



**INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR  
“LUIS ARBOLEDA MARTÍNEZ”**

**TEMA:**

**DESCRIPCIÓN DEL CICLO DE VIDA TEMPRANO Y EFECTO DE LA  
TEMPERATURA Y DENSIDAD DE CULTIVO LARVAL DE *Spondylus  
crassisquama* (LAMARCK, 1819)**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE:  
TECNÓLOGA EN ACUICULTURA**

**AUTORA:**

**MARÍA GABRIELA PACHAY ESTRADA**

**TUTOR:**

**MSc. JORMIL ESTEBAN REVILLA MOLINA**

**CODIRECTORA:**

**Blga. GUADALUPE BRAVO MONTESDEOCA**

**MANTA-MANABÍ-ECUADOR**

**2018**

**DESCRIPCIÓN DEL CICLO DE VIDA TEMPRANO Y EFECTO DE  
LA TEMPERATURA Y DENSIDAD DE CULTIVO LARVAL DE  
*Spondylus crassisquama* (LAMARCK, 1819)**

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

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

**TEMA:** Descripción del ciclo de vida temprano y efecto de la temperatura y densidad de cultivo larval de *Spondylus crassisquama* (Lamarck, 1819).

Realizada por:

**María Gabriela Pachay Estrada**

---

Ing. Alfredo Lucas Villegas  
Miembro del tribunal

---

Blga. Geormery Mera Loor  
Miembro del tribunal

---

Blgo. Límber Alcívar Mendoza  
Miembro del tribunal

## CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

MSc. Jormil Esteban Revilla Molina

Director de Tesis

Blga. Guadalupe Bravo Montesdeoca

Codirectora de Tesis

Certifica: Que el trabajo de intervención titulado:

**“Descripción del ciclo de vida temprano y efecto de la temperatura y densidad de cultivo larval de *Spondylus crassisquama* (Lamarck, 1819).”,** de la señorita: Pachay Estrada María Gabriela con CI # 1315903599, egresada de la carrera de Acuicultura ha sido realizada, revisada, corregida y aprobada bajo nuestra dirección, cumpliendo con las disposiciones reglamentarias del Instituto Tecnológico Superior “Luis Arboleda Martínez”

Manta, 07/11/2018

---

MSc. Jormil Esteban Revilla Molina

CI # 0961895976

---

Blga. Guadalupe Bravo Montesdeoca

CI # 1303447161

## **ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS**

María Gabriela Pachay Estrada CI # 1315903599, egresada de la carrera de Acuicultura, acepto que los derechos de autoría me corresponden y la titularidad al Instituto Tecnológico Superior “Luis Arboleda Martínez”, de acuerdo con lo que dispone la Ley de Propiedad Intelectual.

Manta, 07/11/2018

Atentamente.

María Gabriela Pachay Estrada

Autora

## **AUTORÍA**

María Gabriela Pachay Estrada CI # 1315903599, soy la responsable de las ideas, doctrinas (enseñanzas) y resultados expuestos en esta Tesis de grado, y el patrimonio intelectual de la misma pertenecen al Instituto Tecnológico Superior “Luis Arboleda Martínez”.

---

María Gabriela Pachay Estrada

Autora

## **AGRADECIMIENTOS**

En primera instancia, agradezco a Dios por ser mi guía y fortaleza del día a día. A mi tutor el MSc. Jormil Revilla por ser ese guía y apoyo incondicional durante todo este proceso, que sin su ayuda y conocimiento no hubiese sido posible realizar este proyecto. Admiro su calidad humana, sencillez y su ejemplo de profesionalidad que nunca olvidaré.

Al Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM-ESPOL) por abrir las puertas de la institución, depositar su confianza en mí y darme la oportunidad de participar en este proyecto.

Al MSc. Adrián Márquez por el apoyo, conocimientos y aportes claves brindados dentro del laboratorio durante este proceso.

Al PhD. José Alió por brindarme su apoyo en todo momento, por la dedicación y conocimientos brindados en este proceso.

A mis formadores, personas de gran sabiduría quienes se han esforzado por ayudarme a llegar al punto en que me encuentro.

## **DEDICATORIA**

Con todo mi amor y cariño a mis padres, en especial a mi madre, por ser el pilar fundamental en mi vida, por su sacrificio, esfuerzo, apoyo y comprensión brindada durante este proceso, sobre todo por creer en mi capacidad.

Le agradezco por los buenos ejemplos, valores y principios inculcados, por ser mi guía, mi mano derecha, mi fuente de motivación, inspiración y superación. Sin duda alguna mi amor por ella es incondicional.

A mi compañero de vida por el apoyo incondicional, por ser parte de este caminar y día a día brindarme palabras de aliento para seguir adelante y no decaer por más difícil que fuese la situación y enfrentar las dificultades que todo desafío trae consigo.

A mi familia, que de una u otra forma creyó en mí, en mi capacidad de enfrentar todas las situaciones adversas de vida.

## ÍNDICE

<b>CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE REVISIÓN Y DE TITULACIÓN</b>	3
<b>CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS</b>	4
<b>ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS</b>	5
<b>AUTORÍA</b>	6
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	7
<b>DEDICATORIA</b>	8
<b>ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICOS</b>	11
<b>RESUMEN</b>	12
<b>ABSTRACT</b>	13
<b>PROBLEMA</b>	14
<b>TÍTULO DESCRIPTIVO DEL PROBLEMA</b>	14
<b>FORMULACIÓN DEL PROBLEMA</b>	14
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	15
<b>2. JUSTIFICACIÓN</b>	17
<b>3. OBJETIVOS</b>	18
<b>3.1 Objetivo general</b>	18
<b>3.2 Objetivos específicos</b>	18
<b>4. MARCO DE REFERENCIAS</b>	19
<b>4.1 Biología reproductiva</b>	19
<b>4.2 Sistemática</b>	19
<b>4.3 Descripción de la especie</b>	20
<b>4.4 Hábitat</b>	21
<b>4.5 Distribución geográfica</b>	21
<b>5 HIPÓTESIS</b>	21
<b>6 MATERIALES Y MÉTODOS</b>	22
<b>6.1 Producción de microalgas</b>	22
<b>6.2 Captura, acondicionamiento e inducción al desove</b>	22
<b>6.3 Desarrollo embrionario</b>	24
<b>6.4 Cultivo larval, postlarval y obtención de juveniles</b>	25
<b>6.5 Influencia de la temperatura y densidad en la producción larvaria</b>	25
<b>6.6 Análisis estadísticos</b>	26
<b>7 VIABILIDAD O FACTIBILIDAD</b>	27
<b>8. RESULTADOS</b>	28
<b>8.1 Cultivo embrionario, larval y postlarval</b>	28
<b>8.2 Influencia de la temperatura y densidad en la producción larvaria</b>	30
<b>9. DISCUSIÓN</b>	34

<b>10. CONCLUSIONES</b> .....	40
<b>11. RECOMENDACIONES</b> .....	41
<b>12. GLOSARIO</b> .....	42
<b>13. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES</b> .....	45
<b>14. ANEXOS</b> .....	46
<b>15. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	47

## ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICOS

**Figura 1.** *Spondylus crassisquama*, reproductores capturados en la provincia de Manabí sector Salango, Ecuador.

**Figura 2.** Mapa del sitio donde se capturaron los reproductores en el sector Salango e Isla Salango, provincia de Manabí, Ecuador.

**Figura 3.** A Acondicionamiento de reproductores. B y E. Gónadas de reproductores hembras aptas para desovar. C. Realización de una endoscopia a ejemplar para observar su sistema gonádico. D y F Gónadas de reproductores machos.

**Figura 4.** Ciclo de vida temprano de *Spondylus crassisquama*. A) Fase embrionaria y larva D sin calcificar; B) Larvas veliger de dos días; C) Larvas umbonadas inicial de 6 días; D) Larvas umbonadas de 9 días con formación de doble anillo; E) Larva de entre 13 y 16 días con mancha ocular; F) Larva pediveliger de 20 días con borde de la disoconcha aserrado; G) Postlarva bentónica de 25 días y biso; H) Postlarva de 45 días iniciando la cementación; I) Postlarva de 60 días completamente cementada con talla de  $4,8 \pm 2,01$  mm. Las barras desde “b” hasta “F” escala de  $50 \mu\text{m}$ ; desde “G” hasta “I”, sin escalar.

**Figura 5.** A) Incremento diario ( $\mu\text{m}.\text{día}^{-1}$ ) y B) supervivencia final (%) de larvas de 4 días de edad de *Spondylus crassisquama*, cultivadas a diferentes temperaturas ( $25 \text{ }^\circ\text{C}^*$ ,  $29 \text{ }^\circ\text{C}$ ), dietas (\*1CG:3TL, 3CG:1TL) y densidades (1, 2 y 4 larvas.ml<sup>-1</sup>) durante un periodo de 12 días. Las barras de error representan la desviación estándar (n = 3).

**Figura 6.** A-B) Longitud media de la concha y supervivencia de larvas de *Spondylus crassisquama*, cultivadas a diferentes temperaturas ( $25 \text{ }^\circ\text{C}^*$ ,  $29 \text{ }^\circ\text{C}$ ), dietas (\*1CG:3:TL, 3CG:1TL), y C-D) densidades (D1 = 1, D2 = 2 y D3 = 4 larvas.ml<sup>-1</sup>) durante un periodo de 12 días. Las barras de error representan la desviación estándar (n = 30).

## RESUMEN

En tal sentido, el objetivo de este estudio fue describir el desarrollo embrionario, larvario y postlarvario de *S. crassisquama* en condiciones controladas. Además, registrar la influencia de la temperatura (25 y 29 °C) y densidad de cultivo (1, 2 y 4.ml<sup>-1</sup>) durante un periodo de la fase plantónica de la especie, así como una dieta experimental (3CG:1TL), con la intención de establecer parámetros óptimos para su cultivo en criaderos. Los ovocitos fertilizados presentaron un diámetro de 61,9±0,52 µm. A las 28 h se observaron larvas veliger calcificadas en forma de prodisoconcha-I con una longitud de 109,4±3,85 µm, mientras que las larvas completamente umbonadas (138,2±8,09 µm), fueron registradas a los 9 días. A partir del día 13, se observaron larvas con presencia de mancha ocular (147,7±9,86 µm). Entre los días 16-18 se registró la formación de un pie rudimentario en las larvas (pediveliger iniciales; 161,4±13,93 µm). Las primeras postlarvas (PL) fueron observadas en el día 20 y presentaron una talla de 553,0±150,10 µm. Asimismo, se observó la formación de biso en ausencia de ctenolium. PL de 45 días de edad con una talla de 1,6±0,41 mm, fueron registradas cementadas (fijadas) en los sustratos hechos de piedra. No se observaron diferencias relevantes en términos embriogénesis y desarrollo larvario de *S. crassisquama* al compararlo con otras especies de pectínidos de interés comercial. La temperatura de cultivo influye en el crecimiento de las larvas, especialmente en la segunda fase del cultivo larvario (día 10 a 16). Larvas mantenidas a 29 °C, muestran una tasa de crecimiento mayor ( $p<0,05$ ), con respecto a 25 °C (proporción superior al 80%). Además, existe una relación inversa entre el crecimiento de las larvas y la densidad de cultivo ( $p<0,05$  entre 1 larva.ml<sup>-1</sup> y el resto de las densidades). Sin embargo, se registraron diferencias significativas en supervivencia de larvas alimentados con la dieta 3CG:1TL (2 larvas.mL<sup>-1</sup> y 25 °C; 30,0±2,49%). Los resultados mostrados proporcionan observaciones inéditas sobre el comportamiento de asentamiento y las características fisiológicas de las postlarvas de *S. crassisquama* y su implicación para la acuicultura.

**Palabras claves:** *Spondylus crassisquama*, desarrollo embrionario, larvas, pectínidos, criaderos.

## ABSTRACT

In this sense, the objective of this study was to describe the embryonic, larval and postlarval development of *S. crassisquama* under controlled conditions in a hatchery. In addition, the influence of temperature (25 and 29 °C) and culture density (1,2 and 4.ml<sup>-1</sup>) during the planktonic phase of the species were evaluated, as well as an experimental diet (3CG: 1TL), with the intention to establish optimal parameters for its cultivation in hatcheries. The fertilized oocytes had a diameter of 61,9±0,52 µm. At 28 h, calcified veliger or swimming D-larvae were observed in the form of prodissoconch-I with a length of 109,4±3,85 µm, while umbonated larvae (138,2±8,09 µm) were registered to 9 days. From day 13th, larvae presenting the ocular spot were observed (147,7 ± 9,86 µm). Between days 16-18th, the formation of a rudimentary foot was registered (early pediveliger, 161,4 ± 13,93 µm). The first postlarvae (PL) were observed on day 20th and had a size of 553,0 ± 150,10 µm. Likewise, byssus formation was observed in the absence of ctenolium. PL 45-days old with a size of 1,6 ± 0,41 mm, were recorded cemented (fixed) on hard substrates (stones and shells). No significant differences were observed in terms of embryogenesis and larval development of *S. crassisquama* when compared to other species of scallops of commercial interest. The temperature influenced the growth of the larvae, especially in the second phase of the larval culture (days 10th to 16th). Larvae maintained at 29 °C, showed a higher growth rate compared to those cultivated at 25 °C ( $p<0,05$ ), in a proportion larger than 80%. An inverse relationship was observed between larval growth and culture density ( $p<0,05$ ; between 1 larva.ml<sup>-1</sup> and the rest of treatments). However, significant differences were recorded in survival of larvae fed with the 3CG diet: 1TL (2 larvae.mL<sup>-1</sup> and 25 ° C, 30,0 ± 2,49%). These results provide unprecedented observations on the behavior during the early life stages, their settlement and development of morphological characteristics of the postlarvae of *S. crassisquama* and their implication for aquaculture.

