

Ciclo de vida temprano e Influencia de las dietas mono en desarrollo de larvas de *Nodipecten Subnodosus* (Sowerby, 1835).

Guamán. E², Dueñas. J², Marquez. A¹, Revilla. J¹, Lodeiros. C,^{1,3} & Sonnenholzner. S¹

1 Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas, Escuela Superior Politécnica del Litoral, CENAIM-ESPOL, Ecuador

2 Escuela Superior Politécnica del Litoral. Facultad de Ingeniería Marítima, Ciencias Biológicas, Oceánicas y Recursos Naturales FCMOR, Ecuador.

3 Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Apartado Postal 245, Cumaná 6101, Venezuela

RESUMEN

Los bivalvos, en la actualidad, son uno de los grupos de organismos marinos cultivables que ofrece mejores perspectivas en cuanto a producción de alimentos, dentro de los cuales destacan los géneros *Placopecten*, *Argopecten*, *Patinopecten*, *Chlamys*, *Pecten* y *Nodipecten* a las cuales se les ha desarrollado técnicas de producción. En Ecuador, donde la producción por acuicultura es casi exclusiva de camarón, los pectínidos, particularmente *Nodipecten subnodosus* y *Argopecten ventricosus* representan una buena alternativa para la diversificación de la acuicultura, la producción masiva de semillas de estas especies en Ecuador, solo es factible a través de la reproducción en laboratorio, por lo que se deben de optimizar las técnicas para ello. En este sentido, documentar el estado embrionario de *N. subnodosus* y compararlo con otros estudios en diferentes latitudes permite caracterizar más la biología de la especie, foco principal de esta investigación, lo cual unido a la optimización de técnicas de producción de semillas y cultivo en el exterior, que se está desarrollando y la elevada productividad del mar litoral ecuatoriano (Lodeiros et al. 2017) podría permitir técnicas de cultivo confiables para generar altos rendimientos a corto plazo en Ecuador. Por lo que se llevaron a cabo experimentos de laboratorio, con reproductores, cuyos productos sexuales alcanzaron una fertilización <90%. El ciclo embrionario inicio con ovocitos sin fecundar ($57 \pm 0,67 \mu\text{m}$), y posterior a la fecundación se siguieron los distintos estadios de desarrollo hasta alcanzar el estadio de trocófora ($67,9 \pm 2,2 \mu\text{m}$), a las 12-13 h PF y a las 30 horas larvas "D" ($93,4 \pm 3,6 \mu\text{m}$) determinado por la formación de prodisiconcha II. Las dietas se analizaron en 2 fases, desde el día 2 PF hasta el día 9 (comienzo del umbonamiento) y del día 9 hasta el 14, en la cual se probaron para la primera etapa las microalgas: *Nannochloropsis* sp. (Ns), *Isochrysis galbana* (Ig), *Pavlova lutheri* (Pav), *Thalassiosira pseudonana* (Th), contrastadas con un quinto tratamiento control (Cn= Ig+ *Chaetoceros gracilis*). La ración inicio con 20.000 cel/ ml⁻¹, aumentando la tasa de alimentación cada 48 h, hasta llegar al día 14 con 50.000 cel/ ml⁻¹. La supervivencia y el índice de rendimiento fue mayor para Ig (28% y 34% respectivamente), seguido de Cn (19% y el 22%) y Pav (15,3% y 18,5%), siendo Th el único tratamiento que presento mortalidad total al día 7. En la segunda etapa se probaron: *I. galbana* (Ig), *P. lutheri* (Pav.), *T. pseudonana* (Th), *C. gracilis* (Cg), *C. mulleri* (Cm) y *Tetraselmis suecica* (Ts) contrastadas con

un quinto tratamiento control (Cn= Ig+Cm), donde los tratamientos que mostraron mayor supervivencia y rendimiento fueron Pav (58,1 y 85%), Cn (55 y 80%) y Cm (36 y 48,9%) en primer orden, seguido de Ig (19,6 y 27,5%), Cg (26,7 y 35,8%) y Trs (19,8 y 27,9%). Th tuvo poco crecimiento y supervivencia (1,27%), encontrando diferencias significativas al final de cada etapa entre las diferentes dietas. Nuestros resultados indican que el *N. subnodosus* puede desarrollarse a 26 ° C y alimentarse con una dieta control mixta que contenga *I. galbana*/ *C. gracilis* o *I. galbana*/ *P. lutheri* en la primera fase, así como una mezcla de *P. lutheri* / *C. mulleri* o *P. lutheri* / *C. gracilis*, siendo las larvas alimentadas con *P. lutheri* las únicas que alcanzaron larvas competentes el día 14 y tomando en cuenta la elevada tasa de crecimiento reportada por *T. suecica* en especial al final del ciclo, se propone suministrar esta microalga para aumentar la condición fisiológica de las larvas, en especial teniendo en cuenta que las larvas competentes al final del desarrollo necesitan importantes reservas de energía, ya que estas se consumen considerablemente durante la metamorfosis, lo que resulta en muchos casos en mortandad elevada.

INTRODUCCION

Los bivalvos, en la actualidad, son uno de los grupos de organismos marinos cultivables que ofrece mejores perspectivas en cuanto a producción de alimentos, por lo que se han incrementado esfuerzos para cultivos por acuicultura frente al paulatino estancamiento de la actividad pesquera (FAO 2016). Los pectínidos cuentan con varias especies de los géneros *Placopecten*, *Argopecten*, *Patinopecten*, *Chlamys*, *Pecten* y *Nodipecten* a las cuales se les ha desarrollado técnicas de producción (Dore 1991). En Ecuador, donde la producción por acuicultura es casi exclusiva de camarón, los pectínidos, particularmente *Nodipecten subnodosus* y *Argopecten ventricosus* representan una buena alternativa para la diversificación de la acuicultura.

El género *Nodipecten* (Dall, 1898), agrupa nueve especies del Atlántico y cuatro del Pacífico americano, los registros más antiguos son de Florida, Venezuela, Patagonia y Baja California Sur, México (Smith 1991). *N. subnodosus* se encuentra distribuida en el centro y sur del Golfo de California, hasta Perú, incluyendo islas oceánicas como Galápagos y Revillagigedo (Holguin-Quiñones 1976, Baqueiro et al. 1982, Bernard 1993, Coen & Valentich, 2012). Es una especie de vieira perteneciente al filo Mollusca, clase Bivalvia subclase Pteriomorpha orden Pectinida, superfamilia Pectinoidea familia (Superfamilia) Pectinidae subfamilia Pectininae tribu Decatopectinini género *Nodipecten* y especie *Nodipecten subnodosus*. (Sowerby, 1835), es una de las especies de pectínidos más grandes, posee una concha grande, fuerte y convexa, coloración externa que va de ser anaranjado vivo a rojo y marrón, estos organismos pueden medir hasta 203 mm de longitud antero-posterior, y pesar hasta 2 kg. (Coen & Valentich, 2012), Habita en lagunas, bahías a más de 6 m de profundidad y vive

en medio con fuertes corriente de agua. Sus bancos naturales en general, tienen una densidad de 2 individuos / m² (Ponce-Díaz 2011).

El género *Nodipecten* es uno de los más estudiados (Morales-Hernández & Cáceres-Martínez, 1996; Barrios et al., 2003; Koch et al., 2005), adicionalmente que este bivalvo se considera de fácil adaptación en aguas ecuatoriales del Pacífico occidental, característica que lo convierte en una especie de interés para la explotación comercial, actualmente hay estudios realizados en México que respaldan la viabilidad sobre la tecnología de producción (Maeda-Martínez & Lodeiros-Seijo. 2011)

Experimentos preliminares demuestran que en la costa de Ecuador es posible mantener cultivos de este bivalvo, tanto en estanque como en sistema intensivo a mar abierto empleando técnicas de “long-line” o cultivos en suspensión, (Lombeida, 1999; Blacio & Alvarez, 2002), sin embargo en la actualidad no hay una producción sostenida por acuicultura de esta especie, debido a que no se tiene asegurado el abastecimiento de semillas y a la falta de una tecnología, que permitan desarrollar los cultivos a nivel comercial, para lo cual el desarrollo de dietas microalgales para *N subnodosus* en larvas permita aumentar la supervivencia y mejorar el estado de condición de las larvas (De la Roche et al., 2002; Velasco & Barros, 2008). Tomando en cuenta que las aguas ecuatorianas presentan condiciones ambientales favorables para el cultivo de juveniles (Lodeiros et al, 2017) como la temperatura del agua de mar, disponibilidad de alimento, salinidad, entre otros, que optimizar el desarrollo larvario y posterior cultivo de *N. Subnodosus* conllevaría aumentar la producción masiva de bivalvos en el país (Álvarez et al., 2008), representando una valiosa alternativa de diversificación acuícola, actualmente dominada por el camarón (*Penaeus vannamei*)

En este sentido, caracterizar el estado embrionario de *Nodipecten subnodosus* y compararlo con otros estudios en diferentes latitudes permite caracterizar más la biología de la especie, foco principal de esta investigación, así como el diseño de dietas adecuadas para la especie, basados en el crecimiento y supervivencia, así como en el rendimiento (relación entre el crecimiento y la supervivencia) de varias especies de micro algas catalogadas para su uso en el cultivo de bivalvos. (Coutteau & Sorgeloos, 1992, Marshall et al., 2010, Brown & Blackburn, 2013), lo cual unido a la optimización de técnicas de producción de semillas y cultivo en el exterior que se está desarrollando, junto con la elevada productividad del mar litoral ecuatoriano (Lodeiros et al. 2017) podría permitir técnicas de cultivo confiables para generar altos rendimientos a corto plazo en Ecuador.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se abordó la inducción al desove y el cultivo de larvas de *N. subnodosus* en condiciones de incubación usando metodologías de producción de pectínidos

propuestas por (Delaunay et al.,1993.,Ibarra et al.,1997., Martínez y Pérez 2003., Narvarte y Pascual 2003, De La Roche et al. 2002 y Mazon-Suscategui, et al 2004)

Adaptación de los Reproductores.

