

# **ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL**

**FACULTAD DE INGENIERIA MARITIMA Y CIENCIAS DEL MAR**

**" ANALISIS COMPARATIVO DE DIFERENTES DIETAS PARA EL  
ACONDICIONAMIENTO DE REPRODUCTORES DE OSTION DE MANGLE,  
*Crassostrea columbiensis* , Hanley 1.846 "**

**Tesis de grado previa a la obtención del título de**

**ACUICULTOR**

**Presentada por**

**JAIME BAQUERIZO RAMIREZ**

**GUAYAQUIL – ECUADOR**

**2003**

## DECLARACION EXPRESA

“La responsabilidad por los hechos, ideas y doctrinas expuestos en esta tesis, corresponden exclusivamente a su autor, y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado corresponderá a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL”

(Reglamento de exámenes y títulos profesionales de la ESPOL)

Jaime A. Baquerizo Ramírez

## **AGRADECIMIENTO**

A mis padres, esposa e hijos, y a todos quienes que me animaron e hicieron posible la finalizacion de esta etapa. Y a Dios.

## TRIBUNAL DE GRADUACION

---

Presidente del Tribunal  
Jerry Landivar Z. M.Sc.

---

Director de tesis  
Victor Osorio M.Sc.

---

Miembro del Tribunal  
Ecuador Marcillo G. Ing.

---

Miembro del Tribunal  
Fabrizio Marcillo M. M.Sc.

**Indice**

Introducción	1
Antecedentes	4
CAPITULO I Características del Genero <u>Crassostrea</u>	5
1.1 Clasificación Taxonómica	5
1.2 Biología General	8
1.3 Factores Ambientales	9
1.3.1 Temperatura	10
1.3.2 Salinidad	10
1.3.3 Alimento	11
1.4 Fisiología	12
1.4.1 Concha	12
1.4.2 Manto	14
1.4.3 Branquias	15
1.4.4 Músculo Abductor	16
1.4.5 Sistema Digestivo	18
1.4.6 Sistema Circulatorio	19
1.4.7 Sistema Nervioso	19
1.4.8 Sistema Reproductivo	19
1.5 Crecimiento y Alimentación	21
1.6 Reproducción	22
1.6.1 Sexualidad	22
1.6.2 Desarrollo Gonadal	23
1.6.3 Desove	24
1.7 Distribución Geográfica	26

CAPITULO II	Maduración Sexual	28
2.1	Estados de Madurez Sexual	29
2.1.1	Estado 1. Descanso Sexual	30
2.1.2	Estado 2. Gametogénesis	30
2.1.3	Estado 3. Madurez y Desove	31
2.1.4	Estado 4. Restauración	31
2.2	Métodos de Desove	32
2.2.1	Choque Térmico	33
2.2.2	Choque de Inmersión	33
2.2.3	Laceración	33
2.2.4.	Choque Eléctrico	34
2.2.5.	Choque Químico	35
CAPITULO III	Características Nutricionales del Fitoplancton	36
3.1	Características Generales	36
3.1.1	Composición Lipídica y de Acidos Grasos	40
3.1.2	Composición de Hidratos de Carbono	41
3.1.3	Composición Protéica y de Aminoácidos	42
3.2	Lípidos como Fuente Energética para el desarrollo	43
3.3	Carbohidratos y su influencia en la maduración de ostiones	45
CAPITULO IV	Materiales y Métodos	48
4.1	Materiales	48
4.1.1	Tanques y Equipos	48
4.2	Reproductores	49
4.3	Metodología	49

	vi
4.3.1 Transporte, recepción y aclimatación de reproductores	49
4.3.2 Preacondicionamiento y muestreo gonadal	50
4.3.3 Dietas y dosis de alimentación	51
4.3.4 Sistema de Alimentación	52
4.3.5 Inducción al desove	53
CAPITULO V Resultados y Discusión	54
5.1 Parámetros	54
5.2 Supervivencia	54
5.3 Desarrollo gonadal y desove	55
5.4 Peso Promedio	57
Conclusiones y Recomendaciones	58
Bibliografía	61

## RESUMEN

Durante el presente estudio se determinó que la dieta # 2 compuesta por diferentes tipos de microalgas fue la que mejor acondicionó a los reproductores de ostión de mangle para su desarrollo sexual, la dieta # 4 combinación de ***Chaetoceros g.*** y maizcena fue la segunda en madurar sexualmente a los animales seguida por la dieta # 1 y 3 respectivamente. La supervivencia y el peso promedio no se vio influenciada por las diferentes dietas, la supervivencia promedio fue de 97 % , y que no hubo diferencias significativas entre ellas ( $p=0.05$ ) a excepción de la supervivencia en el control en que fue de 54 % . Para la inducción al desove se observó que el ostión de mangle desovó mediante la laceración de gonadas de animales maduros y también mediante la simulación de mareas, como sucede en el medio natural con esta especie.



## **INTRODUCCION**

En estos momentos, la industria acuícola ecuatoriana atraviesa su momento de mayor depresión. Con exportaciones de camarón de 37,622 toneladas métricas que representan 297,408,403 dólares en el año 2000, se ha dado una disminución del 60% en volumen y 52% en dólares con respecto a las exportaciones que alcanzaron 94,803 TM y 616,942,115 dólares en 1999 y una disminución del 67% en volumen y 66% en valor respecto a las 114,733 TM y 875,050,894 dólares exportados en 1998. Calderón et. al. (1999) encontraron que el 70% de las camaroneras muestreadas entre septiembre y octubre de 1999 resultaron positivas para virus de la mancha blanca y estimaron que el 50% de las camaroneras se encontraban paralizadas. Esto no solo afecta a las fincas camaroneras, sino a toda la cadena de producción relacionada con las mismas que incluye laboratorios de larvas, plantas empacadoras, fabricas de alimento balanceado, transportistas y una cantidad elevada de otros proveedores de materiales y servicios. Ortiz, (2001) estimó que para el año 2000 hubo una reducción del número de laboratorios de larvas de camaron de mas del 70%, que el 40% del área de piscinas camaroneras se encontraba inactiva y que 90,000 personas perdieron sus fuentes de trabajo relacionados con el sector en dicho año.

Ecuador, presenta condiciones ambientales excepcionales las mismas con las que no cuentan otros países para el cultivo de especies bioacuáticas. La disponibilidad de estas condiciones le dan a nuestro país un enorme potencial acuícola, con la

posibilidad de diversificación de la Acuicultura, explotación de especies nativas e introducción de especies exóticas. Al decir diversificación me refiero a la producción de peces, crustáceos y moluscos; de agua salada, salobre ó estuarina y agua dulce. Todas estas especies de posible explotación son fuentes de elevados niveles de proteína y la mayoría de estas con demanda en el mercado internacional, con el consiguiente ingreso de divisas.

Entre las especies bioacuáticas que se podrían explotar en nuestro país, tenemos los moluscos bivalvos, de alto valor comercial. El cultivo de ostras presentan ventajas no sólo en lo referente a su crecimiento, sino también a que pueden ser cultivadas en los mismos cuerpos de agua en donde se engorda camarón, lo que sería una excelente alternativa de producción para el sector camaronero.

Existen muchas especies de ostiones cultivadas en la actualidad, las cuales tienen un gran valor comercial y cuya metodología de cultivo ha sido ampliamente estudiada y que podrían ser explotadas en el Ecuador. Pero, la introducción de especies exóticas puede traer consigo una serie de factores como: competencia con las especies nativas, introducción de nuevas enfermedades, etc. .

El recurso ostión de mangle en nuestro país se ha visto disminuido en gran parte por la sobrexplotación y la tala indiscriminada del manglar debido a la expansión de las granjas camaroneras, la contaminación de los cuerpos de agua a contribuido a la disminución de los bancos naturales de esta especie.

Mucho se ha escrito sobre la biología y metodología de cultivo de ostras de interés comercial, en especial las de agua templada. Estas han sido objeto de numerosos estudios entre los que se pueden mencionar: Loosanoff (1942, 1965), Hopkins (1937), Bargeton (1943), Katkansky & Sparks (1966) entre otros.

Un mayor énfasis se ha dado a la ostra americana, ***Crassostrea virginica*** (Gmelin) y la ostra japonesa, ***Crassostrea gigas*** (Thunberg). Pocos estudios se han realizado en el Ecuador sobre la biología del ostión de mangle, ***C. columbiensis***. Por este motivo tomaré como guía del presente trabajo de investigación los estudios realizados sobre ***C. rizophorae***, ya que ambas especies del género ***Crassostrea*** poseen patrones biológicos semejantes; y, en lo referente a la metodología a seguir para el acondicionamiento de reproductores y desarrollo gonadal los trabajos sobre ***C. gigas*** y ***C. virginica***.

El objetivo del presente estudio es determinar si existen diferencias en la utilización de diferentes dietas para el acondicionamiento de reproductores de ostión de mangle, ***Crassostrea columbiensis***, basadas en sistemas de acondicionamiento usados en otras especies de moluscos bivalvos plenamente estudiadas. Al mismo tiempo obtener información sobre el comportamiento de esta especie y dar la pauta para el acondicionamiento de reproductores, fase inicial para la producción de semilla de ostión.

## **ANTECEDENTES**

Mucho se ha investigado sobre la utilización de moluscos bivalvos en Acuicultura, estudios que van desde la maduración sexual, acondicionamiento de reproductores, producción de semilla, engorde, nutrición, enfermedades, etc. . Se han determinando manuales de producción en todas sus fases para ostras de agua templada que han mostrado un elevado valor comercial, nutricional y cumplen los requisitos para ser consideradas especies para explotación en ambientes controlados.

Durante el acondicionamiento de reproductores de ostras existen varios factores que inciden en el tiempo de desarrollo gonadal y en la calidad de larvas, hay factores que influyen directamente y han sido estudiados como son la temperatura y nutrición durante este periodo. La mayoría de estudios realizados son en ostras de agua fría y de interés comercial, aunque alguna de estas metodologías han sido aplicada a otras especies y en ambientes más tropicales con diferentes resultados es importante determinar un patrón de comportamiento para la especie nativa motivo de este estudio. Otro factor importante son los diferentes métodos de inducción al desove de ostras establecidos por diferentes autores y determinar si son aplicables al ostión de mangle.

## CAPITULO I

### 1. CARACTERISTICA DEL GENERO *Crassostrea*

Entre los moluscos, el género ***Crassostrea*** es el que mayor importancia comercial y por esta razón muchos investigadores se han dedicado al estudio de estas especies. Todas las investigaciones han sido llevadas a cabo para desarrollar una metodología de cultivo para estos organismos.