**Key words:** Embryonic development, larvae, scallops, hatchery.

## **PROBLEMA**

La información o el conocimiento referente a las técnicas de cultivo adecuadas para *S. crassisquama* es escaso nulo, ya que no existen investigaciones referentes a la especie, principalmente al desconocimiento de sus ciclos de vida temprana.

## **TÍTULO DESCRIPTIVO DEL PROBLEMA**

Por medio de la descripción del ciclo de vida temprano, y desarrollando tecnología para la producción *Spondylus crassisquama*.

## **FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

Identificar los procesos biológicos conexas al ciclo de vida temprano de *Spondylus crassisquama* y reconocer si existen diferencias con otras especies, validar si hay tecnología existente para otros bivalvos especialmente para pectínidos, verificar si es aplicable para *S. crassisquama* lo que no ha sido trabajado antes, y comprobar si será un aporte fundamental para la especie haciendo énfasis con la literatura, evaluando este proceso con las diferentes etapas de crecimiento complementado con parámetros como temperaturas y densidades, aplicando técnicas durante la fase experimental.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los moluscos bivalvos son considerados un importante recurso alimenticio para los seres humanos. Dentro de este grupo, los ostreidos, venéridos, mitílidos y pectínidos poseen una alta demanda en el mercado alimentario mundial, y constituyen rubros importantes de extracción y cultivo con repercusiones socioeconómicas relevantes (Gosling, 2015). En la actualidad, los moluscos son uno de los grupos de organismos marinos cultivables que ofrece mejores perspectivas de crecimiento, especialmente los bivalvos, por su capacidad de ser filtradores y aprovechar la productividad primaria presente naturalmente en los cuerpos de agua. No obstante, durante el periodo del 2005-2015 su producción no mostró una rápida expansión, pasando de 12,6 mill de t a solo 16,4 mill de t, muy por debajo del resto de los grupos de organismos acuícolas identificados por la FAO, los cuales se encontraron cerca de duplicar su producción (FAO, 2018). En el continente americano, resulta interesante que, dentro del cultivo de bivalvos, la producción de pectínidos ha venido experimentando incrementos progresivos durante los últimos años, pero no ha logrado alcanzar los volúmenes obtenidos por las ostras, almejas y mejillones (Maeda-Martínez, 2002; Maeda & Lodeiros, 2011). Chile, Brasil y México representan los países con mayores producciones de pectínidos de la región. Su estrategia de mercado ha sido la producción de un recurso con elevado valor unitario (hasta US \$ 15/kg de músculo “callo”, Lovatelli et al., 2008; Freitas et al., 2011).

En Ecuador, al inicio de la década de los 90 empieza sus actividades de cultivo de bivalvos marinos, a través de la creación del Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM-ESPOL), siendo la ostra del Pacífico (*Crassostrea gigas*) la primera especie ensayada, introducida desde Chile (Blacio, 2002). Posteriormente, se iniciaron investigaciones con los pectínidos *Argopecten ventricosus* y la mano de león, *Nodipecten subnodosus*. Sin embargo, los resultados no fueron alentadores dejando la actividad productiva restringida solo a *C. gigas*, desarrollada por asociaciones locales distribuidas en distintas zonas del país. La producción de esta ostra registró durante 2015 cerca de 3 t (FAO, 2017), muy por debajo de las expectativas propuestas durante años anteriores (Álvarez et al., 2008). En este sentido, y con la intención de revertir tal escenario, desde el 2012, se vienen emprendiendo en el país diversas actividades destinadas a retomar la producción de bivalvos marinos con distintas finalidades, entre las que destacan la restauración ecológica y la diversificación de la acuicultura (Márquez et al., 2015, 2016;

Sonnenholzner, 2016). Los estudios observados muestran que *S. limbatus* es la especie en la que se han concentrado la mayor parte de esfuerzos para la producción de semillas en laboratorio, con la intención de generar programas de reintroducción de organismos en las áreas tradicionales de pesca de este pectínido, actualmente sobreexplotadas (Lodeiros et al. 2016). A pesar de los avances logrados, no se ha observado mayor progreso en términos productivos para la diversificación acuícola, no obstante, los resultados alentadores conseguidos con *S. limbatus* (Loor et al., 2016) han permitido extender la lista de especies objeto de estudio para la producción a mayor escala. En la actualidad, se cuenta con información suficiente para emprender cultivos comerciales de especies como: la ostra perlífera *Pteria sterna* y la ostra nativa *S. prismatica*, así como incrementar la rentabilidad de los cultivos suspendidos de *C. gigas* (Lodeiros 2017a, b y c). Por otro lado, en Ecuador, el género *Spondylus* no solo está representado por *S. limbatus*, sino que también habitan 3 especies más (*S. crassisquama*, *S. gloriosus* y *S. leucacanthus*). De estas, solo *S. crassisquama* está catalogada con interés acuícola, debido a que soporta una cuota de la presión por captura previo a la entrada en vigencia del Acuerdo Ministerial MAGAP 136<sup>2</sup> (Lodeiros, 2016).

Los estudios sobre embriología y desarrollo larvario para el género *Spondylus* son escasos, registrándose para *Spondylus* spp. (Parnell, 2002), *S. tenebrosus* (Soria et al. 2010) y *S. limbatus* (Loor et al. 2016). Estos estudios han logrado aportar información relevante que ha permitido en algunos casos, como el de *S. limbatus*, producciones sostenidas de semillas, para impulsar programas piloto de reintroducción de juveniles en las áreas diezgadas por la sobreexplotación. No obstante, el conocimiento sobre el desarrollo temprano de *S. crassisquama*, sigue sin ser revelado, lo que limita el avance de las técnicas de criadero para esta especie comercialmente importante. Por lo tanto, el presente estudio trata sobre la influencia de la temperatura y densidad del cultivo sobre el crecimiento y supervivencia de larvas de *S. crassisquama*, después de alcanzar la etapa de Larva D. El mismo consiste en el primer reporte para la especie con la premisa de aportar una descripción detallada del ciclo inicial de vida, así como de la cronología y morfología larvarias.

## 2. JUSTIFICACIÓN

Resulta importante, desde el punto de vista de la seguridad alimentaria y conservación del ambiente, el hecho de que la mitad de la producción acuícola mundial de animales y plantas proceda de especies no alimentadas (FAO, 2017). Entre ellas, se incluyen especies que se alimentan por filtración como por ejemplo los bivalvos que no precisan de ser alimentados con productos balanceados. Sin embargo, en el continente americano, la contribución por parte de este tipo de organismos está pobremente representada dentro de la producción total, aportando los moluscos cerca del 15% en 2014, con 539.989 t, provenientes exclusivamente de las áreas marino-costeras (FAO, 2016). En este particular, Ecuador posee una acuicultura centrada principalmente en la producción de crustáceos más de 400.000 t de peneidos en 2015, (FAO 2017), por lo que su aporte acuícola bajo principios de sostenibilidad y prácticas amigables con la conservación ambiental sigue figurando como una asignatura pendiente.

En consecuencia, el estado ecuatoriano ha puesto en marcha programas de financiamiento impulsados desde institutos gubernamentales como el Ministerio de Acuicultura y Pesca y la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación, quienes han brindado una plataforma alentadora en pro de la diversificación acuícola. Esto ha permitido contar con las herramientas y los medios necesarios para el desarrollo de paquetes tecnológicos de cultivo de moluscos bivalvos (en particular de la ostra *Crassostrea gigas*) en condiciones de campo, con la participación de comunidades de pescadores artesanales, ahora convertidos también en acuicultores.

Estos programas de cultivo de moluscos bivalvos necesitan disponer de semillas en número considerable y a lo largo del año, para abastecer las necesidades de las unidades de producción. En tal sentido, evidenciando la carencia de conocimiento sobre el ciclo de vida temprana, así como larval y postlarval en la especie, surge la necesidad de generar estudios base para establecer las características del desarrollo embrionario y larvario de *S. crassisquama*, en relación con variaciones en algunos parámetros de cultivo como la temperatura y la densidad. La intención es proveer información que permita establecer programas de producción de semillas que favorezcan las iniciativas de conservación del género *Spondylus* en Ecuador, así como generar un escenario viable para su producción comercial.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo general**

Caracterizar el ciclo de vida temprano de *Spondylus crassisquama* y determinar el efecto de la temperatura y la densidad en el cultivo larvario.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Describir morfológica y cronológicamente las fases del desarrollo embrionario y larvario de *S. crassisquama*.
- Evaluar el efecto a la temperatura a 25 °C y 29 °C en el sistema de cultivo.
- Evaluar la influencia de la densidad de cultivo de *S. crassisquama* en tres densidades (1 larva/mL, 2 larvas/mL y 4 larvas/mL) en relación con el crecimiento y supervivencia de las larvas alimentadas con dos dietas (*C. gracilis* y *Tisochrysis lutea*)

## 4. MARCO DE REFERENCIAS

Los moluscos son el segundo filo animal más grande en la Tierra después de los artrópodos. Los bivalvos han llegado a casi todos los ecosistemas hasta las trincheras oceánicas más profundas. En el mar, son uno de los grupos más importantes de invertebrados, que representan aproximadamente una cuarta parte de las especies. También son una importante fuente de alimento para muchos animales marinos, y están sujetos a la explotación y el cultivo para el consumo humano (WoRMS, 2018)

### 4.1 Biología reproductiva

El patrón de desarrollo más común en los bivalvos marino es la liberación de gametos al agua, donde la fertilización y el desarrollo embrionario se producen externamente (Ockelmann, 1965). Sin embargo, Chanley (1968) describe diferencias durante los estadios larvales dentro de los bivalvos marinos. Particularmente, uno de los géneros que ha recibido especial atención durante las últimas décadas a lo largo de la costa del Pacífico Centro-Oriental es *Spondylus*, especialmente por el hecho de ser un recurso capturado en distintas zonas del continente, desde el golfo de California hasta la costa sur de Perú (Piura) Baqueiro-Cárdenas et al., 1982.

### 4.2 Sistemática

*Spondylus crassisquama* Lamarck (1819) se ubica taxonómicamente, según Marcial Villalejo-Fuertede et al. (2015), de la siguiente manera:

REINO **Animalia**

FILO **Moluscas**

CLASE **Bivalvia**

SUB-CLASE **Pteriomorphia**

ORDEN **Pectinida**

SUPER FAMILIA **Pectinoidea**

FAMILIA **Spondylidae**

GÉNERO ***Spondylus***

ESPECIE ***Spondylus crassisquama***

### 4.3 Descripción de la especie

Skoglund & Mulliner (1996) *Spondylus* personifica el término concha firme. Posee seis espinas rojas acanaladas que terminan en forma de espátula ensanchada; tiene además cinco costillas intersticiales con espinas cortas.

El interior de la concha es blanco con bordes de color rojo profundamente plegados, en especímenes viejos el interior es de una tonalidad marrón, sobre todo en la bisagra. La longitud máxima reportada es de 130 mm, la altura de aproximadamente 127 mm y el ancho de 76 mm (las espinas no se incluyen en estas medidas; Coan & Valentich, 2012).

El color exterior varía en tonalidad, pasando del naranja claro al rojo oscuro e incluso morado; el margen interior de la concha presenta una banda de color amplia a juego con el color exterior (Fig.1).

Existen dos variedades principales: rosa y púrpura, ambas con espinas de color naranja. Pueden encontrarse distintos colores en las dos variedades, con colores menos evidentes en aquellas con discos de color púrpura.



**Figura 1.** *Spondylus crassisquama* reproductores capturados en la provincia de Manabí sector Salango, Ecuador.

En lo que se refiere a su biología y producción acuícola, no se conocen estudios referentes al comportamiento de las fases de vida temprana bajo condiciones de cultivo para la especie.

#### **4.4 Hábitat**

Habita en diversos tipos de sustratos como coralinos-rocosos (Skoglund & Mulliner, 1996) y arenas medianamente calcáreas (Mackensen et al., 2012), en profundidades que van desde los 3 hasta los 90 m (Lamprell, 2006; Lodeiros et al., 2016). Sólo Ruiz-Verdugo & Cáceres-Martínez (1990), hacen referencia a la captación de juveniles de esta especie en las aguas de Baja California Sur, México, con pobres rendimientos cuando los colectores empleados son los habituales para pectínidos (netlon y monofilamento hechos de polietileno).

#### **4.5 Distribución geográfica**

*Spondylus crassisquama* se encuentra presente desde Isla de Cedros en el Pacífico mexicano hasta la región noroeste de Perú (Lamprell, 2006; Huber, 2009). En Ecuador se distribuye en las provincias de Esmeraldas, Manabí, Santa Elena y El Oro (Mackensen et al., 2011).

### **5 HIPÓTESIS**

La cronología de las fases del desarrollo embrionario de *S. crassisquama* es igual a otros géneros de *Spondylus*. La temperatura es un factor determinante en la distribución de especies tropicales, como *S. crassisquama*, entonces debe existir una condición térmica a la cuál la especie muestre una mejor evolución (mayores tasas de crecimiento y supervivencia). Consideración similar fue asumida para el caso de la densidad, pues las larvas compiten entre sí por el alimento y espacio, no obstante, ha de existir una densidad a la cuál, dada una concentración de alimento definida, las larvas puedan crecer y sobrevivir, al margen del efecto de dicho factor.