Los reproductores de *N. Subnodosus* se obtuvieron mediante buceo autónomo y extracción manual, del islote y la playas de Salango (Provincia de Manabí). Posterior a su captura, los ejemplares fueron llevados hasta el laboratorio de moluscos en San Pedro (CENAIM-ESPOL), transportados en contenedores isotérmicos con agua de mar de la zona de extracción. Una vez en el laboratorio se procedió con la limpieza superficial de epibiontes y fouling de las valvas, para luego ser dejados por 3 días (agua de mar en flujo continuo y abierto), antes de ser estabulados en los tanques de acondicionamiento. Los organismos (n= 30), fueron divididos de manera homogénea en 3 tanques de 300 L cada uno, con agua de mar pre-filtrada (>25 y <50µm) y una temperatura de 22±0,5 °C, con recambios 80%. día⁻¹, aireación moderada y un suministro de 175.000 cel. mL⁻¹ Con mezcla de 3 microalgas: *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*, *Chaetoceros gracilis*, en una proporción de 50:10:40, dos veces al día, durante 15 días (Loor et al. 2016 modificado).Finalizado el periodo de acondicionamiento, fueron colocados en un tanque de 500 litros, sin alimentación y flujo continuo de agua a 25±1 °C, salinidad de 34, microfiltrada (0,45 µm) e irradiada con luz ultravioleta (AMF) por 48 horas, con la finalidad de depurarlos previo a la inducción al desove.

La inducción se realizó siguiendo lo descrito por De La Roche et al. 2002 y Loor. et al 2016, separando los machos de las hembras en recipientes de 30L con agua AMF con las mismas características mencionadas previamente. Los ovocitos de todas las hembras desovadas se agruparon, contaron y mezclaron con los espermatozoides a una relación de 1:10 respectivamente para *N. subnodosus*.

Descripción del desarrollo embrionario.

Con el fin de estimar los tiempos (cronología) de las diferentes etapas embriogénicas, después de la fertilización y por triplicado, se mantuvieron los embriones en beakers de 2 L con agua de mar filtrada y autoclavada, a una densidad de 10 embriones.ml⁻¹, de los cuales se extrajo 1 ml (3 réplicas por beaker), cada 5, 10, 15, 30 y 60 min, en la primera hora post-fertilización (PF), para continuar con los muestreos a intervalos de 1 hora, durante las primeras 24 horas PF, con la intención de registrar la aparición de las trocóforas y larvas veliger o "D".

Se consideró el tiempo efectivo de cada estadio cuando se alcanzó a registrar más del 60 % de embriones o larvas con las características propias de cada fase del desarrollo temprano para el género *N. Subnodosus* según Parnell (2002), Soria et al. (2010) y Loor et al. (2016). Las muestras fueron colocadas en un portaobjetos excavado con 1 gota de lugol (solución al 5%), para preservar e inmovilizar las

larvas durante su caracterización y medición (n=20). Las observaciones fueron realizadas empleando un microscopio óptico (OlympusCX31a) 100X y 400X de magnificación con una cámara digital adaptada (Lanoptik MDX 501). El software iWork 2.0, fue empleado como gestor gráfico para el registro de fotográfico y la medición de la talla de las larvas.

Producción de microalgas y criterio de selección

Las distintas especies de microalgas empleadas para el acondicionamiento de los reproductores y los ensayos desarrollados posteriormente, fueron cultivadas en carboys (bidones plásticos transparentes) de 50 L y botellones plásticos de 4 L, respectivamente, usando medio F/2 (Guillard, 1975), con AMF a una temperatura de 20 °C, con luz fluorescente constante (3500-5000 lux) y aireación moderada. La concentración de las microalgas fue estimada por triplicado empleando una cámara Neubauer y un microscopio óptico de luz. Las especies de microalgas fueron seleccionadas y suministradas en función de su tamaño, siendo divididas en dos grupos: microalgas pequeñas (<6 µm) durante los primeros 9 días del cultivo y grandes (≥ 6 µm) para los días posteriores (Soria et al 2010).

Cultivo larval

Otro grupo de embriones fueron incubados en tanques de 1000 L con AMF, a una densidad de 10 emb.ml⁻¹ y una temperatura de 25±1 °C durante 24 horas PF. Luego de este tiempo las larvas veliger fueron drenadas y retenidas con un tamiz de 60 µm y sembradas en tanques cilindro-cónicos de 50 L de fibra de vidrio reforzado a una densidad de 2 larvas.mL⁻¹, con agua AMF, temperatura de 25±1 °C y 34±0,5 de salinidad. Los recambios fueron 100%.día⁻¹ y para su retención post-recambio se emplearon baterías de tamices dependiendo de la talla promedio de las larvas (rango de 60-150 µm).

La evaluación del rendimiento del cultivo fue establecida mediante el registro cada 2 días del crecimiento (largo o axis antero-posterior) y la supervivencia. Para ello las larvas fueron concentradas en beakers de 1 L con AMF y homogenizadas previo a la extracción de una muestra de 0,25mL, por triplicado para cada replica. Dichas muestras se fijaron con 0,2 mL de una solución de formaldehído al 4% neutralizado con agua de mar para luego ser cuantificadas y medidas (n= 30) empleando el mismo criterio de observación expuesto en la descripción del desarrollo embrionario.

Dietas monoalgales

Bajo las condiciones expuestas en el apartado anterior y por triplicado, se establecieron 8 tratamientos en los que fueron testeadas diferentes dietas monoalgales, comprendidas por las siguientes microalgas: *Nannochloropsis* sp. (Ns), *Isocrisis galbana* (Ig), *P. lutheri* (Pav), *Thalassiosira pseudonana* (Tala), *C. gracilis* (Cg), *Chaetoceros muelleri* (Cm) y *Tetraselmis Suecica* (Ts), a una ración

inicial de 1 mg.L⁻¹ de biomasa seca de cada especie, con incrementos cada 48h de 0,1 mg.L⁻¹ (ración final de 1,4 mg.L⁻¹ el día 9 PF). Estas dietas se contrastaron con un noveno tratamiento (control- Cn), donde se suministró a las larvas una alimentación mixta de las especies *I. galbana* y *C. gracilis* (igual a la ración expuesta para las monoalgales) a una relación de 3:1. Las 4 primeras especies mencionadas previamente y control, fueron suministradas durante los días 1 y 9 PF de las larvas (dos raciones por día). Posterior a esta etapa, y de un grupo de larvas cultivadas bajo condiciones similares (temperatura, salinidad, densidad y ración de alimento) al tratamiento Cn, se restablecieron, el día 10 PF, condiciones de 2 larvas.ml⁻¹ para proceder a la adición de las restantes microalgas, así como el tratamiento Cn, pero esta vez a una relación 1:1 (todas a una dosis fija de 1,5 mg.L⁻¹), hasta la obtención de larvas metamórficamente competentes.

Análisis estadísticos

Previa comprobación de la normalidad y homogeneidad de varianza para todas las variables de tratamiento se analizaron con la prueba de Kolmogorov-Smirnov y Levene. Las diferencias estadísticas ($p < 0,05$) en el crecimiento, la supervivencia y rendimiento entre los tratamientos se analizaron mediante un análisis de varianza simple (ANOVA I) siguiendo las recomendaciones de Zar 2010.

RESULTADOS

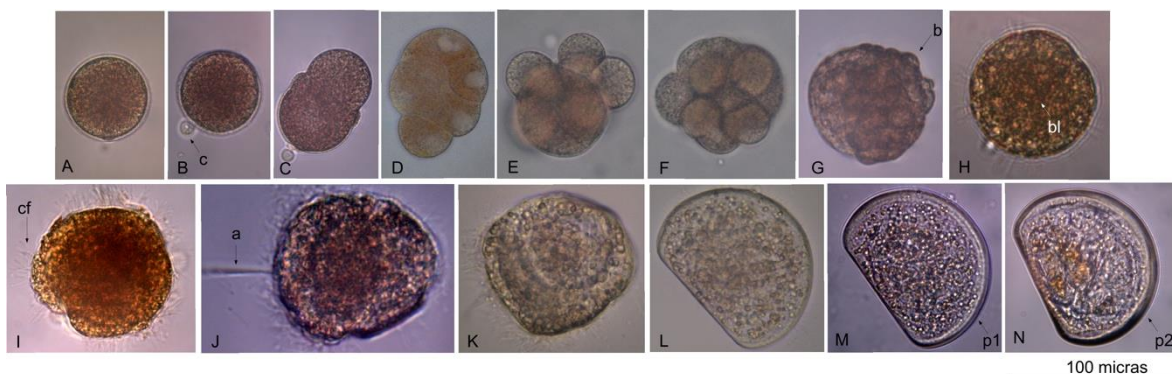
Caracterización del Ciclo embrionario del *Nodipecten subnodosus*