#### 1.1 CLASIFICACION TAXONOMICA

Los estudios taxonómicos realizados por Gmelin y Stahl (1.882), Dal y Simpson (1.902), Lamy (1.929), Reeve (1.871), McLean (1.941), Guilding (1.828), et.al. agrupaban taxonómicamente a los moluscos bivalvos en el género ***Ostrea***. Thumberg (1.959 et.al.), determinó las diferencias entre los bivalvos; y, en 1.955 de común acuerdo con la Comisión Internacional de Nomenclatura Zoológica, se los clasifica como ***Ostrea*** y ***Crassostrea***.

Durante el presente estudio se llamará al molusco motivo de esta tesis, ***Crassostrea columbiensis***, ostión de mangle debido a que este es su nombre vulgar en nuestro país.

En el reino animal debido a sus características morfológicas, el ostión de mangle nativo se encuentra taxonómicamente clasificada así:

**Clasificación Imai 1.971****Reino *Animal*****Phylum *Mollusca*****Clase *Pelecypoda* (Bivalvia)****Orden *Pseudolamellibranchia*****Familia *Ostreidae*****Género *Crassostrea*****Especie *columbiensis***

El Phylum ***Mollusca*** incluye a los organismos con cuerpo bilateralmente simétrico con algunas modificaciones, principalmente no segmentados y con la cavidad celómica reducida. De cuerpo suave y recubierto por el manto, el cual secreta productos calcáreos que van a formar la concha. En esta cavidad se encuentran las branquias, sistema digestivo, excretor, circulatorio, nervioso y reproductor (gónadas).

En el género ***Ostrea***, los huevos son descargados dentro de una cámara inhalante donde se efectúa la fertilización y el desarrollo de los primeros estadios larvales. Mientras que, en el género ***Crassostrea*** los que se incluye a ***C. gigas*** y ***C. columbiensis***, los óvulos y espermatozoides son descargados directamente en el agua.

Los organismos pertenecientes al género **Ostrea**, están adaptados mayormente en ambientes de agua muy limpia ó " agua clara ", mientras que los agrupados en **Crassostrea** están mejor adaptados para aguas estuarinas y con sedimentos.

Anatómicamente estos grupos se diferencian en la forma de sus valvas. En **Crassostrea**, la valva inferior ó izquierda es cóncava y la superior ó derecha es plana. El músculo abductor es incoloro y blanco, los dientes del umbo están poco desarrollados. En **Ostrea** u " ostra plana " ambas valvas son planas; el músculo abductor es púrpura oscuro y los dientes del umbo se encuentran bastante desarrollados. El color interno de la concha es blanco en **Crassostrea**; y, gris ó púrpura oscuro en **Ostrea**.

Las diferencias entre estos dos grupos se pueden sintetizar en la Tabla No.1.

	<b>Ostrea sp.</b>	<b>Crassostrea sp.</b>
<b>Desove</b>	Fertilización y desarrollo larval interno	Fertilización y desarrollo larval externo
<b>Anatomía</b>	Sin cámara exhalante	Con cámara exhalante
<b>Valvas</b>	Superior e inferior planas	Inferior cóncava, superior plana
<b>Músculo Abductor</b>	Púrpura	Blanco, transparente
<b>Umbo</b>	Dientes bien desarrollados	Dientes poco desarrollados
<b>Concha Interna</b>	Púrpura oscuro	Blanco, transparente
<b>Crecimiento Concentrico</b>	Indistinto	Con líneas proyectadas
<b>Anillos de Crecimiento</b>	No aparentes	Profundos

Tabla No.1 Diferencias anatómicas y morfológicas entre los grupos **Ostrea sp.** Y **Crassostrea sp.**

Lamy (1.929) realizó un trabajo sobre lamelibranquios y determinó que las ostras existentes en esta región (Martinica), habitaban en las raíces del mangle, ***Rizophorae mangle*** Linneo, y clasificó a estos organismos como ***Ostrea columbiensis***, y, permaneció bajo esta clasificación hasta que se diferenciaron en ***Ostrea*** y ***Crassostrea***. Hanley (1.846) estudió y clasificó al ostión de mangle nativo del Ecuador como ***Ostrea columbiensis***, que significa: Ostrea = ostra y columbiensis = Colombia; ya que esta especie fue localizada en la región sur de Colombia, Candelilla de la Mar, Boca Grande, Chajal, Chauy, etc. (Comunicación personal Angarita, 1.999). Manteniendo este nombre hasta que se realizó la división antes mencionada.

El ostión de mangle, ***Crassostrea columbiensis*** Hanley 1.846, tiene gran similitud con la ostra, ***Crassostrea rizophorae*** Guilding, habitan en medio semejantes y presentan patrones de crecimiento, distribución y reproducción similares.

Ambas especies tienen similitudes fenotípicas y morfológicas, lo que hace que se pueda tomar como patrón y complementen los escasos estudios existentes sobre ***C. columbiensis*** en nuestro medio.

## 1.2 BIOLOGIA GENERAL

El ostión de mangle nativo habita en las raíces del mangle, rodeando completamente esta superficie, teniendo un mayor índice de fijación a 30-60 cm.



por debajo de la línea de marea, permaneciendo fuera del agua aproximadamente por 6 - 8 horas diarias.

La distribución de estos organismos se debe a la acción de los cilios que en su etapa larvaria les permiten desplazarse libremente.

### 1.3. FACTORES AMBIENTALES

Esta especie se distribuye en el Golfo de Guayaquil, lugar en donde se registran grandes poblaciones de ostiones. Existen zonas, como la Isla Puná, en la que los bancos de estos organismos son mayores que en otras regiones del Golfo (Zapata y Jarrín, 1.980).

La distribución de la especie varía a lo largo de todo el año debido a las fluctuaciones de las condiciones ambientales en invierno y verano.

Los moluscos en general son muy susceptibles a cambios en el medio, como son: temperatura, salinidad, alimento y oxígeno disuelto. Lo que hace que estos organismos busquen el medio adecuado para su desarrollo antes de la fijación. Esto lo logran durante el período de larva veliger pueden nadar (Mattox, 1.949). Para ***Crassostrea columbiensis*** la madurez sexual oscila entre organismos de 45 a 60 mm. notándose en las poblaciones naturales diferencias en la relación macho:hembra, debido a la diversidad de talla, la cual está relacionada directamente con los factores descritos a continuación (Frías, 1.981).

Dentro de los parámetros ambientales que más afectan al crecimiento y desarrollo de las ostras tenemos:

### 1.3.1. Temperatura.

Muchos estudios se han realizado sobre los efectos de la temperatura en las diferentes etapas del ciclo de vida de las ostras, especialmente en crecimiento y desove.

Algunos rangos de temperatura han sido considerados críticos para el desove de moluscos (Churchill 1.920, Gustell 1.924, Nelson 1.928, Pytherch 1.929, Hopkins 1.931, 1.936, 1.937, Orton 1.920, Loosanoff & Engle 1.940, Galtsoff 1.930, 1.932); las temperaturas variaban desde 8 °C. en ***C. gigas*** (Hopkins, 1.936) hasta 25 °C. para ***C. virginica*** (Hopkins, 1.931). Aparentemente, en estudios realizados en Puerto Rico sobre ***C. rizophorae*** parece no haber temperaturas críticas para el desove de estas ostras, estas desovan durante todo el año; situación similar a lo que sucede con ***C. columbiensis*** en Ecuador (Frías, 1.981). El ostión de mangle nativo soporta un amplio rango de temperatura, fluctuando entre 23.8 °C. en el verano ó época seca, y 28 °C. en invierno ó época lluviosa.

### 1.3.2. Salinidad.

Las ostras están distribuidas ampliamente, tanto en ambientes de agua dulce como agua salada; lo que indica la capacidad de estos organismos de adaptarse a diferentes salinidades. El ostión de mangle nativo, habita especialmente en zonas

estuarinas, pero por ser un organismo eurihalino puede tolerar y adaptarse a amplios rangos de salinidad. ***C. rizophorae*** (Mattox, 1.949) habita en zonas en que la salinidad fluctua entre 41 - 34 ppt., ***C. virginica*** puede tolerar cambios de salinidad de 2.5 a 33 ppt., con un rango óptimo de 14.3 a 28.8 ppt. (Churchill, 1.920). Los mismo ocurre en otras especies de moluscos bivalvos como en ***C.lurida***, la cual tiene un rango de 25 a 32 ppt.; y ***C. gigas*** tiene un crecimiento óptimo entre 25-39 ppt..

Para ***C. columbiensis*** , en la Isla Puná se registran rangos de 31.66 ppt. y en el Estero Salado 20.87 ppt. (Pesantes, 1.975). Este mismo investigador indica para estas áreas una salinidad mínima de 20 ppt. (invierno) y 32 ppt. (verano). Los parámetros de salinidad del ostión de mangle nativo son diferentes a los rangos registrados para la ostra de mangle de Puerto Rico.

La adaptibilidad de estos organismos a amplios márgenes de salinidad es evidente, pero rangos muy elevados asi como niveles muy bajos parecen ser factores inhibitorios para la maduración sexual, en ***C. virginica*** (Hopkins, 1.931).

### 1.3.3. Alimento.

Las variaciones de la productividad primaria en las zonas donde se desarrollan los moluscos bivalvos, influyen directamente en su crecimiento y maduración sexual. Uno de los factores para que ***C. columbiensis*** tenga un rápido crecimiento y desarrollo gonadal, es la alta productividad primaria de los cuerpos de agua donde

están ubicados los bancos de ostiones. La riqueza natural del Golfo de Guayaquil es conocida debido a la aportación de materia orgánica proveniente de ríos afluentes y a los afloramientos naturales de nutrientes en aguas estuarinas (Comunicación personal, Jiménez, 2.000).

En estudios realizados en Puerto Rico sobre *C. rizophorae*, se determinó que existe predominancia de : diatomeas, algas filamentosas, materia orgánica y en un espécimen se encontró larva de cangrejo, lo que muestra la falta de selectividad en la alimentación de las ostras (Mattox, 1949).

#### 1.4 FISIOLOGIA

Los primeros moluscos fueron probablemente animales de cuerpo aplanado, los cuales se deslizaban sobre el suelo. Estos tuvieron que ir adaptándose a las variaciones del medio y para poder sobrevivir evolucionaron hasta la forma como hoy en día los conocemos (Wilbur & Younge, 1.985).

##### 1.4.1. Concha.

Las ostras son animales invertebrados que carecen de un hueso central ó esqueleto interno verdadero. La concha, forma un escudo protector para el blando cuerpo de los moluscos (Wilbur & Younge, 1.985).

