



Evaluación de Diferentes Regímenes de Alimentación para el Acondicionamiento Reproductivo de la Ostra Nativa *Crassostrea iridescens* (Hanley, 1854)

Henry Marín Solórzano¹, Marcelo Muñoz Naranjo¹, Wilfrido Arguello Guevara², María de Lourdes Cobo².

Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar⁽¹⁾

Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas “Edgar Arellano”⁽²⁾

Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL)

Campus Gustavo Galindo, Km 30.5 vía Perimetral

Apartado 09-01-5863. Guayaquil-Ecuador

hmarin@espol.edu.ec⁽¹⁾, mmunoz@espol.edu.ec⁽¹⁾, mlcobo@cenaime.spol.edu.ec⁽²⁾,
warguell@cenaime.spol.edu.ec⁽²⁾.

Resumen

Se evaluó distintos regímenes de alimentación para el acondicionamiento de reproductores de la especie *Crassostrea iridescens*, en seis tratamientos cada uno con seis réplicas. Tres tratamientos: CHA (*Chaetoceros gracilis* 100%), TETRA (*Tetraselmis maculata* 100%), CIT (*C. gracilis* 33% + *Isochrysis galbana* 33% + *T. maculata* 33%) y uno sin alimentar (SIN) fueron mantenidos en laboratorio. El quinto tratamiento (EST) mantenido en la Estación Experimental de CENAIME-ESPOL. Y el sexto tratamiento (MAR) fue extraído del lugar de origen mensualmente. Se realizaron cortes histológicos para conocer los estadios de madurez gonadal antes y después de la depuración. De igual forma a los organismos evaluados a los 30 y 60 días de acondicionamiento. A los 30 días de acondicionamiento el tratamiento EST (canal reservorio) presentó el mayor avance de madurez gonadal con 34% en estadio 3 (madurez definida). Los tratamientos CHA y TETRA registraron 17% de organismos en estadio 3. El tratamiento (SIN) registró 33% en estadio 2 (desarrollo tardío). Los tratamientos CIT (mezcla) y MAR registraron 66% y 17% de organismo en estadio 2, respectivamente. Posterior a los 60 y 102 días de acondicionamiento los organismos presentaron una reabsorción de sus gametos demostrada más del 50% de organismos en estadio 0 (indiferenciado).

Palabras Claves: Acondicionamiento Reproductivo, *Crassostrea iridescens*, microalga.

Abstract

Broodstock conditioning of *Crassostrea iridescens* was evaluated in six treatments each with six replicates during 30 and 60 days of conditioning. Three treatments: CHA (*Chaetoceros gracilis* 100%), TETRA (*Tetraselmis maculata* 100%), CIT (*C. gracilis* 33% + *Isochrysis galbana* 33% + *T. maculata* 33%) and starved group (SIN) was conditioning in hatchery. The fifth treatment (EST) was maintained in the reservoir of the CENAIME-ESPOL experimental station. The sixth treatment (MAR) was collected from the same original place monthly. Histological sections were made to know the gonadal stage of mature. They were made before and after de depuration. In the same way with oyster maintained during 30 y 60 days of conditioning. 30-day conditioning EST treatment (reservoir) reported the highest gonadal development with 34% in stage 3 (mature). CHA y TETRA treatments reported 17% in stage 3. The starved group (SIN) reported 33 % in stage 2 (late development). CIT and MAR treatments reported 66% and 17% in stage 2, respectively. 102-60 day conditioning, the oysters showed reabsorption more than 50% in stage 0 (indeterminate).

Keywords: Broodstock Conditioning, *Crassostrea iridescens*, microalgae.

1. Introducción

El ostión de roca u ostra nativa (*Crassostrea iridescens*) es un molusco bivalvo presente en la zona costera del Ecuador y su extracción es de importancia económica y alimenticia para un número importante de pescadores artesanales. Este recurso es apreciado en la gastronomía por su carne y en la industria camaronera como alimento para reproductores, además sus valvas sirven para la fabricación de artesanías. En la actualidad es escaso el conocimiento del volumen de extracción de esta especie. Sin embargo, el reducido tamaño de los ejemplares capturados y su escasa presencia en el medio, hacen suponer que estos organismos se encuentran en una situación de riesgo (*com. per.*).