## 6 MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio fue desarrollado en el Centro Nacional Acuicultura e Investigaciones Marinas CENAIM- ESPOL.

### 6.1 Producción de microalgas

Las microalgas utilizadas (acondicionamiento de los reproductores y demás experimentos), fueron producidas por el laboratorio de fitoplancton del CENAIM-ESPOL y cultivadas en tanques de 100 L, utilizando el medio f/2 (Guillard, 1975) a una temperatura de 20 °C con luz artificial (3.500-5.000 lx) y aireación constante. La concentración de algas se estimó utilizando una cámara de Neubauer y las cosechas fueron realizadas el 3ero o 4to día de su siembra indistintamente de la fase del cultivo de *S. crassisquama*. Para la producción de la diatomea *Chaetoceros gracilis*, se empleó en adición con el medio f/2, sílice según Guillard & Ryther (1962).

### 6.2 Captura, acondicionamiento e inducción al desove

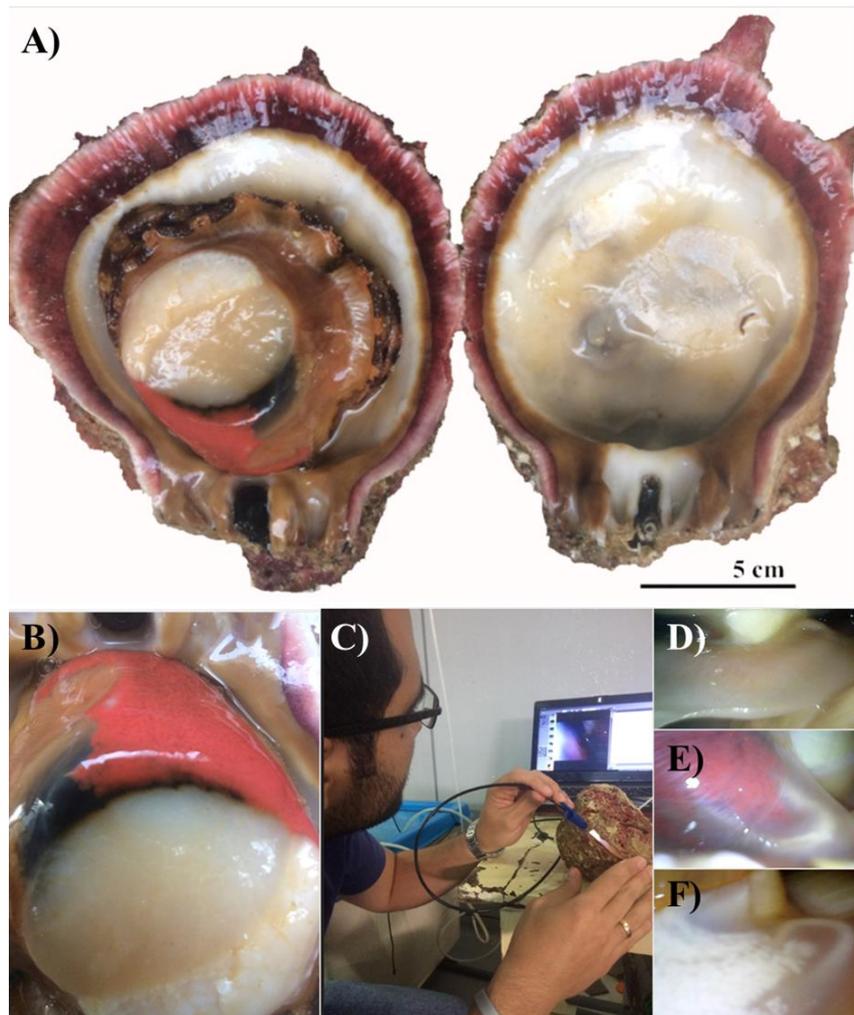
Un total de 26 ejemplares de *S. crassisquama*, con una masa húmeda de tejidos blandos de  $0,8 \pm 0,14$  Kg, talla anteroposterior de  $114,9 \pm 8,33$  mm y dorsoventral de  $120,7 \pm 7,84$  mm, fueron recolectados mediante buceo autónomo y extracción manual, de la playa de Salango (provincia de Manabí-Ecuador;  $1^{\circ} 35'28''S$  y  $80^{\circ} 52'13''N$ ). Posterior a su captura, los ejemplares fueron llevados hasta el laboratorio de moluscos del CENAIM-ESPOL en San Pedro (provincia de Santa Elena, Fig.2), transportados en contenedores isotérmicos con agua de mar de la zona de extracción.



**Figura 2.** Mapa del sitio donde se capturaron los reproductores en el sector Salango e Isla Salango, provincia de Manabí, Ecuador.

El protocolo de cuarentena comprendió la limpieza superficial de los epibiontes presentes en las valvas y el mantenimiento por 3 días con agua de mar en flujo continuo y abierto, previa estabulación en los tanques de acondicionamiento. Durante 30 días siguientes, los organismos fueron divididos de manera homogénea en 2 tanques de 300 L, con agua de mar prefiltrada ( $>25$  y  $<50$   $\mu\text{m}$ ), temperatura de  $18,0\pm 1,50$   $^{\circ}\text{C}$  y salinidad de 36 UPS, a los cuales se efectuaron recambios del 80%.día<sup>-1</sup> y se les proveyó de aireación moderada. La alimentación consistió en  $175.000$  cel.mL<sup>-1</sup> de una mezcla de tres microalgas: *Isochrysis galbana* (ahora *Tisochrysis lutea*; Bendif et al. 2013), *C. gracilis* y *Pavlova lutheri*, en proporción de 50:40:10 con relación al número de células, respectivamente (Loor et al., 2016 con ligera modificación).

Finalizado el periodo de acondicionamiento, los reproductores fueron estabulados por 3 días en un tanque de 500 L, sin alimentación y flujo continuo de agua a  $18,0\pm 1,50$   $^{\circ}\text{C}$  y 36 UPS, la cual fue micro filtrada ( $0,45$   $\mu\text{m}$ ) e irradiada con luz ultravioleta (AMF). Con el fin de reducir la carga orgánica presente en el sistema digestivo de los organismos previo al desove (microalgas, heces y pseudoheces). La inducción se realizó a partir de la evaluación de 20 organismos, en los cuales se verificó el género y grado de desarrollo sexual, con la ayuda de un endoscopio convencional. Seis ejemplares presentaron una condición reproductiva avanzada (maduros, Fig.3). La técnica empleada consistió en la combinación de las descritas por Parnell (2002) y Loor et al. (2015) para *S. tenebrosus* y *S. limbatus*, respectivamente. En esta ocasión la dosis intramuscular de serotonina fue de  $0,5$  mL.Kg<sup>-1</sup> a una concentración de 300 Mm. Posteriormente los reproductores fueron introducidos en bandejas de desove con AMF a una temperatura de  $25,0\pm 0,50$   $^{\circ}\text{C}$  y 37 UPS (mismas condiciones para el resto del proceso de fertilización). Aproximadamente 20 min después de la administración de monoamina, los machos mostraron las primeras respuestas reproductivas, por lo que fueron separados de las hembras en recipientes de 30 L con AMF. Los ovocitos de todas las hembras desovadas (4 ejemplares) se limpiaron, combinaron y contabilizaron en tanques cilindro-cónicos de 50 L con AMF, para luego ser fertilizados con una mezcla de los espermatozoides provenientes de los machos, en una relación de 1:50, respectivamente. Después de observar la presencia de corpúsculo polar en los ovocitos ( $>90\%$ ), los embriones correspondientes a los 40 L de la sección superior de la columna de agua de las unidades de fertilización, fueron sembradas en tanques de 1 ton con AMF a una densidad de  $10$  emb.mL<sup>-1</sup>, temperatura de  $25,0\pm 1,00$   $^{\circ}\text{C}$ , 37 UPS con aireación centralizada y suave.



**Figura 3.** A Acondicionamiento de reproductores. B y E. Gónadas de reproductores hembras actas para ser inducidas al desove. C. Realización de una endoscopia a ejemplar para observar su sistema gonádico. D y F Gónadas de reproductores machos.

### 6.3 Desarrollo embrionario

Con el fin de estimar los tiempos (cronología) de las diferentes etapas embriogénicas, después de la fertilización y por triplicado, se mantuvieron los embriones en beakers de 1 L con agua de mar filtrada y autoclavada, a una densidad de  $10 \text{ emb.mL}^{-1}$ , de los cuales se extrajo 1 mL (3 réplicas por beakers), cada 5, 10, 15, 30 y 60 min, en la primera hora postfertilización (PF). Posteriormente, se continuó con los muestreos a intervalos de 1 hora, durante las primeras 24 horas PF, con la intención de registrar la aparición de las trocóforas y larvas veliger o “D”, siguiendo la metodología descrita por Lodeiros et al. (2017). Durante este proceso las condiciones de cultivo fueron  $26,0 \pm 0,50 \text{ }^\circ\text{C}$ , 37 UPS, en ausencia de aireación. Se consideró el tiempo efectivo de cada fase cuando se logró registrar más del 60% de embriones o larvas con las características propias del desarrollo

temprano para el género *Spondylus*, reportadas por Parnell (2002), Soria et al. (2010) y Looor et al. (2016). Las muestras fueron colocadas en portaobjetos excavado con 1 gota de formaldehído al 4% neutralizado, para preservar e inmovilizar los embriones y larvas, previa caracterización y medición (n=30). Las observaciones fueron realizadas empleando un microscopio óptico Olympus CX31 a 100X de amplificación, con una cámara digital (Lanoptik MDX 501). El software iWorks 2.0, fue el gestor gráfico empleado para el registro fotográfico y mediciones de las tallas de las distintas etapas embrionarias y primeros estadios larvales.

#### **6.4 Cultivo larval, postlarval y obtención de juveniles**

Las larvas veliger “D”, mayores a 30 h de vida, fueron cultivadas en tanques de 1 ton con AMF, a una densidad de 4 larvas.mL<sup>-1</sup>, temperatura de 25,0±1,00 °C y una salinidad de 37 UPS. Durante esta fase del cultivo, los recambios fueron cada 48 h y permanecieron con aireación suave y centralizada. La alimentación consistió en una mezcla de *T. lutea* y *C. gracilis* en una combinación 3:1 en número de células (agregada en dos raciones al día), siguiendo las mismas pautas que Lodeiros et al. (2017), durante el cultivo larvario de *S. prismática*, en términos de concentración y días (en esta oportunidad hasta los 18 días), considerado el mismo, como el protocolo de alimentación estándar para la producción de semillas de bivalvos en el laboratorio de Moluscos del CENAIM-ESPOL. Las observaciones durante esta fase fueron realizadas de la misma forma a la descrita para el registro de los embriones y larvas D tempranas.

#### **6.5 Influencia de la temperatura y densidad en la producción larvaria**

Las larvas provenientes de los cultivos en tanques de 1 ton con AMF (mismas condiciones que las descritas en el apartado de cultivo larvario), fueron sembradas el día 4 de edad (talla 128,6±3,86 µm de longitud de concha) en tanques cilindro-cónicos de 50 L de fibra de vidrio reforzado (25 L de volumen operativo), cultivadas bajo dos regímenes de temperatura (25,0±1,00 y 29,0±1,00 °C), en esta ocasión la densidad fue 2 larvas.mL<sup>-1</sup>. Además, otro grupo de larvas fueron cultivadas a diferentes densidades (1, 2 y 4 larvas.mL<sup>-1</sup>, por triplicado) y la alimentación, al igual que para los tratamientos de temperatura, consistió en la descrita para la producción larvaria del apartado previo. Con

frecuencia diaria para la talla e intermediaria para el caso de la supervivencia, empleando el método descrito para el registro del ciclo de vida temprano de la especie en las secciones de desarrollo embrionario y cultivo larval, se estimó el porcentaje de supervivencia, la talla media de longitud de la concha, así como los incrementos para cada tratamiento entre los días 4-10 y 10-16. De manera complementaria, se recopiló información adicional (bajo los parámetros de cultivos previamente descritos y por triplicado), referente al rendimiento de los cultivos alimentados con una dieta de *C. gracilis* y *T. lutea* (3:1), a densidad de 2 larvas.mL<sup>-1</sup> y en las concentraciones señaladas en el protocolo de alimentación estándar del CENAIM-ESPOL para larvas de bivalvos marinos, según el día de cultivo correspondiente.

## **6.6 Análisis estadísticos**

Previa comprobación de los estadísticos paramétricos, estableciendo el cumplimiento de los supuestos de homogeneidad de varianzas y distribución normal (prueba de Bartlett), se efectuaron al final del experimento y por tratamiento, una serie de un análisis de varianza simple (ANOVA I). Las diferencias en la supervivencia (tanto larval como postlarval), así como las encontradas durante el crecimiento de los organismos para cada tratamiento (densidad, temperatura), se verificaron mediante un análisis *a posteriori* de Tukey ( $p < 0,05$ ). Todos estos análisis se efectuaron con el paquete estadístico Statgraphics Centurion XV.

## **7. VIABILIDAD O FACTIBILIDAD**

El presente trabajo de investigación fue posible puesto que se contó con el apoyo de los directores, y el investigador científico (tutor de tesis) del Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM-ESPOL), además se recibió ayuda del Ministerio de Acuicultura y Pesca otorgando el permiso de captura, ya que *S. crassisquama* es una de las especies que está catalogada con interés acuícola.