Las valvas tienen diferente forma, siendo la inferior o izquierda más alargada y cóncava que la superior ó derecha que es más corta y aplanada. Una de las

valvas termina en punta, lugar donde se unen ambas valvas, cabeza. La región anterior ó umbo es la zona donde está ubicada la boca del animal.

Las conchas de ostras son muy variables en forma y escultura. La forma esta relacionada con el tipo de superficie en el que ha crecido y de la densidad de cultivo ó desarrollo, en especial a la forma del sustrato ó lugar donde se fijó.

En la concha se generan una serie de líneas, llamadas "líneas de crecimiento" que determinan la edad del animal y las diferentes condiciones que ha pasado durante su etapa de desarrollo, como son: alimentación, stress, variaciones bruscas en el medio, etc.

La concha esta compuesta por 3 capas : la capa externa, delgada y cortante llamada periostracum, que generalmente cubre toda la concha. Debajo de esta capa se encuentra una formada de conchiolina, compuesta por prismas verticales de calcita ó material calcáreo. La tercera capa, la interior, está en contacto con el cuerpo del animal; se compone de argonita y es llamada " capa nácar ".

El ligamento de unión de la ostra, localizado en la región umbonal, es bastante diferente en estructura y función. Este ligamento separa las valvas, y actua en contraposición al músculo abductor; el cual mantiene las valvas unidas y ajusta la distancia entre estas para su separación. El ligamento esta formado por concholina, pero su calcificación es bastante reducida, resultando en una banda elástica y compresible.

El cuerpo de las ostras está cubierto por dos mantos que pueden ser separados en la región anterior ó cabeza, hasta el punto en que el músculo abductor y el manto se funden. Esta fusión sirve para separar el área exhalante de la inhalante.

Sobre las branquias y cerca del punto de fusión con el manto se encuentra el músculo abductor, encargado de cerrar las valvas.

Otro punto de contacto entre el cuerpo y la concha, esta justamente detrás del umbo.

#### 1.4.2. **Manto.**

Está formado por dos lóbulos, uno cubriendo la mitad izquierda y otro la mitad derecha del cuerpo. Estos lóbulos estan unidos en la región anterior sobre la boca y posteriormente se unen en un punto común que divide las cámaras exhalante e inhalante. El manto constituido por tejido delgado y pequeños músculos en la región posterior.

La punta del manto es gruesa y esta dividido en tres secciones: La externa, cerca del filo de la concha, que es el área donde se forma la concha (periostracum); la media muy ramificada, que tiene una función sensorial y es capaz de detectar cambios en la composición química del agua; la interna que es la más larga y fuerte, formada por gran cantidad de músculos y tentáculos, los cuales forman una barrera para el paso del agua.

Todo el manto interviene en la formación de una gran parte de la concha, especialmente de calcita-ostracum. La región del músculo abductor está compuesta por un material llamado hipostracum.

#### 1.4.3. **Branquias.**

Son los órganos de la respiración. Estos son finos de color gris, con forma de hoja y yacen en la cavidad del manto por encima de la masa visceral.

Las branquias están formadas por ocho lamellas, cuatro a cada lado del cuerpo. Cada grupo de lamellas están dispuestas en forma de " W " , y cada par está unido en la región ventral.

Mediante la unión de las lamellas, se forman cuatro cámaras por encima de las branquias, las suprabranquiales. Estas cámaras se reducen a dos en la parte anterior del músculo abductor y emergen dentro de la cavidad suprabranquial, llamada cámara cloacal.

Cada lamella está formada por filamentos simples que se unen por medio de tejido interfilamentoso, que deja espacios (ostia) por los cuales pasa el agua hasta la cámara branquial. Existen tres tipos de filamentos: ordinarios, transicionales y principales.

Finalmente, en la base de las branquias y en sus extremos libres, existen tractos ciliados que transportan partículas de alimento llevándolas desde los cilios hasta las branquias y luego hacia la boca.

Las branquias tienen células especiales que segregan mucus, el cual, une las partículas de alimento. Las branquias son capaces de evitar el paso de partículas pequeñas como son bacterias y partículas virales (Quayle, 1976).

La descarga de las pseudoheces es realizada por contracciones del músculo abductor y por presión llevadas a la cámara exhalante.

Los filamentos branquiales, uniones interfilamentosas e interlamellares cumplen funciones importantes, estos contienen vasos sanguíneos. Al pasar el agua por la ostia y por los tubos de agua para el intercambio gaseoso y respiración.

#### 1.4.4. **Músculo Abductor.**

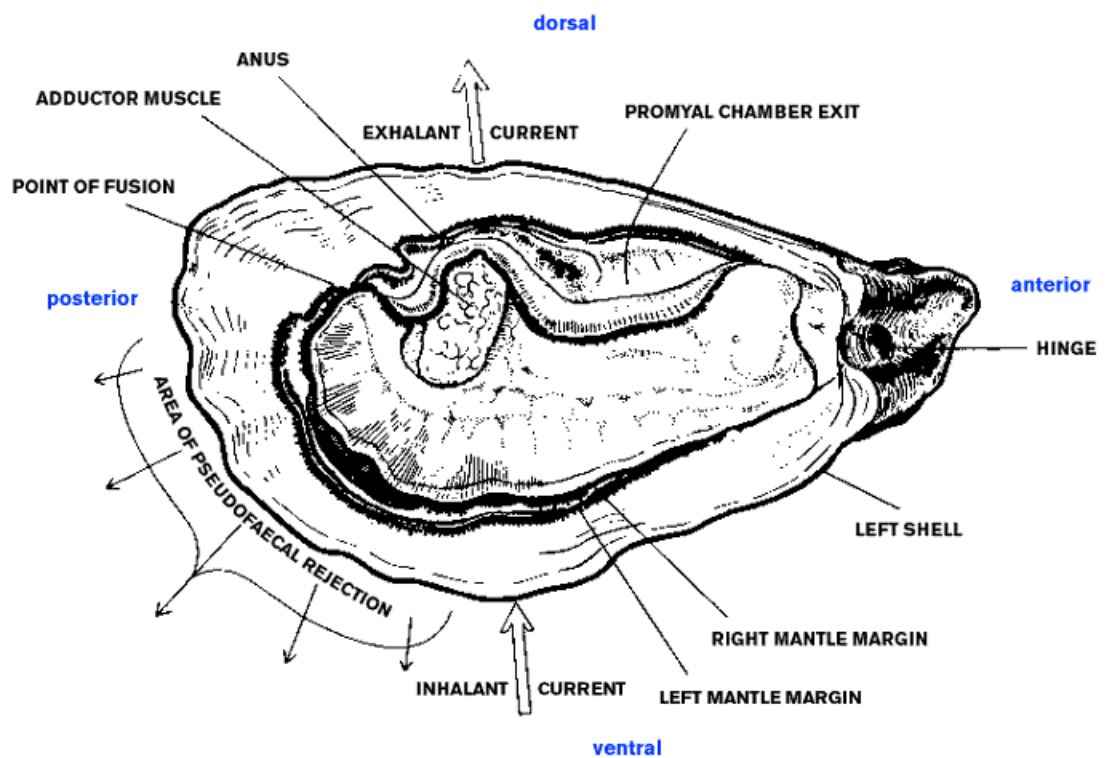
La porción que permanece visible en la anatomía de la ostra es el músculo abductor. Este mantiene las dos valvas unidas y actúa en contra del ligamento de unión que las separa.

De color blanco y en la región anterior es café claro. Esta última compuesta de fibras estriadas y es responsable de las contracciones rápidas que cierran violentamente la concha cuando el manto es estimulado ó para la descarga de



pseudoheces, así como para desoves, en los que los productos gonadales son descargados a través de la cámara promial.

En la figura No. 1 podemos ver las diferentes partes de la ostras ubicadas en su valva derecha.



Pacific oyster with right valve removed.

Figura No.1 Valva derecha de *Crassostrea gigas*.

#### 1.4.5. **Sistema Digestivo.**

Comienza en la boca, ubicado horizontalmente con labios superiores e inferiores, formado por la fusión de las porciones anteriores de los palpos. Se continua con el esófago, el que termina en el estómago.

El estómago esta formado por un número de ductos, esta masa es llamada "hígado" pero es más apropiado llamarla "glándula digestiva" ó "divertículo". Su color esta asociado al color de alimento que ingiere.

Opuesto al esófago se encuentra la entrada al intestino, que es un tubo delgado que rodea el estómago y termina en el ano, localizado en la cámara cloacal. Cerca de la entrada al intestino y asociado a otro tubo delgado está el ciego, llamado "saco estilo cristalino" el cual produce una estructura conocida como "estilo cristalino", que es un bastón gelatinoso, de color café ó amarillo.

Este órgano segrega enzimas digestivas que convierten el almidón en azucar digestibles. La disolución completa del estilo ocurre cuando la ostra es retirada del agua al encontrarse en plena alimentación; y reformado cuando el organismo es regresado al agua.

Existe otra sección en el estómago encargada de almacenar el alimento, denominada caeca.

#### 1.4.6. **Sistema Circulatorio.**

Su función es llevar el alimento, oxígeno y material de desecho a las diferentes partes del cuerpo (órganos excretores). Con excepción del corazón y la cavidad pericardial, este sistema es muy complejo y no se encuentra muy bien definido.

El corazón, localizado encima y cerca del músculo abductor, se encuentra en la cavidad pericardial. Hay dos aurículas y un ventrículo. La sangre oxigenada es recibida desde las branquias y bombeada a través de las principales arterias hacia los vasos menores. La sangre venosa es llevada hacia las branquias para su oxigenación (Wilbur & Young, 1985).

#### 1.4.7. **Sistema Nervioso.**

Debido a que se trata de animales poco activos, no requieren de un sistema nervioso muy complejo. La ostra adulta tiene un par de células nerviosas cerca de la boca y otro debajo del músculo abductor, conocidas como ganglio visceral.

El único órgano sensorial está localizado en la cámara exhalante y es llamado "órgano sensorial abdominal". Su función es desconocida.

#### 1.4.8. **Sistema Reproductivo.**

Este sistema se encuentra muy desarrollado durante la época de desove, período en que ocupan entre 30 % y 70 % del volumen del cuerpo.

Cuando la actividad reproductora cesa, la masa gonadal es reemplazada por tejido conectivo que contiene lípidos y glicógeno.

Cerca a los órganos internos de la ostra, existe un sistema idéntico, uno a cada lado, que consiste en una serie de túbulos, que comenzando al final del cuerpo del animal se unen formando un tubo simple, igualmente uno a cada lado, el cual termina en el llamado " poro genital ".