Como estrategia para reducir la captura de especies nativas, el gobierno ecuatoriano ha adoptado medidas para su conservación mediante la implementación de vedas (paro biológico) como en el caso de *Spondylus* spp., según Acuerdo Ministerial N° 136 [1]. Por otro lado, el Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas “Edgar Arellano” (CENAIM-ESPOL) en conjunto con la empresa privada ha impulsado un proyecto para el cultivo de moluscos (*Crassostrea gigas*) en mar abierto con el fin de mitigar el efecto de la extracción de *C. iridescens* en bancos naturales, permitiendo además generar ingresos económicos para un grupo de buzos artesanales de la comuna La Entrada [2]. De igual forma, se podría contribuir con la conservación de estos bivalvos implementando tecnologías para la producción continua de semillas en condiciones controladas [3].

Para iniciar la producción de cualquier especie en cautiverio, se requiere acondicionar reproductores con el fin de revisar los principales aspectos como: la biología de la especie, parámetros de cultivo, respuesta al manejo en condiciones controladas y especialmente la alimentación para alcanzar su completo desarrollo gonadal [4]. Las microalgas son el principal alimento en el cultivo de bivalvos marinos durante sus etapas de desarrollo [5], por lo que es primordial encontrar la mejor calidad nutricional para el acondicionamiento de reproductores en función del tamaño de la célula, digestibilidad, producción de toxinas y composición bioquímica, esta última presenta diferencias en sus distintos componentes como son las proteínas entre 12-35%, lípidos 7,2-23% y carbohidratos 4,6-23% expresados en peso seco [6].

Las microalgas más utilizadas en el acondicionamiento de reproductores de bivalvos marinos son: *Chaetoceros gracilis*, *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis* sp., *Dunaliella tertiolecta*, y *Thalassiosira pseudonana* [2,6,7,8]. CENAIM-ESPOL tiene la capacidad de producir diariamente 10 toneladas métricas (TM) de microalgas, de las cuales se utilizan dos especies para la producción de bivalvos marinos: *C. gracilis* e *I. galbana*. Estas dos especies son las más utilizadas debido a sus aportes de ácidos

grasos esenciales fundamentales para importantes procesos biológicos, principalmente en especies marinas [6]. Sin embargo, en CENAIM-ESPOL se reportan producciones inestables en los cultivos masivos de *I. galbana*, probablemente debido a altas temperaturas (>25°C) que registra el agua durante la estación cálida [9].

El objetivo de esta investigación fue evaluar distintos regímenes de alimentación para el acondicionamiento de reproductores de la especie *C. iridescens*, basándose en la disponibilidad de microalgas presentes en CENAIM-ESPOL, con el fin de obtener estadios de madurez avanzados.

2. Antecedentes

Importancia de los moluscos marinos en el Ecuador

Los primeros cultivos de moluscos bivalvos en Ecuador se iniciaron en el año 1990 con la creación del Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas “Edgar Arellano” (CENAIM-ESPOL), utilizando la especie foránea *Crassostrea gigas*, con reproductores introducidos de Chile [10].

A pesar de que los moluscos bivalvos no constituyen un rubro importante en los ingresos económicos de nuestro país, poseen otros aspectos que son de vital importancia, en los que se mencionan:

1. El ecológico, en donde las valvas permiten la existencia de poliquetos, micro crustáceos, ofiuros y variadas especies de esponjas [3].
2. La riqueza histórica, en la que siglos atrás las valvas de ciertas especies como *S. princeps* y *S. calcifer* formaron parte esencial en los intercambios comerciales entre los pueblos precolombinos como Valdivia, Manteño, Machalilla y los Incas principalmente, debido a que simbolizaban belleza, prestigio y riqueza [3].
3. El económico, en donde actualmente la recolección de bivalvos forma parte de los ingresos económicos de las comunidades costeras del Ecuador, por tal motivo la extracción desmesurada ha llevado a colocarlas en situación de riesgo a muchas especies incluyendo a *C. iridescens* (*com. per.*).

3. Materiales y métodos

3.1. Lugar de estudio

El presente trabajo fue realizado durante los meses de abril a julio de 2010 en el Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas “Edgar Arellano” (CENAIM-ESPOL) y en la Estación Experimental del mismo centro. Las ostras adultas de *Crassostrea iridescens* fueron colectadas de la zona

submareal de la comuna Ayangue en la parroquia Manglaralto provincia de Santa Elena, Ecuador

3.2. Diseño experimental

Las ostras fueron divididas en seis grupos de acondicionamiento, cada uno con seis réplicas, mantenidos durante 30 y 60 días. En el laboratorio se llevaron tres tratamientos con diversas microalgas y uno sin alimentar en base a un diseño aleatorio. Un tratamiento (EST) se mantuvo en el reservorio de la Estación Experimental CENAIM-ESPOL con la productividad presente en este cuerpo de agua y otro tratamiento (MAR) se colectó del medio natural a los 30 y 60 días (Tabla I).

