

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN ACUICULTURA**



**“ACONDICIONAMIENTO GONÁDICO E INDUCCIÓN AL
DESOVE POR “SHOCK” TÉRMICO DE LA OSTR
PERLÍFERA *Pteria sterna* (GOULD, 1851) EN
CONDICIONES DE LABORATORIO”**

Presentada por:

LUIS MANUEL TREVIÑO ZAMBRANO

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGISTER SCIENTIAE EN ACUICULTURA**

Lima - Perú

2018

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN ACUICULTURA**

**“ACONDICIONAMIENTO GONÁDICO E INDUCCIÓN AL
DESOVE POR “SHOCK” TÉRMICO DE LA OSTRÁ
PERLÍFERA *Pteria sterna* (Gould, 1851) EN CONDICIONES
DE LABORATORIO”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGISTER SCIENTIAE**

Presentada por:

LUIS MANUEL TREVIÑO ZAMBRANO

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

**Dra. Patricia Gil Kodaka
PRESIDENTE**

**Mg.Sc. Beatriz Ángeles Escobar
PATROCINADORA**

**Dr. Roberto Retamales González
CO-PATROCINADOR**

**M.Eng. María Cristina Miglio Toledo
MIEMBRO**

**Mg.Sc. Jessie Vargas Cárdenas
MIEMBRO**

I. DEDICATORIA

Dedico este proyecto de tesis a Dios y a mis padres. A Dios porque ha estado conmigo a cada paso que doy cuidándome y dándome fortaleza para continuar, a mis padres quienes a lo largo de mi vida han velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo en todo momento, depositando su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar ni un solo momento de mi inteligencia y capacidad, es por ello que soy lo que soy ahora los amo con mi vida. También para mis hermanos y familia en general, también dedico este proyecto a mis hijos y a mi esposa, compañera inseparable de cada jornada, ella represento gran esfuerzo y tesón en momentos de decline y cansancio. A todos mis amigos, compañeros y profesores, que a pesar de que estén a larga distancia me han demostrado todo su apoyo.

II. AGRADECIMIENTOS

Al finalizar mis estudios de postgrado quiero dejar constancia de mi eterno agradecimiento a las siguientes instituciones y personas.

A PRONABEC organismo peruano de becas al facilitarme y brindarme el apoyo becario de intercambio cultural. A la Universidad Nacional Agraria La Molina, Escuela de Postgrado y Maestría en Acuicultura a todas sus autoridades por haberme brindado la oportunidad de recibirme en sus aulas para alcanzar una profesión superior digna y respetable.

Mi agradecimiento especial.

Al Programa de Ayudas Económicas SENESCYT por su apoyo económico para poder cumplir con el desarrollo de mi investigación de tesis.

Mg. Sc. Beatriz Elena Angeles Escobar. Directora de mi Tesis, por sus orientaciones en la elaboración de esta tesis.

Dr. Roberto Retamales González. Co-Asesor. Por la paciencia y tiempo de dedicación en las correcciones del presente trabajo.

Dr. Jorge Tam Málaga

Biol. María Laura García, Mg.Sc. Vicedecana de la Escuela de Ingeniería en Acuicultura y Pesquerías. Por su apoyo incondicional durante el presente trabajo.

Mg.Sc. Marjorie Idrovo

Dra. Eulalia Ibarra Mayorga. Por su apoyo incondicional durante el presente trabajo.

Lcdo. Ac. Patricio Panta Vélez, Mg. Sc.

Lcdo. Ac. Alan Emilio García Bermúdez, Mg. Sc.

A la Universidad Técnica de Manabí, carrera de Ingeniería en Acuicultura y Pesquerías, mi Alma Mater por acogerme una vez más en el desarrollo de mi investigación.

A los Señores miembros del tribunal de Tesis por su espíritu de colaboración.

Finalmente, a cada uno de mis amigos y compañeros por los excelentes momentos.

A la Universidad Nacional Agraria la Molina, particularmente al Departamento de Acuicultura e industrias pesqueras, por haberme aceptado en el programa de posgrado. Asimismo, por brindarme el apoyo necesario durante mis estudios

.

III. INDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

INDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

RESUMEN

ABSTRACT

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1.	Distribución.....	4
2.2.	Descripción taxonómica.....	4
2.3.	Características de la especie.....	5
2.4.	Ciclo de vida de <i>Pteria sterna</i>	6
2.5.	Factores exógenos que condicionan la madurez sexual.....	8
2.5.1.	Alimentación	10
2.5.2.	Requerimientos nutricionales	11
2.6.	Influencia de la temperatura en la maduración sexual.....	14
2.7.	Condición de indicadores de calidad gonádica de los reproductores	16
2.8.	Métodos de inducción al desove	16
2.9.	Desarrollo gonadal	17
III.	METODOLOGÍA.....	20
3.1.	Lugar y periodo experimental.....	20
3.2.	Etapas experimentales.....	20
3.2.1.	Etapla pre-experimental.....	20
3.2.2.	Etapla experimental	27
3.2.3.	Evaluación de la madurez gonadal de las ostras perlíferas <i>Pteria sterna</i>	30

3.3.	Evaluación de los parámetros morfo-fisiológicos.....	31
3.3.1.	Parámetros morfo-fisiológicos	31
3.4.	Análisis de la calidad gonadal.....	33
3.4.1.	Inducción al desove por “shock” térmico.....	34
3.5.	Análisis Estadístico de datos.....	36
IV.	RESULTADOS	37
4.1.	Comparación del efecto de cuatro temperaturas (Control 24, 26, 28 y 30°C) en el acondicionamiento gonádico (madurez sexual, diámetro ovocitario) en condiciones de laboratorio de la ostra perlífera <i>Pteria sterna</i>	37
4.1.1.	Evaluación de la temperatura y salinidad	37
4.1.2.	Madurez sexual.....	38
4.1.3.	Diámetro de ovocitos.....	41
4.2.	Evaluar el efecto de tres temperaturas de “shock” térmico (15, 17, 21°C) sobre el desove de la ostra perlífera <i>Pteria sterna</i> , en condiciones de laboratorio	41
4.2.1.	Desove, desarrollo embrionario y larval.....	41
4.3.	Calidad gonádica en ostra <i>Pteria sterna</i> , mediante las variaciones en el índice de condición general, índice gonadosomático, índice de rendimiento muscular, e índice del manto.42	
4.3.1.	Índice de condición general	42
4.3.2.	Índice gonadosomático	44
4.3.3.	Índice de rendimiento muscular	45
4.3.4.	Índice de manto	46
4.3.5.	Incremento en peso	48
V.	DISCUSIÓN	50
5.1.	Comparación del efecto de cuatro temperaturas (24, 26, 28 y 30°C) en el acondicionamiento gonádico (madurez sexual, diámetro ovocitario) en condiciones de laboratorio de la ostra perlífera <i>Pteria sterna</i>	50
5.2.	Evaluar el efecto de tres temperaturas de “shock” térmico (15, 17, 21°C) sobre el desove de la ostra perlífera <i>Pteria sterna</i> , en condiciones de laboratorio.	52

5.3. Evaluación de la calidad gonádica mediante las variaciones morfo-fisiológicas de la ostra.....	54
VI. CONCLUSIONES	57
VII. RECOMENDACIONES	58
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
IX. ANEXO	78
9.1. ANEXO 1. Preparación del medio de cultivo f/2 de "Guillard" (modificado por Martinez, 1998).....	79
9.2. Anexo 2. Proceso de inclusión en parafina (Humason, 1979; Zúñiga, 1998).	80
9.3. Anexo 3. Tinción de Hematoxilina-Eosina (Humason, 1979 en Zúñiga, 1998)...	81
9.4. Anexo 4. Registro Fotográfico.....	82
9.5. Anexo 5. Estimación del desove mediante el conteo de larvas	84
9.6. Anexo 6. Hoja de registro de datos	85

IV. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida de <i>P. sterna</i> . Tomado de Helm <i>et al.</i> , 2006	7
Figura 2. Factores endógenos y exógenos que influyen en el ciclo reproductivo de moluscos bivalvos. Tomado de (Gosling, 2003).	9
Figura 3. Localización geográfica del Laboratorio de moluscos de la Universidad Técnica de Manabí (Ecuador).	20
Figura 4. Tratamiento de agua de mar para experimentación A: tanques para recepción de agua de mar, B: filtración de agua con filtro de hilo de algodón de 5 micras, y filtro de cartucho de 5 micras, C: irradiación de agua con lámpara UV.	22
Figura 5. Fase intermedia de cultivo de microalgas A: fase de cultivo en tubo de ensayo y matraces de 0,5 litro, B: fase de cultivo en garrafones de 4 litros.....	24
Figura 6. Fase de cultivo masivo de microalgas A: Área de cultivo de microalgas de tres especies (a) <i>Isochrysis galbana</i> , (b) <i>Tetraselmis sp.</i> (c) <i>Chaetoceros gracilis</i>	24
Figura 7. Determinación de la concentración de microalgas.....	25
Figura 8. Recolección de organismos, A: localización de Banco natural de ostras <i>P. sterna</i> frente a la comuna de Chanduy Ecuador, B: muestras de ejemplares de ostras, C: selección de ejemplares de ostras	26
Figura 9. Transporte de organismos de <i>P. sterna</i> en seco con esponjas húmedas	26
Figura 10. Acondicionamiento de reproductores ostras <i>P. sterna</i> A: distribución de reproductores en sus respectivas cajas, B: área de acondicionamiento de reproductores ...	28
Figura 11. Suministro de microalgas durante el acondicionamiento de <i>P. sterna</i>	29
Figura 12. Marcaje de reproductores de ostras <i>P. sterna</i> , A: marcaje con pintura no tóxica, B: distribución de organismos en los tanques de acondicionamiento	29
Figura 13. Observación y medición del diámetro de ovocitos en fresco de <i>P. sterna</i>	30
Figura 14. Medidas morfológicas tomadas a los ejemplares de concha perlífera <i>P. sterna</i> , Tomado de Cáceres-Puig (2012)	31
Figura 15. Anatomía interna de la ostra perlífera <i>Pteria sterna</i> . A= ano, Re= recto, Ma = musculo aductor, Co = corazón, Go = gónada, PL = palpos labiales, Bo = boca, Bi = biso.	33
Figura 16. Disección de organismos y toma de muestra, (A) Biometría de organismos de <i>P. sterna</i> , (B, C) disección de organismos experimentales, (D) Toma de muestra de tejido para histología	34