Se obtuvo apoyo por parte de otros investigadores científicos dentro y fuera del CENAIM, para desarrollar el proyecto de investigación.

Es factible en lo económico ya que el dinero invertido en el proyecto de investigación fue parte del Estado junto con CENAIM, ofreciendo todos los recursos y materiales a necesitar en todo el proceso. Se contó con el uso de computadoras para hacer las respectivas investigaciones y se obtuvo el recurso necesario para hacer el trabajo escrito.

## 8. RESULTADOS

### 8.1 Cultivo embrionario, larval y postlarval

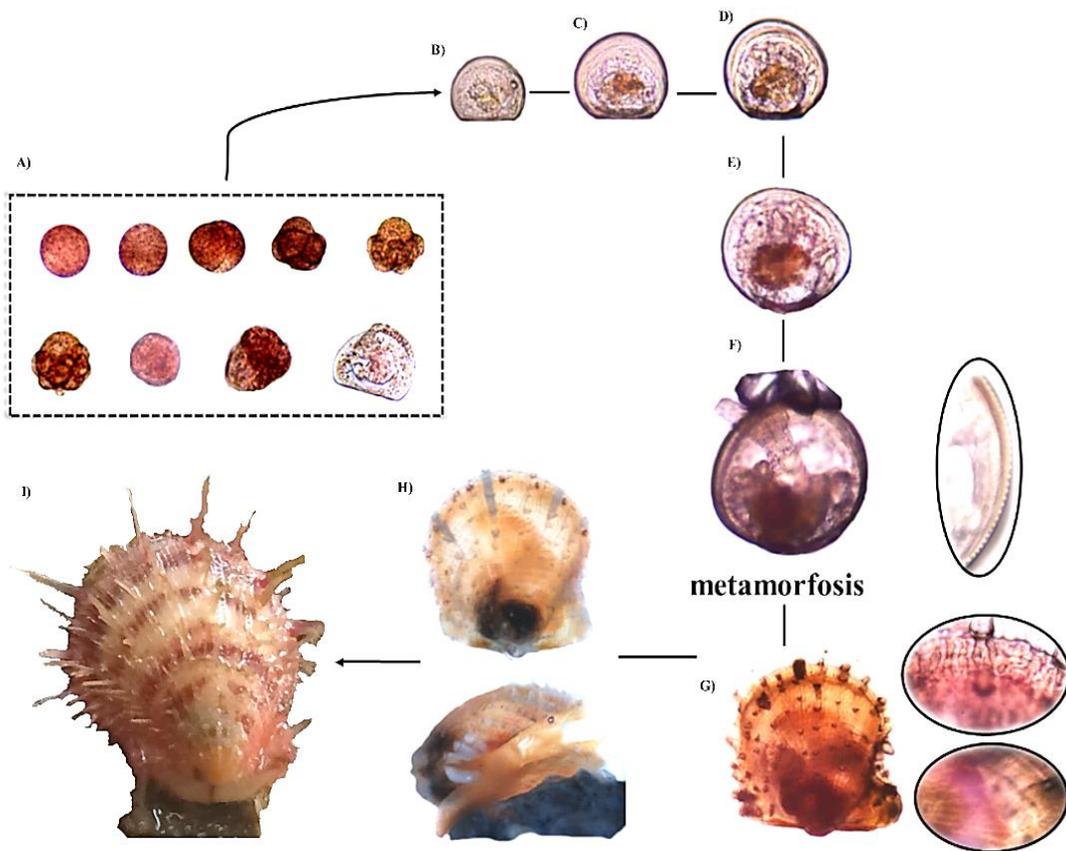
El primer cuerpo polar se observó durante los primeros 5-10 min PF de los ovocitos ( $61,9 \pm 1,52 \mu\text{m}$ ), con una tasa de efectividad mayor al 98%. La primera división celular tuvo lugar entre 40-60 min después de la fertilización. La segunda, tercera y sucesivas divisiones continuaron durante las siguientes 4 h, hasta alcanzar la forma de mórula. Las blástulas fueron observadas después de 5 h ( $63,6 \pm 3,43 \mu\text{m}$ ). La fase de gástrula ciliada ( $63,3 \pm 3,04 \mu\text{m}$ ) inició las 8 h. En el transcurso comprendido entre 10-20 h PF, fue registrado el estadio de trocófora (tardía,  $76,9 \pm 5,57 \mu\text{m}$ ). La transición entre la fase de trocófora y las primeras larvas con forma D (sin calcificar,  $95,6 \pm 4,21 \mu\text{m}$ ) se presentaron entre las 20-24 h.

El final del proceso embrionario fue observado a las 28 h con la aparición de larvas veliger calcificadas en forma de prodisoconcha-I (PI;  $109,4 \pm 3,85 \mu\text{m}$ ). La prodisoconcha-II se observó luego de 5 h después de la PI (luego de 33 h de iniciada la fertilización). Larvas con formación de un provinculo en su concha fueron observadas el día 4, cuando medían  $128,6 \pm 3,86 \mu\text{m}$  de longitud. Durante el día 6 las larvas veliger se tornaron ligeramente umbonadas (inicial) con una talla de  $129,6 \pm 4,65 \mu\text{m}$ . Larvas completamente umbonadas (presencia de un anillo) con longitud de  $138,2 \pm 8,09 \mu\text{m}$  fueron registradas el día 9 de cultivo. A partir del día 13, se observaron las primeras larvas con presencia de ojo (mancha ocular), las cuales presentaron una talla de  $147,7 \pm 9,86 \mu\text{m}$ . Más del 60% de las larvas mostraron mancha ocular el día 16, además de presencia de un doble anillo. Entre los días 16-18 se observó la formación del pie rudimentario en las larvas (pediveliger iniciales), alcanzando la talla de  $161,4 \pm 13,93 \mu\text{m}$  de longitud.

Durante los días en los que se llevó a cabo el desarrollo completo del pie, fue posible evidenciar una elevada actividad natatoria y un incremento importante en la longitud de la concha de las larvas ( $185,8 \pm 8,80 \mu\text{m}$ ). Además, se puede apreciar la evolución del margen ventral de la concha de las larvas, los cuales en ambas valvas se configuraron en forma de “zigzag”, a manera de perfectos cerrojos naturales. En los días posteriores ocurrió la metamorfosis, y las primeras PL fueron observadas el día 20 con una talla  $553,0 \pm 150,10 \mu\text{m}$ , caracterizadas por la aparición de la disoconcha. Durante el cultivo de las PL libres (> 1 mm de longitud de concha y edad de hasta 40 días), se puede observar la formación de biso en ausencia de ctenolium, el cual fue segregado desde la región que

posteriormente se convertirá en la escotadura bisal de la aurícula anterior derecha de las valvas, en este caso aparentemente sin función.

Las primeras PL libres sembradas en los tambores de fijación lograron su fase de PL cementadas luego de 5 días de iniciado el cultivo ( $1,6\pm 0,41$  mm). La supervivencia al final del cultivo (juveniles de 60 días de edad) fue de  $2,6\pm 0,25$  %. La talla media de longitud de concha registrada en los juveniles después de este periodo fue de  $4,8\pm 2,01$  mm. En la figura 4, se puede apreciar el ciclo de vida temprano de *S. crassisquama*).



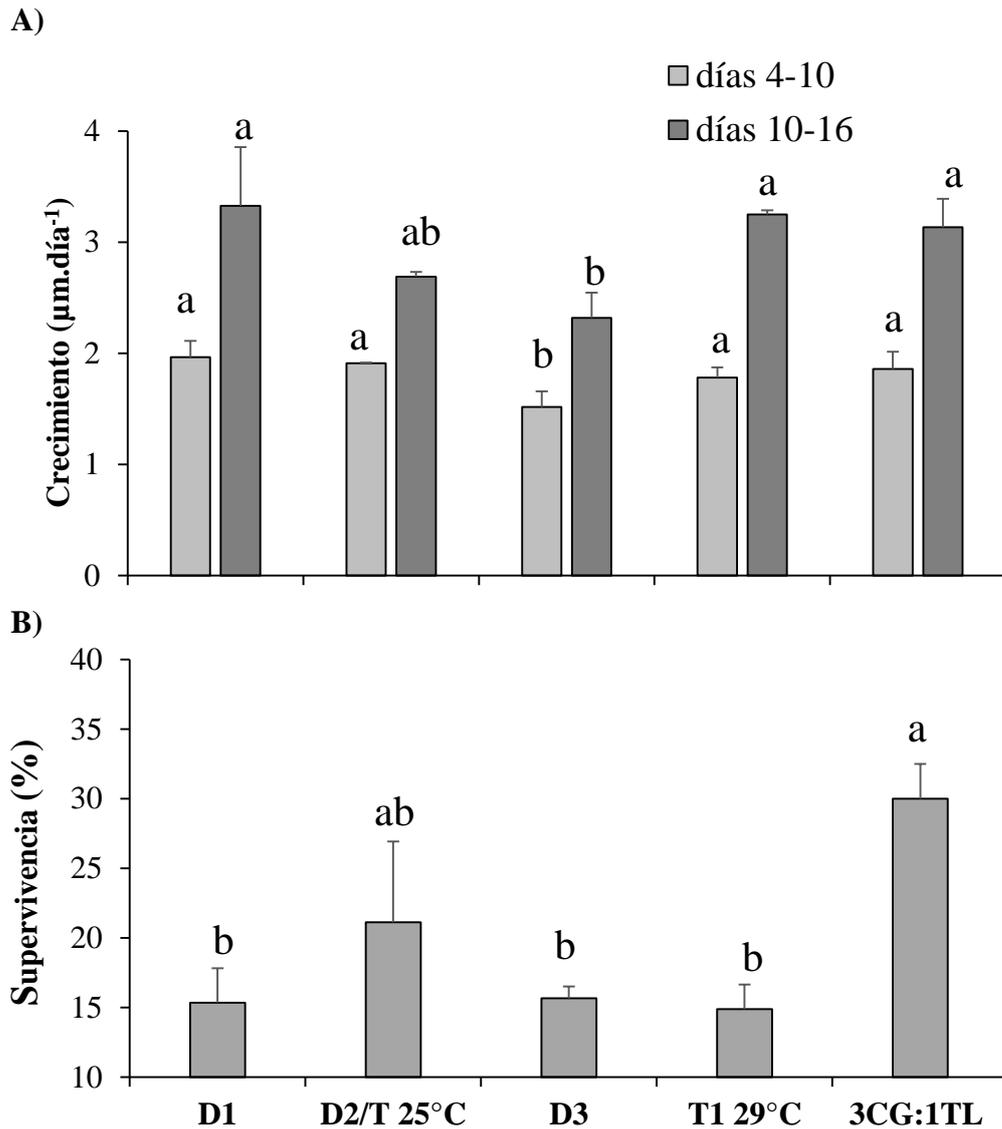
**Figura 4.** Ciclo de vida temprano de *Spondylus crassisquama*. A) Fase embrionaria y larva D sin calcificar; B) Larvas veliger de dos días; C) Larvas umbonadas inicial de 6 días; D) Larvas umbonadas de 9 días con formación de doble anillo; E) Larva de entre 13 y 16 días con mancha ocular; F) Larva pediveliger de 20 días con borde de la disoconcha aserrado; G) Postlarva bentónica de 25 días y biso; H) Postlarva de 45 días iniciando la cementación; I) Postlarva de 60 días completamente cementada con talla de  $4,8\pm 2,01$  mm. Las barras desde “b” hasta “F” escala de 50 µm; desde “G” hasta “I”, sin escalar.