Tabla I: Tratamientos evaluados en el presente estudio: set experimental N# 3 CENAIM-ESPOL (CHA, TETRA, CIT, SIN), Canal Reservorio de la estación Experimental de CENAIM-ESPOL (EST) y extracción en bancos naturales (MAR).

Tratamiento	Especie	Porcentaje de inclusión
CHA	<i>Chaetoceros gracilis</i>	100%
TETRA	<i>Tetraselmis maculata</i>	100%
CIT	<i>C. gracilis</i> + <i>I. galbana</i> + <i>T. maculata</i>	33,3%: 33,3%: 33,3%
SIN	Sin Alimentación	-
EST	Productividad Natural	-
MAR	Productividad Natural	-

3.3. Acondicionamiento de los reproductores

Proceso de Depuración

Una vez colectados los organismos, se removieron los epibiontes presentes en las valvas y se descartaron los organismos muertos y con valvas rotas.

Luego de la limpieza, las ostras fueron colocadas en un tanque de 1 TM, provisto de flujo continuo de agua de mar filtrada y aeración constante por 48 h, durante este tiempo (depuración) no se suministró alimento.

Manejo de los reproductores *Crassostrea iridescens*

Al inicio del experimento, se registraron datos biométricos promedios de las ostras (altura: $11,86 \pm 1,35$ cm, longitud: $8,47 \pm 1,28$ cm y peso: $296,09 \pm 72,31$ g). Posteriormente, los ejemplares fueron ubicados individualmente en recipientes de vidrio con capacidad operativa de 3 L, que contenían agua de mar filtrada ($10 \mu\text{m}$) y esterilizada con rayos ultravioleta. La temperatura de acondicionamiento se mantuvo en $19,61 \pm 0,87^\circ\text{C}$. Los recipientes de vidrio con los reproductores de *C. iridescens* fueron puestos en cajas de fibra de vidrio donde circulaba agua temperada a $19 \pm 1^\circ\text{C}$, utilizando un intercambiador de calor. El suministro de aire a los recipientes de vidrio se los realizó utilizando un sistema de tuberías suspendidas (Fig. 2).

Los individuos fueron alimentados siguiendo el protocolo de alimentación del departamento de Moluscos de CENAIM-ESPOL, basado en el 2% del peso total de las ostras (peso seco). Las dietas de microalgas en los tratamientos CHA, TETRA y CIT fueron suministradas centrifugadas, a excepción de *I. galbana* que fue adicionada directamente de carboys de 50 L. Para el tratamiento en la estación experimental (EST), se utilizaron 5 pearl nets (4 individuos por pearl net), suspendidos en una línea con boyas flotantes a 1 m desde el fondo del canal reservorio (Fig. 3).



Figura 2. Set experimental #3 CENAIM-ESPOL con la distribución aleatoria de los recipientes de vidrio utilizados para acondicionar reproductores de *C. iridescens*



Figura 3. Pearl net con reproductores de *C. iridescens* dispuestos a ser colocados en el canal reservorio de la estación experimental de CENAIM-ESPOL

3.4. Cortes histológicos

Preparación de Cortes Histológicos

Del stock de reproductores, se escogieron aleatoriamente seis organismos antes y seis después de la depuración y se procedió a realizar cortes y placas histológicas utilizando la técnica de tinción con hematoxilina y eosina [11] (Fig. 4). Del mismo modo, seis animales por tratamiento fueron sacrificados a los 30 y 60 días de acondicionamiento para los análisis histológicos y determinación de sexos. Los cortes (4 µm) se realizaron transversal y longitudinalmente sobre las gónadas de los organismos sacrificados.



Figura 4. Realización de las placas histológicas

A los organismos seleccionados, se les pesaron los tejidos blandos y gónadas para establecer el índice gonádico (IGS) [12]:

$$IGS = \frac{\text{Peso de Gónada}}{\text{Peso de Tejidos Blandos Totales}} * 100$$

Los organismos de los tratamientos TETRA y SIN fueron mantenidos en acondicionamiento por 42 días debido a que presentaron grados de madurez altos (células sexuales en desarrollo), según observaciones microscópicas.

Determinación de la condición gametogénica

Para la determinación de la condición gametogénica (Fig. 5 y 6) se utilizó la descripción de Fournier (1992) [13] para *C. iridescens*, quien describe 4 estadios gonadales (Tabla II):

Tabla II: Cuadro comparativo de los distintos estadios de madurez gonadal utilizados en la especie *C. iridescens* según Fournier (1992) (33).