Figura 17. Inducción al desove por “shock” térmico a la ostra <i>P. sterna</i> : A) Control horario de la disminución de la temperatura con hielo; B) Incremento de la temperatura con calentadores sumergibles.....	35
Figura 18. Microfotografía de gónada (40X) de <i>P. sterna</i> teñida con hematoxilina-eosina donde se muestran diferentes estadios de madurez: DES= Desarrollo, MAD= Maduro, DSP= Desove Parcial.....	39
Figura 19. Porcentaje acumulativo de estadios de madurez sexual de hembras y macho de los diferentes tratamientos de acondicionamiento de <i>P. sterna</i> : DES= Desarrollo, MAD= Maduro, DSP= Desove Parcial, PSD= Post-desove.....	40
Figura 20. Desarrollo embrionario de <i>P. sterna</i> en las primeras 24 horas: (A) óvulo (B) cigoto; (C) larva D. cp: cuerpo polar; pa: polo animal; pv: polo vegetal.....	42
Figura 21. Promedios porcentuales de los índices de condición general (ICG) ($\bar{x} \pm 2ES$) de <i>P. sterna</i> entre los diferentes tratamientos de acondicionamiento durante la maduración sexual de 29 días en condiciones de laboratorio.....	43
Figura 22. Promedios porcentuales de los índices gonadosomático (IGS) ($\bar{x} \pm 2ES$) de <i>P. sterna</i> entre los diferentes tratamientos durante la maduración sexual de 29 días en condiciones de laboratorio.....	44
Figura 23. Promedios porcentuales de los índices de rendimiento muscular (IRM) ($\bar{x} \pm 2ES$) de <i>P. sterna</i> entre los diferentes tratamientos durante la maduración sexual de 29 días en condiciones de laboratorio.....	46
Figura 24. Promedios porcentuales de los índices de manto (IMA) ($\bar{x} \pm 2ES$) de <i>P. sterna</i> entre los diferentes tratamientos durante la maduración sexual de 29 días en condiciones de laboratorio.....	47
Figura 25. Incremento en peso promedio (g) de <i>P. sterna</i> a diferentes días de los diferentes tratamientos de temperatura.....	49
Figura 26. Recolección y transporte de reproductores de <i>P. sterna</i>	82
Figura 27. Aclimatación de reproductores de ostras de <i>P. sterna</i> en ambiente natural, A: muelle de desembarque de personas, B: zona rocosa Punta Napo (Ecuador).	82
Figura 28. Aclimatación y limpieza en laboratorio, A: reproductores de ostra <i>P. sterna</i> , B: limpieza de organismos, C: aclimatación de organismos en tanques de acondicionamiento.....	83

V. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición de diferentes microalgas, base húmeda, utilizadas en Acuicultura para moluscos bivalvos (Fogg, 1975).....	14
Tabla 2. Fase de desarrollo gonádico para <i>Pinctada mazatlanica</i>	18
Tabla 3. Registro promedio de temperaturas del agua en los diferentes tratamientos de acondicionamiento de reproductores de <i>Pteria sterna</i> durante el periodo de estudio.....	37
Tabla 4. Registro promedio de salinidad del agua en los diferentes tratamientos de acondicionamiento de reproductores de <i>Pteria sterna</i> durante el periodo de estudio.....	37
Tabla 5. Análisis de varianza del diámetro de ovocitos promedios ($\bar{x} \pm 2ES$), en <i>P. sterna</i> en los diferentes días de acondicionamiento gonádico control: 24°C, (T1) 26°C, (T2) 28°C, 30°C), durante 29 días de estudio.	41
Tabla 6. Análisis de varianza de los índices de condición general (ICG) ($\bar{x} \pm 2ES$), en <i>P. sterna</i> entre los diferentes tratamientos de maduración gonadal control: 24°C, (T1) 26°C, (T2) 28°C, (T3) 30°C, durante 29 días de estudio	43
Tabla 7. Análisis de varianza de los índices gonadosomático (IGS) ($\bar{x} \pm 2ES$), en <i>P. sterna</i> entre los diferentes tratamientos de acondicionamiento gonádico Control: 24°C, (T1) 26°C, (T2) 28°C, (T3) 30°C), durante 29 días	45
Tabla 8. Análisis de varianza de los índices de rendimiento muscular (IRM) ($\bar{x} \pm 2ES$), en <i>P. sterna</i> entre los diferentes tratamientos de acondicionamiento gonádico Control: 24°C, (T1) 26°C, (T2) 28°C, (T3) 30°C, durante 29 días	46
Tabla 9. Análisis de varianza de los índices del manto (IMA) ($\bar{x} \pm 2ES$), en <i>P. sterna</i> entre los diferentes tratamientos de acondicionamiento gonádico control: 24°C, (T1) 26°C, (T2) 28°C, (T3) 30°C, durante 29 días	48
Tabla 10. Análisis de varianza de incremento en peso promedio (g) semanal de <i>P. sterna</i> a diferentes temperaturas de acondicionamiento gonádico durante el periodo de estudio	48

VI. RESUMEN

Se evaluó el efecto de cuatro temperaturas Control: 24°C, (T1) 26°C, (T2) 28°C, (T3) 30°C en el acondicionamiento gonádico (índice morfo-fisiológico) y desove a temperatura descendente (15, 17 y 21°C) de un plantel de reproductores de ostra perlífera *Pteria sterna* seleccionado del ambiente natural en condiciones de laboratorio. Se recolectaron 137 organismos adultos de *Pteria sterna* de la zona costera de Chanduy (Ecuador) en el mes de septiembre del 2015, de los cuales 125 fueron utilizados para la presente investigación con una talla promedio de $7,9 \pm 0,8$ cm de altura de la concha. La alimentación consistió en una dieta mixta de microalgas de *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros gracilis*, y *Tetraselmis sp*, en proporción 1:1:1 a una concentración de 150 a 180 mil cel/ml. De los 125 organismos 53 se usaron para evaluar la calidad gonádica mediante el índice morfo-fisiológico, el estado de madurez gonadal, diámetro de los ovocitos y sexo mediante análisis histológico. Asimismo 72 organismos fueron destinados a inducción al desove. Los resultados indican que el índice gonadosomático (IGS) presentó una relación inversa con el índice de rendimiento muscular (IRM) e índice de manto (IMA) en los diferentes tratamientos de acondicionamiento control 24°C, T1 (26°C), T2 (28°C), T3 (30°C). Los valores más altos de IGS coincidieron con valores bajos de IRM e IMA en la segunda semana. En cuanto al estadio de madurez se pudo observar el 25 % de organismos maduros (MAD) en hembras en el T2 y T3 el 50 % de machos en el T3; el diámetro más grande de ovocitos se observó en el tratamiento de 28°C ($38,72 \pm 3,3\mu\text{m}$); en cuanto al desove el tratamiento de 28°C (T3) fue el único que respondió al estímulo de shock térmico, a temperatura descendente de 17°C a los 20 minutos de exposición, obteniéndose la liberación de gametos.

PALABRAS CLAVE: *Pteria sterna*, acondicionamiento gonádico, madurez sexual, shock térmico, inducción al desove.

VII. ABSTRACT

The effect of four temperatures was evaluated Control: 24 °C, (T1) 26 °C, (T2) 28 °C, (T3) 30 °C in the gonadic conditioning (morpho-physiological index) and spawning at descending temperature (15, 17 and 21 °C) of a *Pteria sterna* oyster reproductive stock selected from the natural environment under laboratory conditions. 137 adult organisms of *Pteria sterna* were collected from the coastal area of Chanduy (Ecuador) in September 2015, of which 125 were used for the present investigation with an average shell height of 7.9 ± 0.8 cm. The feeding for the oyster consisted of a mixed diet of microalgae of *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros gracilis*, and *Tetraselmis sp*, in a ratio of 1: 1: 1 at a concentration of 150 to 180 thousand cel/ml. Of the 125 organisms 53 were used to evaluate the gonad quality by means of the morpho-physiological index, the state of gonadal maturity, diameter of the oocytes and sex by histological analysis. In addition, 72 organisms were destined to induce spawning. The results indicate that the gonadosomatic index (IGS) presented an inverse relationship with the muscular performance index (IRM) and the mantle index (IMA) in the different conditioning treatments control (24 °C), T1 (26 °C), T2 (28 °C), T3 (30 °C). The highest values of IGS coincided with low values of IRM and IMA in the second week. Regarding the stage of maturity, 25% of mature organisms (MAD) could be observed in females in the (T2 and T3) and 50% males (T3); the largest diameter of oocytes was observed in the treatment of 28 °C ($38.72 \pm 3.3\mu\text{m}$); Regarding spawning, the treatment of 28 °C was the only one that responded to the stimulus of thermal shock, at a descending temperature of 17 °C at 20 minutes of exposure, obtaining the release of gametes.

KEYWORDS: *Pteria sterna*, gonadal conditioning, sexual maturity, thermal shock, spawning induction.

I. INTRODUCCIÓN

Los moluscos representan en la acuicultura uno de los grupos más importantes desde el punto de vista productivo y económico, sin embargo algunas especies, como la ostra *Pteria sterna*, han sido sobreexplotadas en algunas regiones, siendo necesario el desarrollo y aplicación de técnicas de cultivo tendientes a su rehabilitación en el medio natural y a su cultivo sostenido (Sevilla, 1969; Monteforte, 1990; Rangel y Chávez, 1994), para lo cual es indispensable el estudio de diversos aspectos de su biología. Entre estos, los estudios de reproducción, los cuales tienen una aplicación directa en actividades de cultivo y en el manejo de poblaciones naturales (Avellanal *et al.*, 2002).

La reproducción de invertebrados marinos es generalmente controlada por la combinación de factores endógenos (neurosecreciones) y factores exógenos (Rose *et al.*, 1990). La suma de dichos factores conlleva a una “coordinación” de los individuos de una población con respecto a su madurez gonadal, de tal forma que los ciclos reproductivos de diferentes especies de bivalvos son únicos para cada población, variando de acuerdo con su localización geográfica (Sastry, 1979).

En general, se asume que la temperatura es el principal modulador de los eventos que ocurren durante el ciclo reproductivo de bivalvos, mientras que la alimentación regula la duración de dichos eventos a partir de la cantidad de energía disponible para la gametogénesis (Berg y Newell, 1986; Luna-González *et al.*, 2000). El patrón de ciclo reproductivo y los cambios que lo acompañan son afectados por la temperatura dependiendo de la historia térmica de las especies y de su distribución regional. Sin embargo, existen estudios que muestran que aumentos en la temperatura del agua dan por resultado necesariamente una mejoría en el desempeño reproductivo de los bivalvos. En el caso de la *Ostrea chilensis*, por ejemplo, temperaturas bajas mostraron ser importantes en estimular tanto la ovogénesis temprana como la espermatogénesis (Jeffs *et al.*, 2002).