En una ostra sexualmente madura, los tubos gonadales tienen un diámetro pequeño en la región anterior, el cual se ensancha a medida que se aproxima a la abertura genital, y son visibles a simple vista en la superficie del cuerpo del animal; en esta etapa ambos sistemas están prácticamente fusionados, excepto en el poro genital.

Las ostras de clima templado durante la época de primavera, las células llenas de glicógeno son gradualmente reemplazadas por la proliferación de células reproductivas. No se conoce con certeza si el glicógeno actúa o no en la formación de los productos gonadales, pero la disminución de éste coincide con el desarrollo de las gónadas (Quayle, 1976).

La maduración sexual de ***C. gigas*** parece ser una función del tamaño más que de la edad. Mientras que estudios realizados por Souet (1987) y Frías (1981), estos coinciden en que el desarrollo gonadal para ***C. columbiensis*** determinan una relación entre la edad y el tamaño de los organismos.

### 1.5. CRECIMIENTO Y ALIMENTACION

Es muy difícil hablar de estados específicos de crecimiento en ostras, porque las variaciones de mareas y alimento cambian constantemente.

Hay dos aspectos en el crecimiento de una ostra, uno relacionado a la concha y otro al cuerpo. El crecimiento de la concha parece estar relacionado con la temperatura pero al mismo tiempo el cuerpo debe tener suficiente energía, derivada del alimento y sus reservas, para convertir el calcio del agua en concha.

Existen varias definiciones relacionadas con largo, ancho y espesor de ostras que tiene íntima relación con la industria ostrícola. El crecimiento del ostión debe estar ligado a instrumentos lineales y de volumen. También se debe tomar en cuenta factores como líquido de la concha, relación cuerpo-concha, etc.

El volumen total medido de la ostra incluye el volumen de las valvas como el volumen interno. Esta relación indica la capacidad del ostión para producir tejido en relación a su volumen, parámetro que se conoce como Índice de Calidad (Q). Para la determinación de este índice se establece mediante el secado y pesado del tejido suave del ostión, para la determinación de la relación de crecimiento tejido duro (concha) vs. tejido blando (carne), se lo calcula mediante la siguiente fórmula (Grave, 1912) :

$$Q = (\text{peso de carne seca} / \text{volumen de cavidad}) \times 100 \%$$

La ostra en base a su tamaño puede seleccionar la cantidad de alimento a ingerir, pero aparentemente muchas de las cosas que ingieren no son digeridas. La alimentación de este animal incluye: bacterias, protozoarios, dinoflagelados, una amplia variedad de diatomeas, larvas de invertebrados y detritus. Sin embargo, poco se conoce sobre los nutrientes necesarios para su desarrollo. Durante los estadios larvales son particularmente selectivas en su alimentación.

Para la maduración sexual las ostras necesitan una elevada cantidad y diversidad de alimentos, los cuales van a ser utilizados para la gametogénesis. Durante éste período ellas transforman la grasa en glicógeno, elemento esencial para la maduración sexual (Mattox, 1949).

## 1.6. REPRODUCCION

### 1.6.1. **Sexualidad.**

De sexos separados, pero el hermafroditismo ocurre ocasionalmente; la determinación sexual se la realiza a partir de la observación del tejido gonadal.

El sexo puede cambiar luego de cada desove, condición que está determinada a factores alimenticios (Lossanoff, 1940).

Parece existir una tendencia de las hembras de cambiar a machos cuando existe poco alimento y de macho a hembra cuando ocurre lo contrario. Basicamente

porque producir óvulos requiere 50 % más de energía que la producción de esperma.

La fase inicial de desarrollo gonadal en los moluscos es siempre como machos. Sin embargo, es importante indicar que se mantiene un equilibrio entre la relación macho - hembra para asegurar el éxito durante la reproducción. La relación macho : hembra aproximada para ***C. virginica*** es de 4 : 5 (Loosanoff & Engle, 1910). Otros estudios realizados determinaron que para esta misma especie la relación en términos porcentuales era de 70.0 % : 20.2 % y un 9 % no definido (Hopkins, 1931).

Para ***C. columbiensis***, existe relación tamaño vs. sexo de los organismos, indicando que las hembras son generalmente de mayor tamaño que los machos, la longitud promedio para animales en desarrollo sexual en esta especie es de 49 mm.

#### 1.6.2. Desarrollo Gonadal.

Los organismos del género ***Crassostrea*** desarrollan productos sexuales (óvulos ó esperma), mediante la conversión de las grasas en glicógeno cuando la temperatura del agua empieza a incrementar para especies de aguas templadas (Quayle, 1976).

Al llegar a la madurez sexual, las gónadas de la hembra aparecen gruesas, de color crema, granuladas y vascularizadas; mientras que el esperma, muy pequeño tiene color blanco.

***C. columbiensis*** se caracteriza por desoves parciales durante todo el año; teniendo sus picos de producción en los meses de Enero hasta Abril (Frias, 1981). Este fenómeno tiene relación directa con la temperatura y con la elevada productividad primaria del medio.

### 1.6.3. Desove.

Al desovar, la ostra expulsa los productos sexuales por la cámara exhalante los machos y por la inhalante las hembras. Este proceso esta acompañado por la acción del manto y del músculo abductor.



Figura No.2 Desove de hembra de *Crassostrea gigas*



Las hembra descarga el producto sexual dentro de la cámara suprabranquial donde es forzado a través de las aberturas de las branquias dentro de la cámara del manto, y desde aquí expulsados en forma de " pequeñas nubes " . Las contracciones de los óvulos son intermitentes, a razón de 5-10 por minuto para **C. gigas**.

Los machos de esta misma especie, descargan los espermatozoides en forma de un "fino hilo" dentro de la cámara suprabranquial pasando a través de las aberturas de las branquias contra la dirección en que salen los óvulos.



Figura No.3 Desove de macho en *Crassostrea gigas*.

El desove en los ostiones puede ser inducido por variaciones de temperatura, estimulación química ó mediante la combinación de ambos. La presencia de productos sexuales en el medio estimulan también al desove, lo que produce el desencadenamiento de desoves en la población sexualmente apta para reproducción.

### 1.7. DISTRIBUCION GEOGRAFICA

El ostión de mangle, ***C. columbiensis***, está distribuída desde el sur de Colombia (Tumaco, Candelilla de La Mar, Boca Grande, Sto. Domingo, Chajal, Chauy, etc.) y a lo largo de la costa de Ecuador encontrándosela en Esmeraldas, Manabí, Guayas y El Oro.

En Ecuador las mayores poblaciones de ***C. columbiensis*** se encuentran en Esmeraldas y en Guayas, específicamente en el Golfo de Guayaquil e I. Puná con variaciones de población a lo largo del estuario interno, medio y externo.

Todos estos sectores en los cuales se hallan mayores poblaciones de este organismo presenta salinidades que varían entre 15 - 28 ppt., pH 7.5 - 8.5, temperaturas 24 a 31 °C. (Frias, 1981).

Además de estas condiciones existe un factor muy importante para la afloración de poblaciones de ostión de mangle, como es la productividad primaria del Frente Ecuatorial (Comunicación personal, Jiménez, 2000). Factor que incide directamente en el número de estos organismos presentes en determinados

sectores y en la actividad reproductiva de los mismos, influyendo en la relación de sexos de la población y por ende en su desarrollo (Pesantes, 1975).

## **CAPITULO II**

### **2. MADURACION SEXUAL.**

Durante el ciclo de vida de todo molusco ocurre la maduración sexual que está influenciado por las condiciones que rodean a estos organismos, como son: alimentación, temperatura, salinidad, flujo de mareas, pH, etc.. Todos estos factores inciden en el metabolismo del animal teniendo como finalidad la maduración sexual y la reproducción.

En los moluscos el proceso de maduración sexual va seguido del desove, fertilización de los productos gonadales y finalmente el desarrollo larvario.

La maduración es el proceso en el cual se produce el desarrollo de los órganos sexuales. Este desarrollo gónadal, en los moluscos se caracteriza por cambios sucesivos en el metabolismo, eventos que van desde el desarrollo parcial de los productos sexuales en pequeñísimos cuerpos que van a desarrollarse conforme el animal ingiere los elementos nutricionales - energéticos necesarios, hasta que estas se conviertan en células aptas para la reproducción.

La maduración de los moluscos tiene relación directa con la cantidad y calidad del alimento que ingiere, además este desarrollo gonadal está influenciado por la temperatura.

La influencia de la calidad y cantidad de alimento va a determinar a nivel de moluscos la preponderancia de un sexo u otro.

Durante este proceso el animal comienza a elevar sus reservas de glicógeno para poder madurar sus productos sexuales.

### 2.1. ESTADOS DE MADUREZ SEXUAL

La producción de productos sexuales ó gametos depende de diversos factores expuestos anteriormente que influyen en el desarrollo gonadal de las ostras.

Desde el estado juvenil ó inmaduro del animal hasta el desove de los gametos hábiles para ser fertilizados se pueden distinguir 4 fases de desarrollo sexual. Desarrollo de madurez sexual que varía según cada autor; Souet (1987) los clasificó en los siguientes:

Estado 1    Descanso sexual

Estado 2    Gametogénesis

Estado 3    Madurez y Desove

Estado 4    Restauración

" Interiormente el ovario está constituido por tubos gonádicos, tejido vesiculoso y el predominio de uno sobre otro va a diferenciar los múltiples estados de maduración sexual " (Souet, 1987).

### **2.1.1 Estado 1 Descanso Sexual.**

Los tubos gonádicos tienen un volumen y número reducidos. El tubo ó gónada es traslucido y de tamaño muy pequeño. En este se encuentran únicamente ovocitos y ovogonias de 10 - 15 micras. Todas estas células se encuentran en fase de previtelogénesis, notándose además la falta de reproducción y crecimiento de los elementos germinales.

Durante este estadío comienza la acumulación y producción de vitelo.

### **2.1.2 Estado 2 Gametogénesis.**

Se diferencia por el aumento en el tamaño de los tubos gonádicos y un crecimiento de los ovocitos. En la fase anterior permanecían en previtelogénesis pasando en esta a la gametogénesis.

Los primeros ovocitos presentan acumulación de glicógeno en forma de reservas (glicógeno, lípidos, proteínas, polisacáridos, etc.). Otra diferencia en esta fase es la aparición de tejido sanguíneo y la vascularización del tubo gonádico.

En los machos se observa la iniciación de la espermatogénesis y la proliferación de elementos conjuntivos vesiculosos. También se caracteriza por la aparición de espermatogonios de I y II orden y la presencia de espermatozoides.