Estadio Gonadal	Característica Biológica
Estadio 0 (Indeterminado)	Folículos presentes, sin la presencia de gametos. La apariencia externa es acuosa, translúcida.
Estadio 1 (Desarrollo Temprano)	Gónada ligeramente desarrollada, folículos pequeños. Presencia de espermatogonios, espermatocitos u ovogonios, pero sin la presencia de ovocitos ni espermatozoides libres.
Estadio 2 (Desarrollo tardío)	Folículos con más del 30% de gametos libres. Abundante tejido conectivo interfolicular.
Estadio 3 (Madurez)	Folículos llenos con más del 50% de gametos dispersados en toda el área de la gónada. Externamente la gónada tiene una densa y cremosa apariencia.
Estadio 4 (Desove y Reabsorción)	Presencia escasa de folículos desovados que todavía contienen gametos, mayor presencia de folículos vacíos con ovocitos y espermatozoides residuales.

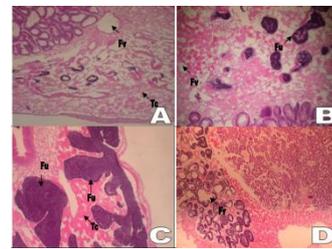


Figura 5: Cortes histológicos de *C. iridescens*, macho (Transversales 4µm, 10X). Microfotografías de las fases de desarrollo gonadal. a) estadio 1 (desarrollo temprano); b) estadio 2 (desarrollo tardío); c) estadio 3 (madurez); d) estadio 4 (desove-reabsorción); Fv folículo vacío, Fu folículo lleno, Fr folículo roto, Tc tejido conectivo.

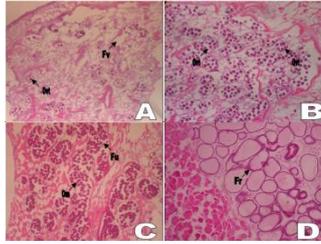


Figura 6: Cortes histológicos de *C. iridescens*, hembra (Transversales 4μm, 10X). Microfotografías de las fases de desarrollo gonadal. a) estadio 1 (desarrollo temprano); b) estadio 2 (desarrollo tardío); c) estadio 3 (madurez); d) estadio 4 (desove-reabsorción); Fv folículo vacío, Fu folículo lleno Ovt ovocito temprano, Om ovocito maduro.

4. Resultados y Discusión

5.

En condiciones naturales, el ciclo reproductivo del género *Crassostrea* está regido por eventos cíclicos anuales en donde la temperatura define el comportamiento de la biología reproductiva de estos bivalvos [14]. Sin embargo, estos parámetros pueden ser modificados en condiciones de laboratorio con el fin de establecer un sistema de producción y obtener larvas viables durante todo el año. Se ha demostrado que las variaciones térmicas en el agua y la utilización de ciertas dietas de microalgas aceleran o retardan el desarrollo gonadal [4].

El inicio de un acondicionamiento reproductivo según Lannan *et al.* (1980) debe basarse en estudios de ciclos reproductivos anuales [15], colectando organismos durante los meses donde se reportan menores temperaturas en el agua y mayores porcentajes de la población en estadio 0 (indeterminados). En el presente trabajo, los organismos colectados del banco natural fueron sometidos a una depuración por 48 horas con el propósito de iniciar con la mayor cantidad de organismos en estadio 0, alcanzando 67% en este estadio (Fig. 7), además de la ausencia de machos y disminución promedio del Índice Gonádico (IGS) de 4,54%.

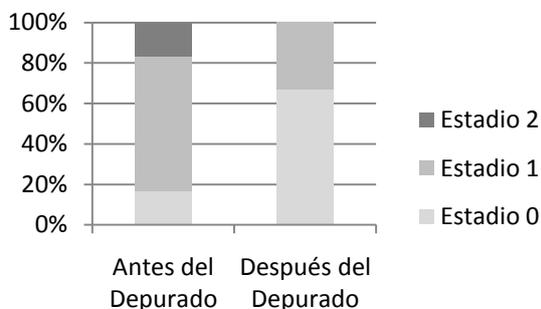


Figura 7: Desarrollo gonadal de *C. iridescens* antes y después de la depuración

Después de 30 días de acondicionamiento (Fig. 9) a una temperatura de $19,61 \pm 0,87$ °C, se alcanzaron los mayores avances gonadales en las ostras alimentadas con *Chaetoceros gracilis* (CHA) y *Tetraselmis maculata* (TETRA) registrando 17% de organismos en estadio 3 (madurez definida) en comparación con los otros tratamientos mantenidos en el laboratorio. Estos resultados fueron similares a los reportados en *O. chilensis* a una temperatura de 17°C, alimentados con *C. gracilis* durante tiempos de acondicionamiento entre 30-35 días, registrando 15% de organismos en estadio de madurez definida y 50 % en estadio 0 [4]. En este estudio, en el canal reservorio a una temperatura de $27,01 \pm 2,02$ °C se alcanzaron estadios gonadales avanzados (33% de organismos en estadio 3), posiblemente por la diversidad de microalgas especialmente bacilariofitas presentes en este cuerpo hídrico a los 30 días de acondicionamiento (Fig. 8).