La tabla 1 y figura 1 muestra la secuencia de los estados embriogénicos de *Nodipecten Subnodosus*, los tiempos de aparición de los primeros estadios y el momento en el que más del 60% de los embriones alcanzan las distintas etapas del desarrollo, terminando en el estado de larvas trocófora y veliger tardías. 3 horas después del inicio del estímulo de inducción se obtuvieron los primeros desoves, los huevos no fertilizados de *N. subnodosus* eran de color marrón (figura 1a), inicialmente periformes los cuales al cabo de 20 min posts-expulsión fueron hidratándose, hasta ser completamente esféricos ($57 \pm 0,67 \mu\text{m}$), momento en el cual se mezcló con esperma hasta alcanzar una relación de 1 ovocito por cada 10 espermatozoides. Posterior a esto se registró la aparición del corpúsculo polar (figura 1b) entre 15-20 min, obteniendo más del 90% de fertilización. La primera escisión celular tuvo lugar dentro de 25-40 minutos después de la fecundación (Figura 1c), las segunda, tercera y sucesivas divisiones (figura 1c,d,e,f) continuaron durante las siguientes 4:20 h alcanzando la etapa de mórula ($48 \pm 1,1 \mu\text{m}$) con blastómeros de $5,22 \pm 1,4 \mu\text{m}$ (figura 1g), la blástula ($48,8 \pm 0,9 \mu\text{m}$) se registró 5:30 h PF (figura 1h), con la aparición de blastocelos con $23,1 \pm 0,9 \mu\text{m}$. Se observó la formación de la gástrula a las 8 h ($66,3 \pm 1,6 \mu\text{m}$) con cilios funcionales de longitud $8,4 \pm 0,4 \mu\text{m}$ que le permiten nadar (figura 1i). La aparición de la primera larva trocófora temprana ($67,1 \pm 1,4 \mu\text{m}$) con un pelo apical que midió $29,2 \pm 3,4 \mu\text{m}$ se registró a las 13 h y su etapa más avanzada identificada

como trocófora tardía ($67,9 \pm 2,2 \mu\text{m}$) a las 16:30 h, esta etapa se identifica con el comienzo de la formación de la charnela recta. A las 20 h se registraron las primeras larvas veliger de charnela recta o “D” sin calcificar (longitud dorsal-ventral $80,3 \pm 5,5 \mu\text{m}$), posteriormente se observó la formación de la prodisoconcha-I a las 24 horas PF cuando las larvas tenían una longitud dorsal ventral de $88,4 \pm 1,5 \mu\text{m}$ momento en el cual se identificaron como larvas calcificadas, y 6 horas posteriores (30 h PF) se identificó la prodisoconcha-II, iniciando el crecimiento larvario de la concha, y observándose la presencia de microalgas en la cavidad estomacal, como indicio del fin la embriogénesis y fase de desarrollo lecitotrófico, dando paso al desarrollo larvario plantotrófico.

Tabla 1. Etapas de desarrollo embrionario y larvario inicial en *N. subnodosus*

TIEMPO POST-FERTILIZACIÓN (H:MIN)	FASE	TALLA (mm)	FOTOS	CARACTERÍSTICAS
0	Ovocito	$57 \pm 0,67$	A	
15 - 20 min.	Primer cuerpo polar	$57 \pm 0,67$	B	Aparición del cuerpo polar c
25 - 40 min.	2 células		C	Primera escisión
1:25 - 2:00 h	4 células		D	
2:25 - 2:40 h	8 células		E	
3:10 - 3:40 h	16 células		F	
3:40 - 4:20	Mórula	$48 \pm 1,1$	G	Blastomeros $5,22 \pm 1,4$ b
4:40 - 5:30	Blástula	$48,8 \pm 0,9$	H	Blastocelos $23,1 \pm 0,9$ bl
6:35 - 8:00	Gástrula	$66,3 \pm 1,6$	I	Cilios funcionales $8,4 \pm 0,4$ cf
12:00 - 13:00	Trocófora	$67,1 \pm 1,4$	J	Pelo apical $29,2 \pm 3,4$ a
14:00 - 16:30	Trocófora tardía	$67,9 \pm 2,2$	K	
19:00 - 20:00	Larva D temprana	$80,3 \pm 5,5$	L	Larva D sin calcificar



100 micras

Figura 1. Etapas de desarrollo embrionario y larvario inicial en *Nodipecten Subnodosus*. **A)** Ovocitos **B)** Formación del primer cuerpo polar **C)** Primera escisión **D)** Segunda escisión **E)** Tercera escisión **F)** Cuarta escisión **G)** Mórula **H)** Blástula **K)** Gástrula **L)** Trocófora temprana **M)** Trocófora tardía **N)** Larva "D" temprana **O)** larva "D" tardía (prodisoconcha I) **P)** larva D (prodisoconcha II) plantotróficas.

Dietas mono algales

En la primera fase (día 2-9 PF) las especies de microalgas testeadas de forma individual fueron seleccionadas en base a su talla (menores a 6 μm). La figura 4 muestra los valores en porcentaje de la supervivencia acumulada (A) y final (B) de larvas de la mano de león *Nodipecten subnodosus* alimentadas bajo diferentes dietas. Los análisis estadísticos mostraron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre las diferentes dietas. Inicialmente todos los tratamientos mostraron un leve descenso hasta el día 5, momento en el cual comienza a observarse diferencias entre ellos. Los organismos alimentados con la especie de microalga *Thalassiosira pseudonana* (Tha) sufrieron una mortalidad severa, lo cual causó una supervivencia de 0 al día 7, cabe destacar que se podía observar que no era ingerida por los organismos, ya que los estómagos se observaban vacíos (figura 2d). Para el resto de las dietas el descenso fue menos marcado estando por encima de 25% de supervivencia al día 7. Al final de la primera fase la supervivencia del tratamiento control fue la que presentó la mejor supervivencia 26,6%, obteniendo diferencias con el resto de los tratamientos al igual que *T. pseudonana*, pero no así entre los tratamientos de *Nannochloropsis sp.*, *I. galbana* y *P. lutheri*, los cuales obtuvieron supervivencias similares (13,1, 17, 1 y 15,3% respectivamente).

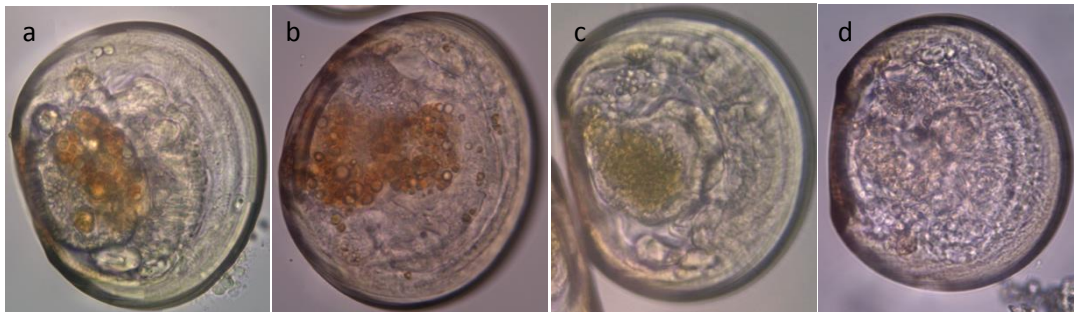


Figura 2. Larvas "D" alimentadas con distintas microalgas: **a** Control, **b** *I. galbana*, **c** *Nannochloropsis sp* y **d** *T. pseudonana*

Para la segunda fase (día 9 al 14 PF), al igual que la primera fase, las especies de microalgas testeadas de forma individual fueron seleccionadas en base a su talla (menores y mayores a 6 μm). La figura 4 muestra los valores de la supervivencia acumulada (C) y final (D) observándose diferencias importantes desde el inicio, tendencia que se mantuvo hasta el día 14, obteniendo que; los organismos alimentados con las dietas de *T. pseudonana*, *I. galbana*, *T. suecica* *C. gracilis*,

presentaron al final la menor supervivencia (1, 19, 19,1 y 26%) y control, *P. lutheri*, *C. muelleri* supervivencias elevadas (58, 55 y 36%). Al final de la segunda fase se han encontrado diferencias significativas ($P>0,05$) entre dietas donde los tratamientos control y *P. lutheri* son diferentes de todos los demás, así como el grupo formado por *I. galbana*, *T. suecica*, *C. gracilis* y *C. muelleri*.