### **2.1.3 Estado 3 Madurez y Desove.**

En esta fase los ovocitos finalizan la vitelogénesis, su forma es redonda, están bien separados uno del otro y su tamaño varía entre 50 - 60 micras.

El desarrollo de los ovocitos es irregular lo que coincide con los desoves parciales característicos de las ostras. Dependiendo de las reservas de glicógeno puede comenzar una nueva producción de gametos.

El desarrollo gonadal en machos se más acelerado que en las hembras. Para esta fase existe un predominio de espermatides y espermatozoides los mismos que se encuentran cerca a las paredes de los tubos gonádicos listos para ser eyaculados.

En esta fase del desarrollo gonadal tanto hembras como machos se encuentran listos para el desove de los óvulos y esperma respectivamente ante la acción de cualquier fenómeno, stress extremo ó estímulo.

### **2.1.4 Estado 4 Restauración.**

En la hembra luego del desove, la gónada comienza la fase de reposición de los gametos expulsados y el desarrollo de nuevos gametos para la próxima evacuación. Asimismo se da inicio a una nueva acumulación de reservas de glicógeno. Es muy claro observar la gran cantidad de ovogonias y residuos de ovocitos y folículos postovulatorios.

" A nivel de machos, parece no existir restauración progresiva de los gametos " (Souet, 1987).

En las ostras de aguas tropicales este proceso es sumamente rápido debido a la acción de la temperatura, lo que origina maduraciones sucesivas y desoves parciales durante todo el año.

## 2.2. METODOS DE DESOVE

Para obtener desoves de ostiones en medio artificial se practican varias técnicas de estimulación ó stress como son (Souet, 1987):

- Choque térmico
  
- Choque de inmersión
  
- Laceración
  
- Choque eléctrico
  
- Estimulación química



### **2.2.1 Choque Térmico.**

En la actualidad la metodología más empleada para estimulación de moluscos bivalvos y ostras para el desove en medio artificial es por choque ó stress térmico, que consiste en la elevación gradual de la temperatura a intervalos de tiempos iguales hasta obtener el desove de los animales. Esta técnica es muy usada especialmente para estimular al desove a ostras de agua templada ó fría.

### **2.2.2 Choque de Inmersión.**

Esta técnica consiste en colocar a los animales maduros en seco y al frío (12 - 15 °C) por 2 ó 3 horas, y luego son sumergidos en agua temperatura entre 20 -24 °C (Souet, 1987).

### **2.2.3 Laceración.**

Es el corte de las gónadas tanto de machos como hembras y luego de la verificación del estado de madurez sexual se procede a mezclar ambos productos en concentraciones establecidas para cada especie.

La desventaja de esta técnica consiste en el sacrificio de los organismos y, frecuentemente al realizar el corte se secciona parte del intestino y se produce la contaminación de los gametos.

#### **2.2.4 Choque eléctrico.**

Como su nombre lo indica se basa en la estimulación mediante impulsos eléctricos en rangos conocidos hasta lograr el desove de los organismos. Esta metodología es muy utilizada para estimulación de desoves en moluscos del género ***Ostrea*** (ostra plana) y de aguas templadas (Comunicación personal, Ruez. P, IFREMER, 1999).

#### **2.2.5 Choque químico.**

Basicamente es la estimulación al desove mediante el uso de hormonas. Usualmente se utilizan productos gonadales de machos (extraídos artificialmente), los cuales son vertidos en los recipientes ó tanques donde se encuentran los organismos y la enzima liberada, diantline, va a estimular a los otros organismos al desove.

Otro tipo de choque químico es mediante el tratamiento del agua con Peróxido de Hidrógeno (  $H_2O_2$  ). El Peróxido de Hidrógeno estimula la actividad de la prostaglandina en el medio alcalino, la misma que produce la liberación de los espermatozoides y óvulos. Es necesario la elevación del pH alrededor de 9.1 para que el Peróxido de Hidrógeno surta efecto a nivel de prostaglandina (Souet, 1987).

La estimulación de moluscos bivalvos para desovar en ambiente controlado puede ser llevado a cabo mediante cualquier metodo que provoque stress en el organismo y por ende la evacuación de los productos sexuales.

En Nova Escocia estimulan al desove a ***Ostrea lurida*** mediante períodos de sobrealimentación combinados con intervalos de hambruna en los tanques de acondicionamiento, y estos cambios bruscos en la dosis alimenticias producen el desove (Comunicación personal Ruez. P, IFREMER, 1999).

Es muy importante anotar que todos estos tipos de stress producen el desove cuando los organismos se encuentran en plena fase de madurez sexual, con óvulos totalmente maduros que se caracterizan por su forma de " pera ", reserva lipídica y nucleo desarrollado; así mismo espermatozoides muy activos de cola bien formada y alargada.

## **CAPITULO III**

### **3. CARACTERISTICAS NUTRICIONALES DEL FITOPLANCTON.**

#### **3.1. CARACTERISTICAS GENERALES**

Es conocido que las algas constituyen la principal fuente alimenticia para moluscos bivalvos, partiendo de que estos organismos son filtradores. Desde el punto de vista nutricional existen diferencias entre las diferentes especies de algas.

El fitoplancton que sirve como alimento de ostiones y ostras debe reunir características nutricionales para las diferentes etapas de desarrollo de los moluscos. Es así que los requerimientos durante la fase larvaria son diferentes a los necesarios para la maduración sexual de estos (Webb y Chu, 1981).

Existen factores muy importantes fuera del criterio del valor nutricional en lo referente a la constitución misma del fitoplancton como es: proteínas, carbohidratos, grasas, vitaminas. El elevado valor nutritivo de las algas como alimento de moluscos está relacionada también a los siguientes aspectos: tamaño de la célula, ausencia de una pared celular gruesa, eliminación de sustancias no tóxicas (metabolitos) (Ukeles, 1970; Owen, 1974) y composición química. El índice de filtración y la digestión están afectadas directamente por el tamaño celular (Hughes, 1969; Haven y Morales-Almo, 1970). El tamaño de las células a ingerir varía en relación al crecimiento del organismo.

La digestibilidad de las algas se ve afectada principalmente por la composición y/o grosor de la pared celular. Walne (1974), determinó las diferencias de crecimiento en larvas de ***O. edulis*** alimentadas con diferentes especies de algas. Las diferencias de crecimiento se basaron principalmente en el grosor de la pared celular, ***Chlorella*** y ***Coccomyxa*** .

Existen otras especies de algas como ***Phaeodactylum tricornutum*** , la misma que no puede ser digerida eficientemente por larvas de moluscos debido a la falta de triptofan, aminoácido componente que ayuda a la digestión y en especial a la absorción de nitrógeno. Además ***P. tricornutum*** no es un buen suplemento alimenticio para el acondicionamiento de reproductores de ostiones ya que su composición nutricional es muy pobre (Epifanio y Mootz, 1976; Epifanio et.al., 1981).

Otras especies de algas presentan contaminación por bacterias, vibrios ó secretan metabolitos tóxicos para larvas de ostras y almejas, como son: ***Chlorella sp.***, ***Clamydomonas sp.***, ***Stichococcus sp.*** y la crisofita ***Prymnesium parvum*** .

Así mismo existe especies de algas que sirven como alimento para larvas y acondicionamiento de reproductores, cuyo valor nutritivo se traduce en excelentes resultados, como es el caso de ***Isochrysis galbana*** y ***Thalassiosira pseudonana*** que parecen poseer un micronutriente en elevadas cantidades esenciales para el crecimiento y desarrollo gonadal.

La asimilación y eficiencia de absorción de la ración de algas dada a los moluscos está en función de la temperatura y a la cantidad de alimento suministrado.

Parece existir una relación constante de absorción, ya que los ostiones incrementan la filtración cuando son sometidos a bajas concentraciones de algas, decreciendo el ritmo de filtración a mayores concentraciones algales, este experimento fue realizado con *C. virginica* (Epifanio, 1981).

La cantidad de algas consumidas está asociada con la temperatura, observándose mayor consumo con rangos mayores de temperatura (27 - 29 °C.); sin embargo, el crecimiento y el desarrollo gonadal se encuentra relacionado directamente a ambos factores, ración alimenticia y temperatura (Epifanio y Ewart, 1977).

Las características de las diferentes especies de algas han determinado combinaciones nutricionales para compensar la deficiencia nutricional de ciertas especies que por ejemplo carecen de triptofan, para que este componente presente en otras especies sirvan como digestivo.

Por esta razón es recomendable la utilización de diversos tipos de algas para la alimentación de ostiones y moluscos en general, ya sea durante su etapa larvaria, juvenil ó adulta (maduración sexual), teniendo como resultados organismos más vigorosos, crecimiento y desarrollo gonadal acelerado que aquellos alimentados con sólo una especie de alga (Walne, 1970, 1974; Mann y Ryther, 1977; Loosanoff y Murray, 1974; Epifanio y Mootz, 1976; Epifanio, 1979).

Las diferentes especies de algas cultivadas en ambiente controlado para el acondicionamiento de reproductores de ostras y para alimentación de estadíos larvarios presentan diferencias nutricionales específicas en su composición; proteínas, lípidos, hidratos de carbono y micronutrientes. Diferentes investigadores han determinado estas diferencias de composición de las algas más utilizadas como alimento de moluscos bivalvos. En la tabla No. 2 se detalla la composición de algunas microalgas utilizadas en acuicultura:

<b>Especie</b>	<b>Proteína %</b>	<b>H.Carbono %</b>	<b>Grasas %</b>
<i>Tetraselmis sp.</i>	1.42	0.41	0.70
<i>Dunaliella sp.</i>	1.43	0.80	0.15
<i>Monochrysis sp.</i>	0.94	0.59	0.22
<i>Chaetoceros sp.</i>	1.12	0.22	0.21
<i>Skeletonema sp.</i>	1.38	0.79	0.17
<i>Phaeodactylum sp.</i>	0.88	0.64	0.17

Tabla No.2 Composición de diferentes microalgas, base húmeda, utilizadas en acuicultura , (Fogg, 1975)

No se han determinado con exactitud los requerimientos dietéticos para el acondicionamiento de reproductores de ostras, pero la dieta a ser dosificada debe ser rica en hidratos de carbono y lípidos, para la elaboración de glicógeno. Se establece también el requerimiento de ácidos grasos no saturados y aminoácidos esenciales durante este proceso, sin haberse llegado a establecer cuales son los ác. grasos y aminoácidos esenciales para la maduración sexual de estos organismos.

### 3.1.1. Composición Lipídica y Acidos Grasos.

La composición lipídica total algal varía de acuerdo a la edad del cultivo, el grado de degradación es muy reducido en cuanto a ácidos grasos se refiere, las condiciones de salinidad, temperatura, luminocidad permanecen constantes (Chu y Dupuy, 1980).