A pesar de que no se obtuvieron desoves, ni se evaluó la viabilidad de los gametos, estos resultados sugieren que probablemente la obtención de estadios gonadales avanzados estaría más influenciada por la alimentación que por la temperatura. En estudios realizados en Costa Rica [13] y México [14] sobre el ciclo reproductivo de *C. iridescens* en aguas tropicales naturales, se hace referencia a que en temperaturas entre 26-27°C y 25-24°C respectivamente, esta especie inicia su ciclo gonadal, sin mencionar los grupos o géneros de microalgas presentes.

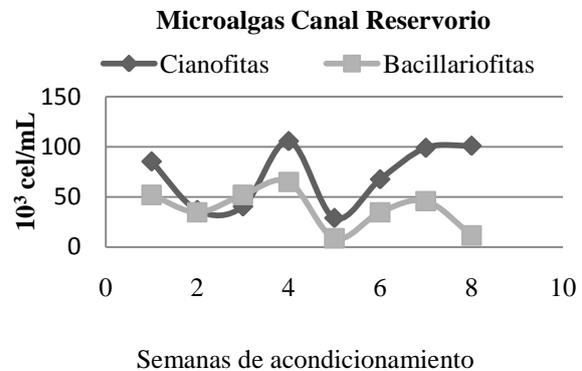


Figura 8: Microalgas presentes en el canal reservorio de la estación experimental CENAIME-ESPOL (EST).

La adición de varias microalgas en los cultivos de moluscos, ha sido estudiada con el objeto de suplir los requerimientos nutritivos de estos organismos como ocurren en la naturaleza [16,17]. Sin embargo, durante este trabajo en el tratamiento mezcla de *I. galbana*, *C. gracilis* y *T. maculata* (CIT) no se registraron avances en la maduración de sus gónadas a los 30 ni 60 días de acondicionamiento (34 y 66% de organismos en estadio 1 - desarrollo temprano, respectivamente) posiblemente atribuido a la dosificación utilizada en este trabajo. La relación óptima de las combinaciones de microalgas no está determinada, debido al escaso

conocimiento de los requerimientos nutricionales de *C. iridescens*. Por lo tanto, se asume que la relación 33.3%:33.3%:33.3% utilizada en este trabajo no fue adecuada para esta especie dejando abierta la posibilidad de evaluar nuevas relaciones que se adapten a los necesidades de *C. iridescens*. También se sugiere que la filtración selectiva podría ser un factor determinante para esta especie debido al tamaño, forma, motilidad y señales químicas que presentan ciertas especies de microalgas, como se ha demostrado en el acondicionamiento de *Paphies australis*, donde existió preferencias por las microalgas *Thalassiosira pseudonana* y *Chaetoceros muelleri* [18].

A pesar que durante esta investigación no se realizaron análisis nutricionales de las diferentes microalgas, es importante mencionar la importancia del ácido graso eicosapentaenoico (EPA) [17] y del glucógeno [19] (componentes que se encuentran en mayor proporción en *C. gracilis* y *T. maculata*) en el desarrollo de gametos, sugiriendo incorporar estos componentes en las dietas para alcanzar estadios de madurez avanzados [16,15], lo que concuerda con lo observado en este estudio.

Los resultados del tratamiento sin alimentar (SIN) presentaron 33% de organismos en estadio 2 (desarrollo tardío) durante toda el periodo de acondicionamiento (102 días). Estos datos sugieren que el desarrollo gonadal no solo puede provenir del alimento suministrado durante la fase de acondicionamiento [20] sino que también puede provenir de reservas almacenadas en el músculo aductor, glándula digestiva y gónadas durante periodos de reposo reproductivo [21,22,23]. Sin embargo, a pesar de presentar una baja madurez (33% de organismos en estadio 2) no se pudo comprobar la viabilidad de estos gametos debido a que los reproductores no fueron inducidos a desove como ocurrió en el trabajo de Wilson *et. al.* (1996) con la especie *O. chilensis* [4] en donde dos ostras desovaron a pesar de no ser alimentadas; sin embargo a pesar de desovar los gametos no fueron viables, por lo que el autor deduce que estas reservas no fueron adecuadas para generar gametos viables.