## 8.2 Influencia de la temperatura y densidad en la producción larvaria

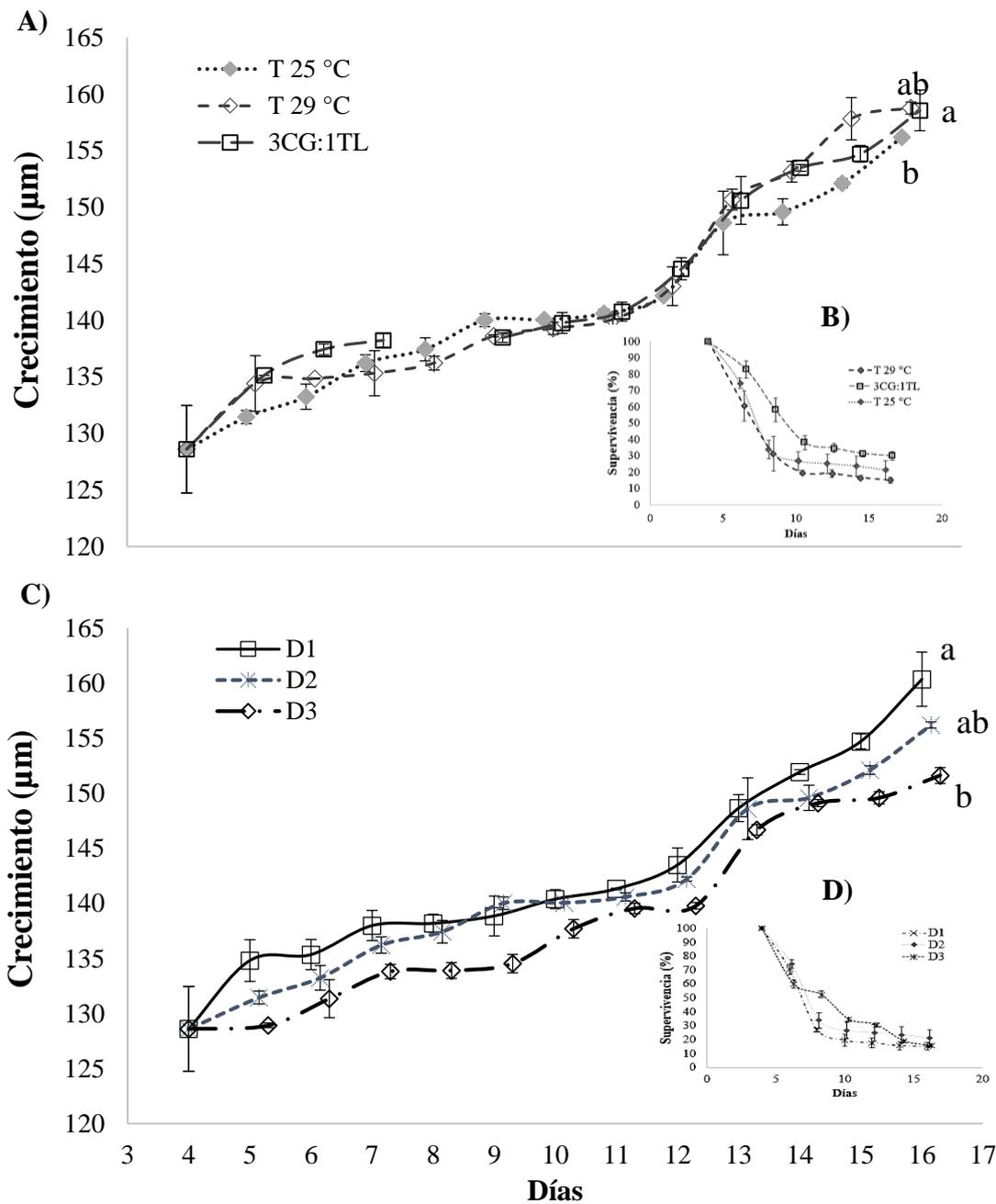
El día 16 del ensayo, cuando se pudo constatar (>60% de las larvas en todos los tratamientos) la presencia de mancha ocular en todas las larvas del experimento se dio por concluido el cultivo. En la figura 5A se muestran los incrementos diarios ( $\mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$ ) registrados para los diferentes tratamientos durante dos lapsos evaluados (días 4-10 y 10-16). Los mayores incrementos fueron observados entre los días 10-16, indistintamente de la condición experimental. Los cultivos a densidad de 1 larva.mL<sup>-1</sup>, mostraron el mayor incremento durante esta fase, con  $3,3\pm 0,53 \mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$ , así como la talla más alta de longitud de concha al final del ensayo ( $160,4\pm 2,47 \mu\text{m}$ , fig. 6C), y en ambos casos con diferencias significativas ( $p<0,05$ ), con respecto al resto de las densidades. Los menores incrementos fueron registrados durante la primera fase del cultivo para la densidad de 4 larva.mL<sup>-1</sup> ( $1,5\pm 0,14 \mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$ ). En este sentido, el mayor incremento promedio de longitud de concha a lo largo del estudio (del día 4 al 16) correspondió al registrado en larvas alimentadas con la dieta que contiene 75% de *C. gracilis* (3CG:1TL), la cual fue de  $3,2\pm 1,26 \mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$  y no mostró diferencias con el resto de los tratamientos (datos sin publicar).

Respecto a la temperatura, al parecer no influye en el crecimiento de las larvas durante los 4 primeros días del ensayo ( $p>0,05$ ), mostrando incrementos de  $1,9\pm 0,5 \mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$  y  $1,7\pm 0,09 \mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$ , a los 25 y 29 °C, respectivamente. En contraste, se encontraron diferencias significativas durante la segunda fase del cultivo larvario ( $p<0,05$ ), en donde, las larvas mantenidas a 29 °C mostraron una tasa de crecimiento en su longitud de concha mayor ( $p<0,05$ ), que la registrada a 25 °C en una proporción superior al 80%. Durante esta fase (días 10-16), sin importar si las larvas son cultivadas a 29 °C (dieta estándar), alimentadas con la dieta 3CG:1TL o cultivadas a 1 larva.mL<sup>-1</sup> (ambas a 25 °C), no se observaron diferencias entre sus respectivos incrementos ( $p>0,05$ ). Una evaluación detallada del crecimiento diario de las larvas evidencia amplias diferencias en el crecimiento entre días (especialmente entre las densidades al final del cultivo, fig. 6B). Las relaciones entre los episodios de mortalidad con tales variaciones en los incrementos diarios específicos no están claras, especialmente en casos como los de los días 15 y 16 para los tratamientos 3CG:1TL y la temperatura de 29 °C, donde las larvas de los primeros alcanzaron la talla de las cultivadas a una temperatura 4 °C mayor, ambos sin experimentar un cambio previo significativo en sus densidades (supervivencia sostenida del día 12 en adelante, fig. 6D).

La supervivencia final registrada en los cultivos larvarios alimentados con la dieta 3CG:1TL (2 larvas.mL<sup>-1</sup> y 25 °C), mostró los valores más altos del ensayo (30,0±2,49%) siendo ésta diferente al resto de los tratamientos ( $p>0,05$ , fig. 5B). Entre 15 y 21% fue la supervivencia final de los restantes tratamientos (sin diferencias significativas entre ellos). Es evidente que los días 6 y 8 de cultivo, representaron los días más críticos en términos de supervivencia (fig. 6B y D), con pérdidas superiores al 50% para los tratamientos con densidades de 1 y 2 larvas.mL<sup>-1</sup>, así como las cultivadas a 29 °C (supervivencias inferiores al 30%, luego del día 8). Los cultivos mantenidos a una densidad de 4 larvas.mL<sup>-1</sup> mostraron caídas significativas en supervivencia durante los días posteriores, concluyendo con mortalidades superiores al 84%.



**Figura 5.** A) Incremento diario ( $\mu\text{m.día}^{-1}$ ) y B) supervivencia final (%) de larvas de 4 días de edad de *Spondylus crassisquama*, cultivadas a diferentes temperaturas ( $25\text{ }^{\circ}\text{C}^*$ ,  $29\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), dietas (\*1CG:3TL, 3CG:1TL) y densidades (1, 2 y 4 larvas.ml<sup>-1</sup>) durante un periodo de 12 días. Las barras de error representan la desviación estándar ( $n = 3$ ).



**Figura 6.** A-B) Longitud media de la concha y supervivencia de larvas de *Spondylus crassisquama*, cultivadas a diferentes temperaturas (25 °C\*, 29 °C), dietas (\*1CG:3:TL, 3CG:1TL), y C-D) densidades (D1 = 1, D2 = 2 y D3 = 4 larvas.ml<sup>-1</sup>) durante un periodo de 12 días. Las barras de error representan la desviación estándar (n = 30).

## 9. DISCUSIÓN

Al observar los crecimientos en las distintas fases del desarrollo embrionario de algunos pectínidos de interés comercial (Cragg, 2016), se puede apreciar que las fases ontogénicas de *S. crassisquama* no defieren en términos de talla y cronología, con la del resto de pectínidos estudiados. Sin embargo, es evidente que la duración del ciclo larval dista, de manera equidistante en términos de tiempo, con las reportadas por Soria et al. (2010) y Loor et al. (2016), para *S. limbatus*. Mientras que los primeros observaron larvas precompetentes el día 21, los segundos obtuvieron esta fase luego de 12 días de cultivo (en este caso a temperatura  $\approx 25$  °C). Respecto al crecimiento, se pudo apreciar que los incrementos máximos de  $\approx 3,3 \mu\text{m}.\text{día}^{-1}$ , están muy por debajo de las tasas de crecimiento reportadas para algunos pectínidos objeto de cultivo en regiones tropicales y subtropicales, tales como *Argopecten purpuratus* (Uriarte et al., 1994), *A. ventricosus* (Monsalvo-Spenser, 1998), *Nodipecten nodosus* (Rupp, 1994) y *Nodipecten subnodosus* (Mazón-Suástegui et al., 2011), las cuales han mostrado una amplia variación (de 6,8 hasta  $13,3 \mu\text{m}.\text{día}^{-1}$ , con ciclos larvarios de entre 10 y 17 días). Los resultados reportados por Loor et al. (2016) durante el ciclo de vida de criadero de *S. limbatus* confirman lo anterior. Estos autores describen un desarrollo embrionario luego de 26 h de fertilizados los ovocitos (solo dos horas menos que en este estudio). Sin embargo, los menores incrementos registrados durante el cultivo larvario de *S. limbatus* en tal estudio, fueron similares a los obtenidos a la densidad de 1 larva.mL<sup>-1</sup> durante la segunda fase del cultivo (mayor incremento registrado en *S. crassisquama*).

Existen diversas razones que llevan a suponer las bajas tasas de crecimiento y altas mortalidades durante la fase inicial del cultivo de bivalvos en criaderos, están asociadas a condiciones (o tecnologías de cultivo), inadecuadas o subóptimas. Entre las principales causas que influyen en la supervivencia y el crecimiento de los cultivos se mencionan las condiciones fisiológicas de los reproductores, las proporciones de los gametos, variaciones genéticas, transferencia vertical de patógenos por parte de los reproductores, la calidad del agua y deficientes prácticas de bio control (Utting & Helm, 1985; Doroudi & Southgate, 2003; Galley et al., 2010; Mazón-Suástegui et al., 2011; Angel-Dapa et al., 2015; Dubert et al., 2015; González-Araya and Robert, 2018). De todas las anteriores, la transferencia vertical de patógenos por parte de los reproductores y la calidad del agua, representan dos de los factores de mayor riesgo para la producción de larvas competentes

de *S. crassisquama*. La amplia diversidad de organismos reportados como epibiontes en la superficie externa de las valvas de la especie (Mackensen et al. 2012) muestran el alto riesgo de introducción de microorganismos, los cuales en condiciones favorables pueden tornarse patógenos no solo durante los estadios larvales (*Vibrios* sp. especialmente; Dubert et al. 2017; Romalde et al. 2017), sino también en el cultivo de juveniles (Petton et al., 2013; Goudenège et al. 2015). Los resultados obtenidos muestran la efectividad de la serotonina como neurotransmisor inductor al desove a los adultos maduros de *S. crassisquama*, lo cual brinda la oportunidad de reducir en importante medida, los efectos colaterales de la estimulación al desove mediante el estrés térmico.

Respecto a la calidad del agua, Loor et al. (2016) señalan que entre las razones que justifican las altas mortalidades registradas durante el cultivo de larvas y postlarvas de *S. limbatus* (mismas instalaciones en la que se desarrolló esta experiencia) se encuentran las altas cargas bacterianas introducidas a los cultivos por medio de las microalgas, lo cual coincide con la observación realizada por Soria et al. (2010), durante el cultivo de la misma especie. En este sentido, Revilla et al. (2018), durante la producción de larvas tempranas de *N. subnodosus* (sin adición de alimento), reportan rendimientos promedios (supervivencia y bajas menores porcentajes de larvas normales), cuando los embriones son producidos sin el empleo de algún tipo de control biológico (natural o químico). Lo anterior, deja en evidencia que existen razones suficientes para evaluar con mayor profundidad las condiciones microbiológicas del agua durante todas las etapas del cultivo, en la búsqueda de comprender el rol que el microbiota ejerce en las interacciones inmunológicas y las respuestas morfogénicas de la especie, con la intención de brindar estrategias que permitan incrementar las tasas de supervivencias y acelerar el crecimiento.

Con relación al desarrollo y crecimiento de las larvas en criadero, resulta relevante considerar que, además de las implicaciones desfavorables producto de las condiciones biológicas del agua, el proceso acelerado de acidificación de los océanos durante las últimas décadas ha mostrado influir perjudicialmente en la industria mundial de semillas de bivalvos provenientes de criaderos (principalmente, la dedicada a la producción de *Crassostreas* sp.), poniendo en riesgo sectores que emplean en algunos casos a más de 3.000 personas y generan cerca de \$ 270 millones anuales (dato exclusivo de la bahía Netarts-Tillamook, en la costa oeste de los EEUU; Global Ocean Health, 2017). Cabe suponer, que dadas las características que presentan en sus valvas, los juveniles y adultos

de *S. crassisquama*, siendo estas de mayor espesor, dureza y grado de especialización, en comparación con la de muchos otros bivalvos (incluido *C. gigas*), los riesgos de mortalidad larval por desequilibrio de pH durante el cultivo inicial son potenciales (Waldbusser et al., 2013; Glober et al., 2014; Ekstrom et al. 2015; Waldbusser et al., 2015; Nardi et al. 2018 ), sin dejar a un lado las posibles implicaciones en los juveniles. Un ejemplo de esto es el caso de *A. purpuratus* cultivado al norte de Chile, donde la sinergia entre el incremento de la temperatura (de 14 a 18 °C) y una concentración de dióxido de carbono ( $pCO_2$ ) de 1000  $\mu m$ , implican un estrés tal en los organismos que limita la ingesta de alimento y atrofia la glándula digestiva, comprometiendo la salud de los organismos (Lardies et al., 2017).