El porcentaje de nutrientes de las diferentes especies de algas está relacionado directamente a la calidad y cantidad de nutrientes utilizados en el medio enriquecido y a las condiciones de cultivo (Comunicación personal Solíz y Duarte, 1999).

Nutricionalmente los ác. grasos no saturados son elementos esenciales para el desarrollo de diferentes funciones en peces, crustáceos y moluscos. Estos ác. grasos no saturados corresponden al tipo  $w3$ . Los requerimientos de estos elementos variará de acuerdo a los necesidades nutricionales de cada molusco, y, cambiará de una especie de alga a otra. En la Tabla No.3 se expone las variaciones de lípidos en diferentes especies de algas utilizadas para dietas de ostras (Webb y Chu, 1980).

Para la mayoría de las especies de microalgas los ác. grasos saturados predominantes son 14:0 y 16:0 del total de ác. grasos saturados, 15 - 64 % (datos tomados entre 37 - 38 especies de algas Webb y Chu, 1980).

Como fuente energética los lípidos parecen tener un papel importante durante el desarrollo gonadal de los ostiones ya que actúan directamente en la formación y



desarrollo de productos sexuales. Estos elementos son esenciales para la maduración sexual en crustáceos y peces, influyendo su concentración directamente en cantidad y calidad de huevos, porcentaje de fertilización y desove (Chu y Dupuy, 1980).

### 3.1.2. Composición de Hidratos de Carbono.

Estos componentes son elevadas fuentes de energía para todo organismo, y son necesarios para el desarrollo y metabolismo. Su concentración está determinada por la calidad, cantidad de nutrientes y condiciones de cultivo a que han sido sometidas.

En 8 especies de algas estudiadas se han encontrado principalmente la presencia de los siguientes azúcares: glucosa, manosa, ribosa, xilosa, ramnosa y galactosa.

Las microalgas estudiadas son: *P. virginica* , *P. paradoxa* , *Chlorella sp.*, *I. galbana* , *P. lutheri* , *Chaetoceros sp.*, *P. tricornutum* y *S. costatum* (Handa y Yanagi, 1969).

Estudios realizados por Parsons (1961) indican la presencia de glucosa en 11 especies diferentes de fitoplancton analizadas, la galactosa mostró ser la más abundante en 9 especies. No existe una relación directa entre el valor nutricional de una especie de alga y su contenido de hidratos de carbono (Webb , Chu y VIMS, 1980).

### 3.1.3. **Composición Proteica y de Amino ácidos.**

Las algas constituidas por aminoácidos no esenciales y esenciales, siendo los primeros de poca importancia por que son sintetizados por los moluscos, no así los esenciales que deben ser ingeridos directamente a través del alimento.

Por esta razón es necesario establecer cuales son los aminoácidos esenciales en base a la composición de aminoácidos del animal.

La utilización de las proteínas para el crecimiento y desarrollo gonadal es más eficiente cuando el alimento contiene aminoácidos esenciales en la misma proporción que en el tejido que se está formando (Windsor, 1977).

Un aminoácido esencial específico puede ser considerado limitante cuando su contenido en la dieta es menor al requerido por el metabolismo del animal. Al encontrarse un aminoácido esencial en cantidades limitadas los otros en grandes concentraciones serán sub-utilizados ó no asimilados. En la tabla No. 3 se muestra la variación en el contenido de proteína y otros elementos presentes en varias especies de microalgas de uso comercial en acuicultura.

Especie	Peso Seco (pg-cel-1)	Clor-a	Proteina	H.de C.	Lipidos
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	11.3	0.34	3.8	0.68	1.8
<i>Chaetoceros gracilis</i>	74.8	0.78	9	2	5.2
<i>Phaeodactylum tricorutum</i>	76.7	0.41	23	6.4	10.7
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	28.4	0.27	9.7	2.5	5.5
<i>Skeletonema costatum</i>	52.2	0.63	13.1	2.4	5
<i>Tetraselmis chui</i>	269	3.83	83.4	32.5	45.7
<i>Tetraselmis suecica</i>	168.2	1.63	52.1	20.2	16.8
<i>Isochrysis galbana</i>	30.5	0.3	8.8	3.9	7

Tabla No.3 Concentraciones de clorofila-a, proteina, carbohidratos y lipidos de diferentes especies de microalgas comunmente usadas en acuicultura (modificada Brown, 1991)

Las variaciones de aminoácidos en especies algales no son significativas en calidad nutritiva, aún teniendo variaciones cuantitativas marcadas (Phillips y Brodway, 1956).

### 3.2. LIPIDOS COMO FUENTE ENERGETICA PARA EL DESARROLLO GONADAL.

Los lípidos constituyen elementos muy importantes para la maduración gonadal de ostras. El requerimiento de grasas ha sido determinado en base a la composición lipídica del tejido de los moluscos bivalvos (Harrison, 1975). Este análisis ha dado como resultado una alta proporción de ácidos grasos no saturados, entre ellos de 20 átomos de carbono y con 5 dobles enlaces, y de 22 átomos de carbono y con 6

dobles enlaces. Estos datos aumentan considerablemente durante la época del desarrollo sexual.

No se ha determinado con exactitud el papel que desempeñan los ácidos grasos no saturados en el desarrollo sexual de los moluscos, pero su importancia se basa en la cantidad de energía necesaria durante esta fase de vida de la ostra, ya que casi toda la energía producida por la ingestión de alimentos es destinada a la maduración gonadal (Webb, Chu, 1981).

En el medio natural el desarrollo gonádico para ostiones de aguas templadas ocurre con los cambios de clima, al incrementarse la temperatura del agua comienza este proceso, favorecido además por la afloración de algas en los cuerpos de agua, especialmente blooms de diatomeas (Quayle, 1976). Para ostras de aguas tropicales, una vez alcanzada la edad adulta, estos organismos comienzan su maduración, la misma que no se detiene hasta que el animal envejece y muere.

Las ostras de agua cálida desovan parcialmente durante todo el año, situación producida por la riqueza natural del agua y la influencia de la temperatura que acelera el metabolismo de los organismos. Siendo este el caso para ***C. columbiensis*** y ***C. rizophorae*** (Mattox, 1949).

La importancia de la calidad del alimento se puede determinar mediante el contenido lipídico de los huevos fertilizados de animales sometidos a dietas ricas

en lípidos en los que se observa un desarrollo mucho más rápido (Creekman, 1977).

Las microalgas utilizadas para el acondicionamiento de reproductores de ostras deben tener elevadas cantidades de ácidos grasos de la cadena w6 y w3 (aproximadamente en relación 1:2 a 3:1) para ser consideradas " alimento de buena calidad " (Webb y Chu, 1980).

### 3.3. CARBOHIDRATOS Y SU INFLUENCIA EN LA MADURACION DE OSTIONES

En los moluscos el glicógeno constituye la mayor reserva de carbohidratos. A nivel de adultos el glicógeno puede llegar a constituir el 40 - 50 % del peso del tejido seco. La cantidad de hidratos de carbono en la dieta varía entre 30 - 50 % según la composición de las algas utilizadas como alimento (Bayne, 1977).

No se ha determinado aún, las cantidades de carbohidratos necesarios durante el proceso de maduración sexual de los moluscos. Pero, la importancia de estos elementos parece ser mayor que los lípidos, proteínas y micronutrientes para el desarrollo sexual (Harrison, 1975).

La energía almacenada por las ostras de agua templada es mayor durante la época de maduración y desoves (Febrero hasta Mayo), período en el que la composición nutricional de los tejidos de estos organismos se incrementa.

El uso de almidón para el acondicionamiento de reproductores de ostras se debe a la constitución nutricional del alimento, rico en hidratos de carbono y es suministrado por su alto contenido energético y su fácil desdoblamiento en glicógeno.

Estas dietas son utilizadas también durante los estadíos larvales, pero cuando ha sido aplicado como dieta única no ha mostrado crecimiento significativo (Epifanio, datos no publicados). Por los resultados obtenidos en el uso de almidón durante estados larvales, se nota que las ostras digieren en menor grado los almidones que otras especies de moluscos bivalvos, durante esta fase.

**Calorias / 100 gr.**

Fecha	Proteína	Glicogeno	Grasa	Total
Feb.	42.7	18.3	23.4	84.4
Abr.	38.2	20.6	24.2	83.2
May.	42	21.8	27.9	91.7
Ago.	41.6	9	27.2	77.8
Oct.	42.9	11.6	21.8	76.3
Dic.	33.4	14.9	20.2	68.5
Feb.	40.9	15.7	28.8	85.4

Tabla No. 4 Contenido de energía de *Crassostrea gigas*  
(Tully J.P.)

La composición para ***C. gigas*** anotada en la Tabla No.4 debe ser diferente a la que debe tener las especies de agua cálida, ya que estas una vez alcanzada la

edad adulta estan en continua maduración, originando esta condición composiciones nutricionales estables durante todo el año.

## CAPITULO IV

### 4. MATERIALES Y METODOS.

El presente estudio fue realizado en el Laboratorio de Larvas AquaNova, en una sala especial para bioensayos, la misma que constaba de tanques de fibra de vidrio transparentes de 300, 600 lt., sistema de iluminación con lámparas fluorescentes, sistema de agua dulce y salada, aireación, etc. .

#### 4.1. MATERIALES

##### 4.1.1. Tanques y Equipos.

Se utilizaron 14 tanques de fibra de vidrio cilíndrico - cónicos de 300 lts., 12 tanques para acondicionamiento de reproductores y 2 tanques como control del estudio. En cada uno se colocaron 100 reproductores de ***C. columbiensis*** sobre bandejas construídas de malla plástica negra de 1/2 pulgada de ojo, el área de cada bandeja (0,7 x 0,7 m) fue de 0,49 m<sup>2</sup> con una densidad de 204 ostiones/m<sup>2</sup>. .

Las algas fueron producidas en el departamento de algas del laboratorio, manteniéndose stocks de las 3 especies utilizadas en el presente estudio. Para alimentación se usaron 3 tanques de fibra de vidrio cilíndrico-cónicos de 600 lts. , cada uno funcionó como alimentador para cada dieta durante el experimento.



#### 4.2. REPRODUCTORES

El stock de reproductores, 1.700 ostiones, fue capturado de Sabana Grande, en un ramal del estero Bajen. Todos los animales fueron tomados del mismo sector y seleccionados por tallas que variaron entre 45 y 71 mm. y peso promedio de 23,18 gr. .