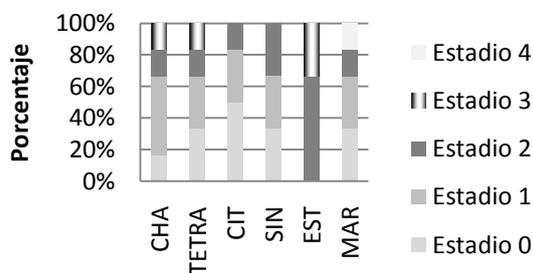


Figura 9: Desarrollo gonadal a los 30 días de acondicionamiento

En nuestro país, al no existir estudios del ciclo reproductivo de *C. iridescens*, es difícil estimar el tiempo necesario o los ciclos anuales en los que se

encuentren estadios gonadales avanzados en el medio natural. Durante los meses que se realizó el acondicionamiento (abril-junio), la temperatura del agua en la zona de extracción se mantuvo en $20,00 \pm 1,00^\circ\text{C}$. El tratamiento MAR registró 17% de organismos en estadio 4 (desove-reabsorción) a los 30 días y 60 días por lo que se puede inferir que estos individuos se encontraban en una fase de reposo esperando condiciones para desarrollar gametos y posteriormente generar desoves, como lo demuestran estudios realizados en México [14] donde en los meses que se reportan las temperaturas más bajas (enero-abril: $24-25^\circ\text{C}$) inicia la gametogénesis hasta llegar a los meses más cálidos (julio-octubre: $30-31^\circ\text{C}$) donde se generan los desoves.

Después de los 60 días de acondicionamiento (Fig. 10) se observó una reabsorción de los gametos, demostrada por la regresión ocurrida en los estadios gonadales con respecto a los primeros 30 días, con más del 50% de organismos en estadio 0 en los tratamientos CHA, TETRA y EST. De igual forma los tratamientos TETRA y SIN que continuaron con el acondicionamiento por 42 días adicionales [16] registraron 80% y 33,33 % de los organismos en estadio 0, respectivamente. Esta reabsorción o atresia de los gametos no desovados ha sido descrita en *C. gigas*, en donde se indica que la reabsorción de gametos es un paso indispensable para la limpieza y reinicio de un ciclo reproductivo [16]. De igual forma, es importante mencionar que los procesos de desarrollo gonadal llevados a cabo en laboratorio no son cíclicos difiriendo de las investigaciones realizadas en los ciclos reproductivos anuales en el medio natural [13,14], ya que las células después de realizar divisiones celulares en varias generaciones detienen sus divisiones y entran en un periodo de crecimiento [24].

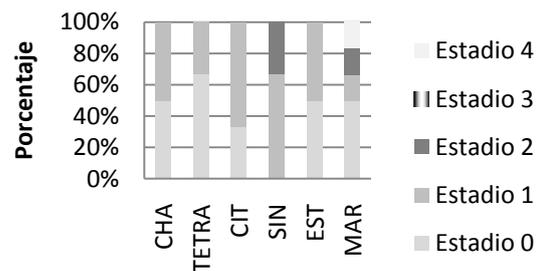


Figura 10: Desarrollo gonadal a los 60 días de acondicionamiento

Existe muy poca información sobre la variación en la frecuencia del sexo para el género *Crassostrea*, al parecer podría estar genéticamente controlada ó influenciada por factores ambientales [25]. Por ejemplo, lugares donde existe buena disponibilidad de alimento se registra mayor proporción de hembras [26]. Durante esta investigación la composición y combinación de microalgas utilizadas no generaron un dominio de hembras durante todo el

acondicionamiento (50% en CHA, 17% en TETRA y EST a los 30 días). De igual forma no se pudo determinar el efecto de las dietas en la variación o frecuencia sexual de un organismo en particular debido a que no se realizaron cortes histológicos en el mismo individuo.

Los pesos promedios registrados en los tratamientos evaluados en condiciones controladas no presentaron una relación directa con el desarrollo gonadal observado en los cortes histológicos, como ha ocurrido en otras investigaciones que lo asocian al peso relativo de la gónada y a otros factores como la temperatura [27,28]. Sin embargo, el aumento de peso registrado supone una relación debido a que el tratamiento EST aumentó $10,78 \pm 8,07$ g y desarrolló un 34% de organismos en estadio 3.