La costa ecuatoriana y peruana se caracteriza por tener una gran diversidad de especies de peces, crustáceos y moluscos marinos, que constituyen recursos importantes tanto en el mercado nacional como en el internacional. Por otro lado, existe una demanda insatisfecha en el mercado internacional que convierte al cultivo de invertebrados en una actividad económica innovadora y con un potencial de alta rentabilidad, capaz de generar empleo y riqueza en las comunidades costeras. Como es el caso de este molusco estudiado en México (baja California) donde se logró su cultivo para obtener perlas y el consumo local e internacional. En el Perú los estudios son muy escasos y fundamentalmente se refieren a aspectos biológicos y taxonómicos (Kameya *et al.*, 1996).

Las aguas del Ecuador y Perú están consideradas como las más productivas del mundo por sus altos niveles de productividad primaria y secundaria originado por los afloramientos de aguas ricas en nutrientes hacia la superficie (Rhyther, 1969). El estuario del río Chone, ubicado en un área costera tropical de Ecuador, presenta un gran número de especies de peces, crustáceos y moluscos, que constituyen recursos importantes para la pesca artesanal y sustento para los habitantes de la zona a nivel local, sin embargo, poco es lo que se conoce de su biología y posible producción acuícola, sobre todo en lo que refiere a los moluscos bivalvos (PMRC, 1993). El interés de granjas sobre el cultivo de bivalvos existe en muchos países y regiones establecidas como: Japón, Chile, Perú, Ecuador, México y la región norte de Estados Unidos, entre otros (Treviño y Figueroa, 2009), y unos de los factores limitantes en todas ellas es el abastecimiento sostenido de semilla, el cual es dependiente de las condiciones reproductivas, siendo necesario un mayor conocimiento que permita su manejo en especies nativas como la *Pteria sterna*.

El objetivo principal de este estudio fue evaluar el efecto de la temperatura en el acondicionamiento gonádico (índice morfo-fisiológico, madurez sexual, desarrollo de gametos) y desove de un plantel de reproductores de ostra perlífera *Pteria sterna* seleccionado del ambiente natural en condiciones de laboratorio.

Los objetivos específicos fueron:

- (1) Comparar el efecto de cuatro temperaturas (24, 26, 28 y 30°C) en el acondicionamiento gonádico (madurez sexual y diámetro ovocitario) en condiciones de laboratorio de la ostra perlífera *Pteria sterna*.

- (2) Evaluar el efecto de tres temperaturas de “shock” térmico (15, 17, 21°C) sobre el desove de la ostra perlífera *Pteria sterna*, en condiciones de laboratorio.

- (3) Evaluar la calidad gonádica mediante las variaciones en el índice de condición general, índice gonadosomático, índice de rendimiento muscular, e índice del manto.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Distribución

La ostra perlífera *Pteria sterna* llamada comúnmente concha perla, perlera o perlífera, es un bivalvo que habita en la zona infralitoral marina y en manglares (Álamo & Valdivieso 1997), desde el nivel de la más baja marea hasta 23 m de profundidad (Mora 1990), adherida por medio de un biso a substratos duros (rocas, corales gorgónidos y estructuras metálicas sumergidas) o arena gruesa (Monteforte 2005, Ordinola *et al.*, 2010a). Se distribuye desde California (México) hasta Pimentel (Perú) (Álamo & Valdivieso 1997), con poblaciones bien identificadas en la costa del Pacífico tropical y subtropical de América, desde el Golfo de California a Talara, Perú y Ecuador (Keen 1971, Arizpe 1992, Ordinola *et al.*, 2010a). Excepcionalmente, luego del evento El Niño 1982-83 se han reportado ejemplares de *P. sterna* en las bahías de Ancón (Lima) e Independencia (Ica) en Perú, y Mejillones en Chile (Paredes *et al.*, 1998, Díaz & Ortlieb 1993). Es una especie que puede sobrevivir en aguas muy turbias, soportando temperaturas menores a 18 °C y mayores a 32 °C, y salinidades menores a 34.5 ups y mayores a 37 ups, características que le confieren una gran diversidad de estrategias para permanecer en una zona o extender su distribución geográfica (Araya-Núñez *et al.*, 1991, del Río Portilla *et al.*, 1992, Monteforte 2005).

2.2. Descripción taxonómica

Descripción taxonómica de la especie de ostra *P. sterna* de acuerdo con los criterios de Keen (1971) y Gervis y Sims (1992).

Phylum:	Mollusca
Clase:	Bivalvia
Subclase:	Pteriomorpha (Suzuki, 1985)
Orden:	Pterioida (Suzuki, 1985)

Familia:	Pteriidae
Género:	<i>Pteria</i> (Scopoli, 1977)
Especie:	<i>P. sterna</i> (Gould, 1851)

2.3. Características de la especie

La superficie externa de la concha de los moluscos de la familia Pteriidae es de color café y púrpura intenso, ya sea uniforme o con radios muy delgados de tonalidad más pálida y la superficie interna nacarada con reflejos azulados. Su concha de forma variable es delgada, oblicuamente ovalada y con una orejuela posterior prolongada en una expansión alar puntiaguda más o menos alargada. La aurícula anterior es grande y triangular, el margen ventral de la valva izquierda es más grande y convexo que el de la derecha. La superficie externa de la concha *P. sterna* es rugosa y cuando no está desgastada, está cubierta por espinas o escamas radiales aplanadas, largas y fuertemente imbricadas cerca del borde ventral de la concha y la región umbonal ocasionalmente. Su charnela es débil, con una o dos protuberancias pequeñas bajo el umbo, parte posterior con un proceso camelado bajo y una foseta correspondiente (Poutiers, 1995). La concha en ejemplares juveniles es más larga que alta, con la orejuela posterior angosta y prolongada, cambiando en ejemplares grandes a una forma a veces tan alta como larga con la orejuela posterior relativamente más corta (Keen, 1971; Fischer *et al.*, 1995)

La ostra *P. sterna* presenta una concha ovalada, de color café por fuera y nacarada por dentro, posee una extensión en la charnela en forma de ala, la cual es más larga en la parte anterior, característica que le da el nombre a la especie (*pterion*, en griego significa ala); presenta una longitud máxima registrada de 120 mm (Saucedo-Lastra, 1995).

La principal particularidad de los Pteriidae es el patrón de biomineralización que presenta la cara interna de la concha en forma de un compuesto conocido bajo el nombre de *nácar* o *aragonita*. Este es uno de los raros compuestos biominerales que se conocen en la naturaleza. En los Pteriidae, la aragonita se cristaliza sobre una matriz de origen proteico, con un patrón prismático estrechamente tabular, lo cual le confiere el brillo especial que posee la cara interna de la concha y de las perlas que forman estas especies (Tsujii, 1960; Wada, 1962).

El color del nácar en las especies de ostras presenta características particulares con respecto a otras ostras perleras del mundo. En *Pinctada mazatlanica* se encuentra comúnmente como dominante el plateado grisáceo a oscuro con tonos secundarios en verde esmeralda y tornasol. *Pteria sterna* presenta mayor variación; los colores dominantes son también tonos de gris-plateado, pero existe gran diversidad de tonos secundarios: cobrizo, verde, azul, púrpura, rosado, etc. Estos colores se encuentran principalmente en la banda marginal de cara interna de la concha, que puede ser relativamente ancha en algunos individuos, y en las perlas que ambas especies producen. *P. mazatlanica* y *P. sterna* son bentónicas; habitan fondos rocosos y de arena gruesa a profundidades entre 2 m y 50 m. Los bancos más densos se localizan entre 5 m y 20 m de profundidad. Su alimentación es de tipo filtrador, aparentemente con un cierto grado de selectividad por alimento (Rangel y Chávez, 1994).

En el estado de Baja California en México-Bahía de La Paz (México), la especie alcanza la madurez sexual a partir de una talla de 40 mm de altura de la concha, la cual corresponde a unos 17 meses de vida (Saucedo y Monteforte, 1997). Contrariamente, la especie llega a la madurez sexual a los 49 mm de altura (machos) y 56 mm de altura (hembras) en la Bahía de Acapulco, la cual se alcanza a los 6–7 meses de edad (Serna-Gallo, 2011).

2.4. Ciclo de vida de *Pteria sterna*

La fecundación, así como el desarrollo pelágico embrionario y larval de *P. sterna* ocurren en la columna de agua como se observa en la. Su ciclo de vida, al igual que el de la mayoría de los bivalvos, está dividido en diferentes etapas e inicia con la unión de un óvulo y un espermatozoide, formando un cigoto del cual se desarrolla más adelante un embrión que atraviesa por una primera, segunda y tercera división celular, que ocurren aproximadamente a los 26, 33 y 55 minutos, respectivamente; mientras que la cuarta división se presenta alrededor de los 70 minutos después de la fecundación (Serrano-Guzmán y Salinas-Ordáz, 1993). Los siguientes estadios secuenciales del desarrollo embrionario son mórula, blástula y gástrula, fases que tienen una duración promedio de 1–3 horas, 4–5 horas y 6–12 horas, respectivamente (Serrano-Guzmán y Salinas-Ordáz, 1993). En tiempo total promedio requerido para que la especie complete su desarrollo embrionario es aproximadamente de 22–24 horas desde la fecundación hasta la aparición de larvas trocóforas ciliadas, a una temperatura media de 28 °C (Serrano-Guzmán y Salinas-Ordáz, 1993; Araya-Núñez *et al.*,

1995). Sin embargo, el tiempo de desarrollo hasta larva trocófora varía de acuerdo con la temperatura de cultivo, oscilando entre 24 y 25 horas después de la fecundación.

La larva trocófora posee tres bandas de cilios y un flagelo en posición apical, los mismos que le dan movilidad en la columna de agua entre 12 y 24 horas que dura esta fase. Al término de ésta última, se forma una estructura que encierra completamente el cuerpo y los órganos elementales (Rose y Baker, 1994; Doroudi y Southgate, 2003). Al final del estadio trocófora, en la región central aparecen pequeñas marcas que generarán la típica concha en forma “D” del primer estadio véliger (o de charnela recta) tal como se observa en la (Fig. 1). El término véliger D es la segunda fase larvaria y adopta su nombre de una estructura llamada *velum* que le permite alimentarse, respirar y mantenerse en la columna de agua mediante movimientos natatorios helicoidales (Araya-Núñez *et al.*, 1995; Martínez-Fernández *et al.*, 2003). Hasta este momento, el desarrollo es sostenido por las reservas endógenas vitelinas (lípidos principalmente) (Gallager y Mann, 1986b; Gallager *et al.*, 1986).