#### 4.3. METODOLOGIA

Se tomaron algunos criterios para el presente estudio, como son: recambios diarios de agua 100 %, flujo continuo la primera semana (sin alimentación), limpieza y enjuague de animales y tanques, con agua dulce; cálculo del peso promedio semanal del 100 % de animales, muestreo semanal de 10 animales para determinación de desarrollo gonadal. No se utilizaron calentadores, para determinar el tiempo de acondicionamiento a rangos medios de temperatura. El agua utilizada era bombeada directamente pasando por filtros de arena, carbon , cartuchos de 10, 5 y 1 micra .

##### 4.3.1. Transporte, Recepción y Aclimatación de reproductores.

Los progenitores llegaron en Febrero 19/00, transportados en 5 hieleras a 20 °C. envueltos en mantas e esponja húmeda a razón de 340 ostiones/hielera.

Los animales fueron recibidos en AquaNova, donde se procedió a: limpieza, pesaje, medición y selección. El lavado, limpieza (desincrustación de organismos y

lodo) se hizo con agua dulce, cloro y cepillos. Fueron seleccionados 1.400 ostiones tomando en cuenta: peso, longitud, estado externo.

Una vez terminado este proceso fueron colocados en los tanques de acondicionamiento. Se dividieron en cien ostiones por tanque y colocados a la salinidad del estero donde fueron recolectados, 26 ppt.. Durante la semana de acondicionamiento se aumento la salinidad hasta 28 ppt. y se mantuvo así hasta finalizar el estudio.

#### 4.3.2. **Preacondicionamiento y Muestreo Gonadal.**

Colocados en los tanques de acondicionamiento se procedió al acondicionamiento en agua-clara (flujo continuo sin alimentación), por 3 razones: adaptación al nuevo medio, comenzar la fase de acondicionamiento con estadíos de maduración similares (Comunicación personal, Ruez P., IFREMER, 1.999) y purificación de los ostiones de parásitos, bacterias y organismos patógenos internos.

El muestreo de desarrollo gonadal fue hecho al azar al cabo de la semana de acondicionamiento. Se tomó una muestra general del lote para determinar el peso promedio de cada lote al inicio del acondicionamiento. El muestreo gonadal y de sobrevivencia se realizó semanalmente, con muestras de 10 animales al azar por tanque para el desarrollo gonadal , los mismos que fueron sacrificados de la poblacion total para peso.

#### 4.3.3. Dietas y Dosis de Alimentación.

Se usaron 4 diferentes dietas para el acondicionamiento de reproductores y un sistema de control sin alimentación. Se hicieron 3 réplicas de cada dieta y 2 de control.

Las dietas utilizadas fueron determinadas en base a protocolos de acondicionamiento ya establecidos para otras especies de moluscos, al no existir estudios específicos para *C. columbiensis*. La dieta No.1 es usada para acondicionamiento de *C. gigas* (Universidad del Norte, Chile. JICA 1.988) *Chaetoceros sp.* 60.000 c/ml; dieta No.2 combinación de 3 tipos diferentes de microalgas partiendo con la dosis de la dieta No.1 *Chaetoceros sp.* , *Isochrysis galbana* y *Tetraselmis sp.* a una concentración de 20.000 c/ml por cada especie; dieta No.3 de maizcena y su dosis se basó en el uso para el acondicionamiento de *C. virginica* (Programa del Sea Grant, Universidad de Virginia, 1.980) 2 ppm. ; y la dieta No.4 combinación de maizcena 2 ppm. y *Chaetoceros sp.* 60.000 c/ml. .

Dietas	Composicion	Concentraciones
<b>Dieta 1</b> (U.del Norte, Chile. JICA)	<i>Chaetoceros g.</i>	60.000 c/ml
<b>Dieta 2</b> (combinacion, 3 especies, total 60k c/ml)	<i>Chaetoceros gracilis</i> <i>Isochrysis galbana</i> <i>Tetraselmis suecica</i>	<i>Chaetoceros g.</i> 20k c/ml <i>Isochrysis g.</i> 20k c/ml <i>Tetraselmis s.</i> 20k c/ml
<b>Dieta 3</b> (U.de Virginia, Sea Grant)	Maizcena	Maizcena 2 ppm. c/8 hr
<b>Dieta 4</b> (combinacion algas y maicena)	<i>Chaetoceros gracilis</i> y <i>maizcena</i>	<i>Chaetoceros g.</i> 60k c/ml + maizcena 2 ppm.
<b>Control</b>	Agua de Mar	<i>Sin Alimentacion</i>

Tabla No. 5 Dietas Utilizadas durante la fase de acondicionamiento de *C.columbiensis*

#### 4.3.4. Sistema de Alimentación.

Para mantener concentraciones estables de microalgas y maizcena se alimentaron todos los tanques durante 3 veces al día en horarios unificados.

La dieta No.3 (maizcena) se suministró 3 veces al día (cada 8 horas) a la concentración de 2 ppm., preparada en el laboratorio y dada a los animales.

Los tanques de la dieta No.4 fue alimentado del tanque de cultivo algal correspondiente y se dieron 2 dosis diarias de maizcena (2 ppm.) para completar a dieta.

#### 4.3.5. **Inducción al Desove.**

Durante ensayos anteriores se usaron varias técnicas de inducción al desove, pero ninguna tuvo resultados favorables, a excepción de la laceración de gonadas y simulando fluctuaciones de mareas en los tanques de acondicionamiento se inducía al desove de los ostiones.

## **CAPITULO V**

### **5. RESULTADOS Y DISCUSION.**

#### **5.1. PARAMETROS**

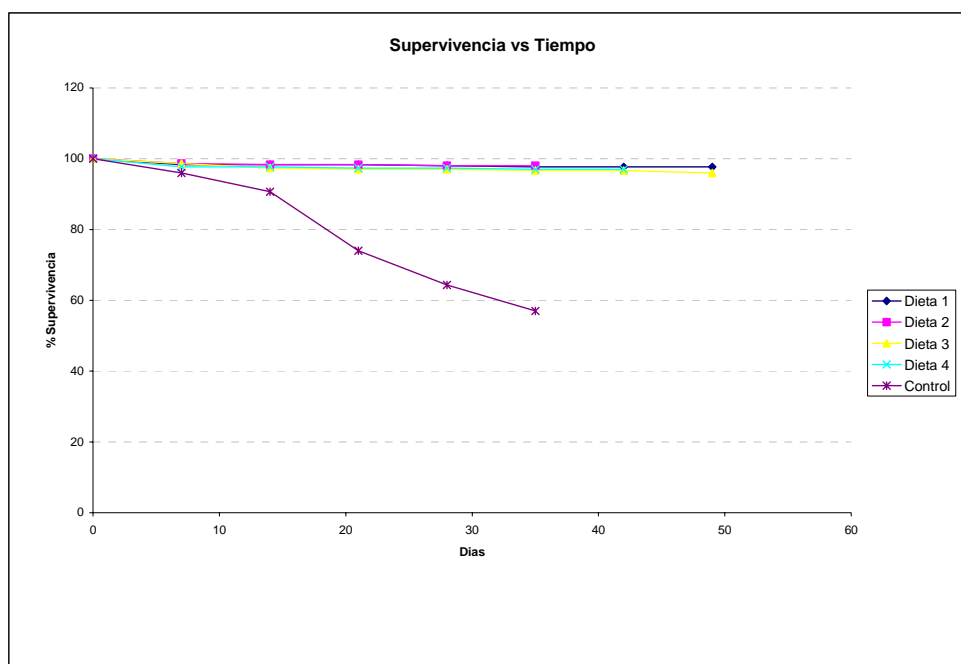
Se tomó en cuenta básicamente la temperatura. La misma que no varió significativamente durante el estudio . La salinidad permaneció constante luego del periodo de preacondicionamiento a 28 ppt..

La temperatura se mantuvo sin diferencias marcadas, y usando agua de mar directa sin calentadores, con un promedio de 25 °C y una desviación estándar de  $\pm 0.13$  no encontrándose diferencia significativa ( $p = 0.05$ ) en los tanques de acondicionamiento ni en los tanques de control .

No se encontraron diferencias significativas ( $p = 0.05$ ) en salinidad ni temperatura entre los tratamientos.

#### **5.2. SUPERVIVENCIA**

Para el análisis de supervivencia se tomo en cuenta el numero de animales muertos por causas naturales, descontando los que se sacrificaban para el muestreo.



**Grafico No.4 Supervivencia Comparativa de las diferentes dietas y Control**

No se encontraron diferencias significativas ( $p=0.05$ ) en supervivencia entre los tratamientos, con una supervivencia promedio de 97%, pero si con el control, el cual tuvo una supervivencia final del 57% , grafico No. 4

### 5.3. DESARROLLO GONADAL Y DESOVE

Se encontraron marcadas diferencias de desarrollo gonadal entre los distintos tratamientos, ver grafico No. 5. Alcanzando primero su desarrollo gonadal completo la dieta # 2, seguida por la 4 y finalmente por las dietas 1 y 3. La dieta de control no alcanzó a madurar durante el tiempo de este estudio, manteniéndose en estadio 1 durante la duración del mismo.

Se encontraron diferencias significativas en tiempo hasta el desove entre todas las dietas.

Mediante un test Student – Neuman – Keuls para diferencias de rangos, se determinó después del anova que existían diferencias entre las dietas 2 y 4 y de ellas con las dietas 3 y 1, pero no con entre las dietas 3 y 1. Todas las dietas fueron diferentes al control, ya que este no desovó durante toda la duración del estudio.

