales de gran tamaño como *Nodipecceten subnodosus* 8,1 mm/mes (Osuna- García, 2006; Mazón-Suástegui & Osuna-García, 2004) y 8.7 mm (Racotta et al. 2003), *Nodipecceten nodosus* 7.1 mm/mes (Freites et al 2003) y 6 mm/mes para *Pecten maximus* (Louro et al 2009).

En líneas generales la supervivencia estuvo sobre el 75% con diferencias significativas el tratamiento de alta densidad (75%), con respecto a los tratamientos de media y baja densidad (10 y 50%) con 89% y 90% de supervivencia promedio correspondientemente. La alta supervivencia apoya la factibilidad del cultivo suspendido de *S. limbatus* en condiciones de cultivo suspendido en la Bahía de Ayangué, Santa Elena.

En relación a los factores ambientales y teniendo en cuenta que el crecimiento representa una respuesta integrada de los procesos fisiológicos de adquisición y salida de energía en los organismos (Shumway y Parsons, 2011) y la eficiencia del cultivo depende de la disponibilidad de

recursos y la efectividad con la que son convertidos en tejidos corporales. Se observa de forma general, que en la mayoría de los pectínidos el crecimiento de su concha sigue el modelo de Von Bertalanffy, caracterizado por un alto crecimiento en organismos juveniles que tiende a ir decreciendo en la medida que estos alcanzan la talla adulta, hasta alcanzar una asíntota, la cual pueden estar modulada por diversas variables externas que influyen en el desarrollo de los moluscos bivalvos, como lo son la temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, seston y disponibilidad de alimento (Starr et al., 1990; Pérez et al., 1991; Seed y Suchanek, 1992 y Lodeiros y Himmelman 2001). No obstante, se ha identificado como el factor que más interviene en el desarrollo de moluscos, concentraciones limitantes de biomasa fitoplanctónica como lo reportado para *Pictada imbricata* (Márquez et al 2011), en nuestro estudio encontramos que el crecimiento y supervivencia de los juveniles de *Spondylus* cultivados, no mostraron una modulación por parte de los factores ambientales. El oxígeno disuelto siempre estuvo en niveles superiores al 7mg/ml considerados como valores no limitantes para el crecimiento de moluscos, al igual que el pH y la salinidad, que no mostraron una marcada variabilidad, estando dentro de los rangos de tolerancia de pectínidos (Martínez-Guzmán, 2008, Singnoret et al., 1996; Navarro & González, 1998; Román et al., 1999; Rupp & Parson, 2004). En el presente experimento se puede observar una relación ligera pero positiva entre la temperatura que se corresponde a lo reportado por González et al., 1999 donde el crecimiento de los pectínidos aumenta junto con el incremento de la temperatura, pero sin presentar ningún efecto negativo sobre el crecimiento ni supervivencia, inclusive durante las épocas de temperaturas más altas (29,7 C) durante los últimos 2 meses de cultivo. El seston o el material suspendido particulado, tiene una relación directa con la biomasa fitoplanctónica, la cual siempre fue mayor a 4 µg/l, esta se encuentra por encima de los valores reportados como mínimos para soportar el crecimiento de bivalvos (Saxby, 2002). Una hipótesis adicional

relacionada con la poca o nula influencia de los factores ambientales los parámetros de crecimiento y supervivencia en este estudio, podría estar relacionada a la adaptación evolutiva que poseen los juveniles de *S. limbatus* a la gran variabilidad de la temperatura y otros factores ambientales que ocurren en las costas peninsulares del Ecuador, ya que es una zona de transición del Pacífico americano, caracterizada por una notable variabilidad espacial y temporal de las condiciones oceanográficas (Allauca, 1990).

Considerado un factor ambiental biológico al *fouling*, no resultó tener un efecto significativo sobre el crecimiento de juveniles de *S. limbatus*, mostrando solo diferencias significativas su acumulación entre la densidad más alta de organismos, con respecto a la densidad media y baja. La presencia de epibiontes sobre la concha generalmente va en detrimento de la condición fisiológica, supervivencia, crecimiento en carne y/o concha de los pectínidos (Duggan, 1973; Naidu & Cahill, 1986; Bourne et al., 1989, Minchin & Duggan, 1989, Cropp & Hortle, 1992, Claereboudt et al., 1994; Lodeiros & Himmelman, 1996; 2000; González et al., 2000), pero en algunos casos pueden ser beneficiosos (Green, 1979 & Mackensen et al., 2012). Los *Spondylus* han sido catalogados como islas de diversidad biológica, debido a la alta concentración que pueden encontrarse de organismos viviendo dentro y sobre su concha, que al igual que otros pectinoides provee un excelente sustrato para que se asienten numerosos organismos. Entre los principales epibiontes están las algas, esponjas, hidozoos, poliquetos, bivalvos, anfípodos, cirrípedos, briozoos y ascidias (Uribe et al., 2001 y Mackensen et al., 2012). La presencia de organismos epibiontes y exceso de sedimento o depositado sobre los organismos o sobre las canastas de cultivo, podrían actuar como un mutualismo facultativo con la especie como lo afirma Mackensen, Brey, Bock y Soledad Luna, 2012 en estudios realizados con *Spondylus crassisquama*, ya que indican que su estrategia de vida consiste en la construcción de conchas gruesas con espinas que