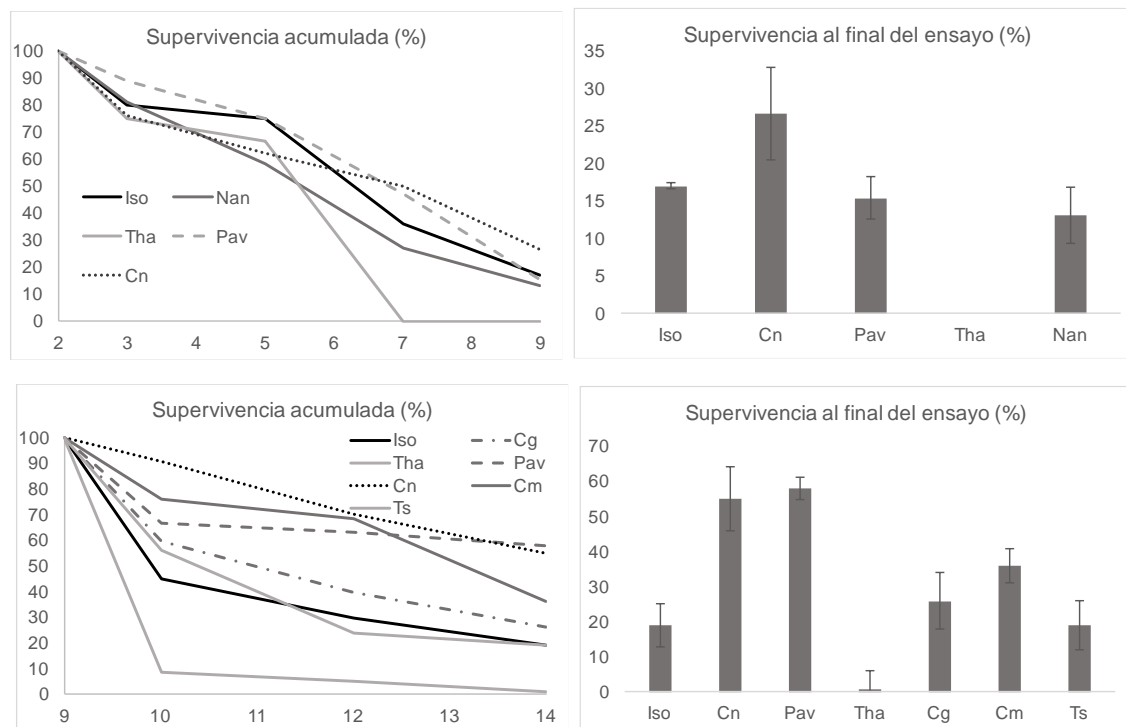


Figura 4. Supervivencia acumulada cada 48 h en larvas de *Nodipeecten Subnodosus* alimentados con diferentes tipos de microalgas. **A)** Supervivencia al final del ensayo **B)**

Durante la primera fase del desarrollo larvario, las larvas mostraron un crecimiento paulatino desde el inicio ($107.7 \pm 0.6 \mu\text{m}$), hasta el día 3 cuando comienza a observarse diferencias entre las distintas dietas, los primeros tratamientos en sobrepasar los $110 \mu\text{m}$ fueron *I. galbana* y *P. lutheri* el día 3 mientras que para los otros tratamientos alcanzaron esta talla el día 5. Al final de la primera etapa los tratamientos que presentaron mejor crecimiento fueron *I. galbana*, control y *P. lutheri* ($130,2$, $123,1$ y $120,9 \mu\text{m}$), con incrementos promedios de $5,20$, $4,2$ y $3,6 \mu\text{m} \cdot \text{día}^{-1}$ respectivamente, los menores crecimientos se obtuvieron con las dietas *Nannochloropsis. sp* ($115,7 \mu\text{m}$) y *T. pseudonana* que presentó mortalidad total el día 7, el incremento promedio para estas últimas fue de $2,7$ y $2,6 \mu\text{m} \cdot \text{día}^{-1}$. Al final de la primera etapa se encontraron diferencias significativas ($P>0,05$), agrupando a las dietas *I. galbana*, control y *P. lutheri* como las mejores, las cuales son diferentes de las otras dietas suministradas.

Para la segunda etapa de desarrollo la dieta *T. suecica* comenzó con una tasa de crecimiento menor al resto, estando por debajo de $130 \mu\text{m}$ para el día 10, luego el día 12 aumenta y mantiene una tasa de crecimiento superior al resto alcanzando

al final de esta etapa 147,6 μm , presentando la tasa de incremento más alta de todas las dietas 8,5 $\mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$. El resto de los tratamientos muestran un incremento similar hasta el día 10 (mayor a 130 μm), momento en el cual comienzan a observarse diferencias entre las dietas, con lo cual se determina que las dietas con mayor crecimiento fueron *P. lutheri* (148,4 μm), *T. suecica* (147,1 μm), control (146 μm) e *I. galbana* (145,5 μm) con tasas de incremento promedio de 8,5, 8,2, 7,8 y 7,5 $\mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$ respectivamente. Los cuales muestran diferencias significativas ($P>0,05$) al final de la segunda etapa entre las dietas.

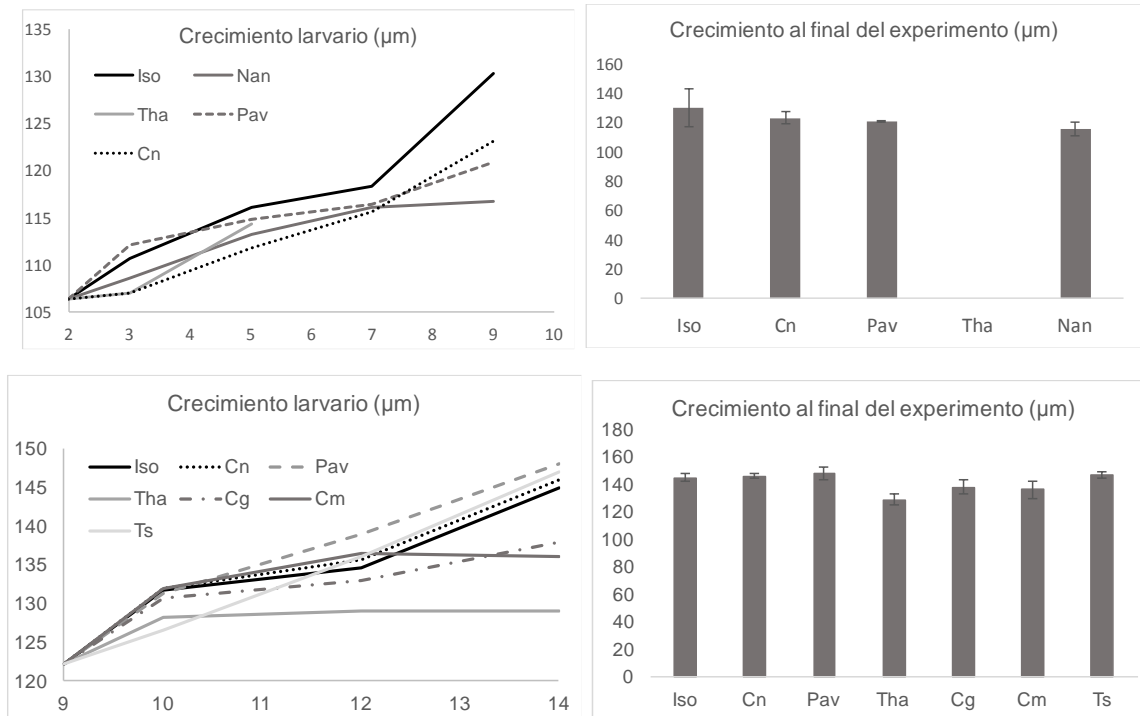


Figura 5. Crecimiento acumulado cada 48 h en larvas de *Nodipeecten Subnodosus* alimentados con diferentes tipos de microalgas. Primera etapa **A** Supervivencia acumulada, **B** Supervivencia al final del ensayo. Segunda etapa **C** Supervivencia acumulada y **D** supervivencia al final del ensayo

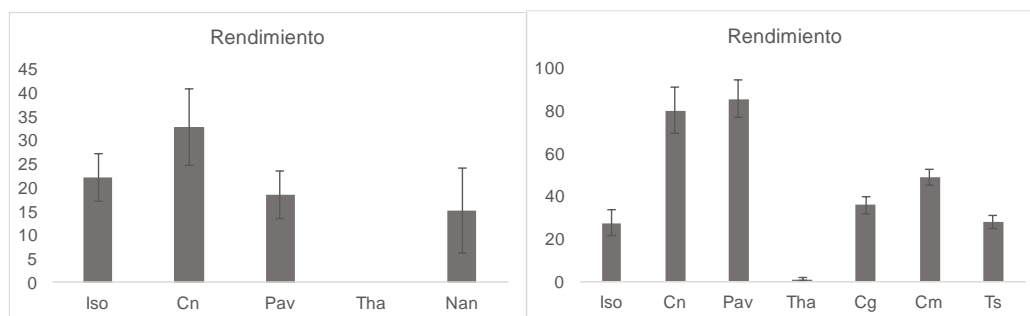


Figura 6.- Índice de rendimiento (integración del crecimiento y la supervivencia) **A** primera etapa, **B** segunda etapa

En cuanto al rendimiento, la dieta control para el primer periodo mostró el mejor resultado, obteniendo un promedio integrado de la talla máxima y supervivencia del 34 %, seguida de *I. galbana* con 21%. *P. lutheri* se mantiene en término medio con un rendimiento del 18% y *Nanocloropsis sp* que represento el menor rendimiento 15%. Se encontraron diferencias significativas ($P>0,05$) entre las dietas del primer período. Para el segundo periodo los mejores tratamientos resultaron ser *P. lutheri* y control (85,8 y 80,3%), seguido de *C. mulleri* (48,9%). Las dietas *C. gracilis*, *T. suecica* e *I. galbana* (35,8, 27,9 y 27,5%) mostraron rendimientos menores junto con *T. pseudonana* 1,9%. Encontrándose diferencias significativas entre dietas ($P>0,05$).