Las altas mortalidades registradas durante el proceso de metamorfosis en los tambores de fijación, las cuales no se corresponden con los resultados obtenidos en los ensayos de preferencia de sustratos, ponen en duda la aparente sensibilidad de las larvas competentes y PL libres del género *Spondylus*, señalada por otros investigadores (Parnell, 2002; Soria et al., 2010; Loor et al., 2016). Lo anterior, lleva suponer que el implemento de las técnicas inadecuadas de cultivo, aunado al detrimento de la calidad del agua debido a la naturaleza orgánica de algunos sustratos (aun después de ser auto clavados dos veces), compromete la viabilidad de la producción de juveniles. Sin embargo, los resultados relacionados a la obtención de PL cementadas en las mallas mono-filamentosas y la presencia de biso en la especie consisten un importante avance en la búsqueda de optimizar la producción de juveniles de *S. crassisquama*, debido a que brinda la posibilidad de disponer de una variedad de sustratos empleados con existo durante la fijación y metamorfosis de muchos pectínidos (reduciendo en este sentido el riesgo de desequilibrio microbiológico; Zanella et al. 2017).

Recientemente Joyce & Vogeler (2018) mencionan que, si bien durante los últimos años, han sido numerosos los descubrimientos asociados a células neuroendocrinas y las múltiples relaciones de estas con algunas respuestas morfogénicas en bivalvos, además, del hecho que se cuenta en la actualidad, con un amplio repertorio de técnicas (y compuestos) para estimular la metamorfosis e incrementar la supervivencia durante el cultivo, tales autores terminan por destacar que los mecanismos biológicos que rigen dichos procesos en las larvas de bivalvos siguen sin ser relevados. Lo anterior, se muestra como una limitante para la producción de semillas de algunos bivalvos, con una aparente

mayor susceptibilidad microbiológica con respecto a otros grupos (Estes et al., 2004), como es el caso de los pectínidos. La profundización en los estudios sobre los procesos de especialización hemapoyética, competencia inmunológica, señales neuroendocrinas (incluidas nuevas vías; Niwa & Niwa, 2016) y regulación genética (Croll, 2009; Coba de la Peña et al 2016; Joyce & Voleger, 2018), parecen brindar una nueva perspectiva sobre el enfoque que debe adoptar el campo de la ciencia si pretende resolver los problemas de producción, no solo de *S. crassisquama*, sino de cualquier otro bivalvo producido en criadero. Lo anterior, siendo de gran relevancia, dado el hecho de poderse convertir tales avances en un proceso de valorización comercial significativo.

Los resultados observados, tanto en crecimiento y supervivencia, a las distintas densidades evaluadas durante el cultivo larvario, muestran una relación inversa entre dichas variables y la densidad del cultivo. Esta tendencia es reconocida en la mayoría de pectínidos cultivados, no solo durante la fase larvaria, sino a lo largo de todo el ciclo productivo (be-Suástegui et al., 2011; Freitas et al., 2011). Sin embargo, resulta curioso que la supervivencia de los cultivos a la densidad intermedia de este estudio (2 larvas.mL<sup>-1</sup>) mostraran un resultado mayor al resto de las densidades, siendo incluso igual que el registrado en la dieta 3CG:1TL. En este sentido, resulta oportuno recordar que las labores propias del mantenimiento de los cultivos larvarios (especialmente cuando se emplea el método “bach”) involucran actividades que condicionan los porcentajes de supervivencia final dentro de los laboratorios. Desde la publicación de los métodos de cultivo larvario de, (Estes et al., 2004), donde describen los procesos básicos para el drenaje y reducción progresiva de la densidad, con la intención de eliminar larvas enfermas o muertas y obtener mejores crecimientos que favorezcan la obtención de larvas pediveliger aptas para el asentamiento, muchos han sido los centros de producción de semillas de bivalvos, que han adoptado tales prácticas, dejando de lado todos los avances tecnológicos alcanzados en los últimos años en la industria (González-Araya et al., 2012; Walton et al 2013; Kamermans et al., 2016; Asmani et al., 2017; Qiu et al., 2017).

Resulta interesante que, al igual que las larvas de *S. limbatus* (Loor et al., 2016), los mayores incrementos de longitud de concha (y supervivencia) del presente estudio fueron los observados en el tratamiento con la dieta comprendida por *C. gracilis* (3CG:1TL). Algunas razones de tales rendimientos, en base a las características nutricionales de esta dieta, son aportadas por dichos autores. Sin embargo, en lo que respecta a la

supervivencia, estos mencionan a la dieta mono algal *C. gracilis*, como la que aporta la máxima supervivencia (18,80%). Es un hecho que durante años los criaderos de bivalvos han orientado la producción de sus microalgas a unas cuantas pocas especies, las cuales han brindado la oportunidad de garantizar tasas aceptables de crecimiento y supervivencia durante el cultivo larvario (Marshall et al., 2010). La razón fundamental de esto, a la posibilidad de conservar los bajos costos relacionados a la producción del alimento de manera masiva (Helm & Bourne, 2004). Lo anterior, al margen de someter a los organismos (larvas y juveniles), a condiciones estresantes de diferentes tipos como (Freites et al. 2016) suministro de microalgas de tamaño inadecuado (Martínez-Fernández et al. 2004; 2006), todas estas, soportadas en muchas ocasiones por el desconocimiento referente a la selectividad alimenticia inherente a los procesos evolutivos en las distintas especies de pectínidos (Cragg, 2016). Además, la carencia de estudios relacionados a las respuestas enzimáticas (y microbianas) del sistema digestivo de las larvas pectínidos, las cuales han mostrado en algunas ocasiones verse beneficiadas por la adición de emulsiones lipídicas con el alimento vivo (Velasco & Barros, 2008), limita claramente el desarrollo del sector. En este sentido, los resultados recientes reportados sobre el efecto de algunos grupos de ácidos grasos específicos durante el cultivo inicial de algunos bivalvos marinos en criadero (Aranda-Burgos et al. 2014; Lodeiros et al. 2017, González-Araya & Robert, 2018), lleva a suponer que, el diseño de dietas basados en tales consideraciones permitirá cubrir las demandas nutricionales específicas en las fases previas a la metamorfosis y fijación de muchos bivalvos de interés acuícola. En este sentido, en la actualidad algunas investigaciones han logrado aportar información sobre el rol clave que juegan los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), en la respuesta inmunológica del pectínido *A. purpuratus*, en algunas fases del cultivo (Brokordt K., común. personal), ofreciendo un nuevo número de alternativas para remediar las recurrentes mortalidades durante el ciclo productivo de bivalvos marinos, como bien señalan Joyce & Vogeler (2018).

Las temperaturas altas favorecen el crecimiento de muchas larvas de pectínidos y demás bivalvos de interés comercial (Rose & Baker, 1994; De la Roche et al., 2002; Velasco & Barros, 2008; Mazón-Suástegui et al., 2011), sin embargo, tales incrementos de temperatura, también se corresponden, en muchos casos, con menores porcentajes de supervivencia (proliferación bacteriana y/o estrés fisiológico, Robert et al. 1996; Southgate, 2008). En este sentido, las larvas de *S. crassisquama* cultivadas a 29 °C, cumplieron este enunciado casi con exactitud, mostrando un crecimiento al final del

cultivo, similar a los registrados en larvas sembradas a menor densidad y las alimentadas con la dieta compuesta principalmente por la diatomea, *C. gracilis* (3CG:1TL), a la vez que se reportan los valores de mortalidad más altos registrados durante el ensayo (>85%). Talmage & Gliber (2011), señalan que muchas larvas de bivalvos experimentan máximos rendimientos cuando son cultivados en condiciones ideales de temperatura ( $\approx 24$  °C para especies del noroeste del Atlántico). Además, destacan que los incrementos por encima de estos rangos conducen a menores crecimientos y mayor susceptibilidad frente a otros estresores ambientales (acidificación oceánica, metales, enfermedades, entre otros).

## 10. CONCLUSIONES

Los resultados observados durante el desarrollo embrionario de *S. crassisquama*, demuestran que no difieren en gran medida a los reportados para otras especies de pectínidos de interés para la acuicultura.

El ciclo larvario de *S. crassisquama*, (en todas las condiciones experimentadas), mostró diferencias en tiempo con los reportados previamente para el género *Spondylus*; larvas competentes y pediveliger, de 16 y 18 días, respectivamente, se ubican dentro de los rangos habituales de algunas especies de pectínidos cultivadas en regiones tropicales y subtropicales.

Los bajos incrementos en la longitud de concha de las larvas durante todo el estudio demuestran que los cultivos se encontraron en condiciones subóptimas. Sin embargo, las razones de tales retrasos en el crecimiento no quedan claras, especialmente si se consideran los porcentajes de supervivencia, los cuales mostraron resultados bastante aceptables.

La densidad reflejó ser el principal factor que condiciona el crecimiento de las larvas de *S. crassisquama*, algo reportado con frecuencia durante el cultivo de pectínidos (tanto en larvas y juveniles). Sin embargo, los efectos en el crecimiento y supervivencia de los cultivos a 2 larvas.mL<sup>-1</sup> (incluidas las cultivadas a 29 °C y las alimentadas con 3GC:1TL), muestran que existen razones para suponer que la influencia de la temperatura y tipo de dieta juega un papel preponderante durante el ciclo larvario de la especie.

## 11. RECOMENDACIONES

Observar el desarrollo embrionario a diferentes densidades y temperaturas independientemente, ya que se desea una mejora continua del mismo para realizar comparaciones entre los resultados dados en este proceso.

No utilizar antibióticos para el crecimiento y supervivencia en el cultivo de *S. crasssquama*.

Realizar ensayos microbiológicos para conocer la posible asociación entre las mortalidades de *S. crasssquama* con bacterias patógenas.

Hacer ensayos de mayor densidad durante el cultivo larval para observar la resistencia a las condiciones intensivas del mismo, con la intención de incrementar los rendimientos al final del ciclo del cultivo.

Producir semillas en criaderos de *S. crasssquama*, puesto que representa un recurso de importancia económica, que puede ser utilizado en medios de cultivos de engorde y comercialización. Así mismo, favorecer a los programas de restauración y repoblamiento de la especie en zonas costeras.

## 12. GLOSARIO

**Algas:** plantas acuáticas que se reproducen por esporas alimentos en el agua (también llamado ctenidio).

**Altura de la concha:** de la distancia en línea recta desde el umbo hasta el margen.

**Axis antero-posterior (Largo):** distancia medida desde la zona del umbo (posterior).

**Axis dorso-ventral (Alto):** distancia máxima medida desde la posición de entrada de alimento (anterior) y la salida tanto del flujo de agua como de productos de excreción y pseudoheces (posterior).

**Biso:** filamentos que los bivalvos utilizan para adherirse a un sustrato.

**Bivalvo:** molusco pelecípodo con concha de dos valvas unidas por una charnela bivalvos.

**Branquia:** apéndice en forma de hoja que sirve para la respiración y filtración de cadena, cultivadas en los criaderos como alimento para larvas y semilla.

**Charnela:** zona dorsal de la concha de los bivalvos donde se unen las dos valvas.

**Cilios:** filamentos cuyo movimiento rítmico produce una corriente de agua en los Bivalvos.

**Ctenolium:** formación de pequeños dientes en la muesca bisal de bivalvos.

**Cuerpo polar:** células diminutas liberadas durante la división meiótica del óvulo de la concha después de la penetración del espermatozoide. Contienen el exceso de material cromosómico para formar un óvulo haploide.

**Diatomea:** alga unicelular bacilariofícea; las células están encerradas en un caparazón.

**Diploide:** número normal de cromosomas (2n) en una célula.

**Disoconcha:** concha secretada después de la metamorfosis de la larva; difiere en escultura y forma de la prodisoconcha y la prodisoconcha 2.

**Distancia Máxima entre valvas:** es la mayor distancia medida entre las dos valvas de un molusco bivalvo.

**División meiótica:** proceso en el que un número normal de cromosomas (2n) se reduce al número haploide.

**Embrión:** organismo en las primeras fases de desarrollo; en los bivalvos, antes de la etapa larvaria.

**Engorde:** proceso de cultivo de semilla producida en criadero hasta alcanzar la talla comercial.

**Fecundación:** unión del óvulo y el espermatozoide fertilización.

**Fijación:** proceso de comportamiento de las larvas maduras que consiste en buscar un sustrato adecuado donde adherirse.

**Gametogénesis:** proceso por el que se forman óvulos y espermatozoides.

**Gástrula:** Fase del desarrollo embrionario posterior al de blástula; se forma por la invaginación o replegamiento de un hemisferio de la blástula en el otro y tiene forma de saca de doble pared.

**Lámina branquial:** lámina u hoja de la branquia de un bivalvo.

**Larva de charnela o larva D:** la fase veliger inicial de los bivalvos, posterior a la larva trocófora.

**Larva veliger:** la fase larvaria de la mayoría de los moluscos, caracterizada por la presencia de un velo.

**Larva:** fase del desarrollo de los bivalvos desde el embrión hasta la metamorfosis.

**Ligamento:** material fibroso elástico que une las dos valvas de un bivalvo a través de la charnela.

**Longitud:** distancia en línea recta desde el margen anterior al margen posterior madura de algunos bivalvos.

**Mancha ocular:** órgano fotosensible que se desarrolla cerca del centro de la larva.

**Manto:** pliegue blando segregado por la concha que encierra el cuerpo del bivalvo.

**Material de fijación:** material utilizado para recolectar semilla de bivalvos.

**Metamorfosis:** en bivalvos, el período de transformación entre la fase larvaria y la fase juvenil.

**Microalgas:** pequeñas algas del tamaño de una célula, diatomeas unicelulares o en cadena, cultivadas en los criaderos como alimento para larvas y semilla.