ofrecen un sustrato duro y atractivo para los organismos incrustantes, a cambio los colonizadores de concha proporcionan un camuflaje contra los depredadores. Otro factor estudiado fue la acumulación del *fouling* sobre las canastas de cultivo, en el cual se registró una acumulación constante durante los primeros 6 meses de cultivo, el cual incrementó de forma importante para los últimos 2 meses en especial por la acumulación de macroalgas del género *Acantophora*. Al final del experimento esta acumulación no mostro diferencias entre tratamiento y no parecen tener un efecto sobre el crecimiento y supervivencia de los organismos durante los 8 meses de cultivo.

Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que el cultivo suspendido en aguas ecuatoriales de *Spondylus limbatus* es factible, debido que ha mostrado a densidades optimas entre el 10 y 50% de la cobertura de la superficie de las canastas, una tasa de crecimiento considerada como moderada-baja para otras especies de pectinoides, una supervivencia elevada y poca influencia de los factores ambientales. Además, la especie resulta especialmente valiosa en todos los países donde se explota en sus bancos naturales, considerándola como una exquisita gastronómica y sus conchas son utilizadas para fabricar valiosas joyas (México, Perú y Ecuador), a parte de su valor ecológico, los *Spondylus* son organismos que pueden albergar una gran diversidad de organismos, tantos como un bosque tropical o un arrecife de coral, siendo organismos claves o islas de diversidad en los ecosistemas donde existen (Mackenzie et al 2012) el desarrollo de protocolos de repoblamiento hace posible el reinsertar organismos en el medio natural, para propiciar la recuperación de la especie, promoviendo la creación de núcleos de repoblamiento que impulsen la recuperación de bancos naturales diezmados o extintos en diferentes zonas de Ecuador. Todas estas características llevan a considerar a *S. limbatus* como una especie emergente para la acuicultura en las costas del Pacífico Oriental Tropical, con dualidad de intención (repoblamiento y producción).

## Conclusiones

- Los factores ambientales no muestran un efecto marcado en el crecimiento y supervivencia de juveniles de *S. limbatus* cultivados en la zona Bahía de Ayangue, Península de Santa Elena.
- El fouling acumulado sobre las conchas y las canastas no mostró un efecto significativo sobre el crecimiento y supervivencia de los organismos en cultivo.
- La densidad de cultivo tuvo un efecto significativo en el crecimiento de los juveniles de *S. limbatus*, en densidades altas con más del 75% de cobertura de los organismos sobre la canasta de cultivo, mas no en la supervivencia.
- Las densidades bajas e intermedias de cultivo (10 y 50%) resultan óptimas para el cultivo en suspensión de juveniles de *S. limbatus* en la zona Bahía de Ayangue, península de Santa Elena.
- El cultivo en sistemas suspendidos para juveniles de *S. limbatus* es factible y representa una alternativa viable de cultivo intermedio como una fase del desarrollo de organismos.

## **Recomendaciones**

- Se recomiendan realizar estudios sobre efectos de cultivo suspendido a diferentes localidades.
- Seguir manteniendo en marcha la producción de esta especie para fines de repoblamiento de los bancos naturales y promover la recuperación de este recurso.

## Anexos



Toma de medidas de la longitud de concha en juveniles de *S. limbatus*



Extracción de tejidos blandos, músculo aductor y *fouling* en juveniles de *S. limbatus*



Peso de masa seca del resto de tejidos, músculo aductor y *fouling* de los juveniles de *S. limbatus*



Muestras de juveniles de *S. limbatus* separados por tratamiento para la extracción de los tejidos somáticos y fouling.