DISCUSIÓN

Ciclo embrionario del *N. subnodosus*

Existe poca información sobre el desarrollo temprano de *Nodipecten subnodosus*, así que ciertas características físicas del desarrollo temprano (tamaño de blastómeros, cilios funcionales, pelo apical entre otros) obtenidas en este estudio no se encuentran reportadas para la especie, aunque si están parcialmente en concordancia con los reportados para la pectinoides ya descritos como *Argopecten núcleo* y *Nodipecten nodosus* (Velazco et al 2007) para *N. nodosus* (Rupp & Poli , 1994), y para otras vieiras como *Argopecten irradians* (Sastri, 1965), *Argopecten pleuronectes* (Belda & Del Norte, 1988), *Argopecten purpuratus* (Bellolio et al., 1993) y *Argopecten ventricosus* (Monsalvo-Spencer, 1998). Teniendo en cuenta lo anterior se establecen las comparaciones para *N. subnodosus* en los estadios de trocófora y larvas veliger o “D” tardías (12, y 30 h y tallas de $67,9 \pm 2,2$, y $93,4 \pm 3,6$ μm respectivamente), encontrando diferencias con algunos estudios realizados a temperaturas similares a las de este estudio (26.5 ± 0.5 ° C) para la misma especie Rupp, et al 1994 y Serrano et al., 1997 registran tiempos y tallas similares para formación de larvas trocófora 10-12 h con tallas de 70 a 75 μm y para la etapa de larvas “D” tardías los tiempos son inferiores de 20 a 24 h pero con tallas similares de 80 a 100 μm . Otros autores como Velazco et al (2007), observa larvas trocófora más tarde para a *Nodipecten nodosus* (19 h) y similares en tiempo para *Argopecten nucleos* (12 h), aunque de mayor talla para ambas especies $90 \pm 0,5$ μm respectivamente. Para *Argopecten circularis* los tiempos de desarrollo y tallas para larvas trocófora son iguales (12 h y 70 μm) mientras que para larvas “D” los tiempos son mayores 36 h al igual que para *Argoepcten purputarus* (Cruz, & Ibarra, 1997; Bellonio et, al 1993), este último autor reporta para larvas veliger de *A. irradians* menos tiempo (24 h) y *A. purpuratus* después de 48 h. Monsalvo-Spencer (1998) registró la aparición de trocófora en *A. ventricosus* en menor tiempo (6 h) que en nuestro estudio (Tabla 1). Fonseca y Narchi (2003) encontraron que *N. nodosus* tuvo tiempos similares en la formación de larva trocófora (10-12 h) en comparación con los tiempos observados en el presente estudio. Y se observan más diferencias aun en los

estadios avanzados de la embriogénesis con otras especies de pectinoideas como *Spondylus limbatus* y *Spondylus calcifer*, registrando 17 h para trocófora (Soria et al., 2010) y 30 h para Larva "D" (Llorca et al., 2016). La variabilidad entre la misma especie y la observada entre diferentes pectinoideas responde independientemente según la temperatura del agua, la densidad de incubación, intensidad de luz, la procedencia de los reproductores (acondicionamiento o medio natural) (Le Pennec et al., 2003, Brown et al., 1997; Da Costa et al., 2008; Farías et al., 2008; Rico-Villa et al., 2006; Uriarte et al., 2001) e inclusive el valor nutricional de las microalgas, suministrados a los reproductores puede incidir directamente en el tamaño y tiempo de desarrollo de los diferentes estadios del ciclo embrionario, ya que la mayor parte de las reservas almacenadas en los huevos durante la gametogénesis se consumen durante la embriogénesis (Gallager & Mann 1990, Whyte et al 1990),

Dietas

Se observó que las tasas de supervivencia y crecimiento de larvas de vieira *Nodipecten subnodosus* varían notablemente con la dieta de microalgas proporcionada, observándose claramente que la mejor dieta monoalgal para ambas etapas de crecimiento es *P. Lutheri* y control (mezcla de 2 especies de microalgas *I. galbana* y *C. gracilis*) en el segundo lugar, basado en tasas aceptables de supervivencia y crecimiento, separado en las 2 fases de estudio (día 2-9 y 9-14) *I. galbana* y *Nannochloropsis sp* para la primera etapa y *C. mulleri*, *C. gracilis* y *T. suecica* para la segunda etapa. Es importante destacar que *T. pseudonana* presentó mortalidad total en la primera fase y 1,29% de supervivencia en la segunda fase, así como el menor crecimiento de todos los tratamientos. Por lo cual se considera a *T. pseudonana* como una dieta deficiente para las larvas de *N. subnodosus*, aunque se sabe que son buenas para larvas de ostras y almejas (Laing & Millican 1986, Thomson et al 1996). En la etapa inicial el tratamiento control es una de las dietas con mayor proyección para el cultivo de *Nodipecten subnodosus* en ambiente controlado, este tratamiento generó buen crecimiento, supervivencia y rendimiento seguido de los tratamientos de *P. lutheri* con rendimientos importantes, por lo que se podría afirmar que la microalga de *I. galbana* puede estar en combinación con *C. gracilis* o *P. lutheri*, para conformar una dieta inicial mixta. Resultados similares han sido reportados en estudios de otros autores (Da Costa., et al 2011, Aranda-Burgos et al., 2014). Sin embargo, el crecimiento larval de diferentes bivalvos mantenidos en la misma dieta microalgal puede variar considerablemente, por ejemplo; *I. galbana* ha resultado ser una dieta favorable para las larvas de *Euvola ziczac* (Freites et al 2015), otras vieiras (Velasco & Barros 2008), con buena supervivencia y crecimiento de las larvas de algunas almejas (Fernández-Reiriz et al., 2011), mejillones (Sánchez-Lazo & Martínez-Pita 2014), pero ha sido reportada como una dieta ineficiente para larvas de *Crassostrea rhizophorae* y *Crassostrea gigas* (Helm & Laing 1987). A diferencia del crecimiento mostrado por el tratamiento control (mezcla de *I. galbana* y *C.*

gracilis) el crecimiento larval para estas especies de forma independiente fue bajo, especialmente en la segunda fase (día 9- 14 PF), lo que sugiere deficiencia de nutrientes complementarios y específicos entre las especies de algas, como lo reportado por los autores (Milke et al., 2008; Rico-Villa et al., (2006); Robert et al., 2001) los cuales registran un bajo valor nutricional con dietas mono-específicas para otras especies de bivalvos, sin embargo; este no es siempre el caso. Otros estudios demostraron un mejor crecimiento y supervivencia con dietas monoalgales como *Chaetoceros calcitrans* en *N. subnodosus* (Cerón-Ortiz et al., 2009; Lora-Vilchis et al., 2004) y larvas de *Crassostrea corteziensis* (Rivero-Rodríguez et al. 2007)

En el presente estudio las tasas de crecimiento larvario oscilaron entre 8,5 y 0,37 $\mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$, dependiendo de las dietas proporcionadas, las mejores fueron en primer orden *P. lutheri* (3,5 y 8,5 $\mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$), control (4,1 y 7,8 $\mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$), *I. galbana* (5,8 y 7,5 $\mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$) estos resultados expresados para la primera etapa de crecimiento y la segunda respectivamente, se observa que las tasas de crecimiento obtenidas se consideran como moderadas y altas, y para las microalgas el resto de las dietas de la primera etapa *Nannochloropsis sp* (2,6 $\mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$) consideradas bajas. Para la segunda etapa *C. mulleri* (5,2 $\mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$), *C. gracilis* (5,2 $\mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$), *T. suecica* (8,2 $\mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$), consideradas como moderadas y altas tomando como referencias las tasas de crecimiento reportadas para *Pecten maximus* entre 3,1 y 5,5 $\mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$ consideradas moderadas por Cochard & Gérard (1987) y 4.8 $\mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$ por Magnesen et al.,(2006), *A. purpuratus* (3.5- 7.3 $\mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$) consideradas como bajas y altas por Cantilláñez et al., (2007), *Patinopecten yessoensis* (4,3 $\mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$, Thompson et al., 1985), *A. balloti* (6,3 $\mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$, Rose et al., 1988) consideradas como moderadas, y *Placopecten magellanicus* (2,5-4,0 $\mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$, Dadswell et al., 1987) identificadas como de bajas a moderadas.

Otro factor importante en la nutrición larval de bivalvos es el tamaño de las células algales que se pueden ingerir está relacionado con el tamaño de las larvas (Lora-Vilchis y Maeda-Martínez, 1997). Las velocidades de asimilación para larvas veliger de bivalvos son típicamente más altas con tamaños de partícula entre 4,7 y 6,3 μm (Sommer et al., 2000), aunque son capaces de ingerir células fuera de este intervalo (hasta 16 μm para larvas <150lm y hasta 30 μm para > 200 lm larvas) (Baldwin y Newell 1995). Esto significa que a medida que las larvas crecen, deben ser suministradas larvas de tamaño apropiado en relación con la etapa de desarrollo para asegurar una ingesta adecuada (Marshall et al., 2010). Se han descrito varios ejemplos de la capacidad de las larvas de ingerir células de tamaño creciente congruentemente con su crecimiento, larva de *C. gigas*, por ejemplo; crece en baja proporción con dieta monoespecífica de *T. suecica* (1,2-1,7 $\mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$) hasta alcanzar 140 μm , tras lo cual el crecimiento mejora (6,4-8,0 $\mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$, Robert et al., 2001). Esto apoya los resultados de nuestro ensayo que *T. suecica* no debe usarse hasta que las larvas alcancen >120 μm de longitud de concha. Resultados similares se observaron con *C. septentrionalis* alimentando a larvas de *P.*