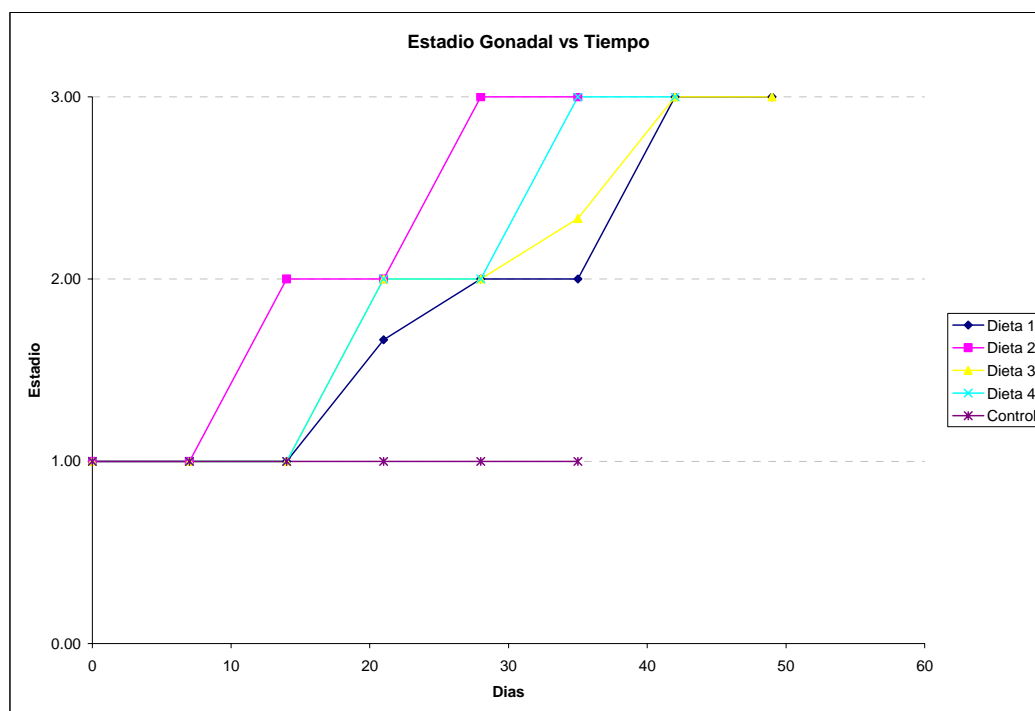


Grafico No.5 Grados de Desarrollo Gonadal en diferentes dietas.



#### 5.4. PESO PROMEDIO

No se encontraron diferencias significativas ( $p=0.05$ ) en peso promedio final entre las dietas de estudio, pero si con el control. Ver grafico No. 6

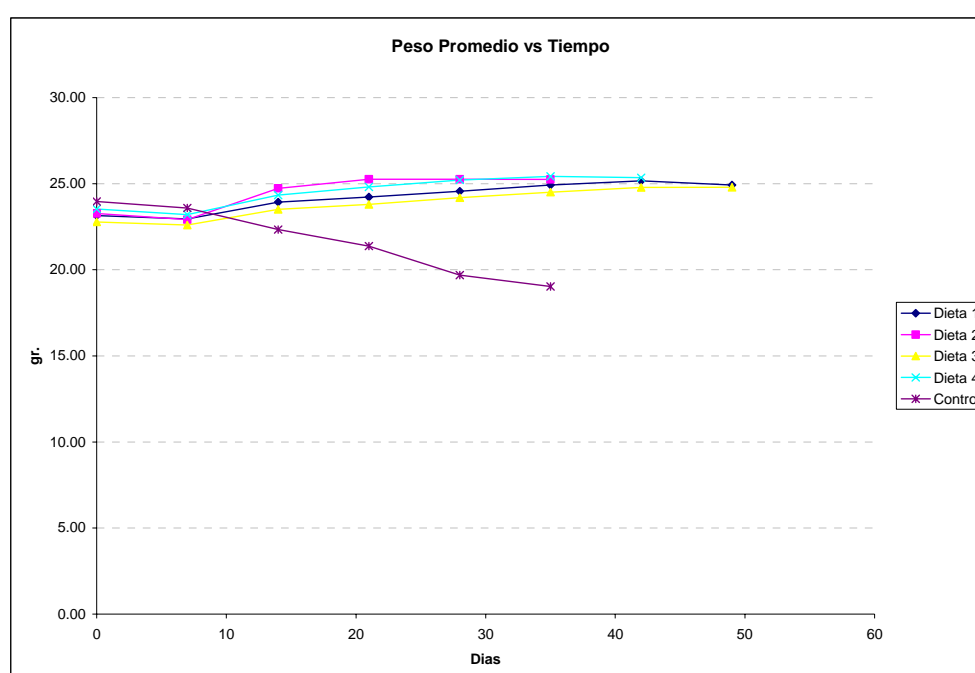


Grafico No.6 Variacion de Peso Promedio durante elAcondicionamiento de ostion de mangle.

## **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.**

- La utilización de dietas compuestas de microalgas resultó ser mejor la dieta, al parecer por su composición y equilibrio nutricional para el acondicionamiento de reproductores de ostión de mangle.
  
- Proporcionar al ostión de mangle condiciones semejante a las variaciones intermareales, y la laceración de gonadas parecen ser los medios para estimular a esta especie al desove en ambientes controlados.
  
- El periodo de acondicionamiento del ostión de mangle está relacionado directamente con el tipo de dieta y la composición nutritiva de esta. Cabe indicar que podrían existir diferencias en el tiempo de acondicionamiento del ostión de mangle mantenidos a mayores temperaturas.
  
- La alimentación de ostiones con miras a obtener un desarrollo gonadal es más eficiente manteniendo concentraciones de alimento constantes en los tanque de acondicionamiento.
  
- El uso de maizcena ayuda en la maduración de ostiones, pero su utilización debe ser como complemento ó acompañante de dietas naturales a base de microalgas, no como dieta principal. Además su uso debe ser muy controlado ya

que puede descomponer fácilmente el agua y traer problemas con hongos y bacterias.

- En ostiones adultos no tiene un efecto negativo algas con pared celular gruesa, ya que estos pueden digerirlas sin ningún problema, debido a la acción de enzimas digestivas.

- Parece existir una relación directa entre el tipo de dieta utilizada para el acondicionamiento de ostiones y la cantidad y calidad de óvulos y esperma desovado. Sería importante realizar un estudio complementario para determinar porcentajes de fertilización y eclosión para aeverar esta hipótesis.

- Las concentraciones de algas y dosis de maizcena utilizadas en el presente trabajo están basadas en dosis aplicadas para el acondicionamiento de especies diferentes de moluscos. Se podría mejorar la productividad del ostión de mangle en cuanto a su maduración y producción de gametos estableciendo dosis de acondicionamiento más precisas para esta especie y más aún si se acondicionarán ostiones con propósitos comerciales.

- Por resultados obtenidos en cultivo de larvas de camarón, y artemia es muy importante que las microalgas utilizadas para acondicionamiento de ostiones se encuentren en fase exponencial para aprovechar las características nutricionales de las algas en su máxima expresión.

- El ostión de mangle aún en condiciones artificiales, desova parcialmente, regenerando continuamente gametos aptos para la fertilización.

**BIBLIOGRAFIA CONSULTADA.**

Bayne, B. L., and C. Scullard. 1977. An apparent specific dynamic action in **Mytilus edulis**. pg. 371-378.

Breese, W. P., Malouf, R., 1975. Manual de cultivo para la ostra del Pacífico.

Calderón et al (1999). El monitoreo de la prevalencia y distribución geográfica del virus de la mancha blanca (WSSV) en Ecuador

Chu, F. L., and J. L. Dupuy. 1980. The fatty acid composition of three unicellular algal species used as a food source for larvae of the American oyster (**Crassostrea virginica**). Lipids. pg. 356-364.

Coll, A., 1982. Biología marina animal.

Creekman, L. L. 1977. The effects of conditioning the American oyster (**Crassostrea virginica**) with **Tetraselmis suecica** and cornstarch on the growth, vigor and survival of its larvae.

Epifanio, C.E., 1981. Phytoplankton and Yeast for Juvenile Bivalves: A review of research at the University of Delaware.

Epifanio, C. E., and C. A. Mootz. 1976. Growth of oysters in a recirculating maricultural system. pg. 32-37.

Epifanio, C. E., and J. Ewart. 1977. Maximun ration of four algal diets for oyster **Crassostrea virginica**. pg. 13-29.

Frias, J., 1981. Informe asesoría técnica en el cultivo de ostión de mangle, **Crassotrea columbiensis** Hanley 1846. Escuela Superior Politécnica del Litoral.

Handa, N., and K. Yanagi. 1969. Studies on water extractable carbohydrates of the particulate matter from the northwestern Pacific Ocean. pg.197-202.

Haven, D. S., and R. Morales-Almo. 1970. Filtration of particles from suspension by the American oyster **Crassostrea virginica**. pg. 248-264.

Hickman, P.C., 1960. Biology of the invertebrates.

Hughes, R. N. 1969. A study of feeding in **Scrobicularia plana**. pg. 296-303.

Hughes-Games, W.L., 1977. Growing the Japanese oyster (**Crassotrea gigas**) in subtropical seawater fish ponds. I. Growth rate, survival and quality index.

Khoads & Lutz, 1983. Skeletal growth of aquatic organisms.

Langdon, C. J., and J. Waldock. 1981. The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition **Crassostrea gigas** spat. pg. 431-448.

Loosanoff, V. L., and T. Murray, Jr. 1974. Maintaining adult bivalves for long periods on artificially growth phytoplankton. pg. 93-94.

Mann, R., and J. H. Ryther. 1977. Growth of six species of bivalve molluscs in a waste recycling - aquaculture system. pg. 231-245.

Mattox, N.T., 1949. Studies on the biology of the edible oyster, **Ostrea rizophorae** Guilding, in Puerto Rico.

Ortiz L. (2001) Análisis del sector camaronero ecuatoriano en el año 2000. Acuicultura del Ecuador No. 41. Febrero – Marzo 2001. 8 pp.

Owen, G. 1974. Feeding and digestion in the bivalvia. pg. 1-35.

Parsons, T. R., K. Stephens, and J. D. H. Strickland. 1961. On the chemical composition of eleven species of marine phytoplankters. pg. 1001-1016.

Phillips, A. M., and D. R. Brockway. 1956. The nutrition of trout II. Protein and Carbohydrate. pg. 150-164.

Quayle, D.B., 1976. Pacific oyster culture in B.C.

Souet, T., 1987. Experiencias en el cultivo del ostión de mangle, **Crassostrea columbiensis** Hanley 1846. Escuela Superior Politécnica del Litoral.

State University of Virginia, 1980. Manual de operacion para un laboratorio de produccion de semilla de ostión.

Ukeles, R. 1970. Nutritional requirements in shellfish culture. pg. 43-46.

Universidad del Norte, Jica, 1988. 1er. Curso Internacional para el Cultivo de Moluscos.

Vélez, A., 1974. Ciclo anual de reproducción del ostión **Crassostrea rizophorae** (Guilding) de Bahía de Mochima.

Waldock, M. J., and I. A. Nascimento. 1979. The triacylglycerol composition of **Crassostrea gigas** larvae fed on different diets. pg. 77-86.



Walne, P. R. 1974. Culture of Bivalve molluscs, 50 years' experience at Conway.  
pg. 173.

Webb, L.K., Chu, E., 1981. Phytoplankton as a food for bivalve larvae.

Wilbur & Young, 1985. Physiology of Mollusca.

Windsor, N. T. 1977. Effects of various algal diets and larval density in the  
larviculture of the American oyster Crassostrea virginica.