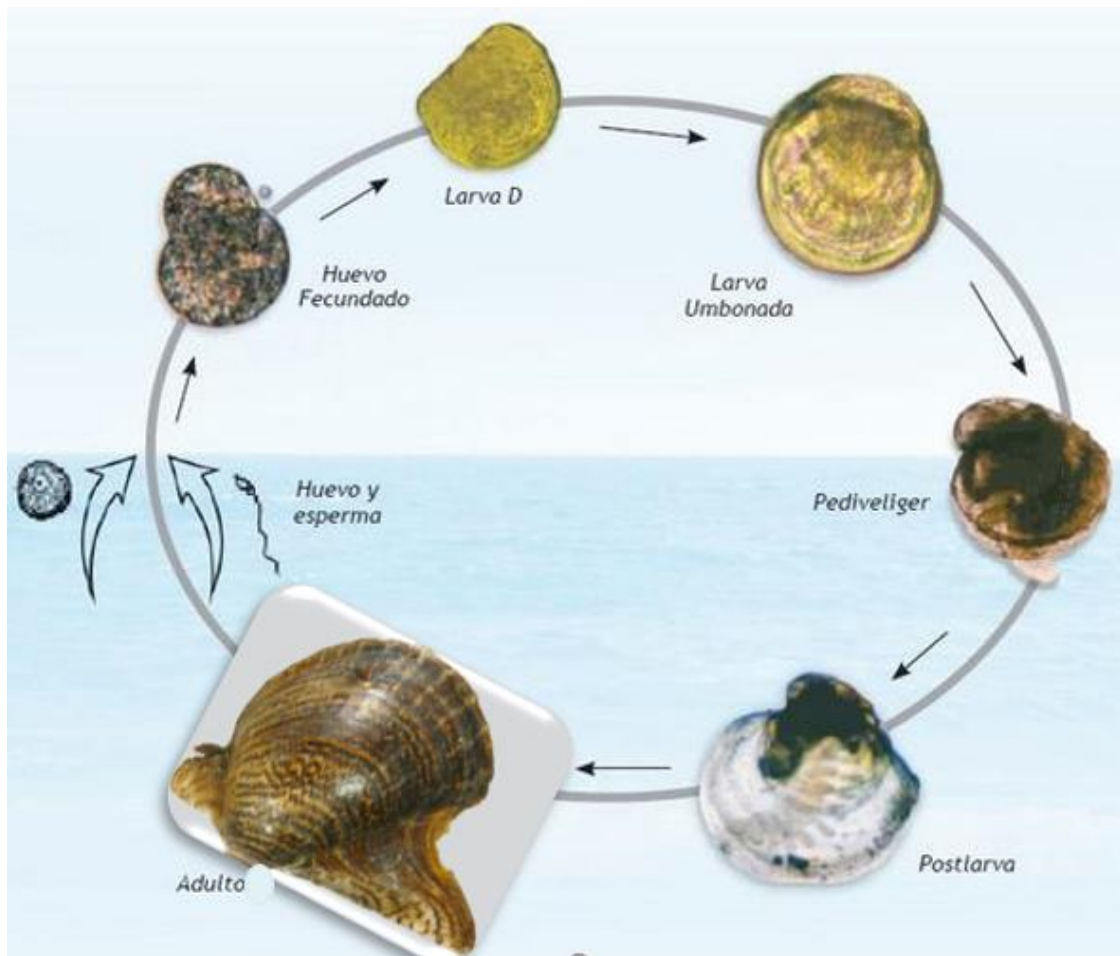


Figura 1. Ciclo de vida de *P. sterna*. Tomado de Helm *et al.*, 2006

2.5. Factores exógenos que condicionan la madurez sexual

El metabolismo de los bivalvos es considerablemente influenciado por la temperatura del agua y la disponibilidad de alimento, lo cual tiene especial relevancia en su ciclo gonádico y reproductivo. Mediante el control de estos parámetros, es posible ampliar considerablemente la temporada en la cual se dispone de reproductores sexualmente maduros en las poblaciones naturales (Loosanoff y Davis, 1963; Malouf, 1970; Dupuy *et al.*, 1977).

El ciclo reproductivo en bivalvos está determinado genéticamente y es controlado por factores exógenos (temperatura, alimento, salinidad, fotoperiodo) y endógenos (regulación neuronal hormonal) (Fig. 2) (Saucedo, 1995), siendo la temperatura un importante factor ambiental que regula la maduración gonadal en bivalvos (Sastry, 1979), así como los aspectos energéticos ya que la producción de gametos y el tiempo para su madurez depende en gran medida de la energía derivada de la disponibilidad de alimento (Barber y Blake, 1981; Jaramillo *et al.*, 1993). Después de alcanzar cierto estado fisiológico, en un organismo expuesto a condiciones ambientales necesarias se inicia el crecimiento de la gónada y la gametogénesis. En la coordinación de los procesos fisiológicos y los eventos reproductivos es probable que la actividad neuroendocrina juegue un papel muy importante, produciendo una respuesta reproductiva de acuerdo con ciertas condiciones ambientales (Bayne, 1976; Giese y Pearse, 1979; Lubet, 1981; Barber y Blake, 2006; Román *et al.*, 2002; Saucedo y Southgate, 2008).

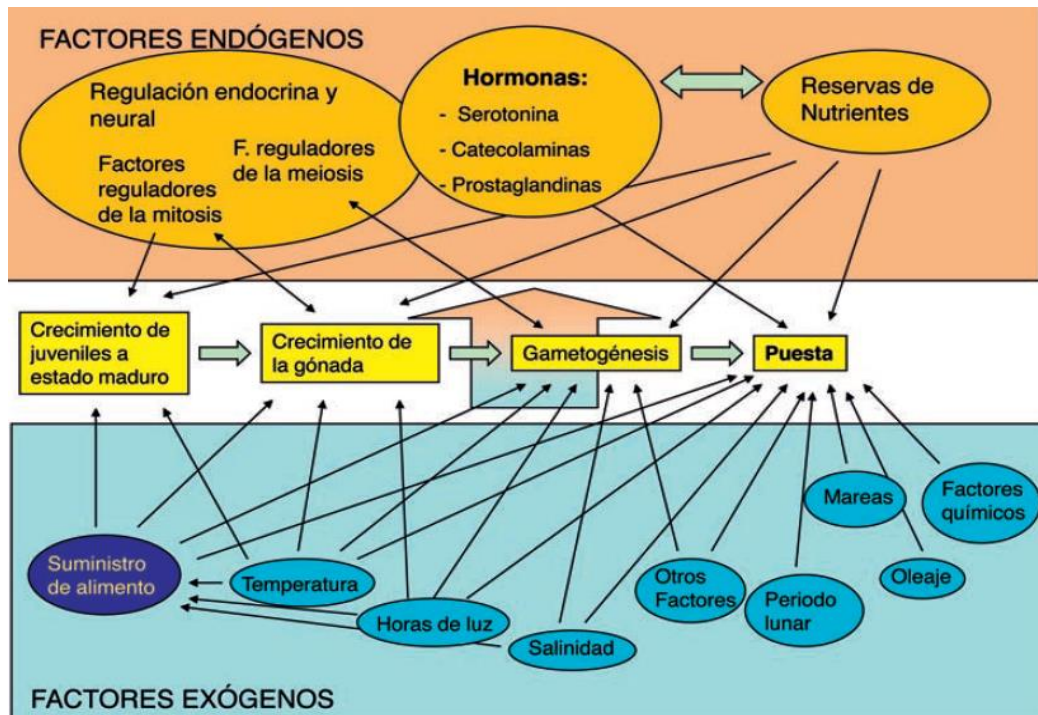


Figura 2. Factores endógenos y exógenos que influyen en el ciclo reproductivo de moluscos bivalvos. Tomado de (Gosling, 2003).

La *Pteria sterna* es una especie que puede sobrevivir en aguas muy turbias, soportando temperaturas menores a 18 °C y mayores a 32 °C, y salinidades menores a 34.5 ups y mayores a 37 ups, características que le confieren una gran diversidad de estrategias para permanecer en una zona o extender su distribución geográfica (Araya-Núñez *et al.* 1991, del Río-Portilla *et al.* 1992, Monteforte 2005).

a) Luz (fotoperiodo)

El efecto del fotoperiodo, es decir, el de horas de luz, incide también como parámetro para condicionar el desarrollo gonadal. Recientes estudios realizados en especies de Pectínidos muestran que el aumento de horas de luz lleva asociado la movilización de las reservas desde el tejido somático a las gónadas. En otras especies, como *C. gigas*, experiencias realizadas en las que se combina la modificación de temperatura con el fotoperiodo, simulando condiciones diferentes a las naturales implica un claro desarrollo de los productos sexuales y la consecución de puestas en periodos diferentes del natural (Walne, 1976).

2.5.1. Alimentación

Numerosos estudios han sido enfocados a analizar el efecto de las dietas y sus diferentes componentes nutricionales tanto sobre la maduración gonadal como sobre el desarrollo larval en los bivalvos. Trabajos realizados para mejorar el acondicionamiento de reproductores de *Argopecten purpuratus* han demostrado que una dieta mixta de microalgas y enriquecida en lípidos insaturados permite mejorar los resultados en la maduración y porcentajes de desove (Martinez *et al.*, 2000a).

Con respecto a las dietas de acondicionamiento *Nodipecten. nodosus*, Gómez y Villaláz (1991) utilizaron *Tetraselmis chuii* a una concentración de 100.000 cel/ml; Rupp y Poli (1994) suministraron una dosis de 100,000 a 150,000 cel/ml de por lo menos dos cepas entre *Isochrysis*, *Chaetoceros gracilis*, *Ch. calcitrans* y *Tetraselmis. tetratele*. Rupp *et al.* (1997) utilizaron como dieta una mezcla de *Tetraselmis*, *Isochrysis*, *Chaetoceros gracilis* y *Thalassiosira pseudonana* suministrada continuamente. De la Roche (1997) alimentó con una dosis de 300.000 cel/ml de *Chaetoceros sp.*, *Tetraselmis sp.* y *Nannochloropsis sp.* De la Roche *et al.* (2002) suministraron *Isochrysis*, *Ch. gracilis* 1:1 en dosis de 70,000-80,000 cel/individuo/día obteniendo 91% de individuos desovados.

El número de especies de microalgas que actualmente se emplean como alimento vivo para bivalvos son alrededor de 50, y de éstas, al menos 10 pertenecen a la familia Bacillariophyceae se cultivan para alimentar a los bivalvos en forma comercial Helm *et al.* (2006). Existe una serie de atributos clave para su elección, basados en su morfología y composición, ya que deben ser adecuadas para la ingesta y aprovechamiento (Haven, 1965; Epifanio, 1975). La mayoría son células nanoplanctónicas, es decir, con un tamaño entre 2 y 20 μ m, y además deben ser de fácil digestión (Helm *et al.*, 2006).