magellanicus, donde las tasas de crecimiento se duplicaron una vez que las larvas superaron los 120 μm (Gouda et al., 2006). *A. ventricosus-circularis* pueden ingerir células de *Nannochloropsis oculata* (1,5-2,0 μm) en el primer día de convertirse en una larva "D", pero requieren de un día adicional de crecimiento para alimentarse con *I. galbana*, *P. lutheri*, *P. tricornutum* (3-4 μm) o *T. pseudonana* (4-5 μm) (Lora-Vilchis & Maeda-Martínez 1997). Las larvas de *P. maximus* y *C. virginica* pueden ingerir *P. lutheri* (3-4 μm), en los primeros días después de la embriogénesis (Le Pennec & Rangel-Davalos 1985). Para que las larvas de *A. ventricosus-circularis* pueden ingerir diatomeas espinosas como *C. calcitrans* (4-5 μm) y *C. muelleri* (5-6 μm), cuando alcanzan tallas de concha aproximadas de 95 μm , mientras que no pudo ingerir *D. tertiolecta* (5-6 μm), *T. suecica* (8-9 μm) o *T. pseudonana* (4-5 μm) durante los primeros 7 días de vida (Lora-Vilchis & Maeda -Martínez 1997). Basado en los resultados de estos autores relacionamos la imposibilidad de las larvas de *N. subnodosus* para asimilar y digerir las microalgas *T. pseudonana* evidenciado en los estómagos vacíos de las larvas (figura 2d) y las mortalidades presentadas durante el primer periodo, así como la baja supervivencia durante el segundo. También las diferencias en el primer periodo entre la dieta de *I. galbana* y control, podría deberse a la imposibilidad de las larvas de ingerir *C. gracilis* los primeros días y debido a esto las larvas se consiguen con una densidad menor de alimento, la cual pudo haber sido insuficiente para mostrar el mismo crecimiento y supervivencia al principio. En cuanto a las microalgas grandes en la segunda etapa se puede observar que *T. suecica* mostro la mayor tasa de en especial al final del ciclo, lo que concuerda con las larvas más grandes (>135 μm) se podría proponer suministrar esta microalga para aumentar la condición fisiológica de las larvas en especial teniendo en cuenta que las larvas competentes al final del desarrollo larvario necesitan importantes reservas de energía, ya que estas se consumen considerablemente, lo que resulta en muchos casos en mortandad elevada (Labarta et al., 1999; Videla et al., 1998). Cabe destacar que el aporte nutricional de las microalgas no solo se relaciona con su tamaño y digestibilidad sino también con las concentraciones de larvas, microalgas (Brown et al., 1997), así como con su composición bioquímica (Marshall et al., 2010).

Varios estudios indican que la idoneidad de las microalgas como alimento puede depender también en gran medida de su composición de ácidos grasos, más que la cantidad total de ácidos grasos poliinsaturados. Particularmente, los ácidos EPA (20: 5x3) y DHA (22: 6x3) son esenciales para un crecimiento favorable (Caers, et al 1999, Labarta et al., 1999, Pirini et al 2007, Aranda-Burgos et al., 2014). Las mayores tasas de supervivencia y crecimiento de larvas de *N. subnodosus* alimentadas con *P. lutheri* se pueden atribuir al porcentaje relativamente alto de lípidos en particular EPA y DHA (Delauney et al 1993), mientras que las larvas alimentadas con el control mostraron las segundas tasas de supervivencia y crecimiento (conjuntamente *I. galbana*), tal vez debido a su elevado porcentaje relativo de EPA, DHA, y mayor Σ PUFA x3, sin embargo, las necesidades relativas de EPA y DHA dependen de las especies de moluscos, por lo que la supervivencia

y el crecimiento de las larvas de bivalvos no se pueden atribuir uniformemente a ácidos grasos particulares (Helm & Laing 1987). Por lo cual la proporción relativa de diferentes ácidos grasos puede ser más importante para determinar su valor nutricional que la presencia o ausencia de ácidos particulares (Freites et al. 2015), resaltando la importancia de generar mezclas que mejoren la calidad nutricional de la dieta, en especial con especies de microalgas ricas en ácidos grasos esenciales, ejemplo de esto se puede observar en cuanto al crecimiento y supervivencia individual de *I. galbana* y *C. gracilis*, los cuales por separado no muestran un buen rendimiento, pero sumados como tratamiento control se puede observar que representan el segundo mejor rendimiento en cultivo para las 2 fases de crecimiento, en especial teniendo en cuenta que se ha reportado que la combinación de especies de *Isocrisis* y de *Chaetoceros* tiene éxito en el desarrollo larvario de diferentes moluscos bivalvos (De la Roche et al., 2002, González-Araya et al., 2012, Marshall et al., 2010).

La supervivencia de larvas de *N. subnodosus* varía considerablemente en relación a los días de desarrollo (del día 2 al 9 y del 9 al 14) con respecto a las dietas suministradas siendo las dietas *P. lutheri* y control para ambos periodos consideradas como buenas, dejando en evidencia el potencial para la cría de larvas de *N. subnodosus*, como lo reportado por Delaunay et al. 1993 para larvas de *Pecten maximus* y larvas de ostras de roca de Sydney *Sacchesrea commercialis* (Nell & O'Connor 1991), aunque no siempre favorable para todas las especies de pectinoides ya que los resultados obtenidos por Pernet et al. 2003 para *Placopecten magellanicus* demostraron que las larvas alimentadas con *P. lutheri* tuvieron una pobre supervivencia, apostando a mejorar el rendimiento larval, en estudios posteriores reemplazo a *P. lutheri* por *Pavlova* sp. nativa (cepa CCMP 459) (Pernet et al., 2005) logrando mejorar el rendimiento en cultivo. A pesar del uso predominante de unas pocas especies seleccionadas de algas para la producción de criaderos, hay evidencia de que las especies silvestres de algas nativas de la región de los bivalvos cultivados pueden producir un mejor crecimiento y supervivencia que los estándares de laboratorio. Gouda et al. 2006, por lo cual desarrollar dietas para *N. subnodosus* de especies nativas podría ser una alternativa para mejorar su rendimiento en cultivo.

Nuestros resultados indican que el *N. subnodosus* puede alimentarse con una dieta control mixta que contenga *I. galbana* y *C. gracilis* o *I. galbana* y *P. lutheri* en la primera fase, así como una mezcla de *P. lutheri* y *C. mulleri* o *I. galbana* y *C. gracilis* y tomando en cuenta la elevada tasa de crecimiento reportada por *T. suecica* en especial al final del ciclo, se podría proponer suministrar esta microalga para aumentar la condición fisiológica de las larvas en especial teniendo en cuenta que las larvas competentes al final del desarrollo larvario necesitan importantes reservas de energía, ya que estas se consumen considerablemente, lo que resulta en muchos casos en mortandad elevada (Labarta et al., 1999; Videla et al., 1998).

CONCLUSIONES

Las fases del desarrollo embrionario y larvario temprano de *Nodipecten subnodosus* presentan diferencias en diferentes estudios realizados, posiblemente por la influencia de factores externos como la temperatura, densidad de incubación, fotoperíodo y origen de los reproductores (acondicionamiento en laboratorio o medio natural).

Nuestros resultados indican que *Nodipecten subnodosus* puede alimentarse con una dieta monoalgal inicialmente de *Pavlova lutheri*, *Isocrisi galbana* o mixta que contenga *I. galbana* /*Chaetoceros gracilis* o *I. galbana* /*P. lutheri* en la primera fase, así como una mezcla de *P. lutheri* /*C. mulleri* o *P. lutheri* /*C. gracilis*, siendo las larvas alimentadas con *P. lutheri* las únicas que alcanzaron larvas competentes el día 14 PF y tomando en cuenta la elevada tasa de crecimiento reportada por *Tetraselmis suecica*, ésta podría utilizarse para complementar la dieta al final del ciclo de vida.

REFERENCIAS

- Aranda-Burgos, J., Da Costa, F., Novoa, S., Ojea, J & Martínez-Patiño, D. 2014. Effects of microalgal diet on growth, survival, biochemical and fatty acid composition of *Ruditapes decussatus* larvae. *Aquaculture* 420– 421: 38–48p.
- Blacio, E & Alvarez, R. 2001. Tecnología para el cultivo de scallops *Argopecten circularis*, (Sowerby, 1835) en Ecuador. VI Congreso ecuatoriano de acuicultura. CENAIM. Vol. 8: 56-58p.
- Baldwin, B & Newell, R. 1995. Relative importance of different size food particles in the natural diet of oyster larvae (*Crassostrea virginica*). *Marine Ecology Progress Series* 120: 135–145p.
- Barrios-Ruiz, D., Chávez-Villalva, J & Cáceres-Martínez, C. 2003. Growth of *Nodipecten subnodosus* (Bivalvia: Pectínidae) in La Paz Bay, México. In: *Aquaculture Research*. 34:633-639p,
- Baqueiro, C., Massó, J & Guajardo, H. 1982. Distribución y abundancia de moluscos de importancia comercial en Baja California Sur. Instituto Nacional de Pesca, CRIP La Paz, B.C.S. México, 32 p.
- Belda, C.A., Del Norte, A.G.C., 1988. Notes on the induced spawning and larval rearing of the Asian moon scallop, *Amusium pleuronectes* (Linné), in the laboratory. *Aquaculture* 72, 173–179.
- Bellolio, G., Lohrmann, K., Dupré, E., 1993. Larval morphology of the scallop *Argopecten purpuratus* as revealed by scanning electron microscopy. *Veliger* 36, 332–342.
- Bernard, F. 1983. Catalogue of the living Bivalvia of the eastern Pacific Ocean: Bering Strait to Cape Horn. *Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci.* 61 (102 pp.).