Sería importante evaluar el efecto de diferentes temperaturas en condiciones controladas y evaluar la fertilidad de gametos viables [25] para establecer un posible régimen de producción con el objetivo de obtener larvas viables durante todo el año. Por otro lado, no hay que descartar las ventajas que genera mantener reproductores en un medio natural (canal reservorio) haciendo evaluaciones que permitan identificar grupos de microalgas mejor aprovechadas para esta especie. De igual forma, conocer los componentes nutricionales y tasas de filtración con el fin de buscar alternativas para evitar gastos de producción que generaría acondicionar reproductores en laboratorio.

6. Conclusiones

El proceso de depurado generó efectos en los organismos registrando 67% de individuos en estadio 0 (indeterminado) y disminución de organismos machos en los organismos sometidos a este proceso.

Los tratamientos que utilizaron dietas monoespecíficas: *Chaetoceros gracilis* (CHA) y *Tetraselmis maculata* (TETRA) registraron el mayor avance gonadal con 17% de organismos en estadio 3 (madurez definida) a los 30 días de acondicionamiento, en comparación con los otros tratamientos mantenidos en el laboratorio ($19,61 \pm 0,87$ °C).

El tratamiento con la productividad natural en el canal reservorio (EST) a una temperatura de $27,01 \pm 2,02$ °C registró el mayor avance de todos los tratamientos con el 33% de organismos en estadio 3 a los 30 días de acondicionamiento.

No se observaron avances gonadales en el tratamiento TETRA a los 60 días de acondicionamiento (68% de individuos en estadio 0). De igual forma los tratamientos CHA y EST registraron 50 % de los organismos en estadio 0.

No se observaron indicios sobre el desarrollo de un nuevo ciclo gonadal, debido a la reabsorción de las gónadas a los 60 días de acondicionamiento y corroborado en el tratamiento TETRA a los 102 días el cual registró 80% organismos en estadio 0.

El tratamiento MAR registro 17% de organismos en estadio 4 (desove) a los 30 días y 50% de organismos en estadio 0 a los 60 días, indicando que espera condiciones favorables para desarrollar gametos y su posterior desove natural.

El tratamiento sin alimentar (SIN), mantuvo 34% de organismos en estadio 2 durante toda la fase de acondicionamiento, posiblemente se demuestra la utilización de reservas energéticas para el desarrollo de gametos.

Durante este trabajo el tratamiento mezcla (CIT) no dio resultados de desarrollo gonadal avanzado, registrando el 34% y 66% de organismos en estadio 1 (desarrollo temprano) a los 30 y 60 días de acondicionamiento, respectivamente.

No existió predominancia de hembras en ninguno de los tratamientos (50% en CHA, 17% en TETRA y 0% de CIT a los 30 días) del laboratorio a pesar de la disponibilidad de microalgas en el laboratorio (2% peso seco).

7. Agradecimientos

A todo el personal del Centro de Acuicultura e Investigaciones Marinas "Edgar Arellano" en especial a José Luis Vélez, Blg.

A mis profesores de ESPOL, en especial Alba Calles, Ph. D. Víctor Osorio M. Sc. y Jerry Landivar M. Sc.

8. Bibliografía

- [1] Documento de la Subsecretaría de Recursos Pesqueros. Acuerdo Ministerial N° 136. <http://www.subpesca.gov.ec/subpesca287-acuerdo-ministerial-136-veda-permanente-del-recurso-concha-spondylus.html>.
- [2] Cobo, M.L., D. Ortega, S. Sonnenholzner. 2007. Capacitación técnica y transferencia tecnológica a un grupo de buzos de la comuna La Entrada en la maricultura de la ostra del Pacífico (*Crassostrea gigas*). Un esfuerzo de responsabilidad social empresarial. Ed. 4. Enero-agosto. Fundación NOBIS-ODEBRECHT.
- [3] Fabara, M. 2003. The Age of *Spondylus* and management implications. A Feasibility analysis for the Management and Conservation of the Spiny Rock-Scallop, *Spondylus calcifer* in the Southern Coast of Manabí, Ecuador. Thesis for the attainment of Master's degree in Marine Affairs, University of Washington, pp.86.
- [4] Wilson, J., O. Chaparro, R. Thompson. 1996. The importance of broodstock nutrition on the viability of larvae and spat in the Chilean oyster *Crassostrea chilensis*. Aquaculture, 139: 63-75.
- [5] Cerón, A.N., B. Cordero, B. Arredondo-Vega, M. Robles. 2006. Growth of *Lyropecten (Nodipecten) subnodosus* (Sowerby, 1835) spat fed with three