Juveniles de *S. limbatus* mantenidos en los laboratorios de molusco de CENAIM-ESPOL



Transporte via terrestre y marítima de los juveniles de *S. limbatus* hacia la zona de cultivo en la Bahía de Ayungue

## Referencias

- Acosta V, Freitas L, Lodeiros C. (2000). Densidad, crecimiento y supervivencia de juveniles de *Lyropecten (Nodipecten) nodosus* (Pteroida: Pectinidae) en cultivo suspendido en el Golfo de Cariaco, Venezuela. *Revista de Biología Tropical*. 48. 799-806. Obtenido de: <https://www.researchgate.net/publication/262511527>.
- Airoldi L, Balata D, Beck M (2008). The gray zone: relationships between habitat loss and marine diversity and their applications in conservation. *J Exp Mar Biol Ecol* 366:8–15.
- Bloom S (1975). Motile escape response of a sessile prey - sponge- scallop mutualism. *J Exp Mar Biol Ecol* 17:311–321.
- Carlson Jones D (2003). Bivalve Epibiont Armor: The Evolution of an Antipredatory Strategy. Dissertation, University of Cincinnati.
- Castro-Aguirre JL, García-Domínguez F, Balart EF (1996). Nuevos hospederos y datos morfométricos de *Encheliophis dubius* (Ophidiiformes: Carapidae) en el Golfo de California, México. *Rev Biol Trop* 44:753–756.
- Coan E. V. & P. Valentich-Scott. (2012). Bivalve seashells of tropical west America. Marine bivalve mollusks from Baja California to Northern Peru. Santa Barbara, CA: Santa Barbara Museum of Natural history.
- Cota G. (2011). Reproducción y crecimiento de *Spondylus calcifer* (Carpenter, 1857) en la zona centro occidental del Golfo de California (AGUA VERDE, B.C.S.) (Maestría, Instituto Politécnico Nacional Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, México). Obtenido de <https://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/15457>.
- Cudney-Bueno R & Rowell K. (2008). Establishing a Baseline for Management of the Rock Scallop, *Spondylus calcifer* (Carpenter 1857): Growth and Reproduction in the Upper Gulf of California, Mexico. *Journal of Shellfish Research*, 27(4), 625-632. Obtenido de <http://www.bioone.org/doi/10.2983/07308000%282008%2927%5B625%3AEABFMO%5D2.0.CO%3B2>.
- De León-González JA (1988). *Mooreonuphis* Baja California, a new onuphid (Polychaeta: Onuphidae) epizoic on the thorny oyster, *Spondylus princeps* unicolor. *Rev Biol Trop* 36:433–436.
- De León-González JA, Leija Tristán A, Salazar-Vallejo SI (1993). Epifauna del ostión espinoso *Spondylus princeps* unicolor (Mollusca: Bivalvia), de Puerto Escondido, Golfo de California, México. *Rev Biol Trop* 41:877–881.
- Feifarek BP (1987). Spines and epibionts as antipredator defenses in the thorny oyster *Spondylus americanus* Hermann. *J Exp Mar Biol Ecol* 105:39–56.

- Forester AJ (1979). Association between the sponge *Halichondria panicea* (Pallas) and scallop *Chlamys varia* (L.): a commensal- protective mutualism. *J Exp Mar Biol Ecol* 36:1–10.
- Laihonen P & Furman E (1986). The site of settlement indicates commensalism between Bluemussel and its Epibiont. *Oecologia* 71:38–40.
- Linero-Arana I & Diaz-Diaz O (2006). Poliquetos (Annelida: Polychaeta) epibiontes de *Spondylus americanus* (Bivalvia: Spondylidae) en el Parque Nacional Mochima, Venezuela. *Rev Biol Trop* 54:765–772.
- Lodeiros C, Maeda-Martínez A, Freitas L, Uribe E, LLuch-Cota D y Sicard M (2001). Ecofisiología de pectínidos iberoamericanos. *Los Moluscos Pectínidos De Iberoamérica: Ciencia Y Acuicultura*. 77-88. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/287609312\\_Ecofisiologia\\_de\\_pectinidos\\_iberoamericanos](https://www.researchgate.net/publication/287609312_Ecofisiologia_de_pectinidos_iberoamericanos).
- Lodeiros C., Soria G., Valentich-Scott P., Munguía-Vega A., Cabrera J.S., Cudney-Bueno R., Loor A., Márquez A., Sonnenholzner S. (2016). Spondylids of Eastern Pacific Ocean. *J Shellfish Res.* 35:279–293.
- Logan A, (1974). Morphology and life habits of the recent cementing Bivalve *Spondylus americanus* Hermann from the Bermuda Platform. *Bull Mar Sci* 24:568–594.
- Loor A., D. Ortega, C. Lodeiros & S. Sonnenholzner. (2016). Early life cycle and effects of microalgal diets on larval development of the spiny rock-scallop, *Spondylus limbatus* (Sowerby II, 1847). *Aquaculture* 450:328–334.
- Loor, A., Márquez, A., Lodeiros, C., Rodríguez, D., & Sonnenholzner, S. (2016). Manual de producción de semillas de *Spondylus limbatus*. Subsecretaría. Obtenido de <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/4887/1/Anexo%201.pdf>
- Louro A, Christophersen G, Magnesen T, Román G, (2005). Cultura De Suspensión del Gran Scallop *Pecten maximus*. En Galicia, Nw España. — Cultura Primaria Intermedia De La Spat Producida En Hatchery. *Revista de investigación de mariscos* 24 (1): 61-68. [https://doi.org/10.2983/0730-8000\(2005\)24 \[61:SCOTGS 2.0.CO;2](https://doi.org/10.2983/0730-8000(2005)24 [61:SCOTGS 2.0.CO;2)
- Mackensen, A. K., T. Brey & S. Sonnenholzner. (2011). The fate of *Spondylus* stocks (Bivalvia: Spondylidae) in Ecuador: is recovery likely? *J. Shellfish Res.* 30:115–121.
- Mackensen, A. K., T. Brey, C. Bock & S. Luna. (2012). *Spondylus crassisquama* Lamarck, 1819 as a microecosystem and the effects of associated macrofauna on its shell integrity: isles of biodiversity or sleeping with the enemy? *Mar. Biodiv.* 42:443–451.
- MAGAP (2016). Manual de producción de semillas de *Spondylus limbatus*. Subsecretaría de Acuicultura-ESPOL TECH E.P, CENAIM-ESPOL.