Entre las microalgas identificadas como alimento de buena calidad para el cultivo de bivalvos, se encuentran *Isochrysis galbana*, *Isochrysis sp.*, *Pavlova lutheri*, *Tetraselmis suecica*, *Pseudoisochrysis paradoxa*, *Chaetoceros calcitrans* y *Skeletonema costatum* (Persoone y Claus, 1980). Estas especies pueden variar significativamente en su valor nutricional en función de las condiciones de cultivo (Brown *et al.*, 1997). Esto podría tener efecto positivo por la posibilidad de modificar la calidad nutritiva de una determinada especie, manipulando las condiciones de luz, nutrientes, etc., pero al mismo tiempo aumenta

la complejidad para mantener una misma calidad a lo largo de todo el proceso de alimentación de los bivalvos (Pernet *et al.*, 2005; Milke *et al.*, 2004, 2006; Uriarte *et al.*, 2001).

Mazón-Suástegui (1987) describió las técnicas utilizadas para el acondicionamiento gonádico e inducción al desove de reproductores de *P. mazatlanica* en condiciones de laboratorio, como un mecanismo confiable para la obtención de larvas. Al mismo tiempo, evaluó la eficiencia de cinco dietas microalgales en el crecimiento de la especie, sugiriendo algunos métodos para su cultivo. Las dietas seleccionadas para este estudio fueron cinco: cuatro se componen de *Isochrysis galbana* (cepa Tahitiana) y *Tetraselimis* solas y combinadas y una quinta constituida por fitoplancton de La Ensenada de La Paz, B.C.S., México cuya especie dominante en un 99% fue *Oscillatoria sp*, todas ellas cultivadas en el laboratorio.

2.5.2. Requerimientos nutricionales

a) Lípidos como fuente de energética 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. 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 (Chu y Dupuy, 1980). 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 las ostras, ya que casi toda la energía producida por la ingestión de alimento es destinada a la maduración gonadal (Webb, Chu, 1981).

b) Carbohidratos y su influencia en la maduración 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.

c) Ciclo de almacenamiento y empleo de energía en moluscos bivalvos

La idea de que existía una relación entre la variación de la concentración de determinados nutrientes en los denominados tejidos de reserva de los moluscos bivalvos y su estadio de desarrollo sexual ha sido objeto de numerosos estudios. Las primeras observaciones fueron realizadas en ostras por, poniendo en evidencia una caída del contenido de glucógeno en el momento de la madurez gonadal (Ferran, 1991).

Hoy en día se conoce que cuando se habla de ciclo reproductivo de cualquier tipo de moluscos bivalvos se está hablando de dos procesos diferentes, pero íntimamente conectados: el ciclo gametogénico y el ciclo del tejido de reserva. El ciclo gametogénico comprende, en general, el proceso de desarrollo de gametos femeninos (oogénesis) y masculino (espermatogénesis), pudiéndose incluirse en él también la puesta de dichos gametos y la fecundación. El ciclo del tejido de reserva incluye los procesos de síntesis y acumulación de reservas energéticas (fundamentalmente lípidos, glúcidos y proteínas) en diferentes tejidos del molusco, así como su posterior movilización desde estos tejidos para ser utilizados en el desarrollo de los gametos, principalmente femenino, pero también masculino. Así pues, como ambos procesos están íntimamente conectados, y no se podría entender el ciclo reproductivo de ningún molusco bivalvo si faltase algunos de estos dos componentes (Cáceres-Puig *et al.*, 2007).

El desarrollo de los gametos es un proceso energéticamente costoso que depende fuertemente de la movilización de nutriente para su cumplimiento. Estos nutrientes pueden ser aportados por alimento recientemente ingerido, o pueden provenir de reservas acumuladas durante el periodo de reposo reproductivo (Gabbott, 1983). Se ha demostrado que tanto el músculo como la glándula digestiva son tejidos que cumplen la función de reservorios energéticos (Taylor y Venn, 1979; Barber y Blake, 1981; Martínez, 1991). Cuando los requerimientos metabólicos para la gametogénesis son satisfechos por macromoléculas musculares, pueden verse afectadas las reservas de glucógeno, lípidos y

proteínas de este tejido y su actividad contráctil. Barber y Blake (1985) mostraron que previo al inicio de la gametogénesis de *Argopecten irradians concentricus*, el metabolismo se basa en lípidos. En los estadios iniciales de la gametogénesis se catabolizan carbohidratos, y a medida que maduran los gametos y comienza el desove, la energía se obtiene principalmente de la degradación de proteínas.

d) Aporte nutricional del fitoplancton para moluscos bivalvos

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 los organismos (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, vitamina. El elevado valor nutritivo de las algas como alimento de moluscos está relacionada también a los siguientes aspectos: tamaño de la célula, ausencia de la pared celular gruesa, eliminación de sustancias no tóxicas (metabolitos) (Ukeles, 1970) y composición química. Así mismos existen especies de algas que sirven de 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 (Tabla 1) (Fogg, 1975). La asimilación y eficiencia de absorción de la ración de algas dada a los moluscos están en función a la temperatura y a la cantidad de alimento suministrado (Epifanio, 1981). 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 microalgas 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). 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 o adulta (maduración sexual), teniendo como resultados organismos más vigorosos, crecimiento y desarrollo gonadal acelerado que aquellos alimentado con solo una especie de alga (Loosanoff y Murray, 1974; Walne, 1974; Fogg, 1975; Epifanio y Mootz, 1976; Mann y Ryther, 1977), (Tabla 1).

Tabla 1. Composición de diferentes microalgas, base húmeda, utilizadas en Acuicultura para moluscos bivalvos (Fogg, 1975)

Especie	Proteína %	H. Carbono %	Grasas %
<i>Tetraselmis sp.</i>	1.42	0.41	0.70
<i>Dunaliella sp.</i>	1.43	0.80	0.15
<i>Nanochrysis 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
<i>Isochrysis sp.</i>	17.6	23	5

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 cuáles son los ácidos grasos y aminoácidos esenciales para la maduración sexual de estos organismos (Webb y Chu, 1981).

2.6. Influencia de la temperatura en la maduración sexual

La estimulación física comprende cambios de temperatura con diversas variantes de intensidad, duración y periodicidad. Existen numerosas referencias al respecto de este método de inducción; se reportan cambios cíclicos de 18 a 29°C para *Crassostrea gigas* (Helm y Millican, 1977), incremento de 19 a 30°C para *C. virgínica* (Dupuy *et al.*, 1977), de 23 a 30°C para *Rangia cuneata* (Chanley, 1965), hasta 30°C y posterior disminución para *Argopecten irradians* (Sastry, 1963), de 20 a 25°C para *Argopecten gibbus* (Costello *et al.*, 1973), hasta 27-30°C para *A. irradians* (Castagna y Duggan, 1971) e incremento de 10-15 a 24- 27°C para *Pinctada martensii* (Takashi, 1979). Dentro de esta categoría de estimulación también se incluyen el shock eléctrico y la estimulación mecánica o manual.

De acuerdo a Rupp y Poli (1994) la inducción al desove de *N. nodosus* puede también lograrse mediante exposición de los reproductores a altas concentraciones de microalgas, seguido por el aumento gradual de temperatura del agua, previamente irradiada con luz ultravioleta. Mediante estos procedimientos, los ovocitos que se obtienen son fecundados y transferidos a tanques de cultivo larvario y en aproximadamente 24 horas alcanzan el estadio de larva véliger “D”, con una talla aproximada de 100 μm .

Saucedo y Monteforte (1997) estudiaron el ciclo reproductivo *Pteria sterna* en organismos de cultivo, en el Mérito, Bahía de la Paz, México, estableciendo un ciclo asincrónico, con dos épocas de desove, febrero y mayo, con temperaturas de 22 °C y 23 °C respectivamente, y una proporción de género de 0.38 H: 1 M. Las tallas de los organismos estudiados (41.1 mm a 90 mm) se consideran medianas, lo que sugiere que puede ocurrir una reversión del género en organismos de tallas mayores de 55 mm. Sin embargo, los autores no obtuvieron, evidencia suficiente para concluir que esta población sea hermafrodita protándrica.

Díaz y Buckle (1996) estudiaron el ciclo reproductivo *Pteria sterna* en Bahía de los Ángeles, Golfo de California, México, en organismos de dos a catorce meses de edad, determinando que existen dos épocas de desove masivo poblacional, una en diciembre-febrero (14 °C) y otra en agosto (20 °C) y una proporción de géneros de 1.19 H: 1 M. Los autores observaron ejemplares hermafroditas, por lo que, en esa localidad y condiciones, la especie se ha considerado hermafrodita asincrónica, es decir, que puede madurar inicialmente de modo indistinto, como macho o hembra.

Del Río-Portilla (1991) determinó el efecto de la temperatura (20, 25 y 30 °C) y la concentración de alimento con el alga *Chaetoceros sp*, en el crecimiento de la ostra perlera *P. sterna* en laboratorio, encontrando una temperatura de 30°C y una concentración del 8% de alimento como óptimos para el crecimiento de la especie.

En cuanto al tiempo de acondicionamiento, Mazón-Suástegui (1988) realizó sus experimentos de acondicionamiento gonádico, maduración y desove de *P. sterna* en periodo de 60, 90 y 120 días, mientras que Avilés- Quevedo y Mazón-Suástegui (1989) lo hicieron en periodo de 110 días con la misma especie. En ambos casos se reportan desoves en

diferentes meses del año (Abril, Septiembre, Octubre y Noviembre) y una eficiencia del 40 al 100 %, de individuos desovados de ambos sexos.

2.7. Condición de indicadores de calidad gonádica de los reproductores

Los índices de condición más comunes que se han utilizado en moluscos bivalvos evalúan los cambios en la biomasa del organismo entero o de un tejido particular sobre el conjunto de actividades fisiológicas de dichos organismos, incluyendo su crecimiento, nutrición, reproducción, y metabolismo, y también se emplean para detectar la presencia de contaminantes o enfermedades y su efecto (Brown y Hartwick, 1988; Crosby y Gale, 1990; Mason y Nell, 1995; Baghurst y Michell, 2002). Lo anterior se determina debido a que los cambios en estos índices reflejan déficits energéticos asociados a estrés ambiental, transferencia de energía entre la gónada y tejidos somáticos, o bien a la pérdida de energía acumulada durante el desove y liberación de gametos. De estos índices, quizá el más utilizado es el índice de condición (IC) –llamado índice de condición general (ICG), en este estudio–, que es el más sencillo y práctico para determinar el cambio en la biomasa húmeda o seca de la masa visceral, incluyendo el tejido gonádico, con el fin de monitorear la actividad reproductiva de los organismos (Okumus y Stirling, 1998; Mladineo *et al.*, 2007).

2.8. Métodos de inducción al desove

La inducción al desove es el método por el cual se obtienen los óvulos y espermatozoides necesarios para realizar la fertilización. Existen diversos métodos para inducir el desove en los moluscos bivalvos, que de acuerdo con Takashi (1979) pueden tipificarse como:

a) Estímulos físicos

Consiste en “shock” térmico y la estimulación mecánica o manual

b) Estimulación química.