**Microlitro ( $\mu$ l):** la millonésima parte de un litro o la milésima parte de un ml.

**Micrómetro ( $\mu$ m):** la millonésima parte de un metro o la milésima parte de un mm.

**Músculo aductor:** músculo grande que ejecuta movimientos de cierre entre las dos valvas pectinoides.

**Pediveliger:** Una etapa en el ciclo de un ciclo de un veliger cuando es capaz de arrastrarse con su pie.

**Posterior:** trasero, alejado de la cabeza

**Prodisoconcha:** concha secretada por la glándula de la concha en la larva de bivalvos.

**Provínculo:** precursor de la charnela en larvas, en adultos consiste en dientes pequeños a lo largo de la parte media del margen de la charnela.

**PUFAs:** ácidos grasos poliinsaturados.

**Resilio, ligamento:** parte interna del ligamento localizado a lo largo de la charnela de interno un bivalvo que produce la apertura de las valvas cuando se relaja el músculo aductor.

**Salinidad:** el contenido en sales del agua de mar, normalmente medido en partes por mil (ppt) o en unidades prácticas de salinidad (UPS)

**Semilla:** en bivalvos es un término técnico referido a la talla manipulable, y de (poca mortalidad) en cultivo en el exterior, son juveniles de tamaño comercial.

**Trocófora:** fase planctónica en el embrión del bivalvo.

**Umbo:** proyecciones picudas en la parte dorsal de la concha. Es la parte más vieja de la concha.

**Umbo:** Vértice de las valvas, sinónimo de ápice o ápex.

**Umbonal:** Zona cercana al umbo.

**UPS:** unidades prácticas de salinidad. Una medida de salinidad, equivalente a partes por mil

**Valva:** una de las dos partes de la concha de un bivalvo, una concha está compuesta de dos valvas.

**Valvas:** Cada una de las partes duras y exteriores de la concha de un molusco bivalvo.

**Velo:** órgano ciliado locomotor de las larvas.

**Ventral:** perteneciente a la parte inferior de un animal.

### 13. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

#### INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR “LUIS ARBOLEDA MARTÍNEZ”

##### Cronograma de actividades

##### Desarrollo del proyecto



**Nombre del estudiante:** Pachay Estrada María Gabriela

**Carrera:** Acuicultura

**Empresa/Área de formación:** CENAIM

**Titulación:** Tecnóloga en Acuicultura

<i>Tiempo</i>	<i>Proyecto de tesis</i>																												
	Julio					Agosto				Septiembre				Octubre					Noviembre				Diciembre						
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	5	1	2	3	4	1	2	3	4	5		
<i>Actividades</i>																													
<i>Revisión bibliográfica</i>	█																												
<i>Fase experimental</i>						█																							
<i>Procesamiento de datos</i>										█																			
<i>Redacción experimental</i>						█																							
<i>Entrega del manuscrito</i>																█													
<i>Sustentación de tesis</i>																									█				
<i>Graduación</i>																									█				

## 14. ANEXOS



**Fig.1** Sifoneo en los tanques de acondicionamiento de reproductores



**Fig.2** Selección de reproductores



**Fig.3** Realización de endoscopia en reproductores



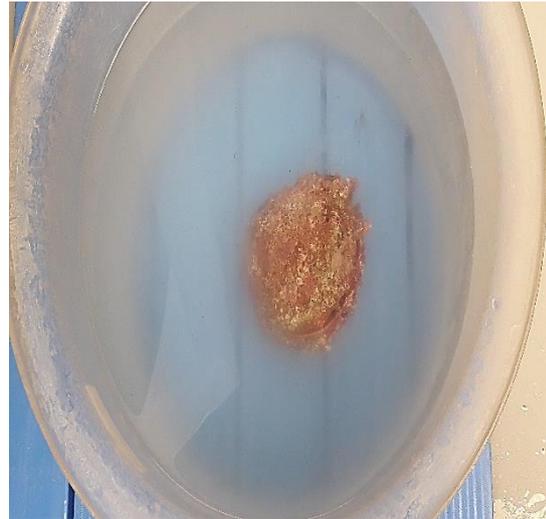
**Fig.4** Realización de shock térmico, para estimulación



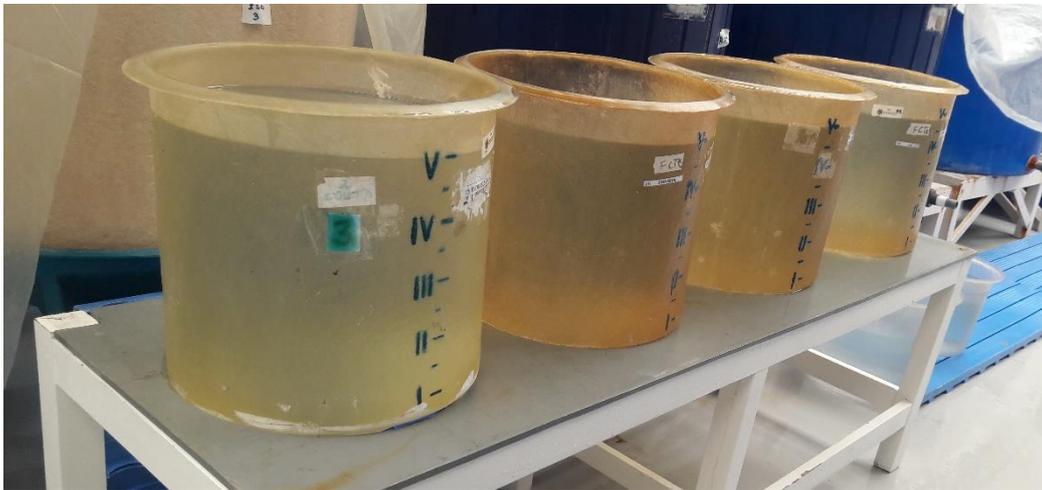
**Fig.5** Inyección intramuscular de serotonina



**Fig.6** Observación gonadal de coloración naranja (sexo femenino)



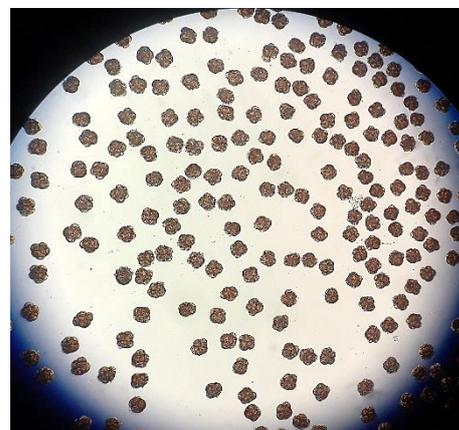
**Fig.7** Desove de un reproductor macho (coloración lechosa)



**Fig.8** Reproductores de *S. crassiquama* en proceso de desove



**Fig.9** Observación de embriones de *S. crassiquama*



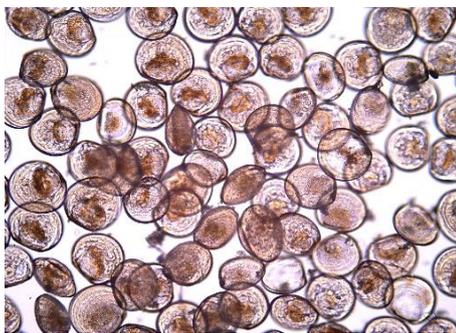
**Fig.10** Embriones en su cuarta división



**Fig.11** Arreglo y limpieza del área experimental



**Fig.12** Microalgas *Tisochrysis lutea* y *C. gracilis* alimento para las larvas de *S. crassiquama*



**Fig.13** Larvas D calcificadas



**Fig.14** Larva sementada de *S. crassiquama*

## 15. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, F., Mendívez, W. & Revelo W. Boletín Científico y Técnico; 2013. Instituto Nacional de Pesca; Biological report of bivalve *Spondylus* (*Spondylus* calcifer and *S. princeps*) in Esmeraldas, Manabí, Santa Elena y El Oro Provinces.
- Álvarez R., Cobo L., Sonnenholzner S. & Stern S; 2008. Estado actual de la acuicultura de moluscos bivalvos en Ecuador. En: A. Lovatelli, A. Farias e I. Uriarte (eds). Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. Taller Técnico Regional de la FAO. 20-24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. FAO Actas de Pesca y Acuicultura. No. 12. Roma, FAO. 129-133.
- Angel-Dapa, M.A., M. Arellano-Martínez, B.P. Ceballos-Vázquez, M. Robles-Mungaray, E. Robles-Rocha, M. Camacho-Mondragón & P.E. Saucedo; 2015. Reproductive and larval performance of the pen shell *Atrina maura* in relation to the origin and condition of the broodstock. *J. Shellfish Res.*, 34: 401-408.
- Asmani, K., Petton, B., Le Grand, J., Mounier, J., Robert, R., Nicolas, J.-L.; 2017. Determination of stocking density limits for *Crassostrea gigas* larvae reared in flowthrough and recirculating aquaculture systems and interaction between larval density and biofilm formation. *Aquat. Living Resour.* 30. <https://doi.org/10.1051/alr/2017023>.
- Baqueiro-Cárdenas E. J., A. Masso & H. Guajardo; 1982. Distribución y abundancia de moluscos de importancia comercial en Baja California Sur. Instituto Nacional de la Pesca, México Serie de divulgación 11. 32.
- Bem, M.M. de; 2004. Ampliação da Capacidade de Produção do Laboratório de Cultivo de Moluscos Marinhos- LCMM. Sub-projeto: Viabilização da Produção de Ostras Nativas e Vieiras. Informe Final. Programa MCT/FINEP/ CNPq-UFSC. 46.
- Bendif, E, M., I. Probert, D. C. Schroeder; 2013. On the description of *Tisochrysis lutea* gen. nov. sp. nov. and *Isochrysis nuda* sp. nov. in the *Isochrysidales*, and the transfer of *Dicrateria* to the *Prymnesiales* (Haptophyta): *Journal of Applied Phycology* 10.1007/s10811-013-0037-0
- Blacio E; 2002. Posibilidades de diversificación en la acuicultura ecuatoriana. *Revista El Mundo Acuícola (CENAIM)*, (8):2.
- Blacio E., Álvarez R; 2002. Diversificación: Propuesta de selección de peces y moluscos con potencial de cultivo.

- Chanley P. E; 1968. Larval development in the class Bivalvia, Proceedings of the Marine Biological Association of India. *Symposium on Mollusca* 475-481.
- CAN; 2018. Exportaciones de camarón ecuatoriano. *Revista Acuicultura*, Cámara Nacional de Acuicultura, Guayaquil. 124, 65. Recuperado (16 sep. 2018) de: <http://www.cna-ecuador.com/revista-acuicultura/>
- Cragg, S. M; 2016. Biology and ecology of scallop larvae, chapter 2. In: Shumway, S. & J. Pearson, editors. *Scallops: biology, ecology and aquaculture*. Developments in Aquaculture and Fisheries Science, vol. 40, 3rd edition. Amsterdam, The Netherlands: *Elsevier Science Publishers B.V.* 31–83.
- Croll, D., Giovannetti, M., Koch, A. M., Sbrana, C., Ehinger, M., Lammers, P. J., & Sanders, I. R; 2009. Nonsel self vegetative fusion and genetic exchange in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *New Phytologist*, 181(4), 924-937.
- Da Costa F., Darriba S., Martinez-Patino D; 2008. Embryonic and larval development of *Ensis arcuatus* (Jefferys, 1865) (Bivalvia: Pharidae). *Journal of Molluscan Studies* 74:103-109. <https://doi.org/10.1093/mollus/eym051>.
- De La Roche, J.P., Marin, B., Freitas, L., Vélez, A.; 2002. Embryonic development and larval and post-larval growth of the tropical scallop *Nodipecten* (=Lyropecten) *nodosus* (L. 1758) (Mollusca: Pectinidae). *Aquac. Res.* 33, 819–827.
- Doroudi, M., Southgate, P.C.; 2003. Embryonic and laval development of *Pinctada margaritifera* (Linnaeus, 1758). *Mollus. Res.* 23, 101-107.
- Dubert J., Fernández-Pardo A., Nóvoa S., Barja J. L., Prado S.; 2015. Phytoplankton production systems in a shellfish hatchery: variations of the bacterial load and diversity of vibrios. *J. Appl. Microbiol.* 118 1264–1275.10.1111/jam.12787
- Dubert, J., Barja, J. L., & Romalde, J. L; 2017. New insights into pathogenic vibrios affecting bivalves in hatcheries: Present and future prospects. *Frontiers in microbiology*, 8, 762.
- Estes, R. M., Friedman, C. S., Elston, R. A., & Herwig, R. P; 2004. Pathogenicity testing of shellfish hatchery bacterial isolates on Pacific oyster *Crassostrea gigas* larvae. *Diseases of aquatic organisms*, 58(2-3), 223-230.
- Ekstrom, J. A., Suatoni, L., Cooley, S. R., Pendleton, L. H., Waldbusser, G. G., Cinner, J. E., ... & Wellman, K; 2015. Vulnerability and adaptation of US shellfisheries to ocean acidification. *Nature Climate Change*, 5(3), 207.