- Marcos, J. G. (2005). Los pueblos Navegantes del Ecuador Prehispánico. Quito, Ecuador: Ediciones Abya Yala. 205 pp.
- Márquez, A., Revilla, J., Lodeiros, C., Loor, A., Rodríguez, D. & Sonnenholzner, S (2017). Restauración de *Spondylus* en Ecuador: Producción de juveniles y avances de la repoblación de *Spondylus limbatus* G. B. Sowerby II, 1847 en la reserva El Pelado, Provincia de Santa Elena, Ecuador. Foro Rec. Mar. Ac. Rías Gal. 19: 405-425.
- Mienis HK (2001). Blister pearl formation in *Spondylus* and *Tridacna* caused by boring organisms. Triton 3:9.
- Muñetón-Gómez, M. V.-F. (2002). Tópicos sobre la biología de la almeja burra *Spondylus calcifer* (Carpenter, 1857). Obtenido de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-88972002000100009](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-88972002000100009).
- Okamora, Y. (1986). Review of scallop culture technique study. Aquacult. Cent. Amori Pref. 19: 65-68.
- Osuna Garcia, M. (2006). Efecto de la densidad de cultivo de la lameja mano de león *Nodipecten subnodosus* (Sowerby 1835) en la Península de Baja California, México (Maestría, Instituto Politécnico Nacional Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, México) Obtenido de <https://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/14232/1/osunag1.pdf>.
- Paulsen, A. C. (1974). The thorny oyster and the voice of god: *Spondylus* and *Strombus* in Andean Prehistory. Am. Antiq. 39:597-607.
- SEMARNAT. (2001). Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001. Protección ambiental - Especies nativas de México de flora y fauna silvestres- Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio. Lista de especies en Riesgo. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Shumway S & Parsons J. (2011). Scallops: biology, ecology and aquaculture second edition. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/bookseries/developments-in-aquaculture-and-fisheries-science/vol/35>.
- Vance R (1978). Mutualistic Interaction between a sessile marine Clam and its Epibionts. Ecology 59:679-685.
- Vega M. (2012). Caracterización de la reproducción de *Spondylus calcifer* (Carpenter, 1857) en un centro de actividad biológica Bahía de los Ángeles Golfo de California (Maestría, Instituto Politécnico Nacional Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, B.C.S., México). Obtenido de <https://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/13265/1/vegadelav1.pdf>
- Vicent, B., D. Joly & C. Brassard. (1989). Effects de la densité sur la croissance du bivalve *Macoma balthica* (L) en zone intertidale. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 126: 145-162.

Villanueva B. (2011). Efecto de la densidad de siembra y los factores ambientales en el cultivo de ostión japonés *Crassostrea gigas* en la península de Lucernilla, Navolato, Sinaloa, (Maestría, Instituto Politécnico Nacional Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Guasave, México). Obtenido de <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/13102>.

Wahl M (1989). Marine Epibiosis. I. Fouling and Antifouling - some basic Aspects. Mar Ecol Prog Ser 58:175–189.

Zar J. (2010). Biostatistical analysis.5th edition. Prentice Hall, New Jersey, 944 p.

Zavarei A (1973). Monographie des Spondylidae (Lamellibranches) actuels et fossiles. Dissertation, University of Paris.