La estimulación química implica la adición de compuestos químicos en solución, a manera de baños o inyecciones en la cavidad visceral y en la gónada

c) Estimulación biológica.

Loosanoff y (Davis, 1963) y Chanley (1965), reportan el uso corriente de una suspensión diluida de espermatozoides de la especie en cuestión, como complemento a la estimulación térmica, en los trabajos de inducción al desove de varias especies de bivalvos.

2.9. Desarrollo gonadal

Para determinar el estado de madurez y grados de desarrollo de la gónada de los organismos, se contabilizaron el número de hembras y machos sexualmente indiferenciados, siguiendo el esquema de clasificación propuesto por García Domínguez *et al.* (1996) para ostras perleras. Mediante este se divide el ciclo reproductivo en cinco estadios: (1) Indiferenciado o inactivo, (2) desarrollo activo, (3) madurez, (4) desove parcial y (5) post-desove o reabsorción de gametos (Tabla 2).

Tabla 2. Fase de desarrollo gonádico para *Pinctada mazatlanica*

Estadio 1: Indiferenciado	
Sin evidencia de desarrollo gonádico, no es posible distinguir el género, los folículos se encuentran colapsados y el tejido conectivo ocupa todos los espacios entre los folículos vacíos presencia de fagocitos.	
Estadio 2: Desarrollo	
Macho	Hembra
Los folículos se presentan en diferentes estadios de desarrollo localizados entre el tejido conectivo. Dentro de los folículos se encuentra una cantidad variable de células germinales, como espermatocitos 1 y 2, los cuales proliferan rápidamente, así como gametos maduros. Los espermatozoides se encuentran depositados en una densa masa en el lumen de los folículos. El área de tejido conectivo entre los folículos decrece, ya que los folículos incrementan su área como resultado la acumulación de esperma.	Los folículos son visibles y dentro de estos los ovocitos incrementan en tamaño y número, los cuales se encuentran libres en el lumen. El tejido conectivo disminuye. El desarrollo de los ovocitos comienza con células hemisféricas, pegadas a las paredes de los folículos. Después se presentan células esféricas más grandes (52 μ m de diámetro, en promedio). La madurez se aproxima.
Estadio 3: Madurez	
Los folículos se encuentran distendidos, ocupados por densos espermatozoides. Los espermatocitos y espermatidas se encuentran restringidos en una gruesa capa sobre las paredes foliculares. Casi todo el tejido conectivo presente entre los folículos es remplazado por folículos llenos de espermatozoides.	La madurez ovárica se caracteriza por la presencia de folículos distendidos y llenos de ovocitos maduros de forma poligonal, algunos de los cuales se encuentran adheridos a las paredes foliculares por "tallos" delgados. De poco a nada de tejido conectivo se encuentra presente entre folículos.
Estadio 4: Desove parcial	
Durante este estadio reproductivo, los espermatozoides han sido expulsados al ambiente. Los folículos se encuentran parcialmente vacíos y sus paredes rotas. Marcado decremento en el número de espermatozoides que llenaban el lumen.	Algunos folículos contienen ovocitos, otros se encuentran vacíos. Marcada reducción en el número de ovocitos grandes que se encontraban libres en el lumen. Poco tejido conectivo está presente. Algunas paredes foliculares se presentan rotas.
Estadio 5: Post-desove o reabsorción de gametos	
Folículos colapsados, decreciendo en el área; los espermatozoides presentes son fagocitados. Sin evidencia de que la espermatogénesis activa se esté llevando a cabo.	Los folículos se encuentran vacíos, a excepción de pocos ovocitos libres sin desovar presente en el lumen, los cuales son fagocitados. Las paredes foliculares se restablecen.

Fuente: García Domínguez *et al.* (1996).

a) Factores que influyen en la reproducción y el desove de moluscos bivalvos

Los trabajos de Sastry y Blake (1971) y Blake y Sastry (1979) fueron pioneros en el efecto de los factores que regulan la reproducción en los pectínidos. El ciclo reproductor es una respuesta a los factores ambientales genéticamente controlada. Después de alcanzar cierto estado fisiológico, en un organismo expuesto a las condiciones ambientales necesarias se inicia el crecimiento de la gónada y la gametogénesis. En la coordinación de los procesos fisiológicos y los eventos reproductivos es probable que la actividad neuroendocrina juegue un papel muy importante, produciendo una respuesta reproductiva de acuerdo con ciertas condiciones ambientales. Hay varios factores que afectan los eventos sucesivos del ciclo reproductivo como factores exógenos y factores endógenos.

III. METODOLOGÍA

3.1. Lugar y periodo experimental

El trabajo de maduración de *Pteria sterna* en condiciones controladas se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de moluscos de Acuicultura, de la Universidad Técnica de Manabí (Ecuador) con coordenadas Latitud 0°36'32.94"S Longitud 80°25'09.74"O (Fig. 3). Tuvo una duración de 7 meses desde septiembre del 2015 a marzo del 2016.



Figura 3. Localización geográfica del Laboratorio de moluscos de la Universidad Técnica de Manabí (Ecuador).

3.2. Etapas experimentales

La investigación se realizó en dos etapas:

3.2.1. Etapa pre-experimental

Consideró el tratamiento de agua marina, la producción de tres especies de microalgas para la alimentación de los organismos en experimentación y la recolección y aclimatación de *Pteria sterna* al sistema de recirculación.

a) Tratamiento de agua de mar

La captación de agua de mar proveniente del Estuario del Rio Chone, utilizada en la experimentación se realizó mediante sedimentación, filtración e irradiada con luz ultravioleta y cloración se bombeo (con una bomba de 2 Hp marca Lx[®] Swimming Pool Pump, modelo 200-1) a 5 tanques plásticos de PVC de 5 toneladas de capacidad cada uno y se dejó sedimentar por tres días. Luego se filtró previamente con un filtro de hilo de algodón de 5 micras y un filtro de cartucho de 5 micras. Siendo luego irradiada con una lámpara UV (marca Sterilight silver, modelo S5Q-PA), cada 30 minutos, posteriormente se le adicionó 10 gramos de cloro por tonelada de agua y se dejó hasta el siguiente día con aireación. Antes de utilizar el agua se neutralizó el residuo de cloro con 2 gramos de tiosulfato de sodio por tonelada (Fig.4).



Figura 4. Tratamiento de agua de mar para experimentación A: tanques para recepción de agua de mar, B: filtración de agua con filtro de hilo de algodón de 5 micras, y filtro de cartucho de 5 micras, C: irradiación de agua con lámpara UV.

b) Producción de alimento vivo

El cultivo de microalgas se realizó en el laboratorio de algas de Acuicultura de la Universidad Técnica de Manabí. Las especies cultivadas fueron: *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis sp.* y *Chaetoceros gracilis*. El medio de cultivo utilizado fue el f /2 de Guillard modificado por Martínez (1998) (ver Anexo 1). El cultivo en el laboratorio se realizó a pequeña escala en tubos de ensayo, luego en matraces de medio litro hasta la fase de garrafón de 4 litros y posteriormente se realizó el cultivo masivo en tanques de una tonelada (1000 litros) en ambiente exterior.

1) Fase de cultivo inicial

Las cepas de microalgas fueron obtenidas del Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas CENAIM ESPOL mantenidas en medio líquido contenidas en tubo de ensayo de 10 ml a una concentración de cuatro millones de células por ml, luego el concentrado de microalga fue colocado en matraces de medio litro, proporcionándoles nutrientes, condiciones de iluminación constante de 30.000 lux y temperatura ($20 \pm 1^\circ\text{C}$), factores necesarios para su crecimiento.

2) Fase de cultivo intermedio

El medio de cultivo utilizado fue el f /2 de Guillard modificado por Martínez (1998). En esta fase el cultivo de microalgas se desarrolló en matraces de 0,5 litros hasta garrafones de 4 litros de capacidad, se le agregó (50 y 1000 ml) de concentrado de microalga y se le adicionó 2 ml de las soluciones de los nutrientes por cada litro de agua de mar esterilizada. El periodo de cultivo fue de 6 a 7 días hasta pasar al área de cultivo masivo. El tipo de cultivo fue el semicontinuo. Se mantuvo condiciones de iluminación con lamparas fluorescente, aireación y temperatura constante de 22°C , salinidad de 30 ups. (Fig. 5).



Figura 5. Fase intermedia de cultivo de microalgas A: fase de cultivo en tubo de ensayo y matraces de 0,5 litro, B: fase de cultivo en garrafrones de 4 litros

3) Fase de cultivo masivo

Para la producción de microalgas a escala masiva se utilizaron 6 tanques plásticos de color blanco de 1000 litros de capacidad, los cuales contenían agua de mar filtrada e irradiada con lámpara UV. Posteriormente en 200 litros de agua tratada se adicionó como inóculo dos garrafrones de 4 litros de microalgas, a una concentración de 8 a 10 millones de células por ml, se fertilizó con 10 gramos de fertilizante comercial (fórmula N 20%; P 5%; K 10%), así mismo se incrementó el volumen de agua con 200 litros todos los días y se le adicionó 10 gramos de fertilizante, dependiendo de la concentración de células por ml hasta obtener una tonelada. El tipo de cultivo fue semicontinuo, manteniéndose en los tanques de producción en condiciones de iluminación, y aireación constante (Fig. 6).



Figura 6. Fase de cultivo masivo de microalgas A: Área de cultivo de microalgas de tres especies (a) *Isochrysis galbana*, (b) *Tetraselmis* sp. (c) *Chaetoceros gracilis*

c) Determinación de la concentración celular del cultivo de microalgas

Se realizó un conteo directo en una cámara de Neubauer.

Se tomaron 100 ml del cultivo, los cuales fueron colocados en un vaso de precipitados de 200 ml, se tomó 1 ml con una pipeta volumétrica, el cual fue colocado en un tubo de ensayo añadiéndole 2 gotas de lugol, se agitó y posteriormente, con la ayuda de una pipeta Pasteur fue tomada una muestra con la cual se llenó la cámara de Neubauer.

Dependiendo de la concentración celular se realizaron 1 o más diluciones de la muestra, con el fin de facilitar el conteo, el cual se realizó en las 4 cuadrículas externas de la cámara calculándose el promedio y el resultado se multiplicó por un factor de 10000 y por la dilución efectuada. El resultado obtenido representa la concentración de células por ml. Los conteos se realizaron por triplicado (Fig. 7). Con un microscopio óptico Olympus BX53 utilizando el objetivo de 40x para su conteo.