- microalgae mixtures diets. *Journal of Fisheries International* 11 (1-2): 01-07.
- [6] Lavens, P., P. Sorgeloos. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations pp: 39-48.
- [7] Utting, S., P. Millican. 1997. Techniques for the hatchery conditioning of bivalve broodstocks and subsequent effect on egg quality and larval viability. *Aquaculture* 155: 45-54.
- [8] Duerr E., A. Molnar, V. Sato. 1998. Cultured microalgae as aquaculture feeds. *Journal of Marine Biotechnology* 7: 65-70.
- [9] López D., J. Sánchez, J. García, F. García, E. Molina. 1996. Microalga marina y su empleo en acuicultura y en la obtención de ácidos grasos poliinsaturados. N° de publicación: ES2088366. Oficina española de patentes y marcas, España.
- [10] Álvarez, R., L. Cobo, S. Sonnenholzner, S. Stern. 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. pp. 129-133.
- [11] Bell T., D. Lightner. 1998. A handbook of normal shrimp histology. World Aquaculture Society. Baton Rouge. Louisiana. 198 pp.
- [12] Sastry, A. 1970. Reproductive physiological variations in latitudinally separated populations of the Bay Scallop *Aequipecten irradians* Lamarck. *Biological Bulletin* 138: 56-65.
- [13] Fournier, M. 1992. The reproductive biology of the tropical rocky oyster *Ostrea iridescens* (Bivalvia: Ostreidae) on the Pacific coast of Costa Rica. *Aquaculture* 101: 371-378.
- [14] Cuevas, C., A. Martínez. 1979. Estudio gonádico de *Crassostrea corteziensis* Hertlein, *C. palmula* Carpenter y *C. iridescens* Hanley de San Blas, Nayarit, México (Bivalvia: Ostreidae). Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. Universidad Nacional Autónoma de México, 6: 81-98.
- [15] Lannan, J., A. Robinson, W. Breese. 1980. Broodstock management of *Crassostrea gigas* II. Broodstock conditioning to maximize larval survival. *Aquaculture* 21: 337-345.
- [16] Robinson, A. 1992. Dietary supplements for reproductive conditioning of *Crassostrea gigas kumamoto* (Thunberg). I. Effects on gonadal development, quantity of ova and larvae through metamorphosis. *Journal of Shellfish Research*, Vol. 11(2): 437-441.
- [17] Farías-Molina, A. 2001. Nutrición en Moluscos Pectínidos. Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura. A.N. Maeda Martínez (ed.) Cap.5: 89-104.
- [18] Mamat, N. 2010. Nutrition and broodstock conditioning of the New Zealand Pipi, *Paphies australis*. A thesis submitted to Auckland University of Technology in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Applied Science (MAppSc), pp 128.
- [19] Becker, E. 2007. Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances*. Elsevier B.V. Volumen 25, Issue 2, Marzo-Abril 2007, Pages 207-210.
- [20] Cannuel, R., P. Beningera. 2005. Is oyster broodstock feeding always necessary? A study using oocyte quality predictors and validators in *Crassostrea gigas*. *Aquatic Living Resour.* 18: 35-43.
- [21] Gabbott, P.A. 1983. Developmental and seasonal metabolic activities in marine mollusks. Pp. 165-217. En: P.W. Hochachka (ed.) *The Mollusca*, vol.2, Environmental Biochemistry and Physiology. Academic Press, New York.
- [22] Berthelin, C., K. Kellner, M. Mathieu. 2000. Storage metabolism in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in relation to summer mortalities and reproductive cycle (West coast of France). *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology* 125: 359-369.
- [23] Ren, J., I. Marsden, A. Ross, D. Schiel. 2003. Seasonal variation in the reproductive activity and biochemical composition of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) from the Marlborough Sounds, New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 37: 171-182.
- [24] Galtsoff, P.S. 1964. The American Oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin). *Fishery Bulletin*. Vol. 64: 219-354.
- [25] Fabioux, C., M. Le Pennec, A. Huveta, P. Le Souchua, S. Pouvreaux. 2005. Temperature and photoperiod drive *Crassostrea gigas* reproductive internal clock. *Aquaculture* 250: 458-470.
- [26] Helm, M., P. Millican. 1977. Experiments in the hatchery rearing of Pacific Oyster larvae (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquaculture*, 11:1-12.
- [27] Arreola, J. 1997. Aspectos Reproductivos de *Dosinia ponderosa*, Gray 1838 (Bivalvia: Veneridae) en Punta Arena, Bahía Concepción, B.C.S. Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias con especialidad en manejo de recursos marinos. Instituto Politécnico Nacional (CICIMAR), pp. 82.
- [28] Baquerizo, J. 2003. Análisis comparativo de diferentes dietas para el acondicionamiento de reproductores de ostión de mangle *Crassostrea columbiensis*, Hanley 1.846. Tesis para obtener el grado de acuicultor. Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), pp. 73.