- FAO Anuario; 2017. Estadísticas de pesca y acuicultura 2015. Roma, Italia. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i7989t.pdf>
- FAO; 2016. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma, Italia. 224. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i5555s.pdf>
- Freites-Valbuena L., Mazón-Suástegui J.M., Maeda-Martínez A.N., Koch V., Osuna-García M., Ruiz-Verdugo C.A., García-Domínguez F.A., De La Roche J.P., Manzoni G., Rupp G.R., Lodeiros-Seijo C; 2011. Preengorde, cultivo intermedio y engorde de los Pectínidos *Nodipecten nodosus* y *N. subnodosus*. En: Maeda-Martínez A., Lodeiros-Seijo C. (eds.). Biología y cultivo de los moluscos pectínidos del género *Nodipecten*. Editorial Limusa, México. Cap. 12. 313-350.
- Galley, R; 2010. A framework of community indicators for online environments. Milton Keynes: The Open University.
- Glover, V; 2011. Annual research review: prenatal stress and the origins of psychopathology: an evolutionary perspective. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 52(4), 356-367.
- Gobler, C. J., DePasquale, E. L., Griffith, A. W., and Baumann, H; 2014. Hypoxia and acidification have additive and synergistic negative effects on the growth, survival, and metamorphosis of early life stage bivalves. *PLoS ONE* 9:e83648. doi: 10.1371/journal.pone.0083648
- González-Araya and Robert; 2018. Larval development and fatty acid composition of *Ostrea edulis* (L.) fed four different single diets from conditioning to pre-settlement. *Aquac. Res.*, 49 (5) (2018), pp. 1768-1781
- González-Araya R, Lebrun L, Quere C, Robert R; 2012. The selection of an ideal diet for *Ostrea edulis* (L.) bloodstock conditioning (part B). *Aquaculture* 362: 55–66.
- Gosling E. M.;2015. Marine Bivalve Molluscs. Wiley-Blackwell. 536.
- Goudenège D., Travers M. A., Lemire A., Petton B., Haffner P., Labreuche Y., et al. ;2015. A single regulatory gene is sufficient to alter *Vibrio aestuarianus* pathogenicity in oysters. *Environ. Microbiol.* 17 4189–4199. 10.1111/1462-2920.12699
- Gribben P.E., Hay B.E; 2003. Larval development the New Zealand geoduck *Panopea zelandica* (Bivalvia: Hiatellidae). *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 37:231-239.

- Guillard, R.R.L. and Ryther, J.H; 1962 Studies on Marine Planktonic Diatoms I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian Journal of Microbiology*, 8, 229-239. <https://doi.org/10.1139/m62-029>
- Halpern, B. S., Frazier, M., Afflerbach, J., O'Hara, C., Katona, S., Lowndes, J. S. S., ... & Polsenberg, J.; 2017. Drivers and implications of change in global ocean health over the past five years. *PloS one*, 12(7), e0178267.
- Helm, M. M., N. Bourne & A. Lovatelli.; 2004. Hatchery culture of bivalves. FAO fisheries technical paper no. 471. Rome: FAO. 177.
- Hocquenghem, A. M. & Peña Ruiz, M.; 1994 – La talla del material malacológico en Tumbes. *Bulletin de l'Institut Français d'Études Andines*, 23(2): 209-229.
- Huber M.; 2009. Name Changes for two well-known Panamic Spondylids. *The Festivus* 41: 103-109.
- Joyce, A., & Vogeler, S.; 2018. Molluscan bivalve settlement and metamorphosis: Neuroendocrine inducers and morphogenetic responses. *Aquaculture*.
- Kamermans, P., Blanco, A., Joaquim, S., Matias, D., Magnesen, T., Nicolas, J. L., ... & Robert, R.; 2016. Recirculation nursery systems for bivalves. *Aquaculture international*, 24(3), 827-842.
- Lamprell, K. L.; 2006. Spiny oysters: a revision of the living *Spondylus* species of the world, vol. 119. Brisbane, Australia: Jean Lamprell. 119.
- Lardies, M. A., Benitez, S., Osoreo, S., Vargas, C. A., Duarte, C., Lohrmann, K. B., & Lagos, N. A.; 2017. Physiological and histopathological impacts of increased carbon dioxide and temperature on the scallops *Argopecten purpuratus* cultured under upwelling influences in northern Chile. *Aquaculture*, 479, 455-466.
- Lodeiros C, Rodríguez-Pesantes D, Márquez A, Revilla, J., Freites, L., Lodeiros-Chacon, C & Sonnenholzner, S.; 2017 Growth and survival of the winged pearl oyster *Pteria sterna* (Gould, 1851) in suspended culture in the tropical Eastern Pacific: Influence of environmental factors. b. *Aquaculture Research*. 00:1–7. <https://doi.org/10.1111/are.13514>.
- Lodeiros C., Rodríguez-Pesantes D., Márquez A., Revilla J., Chávez-Villalba J. & Sonnenholzner S.; 2017c. Suspended cultivation of the pacific oyster *Crassostrea gigas* in the tropical pacific eastern: influence of environmental factors. *Aquaculture International*. <https://doi.org/10.1007/s10499-017-0217-z>.

- Lodeiros C., Soria G., Valentich-Scott P., Munguía-Vega A., Cabrera J.S., Cudney-Bueno R., Loor A., Márquez A., Sonnenholzner S.; 2016. *Spondylus* of Eastern Pacific Ocean. *J Shellfish Res.* 35:279–293. <https://doi.org/10.2983/035.035.0203>.
- Lodeiros C., Márquez A., Revilla J., Rodríguez D. & Sonnenholzner S.; 2017a. Spat production of the rock oyster *Striostrea prismatica* (Gray, 1825). *Journal of Shellfish Research.* 36(3):1-7.
- 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.
- Loosanoff V. L., Davis H. C.; 1963. Rearing of bivalve mollusks, *Advances in Marine Biology* 1: 1-136.
- Loosanoff V. L., Davis H. C., Chanley P. E.; 1966. Dimensions and shapes of larvae of some marine bivalve mollusks. *Malacologia* 4: 351-435.
- Lovatelli, A., S. Vannuccini & D. McLeod.; 2008. Current status of world bivalve aquaculture and trade. En: A. Lovatelli, A. Farías & I. Uriarte (eds.), Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. Taller Técnico Regional de la FAO. 20-24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. FAO Actas de Pesca y Acuicultura. No. 12. Roma, FAO. 45-59.
- 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., 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? *Marine Biodiversity* 42(4): 443- 451. <https://doi.org/10.1007/s12526-012-0120-9>.
- Maeda-Martínez A. N.; 2001. Los Moluscos Pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura. Editorial Limusa, México. 501.
- Maeda-Martínez A. N. Lodeiros C.; 2011. Biología y cultivo de los moluscos pectínidos del género *nodipecten*. Editorial Limusa. 400.
- Márquez A., Loor A., Revilla J., Lodeiros C. & Sonnenholzner S.; 2015. Avances en el cultivo de *Spondylus limbatus*. XVII Cong. Ecu. Ac., AQUAEXPO. Conferencia Magistral. Guayaquil (Ecuador).

- Márquez A., Revilla J., Lodeiros C., Loor A., Sonnenholzner S.; 2016. Recurso *Spondylus*: Tecnología para su recuperación. Conferencia Magistral. *XIII Foro. Iber. Rec. Mar. Ac.* Tacna (Perú).
- Martínez-Fernández, J. R.; 2004. Concepción de aprendizaje, metacognición y cambio conceptual en estudiantes universitarios de psicología. Tesis Doctoral inédita. Departamento de Psicología Básica. Barcelona: Universidad de Barcelona.
- Martínez-Fernández, J. R., Villegas, M. E. & Martínez Torres, M.; 2004. Concepciones de aprendizaje y estrategias metacognitivas en universitarios venezolanos y españoles.
- Mazón-Suástegui, J. M., Maeda-Martínez, A. N., Robles-Mungaray, M., De La Roche, J. P., Rupp, G. S., Mendes-De-Bem, M., ... & Freitas-Valbuena, L. F.; 2011. Avances en la producción de juveniles de *Nodipecten* spp. *Biología & cultivo de los moluscos pectínidos del género Nodipecten. Limusa, México, 11*, 275-311.
- Monsalvo Spencer, P.; 1998. Estudios sobre el cultivo de larvas y juveniles de almeja catarina *Argopecten ventricosus* (=circularis) (Sowerby II, 1842) en el laboratorio. Maestría en Ciencias Marinas Thesis, Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, B. C. S., México, v, 91 h.
- Nardi, Alessandro; Benedetti, Maura; Fattorini, Daniele; Regoli, Francesco.; 2018: Seawater carbonate chemistry and cadmium uptake of the smooth scallop *Flexopecten glaber*. PANGAEA, <https://doi.org/10.1594/PANGAEA.887768>
- Niwa, Y. S., & Niwa, R.; 2016. Transcriptional regulation of insect steroid hormone biosynthesis and its role in controlling timing of molting and metamorphosis. *Development, growth & differentiation*, 58(1), 94-105.
- Ockelmann K. W., Cox L. R., Peake J. F.; 1965. Developmental Types in Marine Bivalves and their Distribution along the Atlantic Coast of Europe, Proceeding of the First European Malacological Congress. *London Conchological Society of Great Britain and Ireland and the Malacological Society of London*. 25-35.
- Parnell P. E.; 2002. Larval development, precompetent period, and a natural spawning event of the pectinacean bivalve *Spondylus tenebrosus* (Reeve, 1856). *Veliger* 45:58–64.
- Petton B, Boudry P, Alunno-Bruscia M, Pernet F.; 2015. Factors influencing disease-induced mortality of Pacific oysters *Crassostrea gigas*. *Aquaculture Env Interact* 6:205–222 *Revista Latina de Pensamiento y Lenguaje*, 12(1), 21-35

- Revilla, J., Márquez, A., Rodríguez-Pesantes, D., Domínguez-Borbor, C., Rodríguez, J., Lodeiros, C., & Sonnenholzner, S.; 2019. Oregano oil as a therapeutic treatment in the production of mixotrophic larvae of the lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus*. *Aquaculture*, 498, 422-427.
- Rose, R.A., Baker, S.B.; 1994. Larval and spat culture of the western Australian silver or gold-lip pearl oyster, *Pinctada maxima* (Jameson) (Mollusca: Pteriidae). *Aquaculture*, 126 (1994), 35-50
- Ruiz-Verdugo, C. A. & C. Cáceres-Martínez.; 1990. Estudio preliminar de captación de juveniles de moluscos bivalvos en la Bahía de La Paz, B.C.S., México. *Invest. Mar.* 5:29–38.
- Rupp, G.S.; 1994. Obtenção de reprodutores, indução a desova, cultivo larval e pós larval de *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758) (Mollusca: Bivalvia). Dissertação de Mestrado. Departamento de Aquicultura. Universidade Federal Santa Catarina, 132.
- Skoglund C., Mulliner D.K.; 1996. The genus *Spondylus* (Bivalvia: Spondylidae) of the panamic province. *The Festivus* 28: 93-107.
- Sonnenholzner S. Acuicultura del Ecuador. Actual aporte del CENAIM-ESPOL.; 2016. Conferencia. *XIX Foro Rec. Mar. Ac. Rías Gal.* Galicia (España).
- Soria G., J. Tordecillas-Guillen, R. Cudney-Bueno & W. Shaw.; 2010. Spawning induction, fecundity estimation, and larval culture of *Spondylus calcifer* (Carpenter, 1857) (Bivalvia: Spondylidae). *J. Shellfish Res.* 29:143–149. <https://doi.org/10.2983/035.029.0108>
- Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 31st May 2018. Digital resource at Southgate, P., Strack, E., Hart, A., Wada, K., Monteforte, M., Cariño, M., Wang, A.; 2008. Exploitation and culture of major commercial species. In P. Southgate & J. Lucas (Eds.), *The pearl oyster* (303–355). *Oxford: Elsevier*.
- Uriarte, I., A. Farías & C. Muñoz.; 1996. Cultivo en hatchery y preengorde del ostión del norte, *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819), en el sur de Chile. *Rev. Biol. Mar. Valparaíso* 31(2):81- 90.
- Utting, S.D. & Helm, M.M.; 1985. Improvement of seawater quality by physical and chemical pre-treatment in a bivalve hatchery. *Aquaculture*. 44: 133-144.
- Velasco, L.A. & J. Barros.; 2008. Experimental larval culture of the Caribbean scallops *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus*. *Aquacult. Res.* 39:603-618.

- Waldbusser GG, Hales B, Langdon CJ, Haley BA, Schrader P, Brunner EL, et al.; 2015 Ocean Acidification Has Multiple Modes of Action on Bivalve Larvae. PLoS ONE 10(6): e0128376. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128376>
- Waldbusser, G.G., E. L. Brunner \*\*, B.A. Haley, B. Hales, C. J. Langdon y F. G. Prahl.; 2013. Una base energética y de desarrollo que vincula la formación de conchas de ostras larvales a la acidificación del océano. *Geophysical Research Letters* 40: 2171-2176.nard
- Waldbusser, G.G., E.N. Powell y R. Mann.; 2013. Efectos en el ecosistema de agregaciones de conchas y ciclismo en aguas costeras: un ejemplo de los arrecifes de ostras de la Bahía de Chesapeake. *Ecología* 94: 895-903. Contribución Invitada WoRMS Mollusca: MolluscaBase.; versión 2018-05-01. In: Roskov Y., Abucay L., Orrell T., Nicolson D., Bailly N., Kirk P.M., Bourgoin T., DeWalt R.E., Decock W., De Wever A., Nieukerken E. van, Zarucchi J., Penev L., eds.
- Zanella, A., Ponge, J. F., De Waal, R., Van Delft, B., De Nobili, M., Ferronato, C., ... & Jabiol, B.; 2017. Humusica 2, article 11: Histic humus systems and forms—Epihisto intergrades and dynamics. *Applied Soil Ecology*.
- Zar J.; 2010. Biostatistical analysis. 5th edition. Prentice Hall, New Jersey. 944.