Figura 7. Determinación de la concentración de microalgas

d) **Obtención y transporte de individuos de *Pteria sterna***

Los ejemplares de *Pteria sterna* utilizados en el presente estudio fueron recolectados a través de buceo semiautónomo de banco natural de Ecuador frente a la comunidad de Chanduy con coordenadas Latitud 2°24'41.0"S Longitud 80°41'02.7"W (Fig. 8). La recolección de los organismos se hizo en el mes de septiembre del 2015 por pescadores artesanales, a una profundidad de 12 brazas. Un total de 137 organismos adultos fueron colectados con una talla promedio de $(7,9 \pm 0,8 \text{ cm})$ de altura de la concha de los cuales 125 fueron utilizados para la presente investigación, el resto de organismos se utilizó para reposición. Se utilizó una embarcación de fibra de vidrio de 7 metros de largo con un motor Johnson de 75 HP.



Figura 8. Recolección de organismos, A: localización de Banco natural de ostras *P. sterna* frente a la comuna de Chanduy Ecuador, B: muestras de ejemplares de ostras, C: selección de ejemplares de ostras

Los organismos seleccionados fueron transportados por tierra al Laboratorio de Acuicultura de la Universidad Técnica de Manabí sobre esponjas húmedas y humedeciéndolas cada 2 horas con agua de mar (Fig.9). El traslado se realizó en horas de la noche para evitar la desecación de los organismos a las altas temperaturas. El tiempo de traslado duró 16 horas la talla promedio de los organismos de *P. sterna* fue de 79 mm de longitud de la concha.



Figura 9. Transporte de organismos de *P. sterna* en seco con esponjas húmedas

e) Aclimatación y limpieza

Los organismos, al llegar al laboratorio de Acuicultura, fueron colocados en aparejos de cultivo denominado linternas de 5 piso con una dimensión de 40 cm de diámetro por 20 cm de alto entre piso que fueron utilizadas para su aclimatación. Las linternas fueron colocadas en el ambiente natural sujetas a las estructuras del muelle de desembarque del Cantón San Vicente (Provincia de Manabí, Ecuador), cerca del lugar del experimento y se mantuvieron allí por dos días. Luego de dicho periodo fueron trasladada al laboratorio de moluscos, donde se les retiró el sedimento y epibiontes, luego fueron colocados en sus respectivos tanques de acondicionamiento gonádico a temperatura ambiente de 24°C y salinidad de 30 ups (ver Anexo. 4).

3.2.2. Etapa experimental

Esta etapa considera el acondicionamiento de los reproductores, la madurez gonadal y la inducción al desove.

a) Acondicionamiento y manejo experimental de reproductores de ostras *Pteria sterna*

Para este experimento se utilizaron calentadores sumergibles de acuario de 300 W (Aquarium Heater) para mantener la temperatura de (control 24°C), (T1) 26°C, (T2) 28°C y (T3) 30°C respectivamente y un sistema de aireación continuo, utilizando un blower de 2,5 HP. Se colocaron 30 organismos en cajas de plástico de 60 cm x 40 cm, a una densidad de 0.8 organismos por metro cuadrado en cada caja. Las cajas estaban perforadas y se colocaron suspendidas dentro de los tanques, para evitar que estén en contacto con el fondo y poder realizar el respectivo sifoneo de las heces y pseudoheces. Los organismos fueron alimentados desde el inicio hasta el final de experimento de forma continua con una dieta mixta de microalgas *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis sp* y *Chaetoceros gracilis* en proporción 1:1:1 empleando una concentración de 150.000- 180.000 cel/ml (Fig. 10)



Figura 10. Acondicionamiento de reproductores ostras *P. sterna* A: distribución de reproductores en sus respectivas cajas, B: área de acondicionamiento de reproductores

b) Control de parámetros físicos

Para el control de la temperatura durante el periodo de acondicionamiento de los reproductores de ostras *Pteria sterna* se utilizó un termómetro de mercurio de 0 a 100 °C registrándose una vez al día a la misma hora por la mañana en cada tanque de los diferentes tratamientos. La temperatura se mantuvo en control: 24°C, (T1) 26°C, (T2) 28°C, (T3) 30°C

Para el control de la salinidad se utilizó un refractómetro marca VEE GEE de medición de 0 a 50 ups, la salinidad se registró una vez al día a la misma hora por la mañana en cada tanque de los diferentes tratamientos durante el periodo de estudio. Se mantuvo la salinidad a 30 ups.

c) Suministro de microalgas

Las tres especies de microalgas (*Isochrysis galbana*, *Tetraselmis sp* y *Chaetoceros gracilis*) entregadas como alimento fueron mezclada en un solo tanque de capacidad de dos toneladas a una concentración final de 150.000- 180.000 cel/ml, y se suministró un flujo continuo de 25 ml por minuto a cada tanque de acondicionamiento durante el periodo de maduración manteniendo proporción de 1:1:1 (Fig. 11). El conteo se realizó dos veces al día dentro del tanque y a la salida.

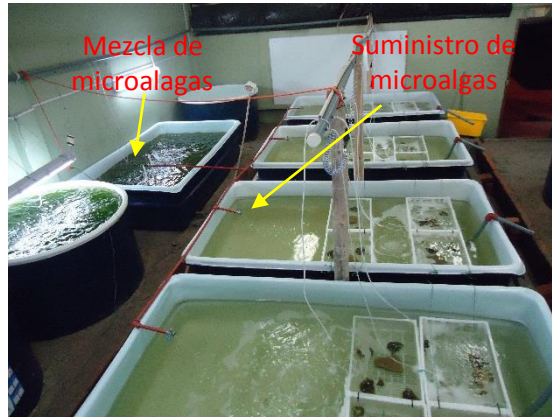


Figura 11. Suministro de microalgas durante el acondicionamiento de *P. sterna*

d) Marcaje de los organismos de ostra *P. sterna*

Los reproductores de ostras de *P. sterna*, una vez retirados los epibiontes, fueron marcados con pintura no tóxica para facilitar su identificación y determinar si hubo crecimiento en peso o longitud durante el experimento (Fig. 12).



Figura 12. Marcaje de reproductores de ostras *P. sterna*, A: marcaje con pintura no tóxica, B: distribución de organismos en los tanques de acondicionamiento

e) Tratamiento térmico para inducir a la madurez gonadal

Los organismos fueron sometidos a cuatro tratamientos térmicos para estimular la maduración de los gametos en el acondicionamiento gonádico, en el tanque control se mantuvo la temperatura ambiente durante todo el periodo de estudio: Control 24°C, (T1) 26°C, (T2) 28°C, y (T3) 30°C. El control (24°C) mantuvo la temperatura constante a lo largo del experimento, en tanto los demás tratamientos (T1, T2, T3) incrementaron gradualmente la temperatura a razón

de 2 grados centígrados cada dos días hasta alcanzar el valor meta, lo cual fue mantenido por 29 días a las temperaturas indicadas. En cada tratamiento se conservaron las mismas características de calidad de agua, aireación constante y salinidad de 30 ups. La toma de decisión de incrementar la temperatura a razón de 2 °C en los diferentes tratamientos en un periodo de dos días se dio tomando en cuenta que la *Pteria sterna* en algunas regiones es capaz de tolerar un amplio rango de temperatura en ambiente natural para alcanzar la madurez sexual y el desove Márquez *et al.* (2000).

3.2.3. Evaluación de la madurez gonadal de las ostras perlíferas *Pteria sterna*

Para la evaluación de la madurez gonadal se sacrificaron tres organismos por tratamiento cada 7 días de las ostras perlíferas acondicionadas a los diferentes tratamientos. Con la muestra de gónadas en fresco se realizó un frotis, que consistió en tomar una pequeña porción de gónada y colocarla sobre un cubre objeto, se le añadió 2 gotas de agua y se cubrió con un portaobjeto, observando el tipo de gametos (masculino o femenino). Para las mediciones del diámetro de los ovocitos (30 por cada hembra) se obtuvo fotos digitalizadas con una cámara instalada al microscopio óptico Olympus BX53 con contraste de fase con sistema de captura de imagen digital (20x y 40x) las cuales fueron posteriormente analizadas con el programa ImageJ (Fig. 13). Cuando los ovocitos presentaron un diámetro promedio de (39 a 40 μm) se realizó la inducción al desove.

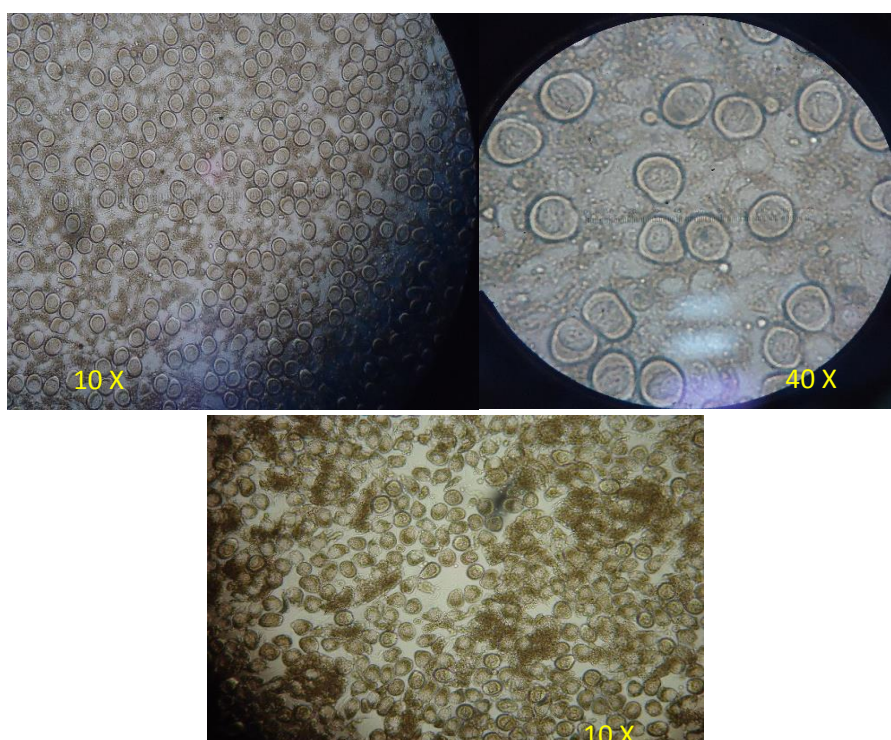


Figura 13. Observación y medición del diámetro de ovocitos en fresco de *P. sterna*

3.3. Evaluación de los parámetros morfo-fisiológicos

Para evaluar el crecimiento de los organismos a las diferentes temperaturas de acondicionamiento, así como para la determinación del índice morfo-fisiológico, índice de condición general, índice gonadosomático, índice de rendimiento muscular e índice de manto se sacrificaron tres organismos por cada tratamiento.