Brown, M.R., Blackburn, I., 2013. Live microalgae as feeds in aquaculture hatcheries. In: Allan, G., Burnell, G. (Eds.), *Advances in Aquaculture Hatchery Technology*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition (Chapter 4. 117–156 pp.).

Brown, M.R., Jeffrey, S.W., Volkman, J.K., Dunstan, G.A., 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151, 315–331.

Caers, M., Coutteau, P., Cure, K., Morales, V., Gajardo, G. & Sorgeloos, P. 1999. The Chilean scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819): II, Manipulation of the fatty acid composition and lipid content of the eggs via lipid supplementation of the broodstock diet. *Comp. Biochem. Physiol. B-Biochem. Mol. Biol.* 123:97-103.

Cantillán, M., Thouzeau, G., Avendaño, M., 2007. Improving *Argopecten purpuratus* culture in northern Chile: results from the study of larval and post-larval stages in relation to environmental forcing. *Aquaculture* 272, 423–443.

Cerón-Ortiz, A.N., Cordero, B., Arredondo-Vega, B.O., Voltolina, D., 2009. Effect of algal diet and temperature on survival, growth and biochemical composition of spat of lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus*. *Aquaculture* 298, 64–69.

Cochard, J.C., Gérard, A., 1987. Production artificielle de naissain de coquille Saint-Jacques *Pecten maximus* (L.) en rade de Brest: analyse des facteurs affectant la croissance larvaire. Sixth International Pectinid Workshop, Menai Bridge, Wales, UK. 9–14 April 1987 (12 pp.).

Coan EV, Valentich-Scott P. 2012. Conchas marinas bivalvas de América occidental tropical. *Moluscos bivalvos marinos de Baja California al norte del Perú*. Santa Bárbara, CA: Museo de Historia Natural de Santa Bárbara.

Coutteau, P. & P. Sorgeloos. 1992. The requirement for live algae and their replacement by artificial diets in the hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs: an international survey. *J. Shellfish Res.* 11:467-476.

Da Costa, F., Nóvoa, S., Ojea, J., Martínez-Patiño, D., 2011. Changes in biochemical and fatty acid composition of the razor clam *Solen marginatus* (Solenidae: Bivalvia) during larval development. *Mar. Biol.* 158, 1829–1840.

Da Costa, F., Darriba, S & Martínez-Patiño, D. 2008. Embryonic and larval development of *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) (Bivalvia: Pharidae), *Journal of Molluscan Studies*, Volume 74:103–109

Dadswell, M.J., Chandler, R.A., Parson, G.J., 1987. Spat settlement and early growth of the giant scallop, *Placopecten magellanicus* in Pallamaquoddy Bay and the Bay of Fundy, Canada. Sixth International Pectinid Workshop, Menai Bridge, Wales, UK, 9–14 April 1987 (11 pp.).

De la Roche, J.P.B. Marín, L. Freitas & A. Vélez. 2002. Embryonic development and larval and postlarval growth of the tropical scallop *Nodipecten* (= *Lyropecten*) *nodosus* (L. 1758) (Mollusca: Pectinidae). *Aquac. Res.* 33:819-827.

Delaunay, F., Marty, Y., Moal, J & Samain, J.-F. 1993. The effect of monospecific algal diets on growth and fatty acid composition of *Pecten maximus* (L.) larvae. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 173, 163–179.

Dore I. 1991. Shellfish. A guide to oysters, mussels, scallops, clams, and similar products for the commercial user. Ed. Van nostrand Reinhold. N.Y. USA. 272 pp.

FAO 2016. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016. Roma. 190 págs. (disponible en www.fao.org/3/a-i3720s.pdf)

Farías, A. 2008. Nutrición y alimentación en moluscos bivalvos. En A. Lovatelli, A. Farías e I. Uriarte (eds). Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. 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. 297–308.

Fernández-Reiriz, M., Pérez-Camacho, A., Peteiro, L & Labarta, U. 2011. Growth and kinetics of lipids and fatty acids of the clam *Venerupis pullastra* during larval development and postlarvae Aquacult. Nutr., 17: 13-23

Freites, L., Lodeiros, C., Guevara, M., Jordan, N., Maeda-Martínez, A. N. & Himmelman, J. H. 2016. Fatty acids profiles as selecting criteria of microalgal diets used for hatchery-rearing of the tropical scallop *Euvola ziczac*. Aquac Res, 47: 2670–2676.

Fonseca, M., Narchi, W., 2003. Preliminary studies on the development and larval morphology of *Nodipecten nodosus* using scanning electron microscopy. Realizing The Potential: Responsible Aquaculture for a Secure Future. 19–23 May, 2003, Salvador, Brazil. World Aquaculture Book of Abstracts, vol. 2, p. 281.

Gallager S, Mann R, Sasaki GC (1986) Lipid as an index of growth and viability in three species of bivalve larvae. Aquaculture 56: 81–103.

Gonzalez-Araya, R., Mingant, C., Petton, B & Robert, R., 2012. Influence of diet assemblage on *Ostrea edulis* broodstock conditioning and subsequent larval development. Aquaculture 364-365, 272-280.

Gouda, R., Kenchington, E., Hatcher, B., Vercaemer, B., 2006. Effects of locally-isolated micro-phytoplankton diets on growth and survival of sea scallop (*Placopecten magellanicus*) larvae. Aquaculture 259, 169–180.

Guillard, R.R.L., 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrate animals. In: Smith, W.L., Chanley, M.H. (Eds.), Culture of Marine Invertebrate Animals. Plenum Publishing Corp, New York, pp. 29–60.

Helm M.M. & Laing I .1987. Preliminary observations on the nutritional value of “*Tahiti Isochrysis*” to bivalve larvae. Aquaculture 62, 281–288.

Holguin-Quinones, O .1976. Catálogo de especies marinas de importancia comercial en Baja California Sur. Ponce-Díaz G., Masso-Rojas A., Felix-Pico E., Morales-Zarate M., Garcia N., Lodeiros C. 2011. *Nodipecten* spp. Como recurso pesquero. En: Maeda-Martínez A., Lodeiros-Seijo C. (eds.). Biología y cultivo de los moluscos pectínidos del género *Nodipecten*. Editorial Limusa, México. Gorra. 2. pp 11-26.

Ibarra, A. M., Ramirez, J. L., & Garcia, G. A. 1997. Stocking density effects on larval growth and survival of two catarina scallop, *Argopecten ventricosus* (circularis)(Sowerby II, 1842), populations. *Aquaculture research*, 28(6)

Keen, A. 1971. Sea shells of tropical west America: marine mollusks from Baja California to Peru. Stanford, CA: Stanford University Press.

Koch, V., Mazón-Suástegui, J., Sinsel, F., Robles-Mungaray, M & Duna, D., 2005. Lion's paw scallop (*Nodipecten subnodosus*, Sowerby 1835) aquaculture in Bahía Magdalena, Mexico: effects of population density and season on juvenile growth and mortality. *Aquac. Res.* 36, 505–512.

Labarta U., Fernández-Reiriz M.J., Pérez-Camacho A., 1999. Energy, biochemical substrates and growth in the larval development, metamorphosis and postlarvae of *Ostrea edulis*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 238 (2): 225–242.

Laing, I., Millican, P. 1986. Relative growth and growth efficiency of *Ostrea edulis* spat fed various algal diets. *Aquaculture* 54, 245–262.

Le Pennec, M., Paugam, A., Le Pennec, G., 2003. The pelagic life of the pectinid *Pecten maximus* — a review. *ICES J. Mar. Sci.* 60, 211–223.

Le Pennec M, Rangel-Davalos C. 1985. Observations en microscopie a epifluorescence de l'ingestion et de la digestion d'algues unicellulaires chez des jeunes larves de *Pecten maximus* (Pectinidae, Bivalvia). *Aquaculture* 47: 39–51.

Lombeida, P. (1999). Efecto en el crecimiento de juveniles de scallop. *Argopecten circularis*, 10.

Lodeiros C., Rodríguez-Pesantes D., Márquez A., Revilla J., Freitas L., Lodeiros-Chacón C., Sonnenholzner S. 2017. Growth and survival of the winged pearl oyster *Pteria sterna* (Gould, 1851) in suspended culture in the tropical Eastern Pacific: influence of environmental factors. *Aquaculture Research*, 1-7 (DOI: 10.1111/are.13514)

Loor A., Ortega D., Lodeiros C. & Sonnenholzner S. 2016. Early life cycle and effects of microalgal diets on larval development of the spiny rock-scallop, *Spondylus limbatus* (Sowerby II, 1847). *Aquaculture*, 450:328–334.

Lora-Vilchis, M.C., M. Robles-Mungaray, N. Doktor & D. Voltolina. 2004. Food value of four microalgae for juveniles of the Lion's Paw Scallop *Lyropecten subnodosus* (Sowerby, 1833). *J. World Aquacult. Soc.* 35:297–303.

Lora-Vilchis M, Maeda-Martinez AN .1997. Ingestion and digestion index of catarina scallop *Argopecten ventricosus-circularis*, Sowerby II, 1842, veliger larvae with ten microal- gae species. *Aquaculture Research* 28: 905–910.

Magnesen, T., Bergh, Ø & Christophersen, G. 2006. Yields of great scallop, *Pecten maximus*, larvae in a commercial flow-through system in Norway. *Aquacult. Int.* 14 (4): 377–394.

Maeda-Martínez A., C. 2011. Lodeiros Biología y cultivo de los moluscos pectínidos del género *Nodipecten*. Editorial Limusa, México. 400 p.

Marshall, R., McKinley, S., Pearce, C.M., 2010. Effects of nutrition on larval growth and survival in bivalves. *Rev. Aquac.* 2, 33–55.

Mazón-Suástegui et al., 2011. Advances on the seed production on *Nodipecten Spp.* (Hatchery).

Mazón-Suástegui, JM y M. Osuna-García. 2004. Cultivo piloto y repoblamiento de moluscos Nativos en la Laguna Guerrero Negro, BC, con Énfasis en la almeja mano de león *Nodipecten (Lyropecten) subnodosus* (Sowerby, 1835). Segundo informe técnico SAGARPACONAPESCA de la empresa Acuagron, S. de RL de CV La Paz, BCS México. 12 p.

Mazón-Suástegui, JM, M. Osuna-García y M. Robles-Mungaray. 2002. Proyecto tipo de Investigación y Desarrollo tecnológico, párr ONU cultivo piloto y repoblamiento de almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* (Sowerby, 1835), en Bahía Magdalena y Bahía de Loreto, BCS, Presentado por la Empresa caballo de mar de plata, SA de CV una SAGARPACONAPESCA Para la obtención de un permiso de acuacultura de fomento. La Paz, BCS México. 45 p.

Milke, L.M., Bricelj, V.M., Parrish, C.C., 2008. Biochemical characterization and nutritional value of three *Pavlova spp.* in unialgal and mixed diets with *Chaetoceros muelleri* for postlarval sea scallops, *Placopecten magellanicus*. *Aquaculture* 276, 130–142.

Monsalvo-Spencer, P. 1998. Estudio sobre el cultivo de larvas y juveniles de almeja catarina *Argopecten ventricosus (=circularis)* (Sowerby II, 1842) en el laboratorio. MSc thesis, CICIMAR, La Paz, B.C.S., México, 90pp.

Morales-Hernández, R & Cáceres-Martínez, C. 1996. Pesquería de almeja mano de león L. subnodosus. En: M. Casas & G. Ponce (Editores). Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur. Vol. I. SEMARNAP. FAO. INP. UABCS. CIBNOR. CICIMAR. UECYTM. La Paz, B.C.S., México. Pp. 87-100.

Narvarte, M.A & Pascual, M.S., 2003. Fertilization, larval rearing and post-larval growth of the Tehuelche scallop *Aequipecten tehuelchus* D'Orb., 1846. *Aquaculture* 217,259–274.

Nell, J & O'Connor, W. 1991. The evaluation of fresh algae and stored algal concentrates as a food source for Sydney rock oyster, *Saccostrea commercialis* (Iredale and Roughley), larva. *Aquaculture* 99, 277–284.

Parnell, P.E., 2002. Larval development, precompetent period, and a natural spawning event of the pectinacean bivalve *Spondylus tenebrosus* (Reeve, 1856).

Pernet, F., Bricelj, V & Parrish, C. 2005. Effect of varying dietary levels of ω 6 polyunsaturated fatty acids during the early ontogeny of the sea scallop, *Placopecten magellanicus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, (327): 115–133.

Pernet, F., Tremblay, R. & Bourget, E., 2003. Biochemical indicator of sea scallop (*Placopecten magellanicus*) quality based on lipid class composition. Part I: Broodstock conditioning and young larval performance. *J. Shellfish Res.* 22(2):365-375.

Peña J.B. 2001. Taxonomía, morfología, distribución y hábitat de los pectínidos Iberoamericanos. pp. 1-25. En: A.N. Maeda Martínez (ed.). *Los Moluscos Pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura*. Editorial Limusa, México

Pirini, M., Manuzzi, M., Pagliarani, A., Trombetti, F., Borgatti, A & Ventrella, V. 2007. Changes in fatty acid composition of *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) fed on microalgal and wheat germ diets. *Comp Biochem Physiol Part B* 147:616–626

Ponce-Díaz G., Masso-Rojas A., Felix-Pico E., Morales-Zarate M., Garcia N., Lodeiros C. 2011. *Nodipecten* spp. Como recurso pesquero. En: Maeda-Martínez A., Lodeiros-Seijo C. (eds.). *Biología y cultivo de los moluscos pectínidos del género Nodipecten*. Editorial Limusa, México. Gorra. 2. pp 11-26.

Rico-Villa, B., Le Coz, J.R., Mingant, C., Robert, R., 2006. Influence of phytoplankton diet mixtures on microalgae consumption, larval development and settlement of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture* 256, 377–388.

Rivero-Rodríguez, S., Beaumont, A.R., Lora-Vilchis, M.C., 2007. The effect of microalgal diets on growth, biochemical composition, and fatty acid profile of *Crassostrea corteziensis* (Hertlein) juveniles. *Aquaculture* 263, 199–210.

Robert, R., Parisi, G., Rodolfi, L., Poli, B.M., Tredici, M., 2001. Use of fresh and preserved *Tetraselmis suecica* for feeding *Crassostrea gigas* larvae. *Aquaculture* 192, 333–346.

Rose, S.A., Campbell, G.R., Sanders, S.G., 1988. Larval development of the saucer scallop *Amusium balloti* (Bernardi) (Mollusca: Pectinidae). *Aust. J. Mar. Freshwat. Res.* 39 (2), 153–160.

Rupp, G. 1994. Obtenção de reprodutores, indução a desova, cultivo larval e pós larval de *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758) (Mollusca: Bivalvia). *Disertação de Mestrado, Departamento de Aquicultura, Universidade Federal Santa Catarina, Florianópolis (SC)*. 132 p.

Rupp, G., Poli, C., 1994. Spat production of the sea scallop, *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758), in the hatchery: initial studies in Brasil. In: Bourne, N.F., Bunting, B.L., Townsend, L.D. (Eds.), 9th Internacional Pectinid Workshop 2, 22–27 April, Nanaimo, Canada, pp. 91–96.

Sánchez-Lazo, C & Martínez-Pita, C. 2014. Effects of different mono, bi and trispecific microalgal diets on survival, growth, development, settlement and fatty acid composition of mussel *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) larvae, In *Aquaculture*, 426: 138-147

Sastry, A.N., 1965. The development and external morphology of pelagic larval and post-larval stages of the bay scallop, *Aequipecten irradians concentricus* Say, reared in the laboratory. *Bull. Mar.e Sci.* 15, 417–435.

Serrano S. J., Robles M., Velasco G., Hoyos F.J. 1997. Larval culture of mexican pectinid *Argopecten ventricosus* (=circularis) (Sowerby,1842) and *Lyropecten subnodosus* (Sowerby,1835) in a commercial hatchery. In: Book of Abstracts. 11th International Pectinid. pp. 25-26. Workshop. La Paz BCS, México.

Smith, J.T. 1991. Cenozoic giant pectinids from California and the Tertiary Caribbean Province: *Lyropecten*, “*Macrochlamis*”, *Veripecten* and *Nodipecten* species. U.S. Geological Survey Professional Paper 1391. U.S. Government Printing Office, Washington. 155 p.

Sommer, F., Stibor, H., Sommer, U & Velimirov, B. 2000. Grazing by mesozooplankton from Kiel Bight, Baltic Sea, on different sized algae and natural seston size fractions. *Marine Ecology Progress Series* 199: 43–53.

Soria, G., Tordecillas-Guillen, J., Cudney-Bueno & R., Shaw, W. 2010. Spawning induction, fecundity estimation, and larval culture of *Spondylus calcifer* (Carpenter, 1857) (Bivalvia: Spondylidae).

Thompson, D., Bourne, N., Manson, C., 1985. Scallop breeding studies. Internal Rep. Pacific Research Station, Nanaimo, B.C. (16 pp.)

Thompson, P., Guo, M & Harrison, P. 1996. Nutritional value of diets that vary in fatty acid composition for larval Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture*, 143, 379–391.

Uriarte, I., Rupp, G., Abarca, A., 2001. Producción de juveniles de pectínidos iberoamericanos bajo condiciones controladas. In: Maeda-Martínez, A.N. (Ed.), *Los Moluscos Pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura.*, Chap. 8. Editorial Limusa, México, pp. 147–171.

Velasco, A., Barros, J & Acosta. E. 2007. Spawning induction and early development of the Caribbean scallops *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus*. *Aquaculture* 266 (2007) 153–165

Velasco, L.A. y Barros, J.M. 2008. Experimental larval culture of the Caribbean scallops *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus*. *Aquaculture Research*,

(39): 603–618.

Videla, J.A., Chaparro, O.R., Thompson, R.J., 1998. Role of biochemical energy reserves in the metamorphosis and early juvenile development of the oyster *Ostrea chilensis*. *Mar. Biol.* 132, 635–640.

Villegas-Carrasco M. 2004. Evaluation de los Cultivos larvarios de almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* (Sowerby, 1835), realizados en El Laboratorio de larvicultura de Especies Marinas del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, de 1998 a 2003. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz, BCS, México. 106 p.

Whyte JNC, Bourne N, Ginther NG (1990) Biochemical and energy changes during embryogenesis in the rock scallop *Crassadoma gigantea*. *Marine Biology* 106: 239–244.

Zar J. 2010. Análisis bioestadístico. 5ª edición. 944 p.