Para la medición del crecimiento se evaluaron las siguientes medidas morfométricas: longitud total, altura y espesor de los organismos, en milímetros (mm), con un grado de precisión de 0,01 mm utilizando un calibrador Vernier (Fig. 14), el peso total se lo obtuvo en gramos (g) con un grado de precisión de 0,01 g utilizando una balanza electrónica marca CASIO.

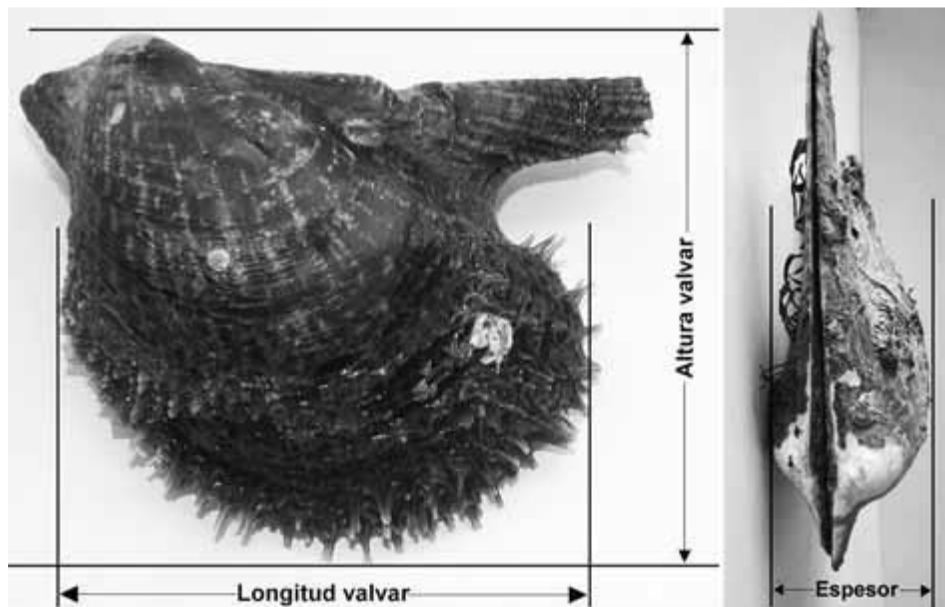


Figura 14. Medidas morfológicas tomadas a los ejemplares de concha perlífera *P. sterna*, Tomado de Cáceres-Puig (2012)

3.3.1. Parámetros morfo-fisiológicos

Los organismos recolectados en cada muestreo fueron medidos con vernier (± 0.1 mm) para registrar la altura de la concha y pesados en fresco con todo y concha en una balanza (± 0.1 g). Se realizó el marcaje individual de los organismos individual, para determinar si durante el experimento se presentó un incremento en peso, el resultado obtenido se calculó con la fórmula propuesta por Cho *et al.* (1985).

$$\text{IPIP: } (X_o - X_f / X_o) * 100$$

Dónde:

IPIP = Índice de Proporción de Incremento en Peso (%)

X_o = Peso individual inicial

X_f = Peso individual final

Posteriormente, los organismos fueron diseccionados para extraer la gónada, glándula digestiva, músculo aductor y manto (Fig.15). De cada tejido se registró el peso húmedo (\pm 0.1 g) y los datos se emplearon para calcular los siguientes índices, tomados y modificados de Arellano-Martínez *et al.* (2004) para *Nodipecten subnodosus*. Una vez que se calcularon estos índices, se tomó una porción de la gónada para fijación en solución Davidson por 48 horas para análisis histológico.

- *Índice de condición general (ICG) = $MV / CO \times 100$*
- *Índice gonadosomático (IGS) = $GO / MV \times 100$*
- *Índice de rendimiento muscular (IRM) = $MU / MV \times 100$*
- *Índice de manto (IMA) = $MA / MV \times 100$*

Dónde:

MV = Peso de la masa visceral (g);

CO = Peso del organismo con concha (g);

MU = Peso del músculo aductor (g);

GO = Peso de la gónada (g);

MA = Peso del manto (g)

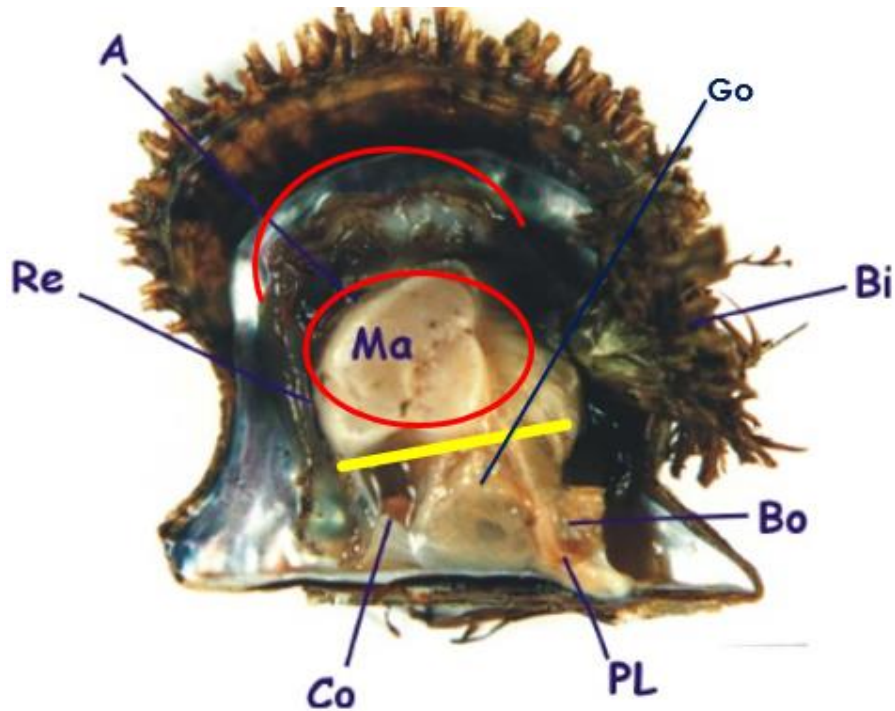


Figura 15. Anatomía interna de la ostra perlífera *Pteria sterna*. A= ano, Re= recto, Ma = musculo aductor, Co = corazón, Go = gónada, PL = palpos labiales, Bo = boca, Bi = biso.

3.4. Análisis de la calidad gonadal

Para el análisis histológico se sacrificaron cinco organismos aleatoriamente luego de la extracción, y posteriormente tres organismos cada 7 días para cada tratamiento de acondicionamiento. Se tomaron muestras de gónadas, glándula digestiva, musculo aductor y manto para calcular los índices morfo-fisiológico de cada tratamiento, luego se tomó el 10% de la muestra de gónada y se observó al microscopio para la medición del diámetro de los ovocitos y análisis histológico (Fig. 16). De acuerdo con el análisis histológico realizado a los primeros cinco organismos de *Pteria sterna* los resultados mostraron que estos se encontraban en estadio de desarrollo tanto macho como hembra no se pudo observar organismos en estado de madurez.

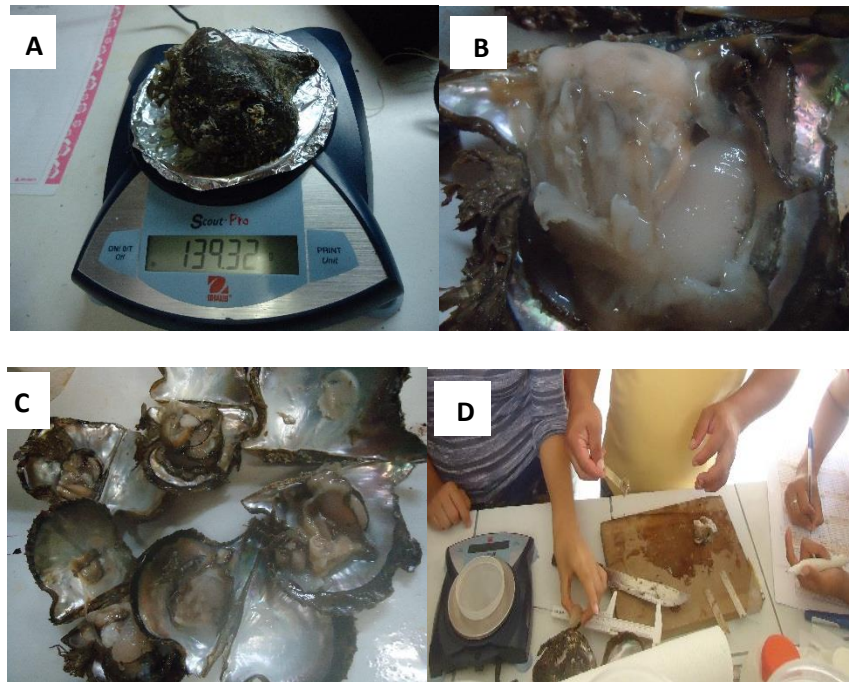


Figura 16. Disección de organismos y toma de muestra, (A) Biometría de organismos de *P. sterna*, (B, C) disección de organismos experimentales, (D) Toma de muestra de tejido para histología

Se siguió el método convencional propuesto por Zuñiga (1998). Las muestras de gónadas previamente fijadas en formol al 10% fueron deshidratadas en alcoholes de graduación ascendente (70 a 100%), incluidas en xilol y posterior embebidas en Paraplast-TX[®]. Se efectuaron cortes a 8 μ m en micrótopo de rotación (marca Leika modelo 820 con adaptador de cuchilla descartable de alto perfil) teñidas con hematoxilina-eosina, las laminillas se observaron bajo el microscopio óptico Olympus BX53 con contraste de fase con sistema de captura de imagen digital, (20x y 40x) para su análisis posterior y estos a su vez analizados con el programa ImageJ, para la determinación del sexo y los estadios de madurez (Zuñiga (1998), (ver Anexos. 2 y 3).

3.4.1. Inducción al desove por “shock” térmico

Después de cuatro semanas de acondicionamiento, a los reproductores sexualmente maduros se les realizó una estimulación física en el traslado de 6 organismos por 30 minutos a envases plásticos de 30 litros con agua de mar filtrada a 1 μ m a una salinidad de 30 ups y a una temperatura gradual de 15, 17, 21°C. Pasado este tiempo nuevamente fueron colocadas las ostras a la temperatura de acondicionamiento inicial. Se realizaron tres réplicas de cada uno

de los tratamientos de acondicionamiento (Fig. 17). El proceso se repitió por 3 veces hasta obtener el desove. La temperatura fue medida de forma continua durante el proceso. Los organismos estuvieron sin alimentación durante el proceso de inducción al desove para evitar la formación de heces y pseudoheces que puedan contaminar los ovocitos. Finalmente se determinó a que temperatura se logró obtener desove de los diferentes tratamientos.

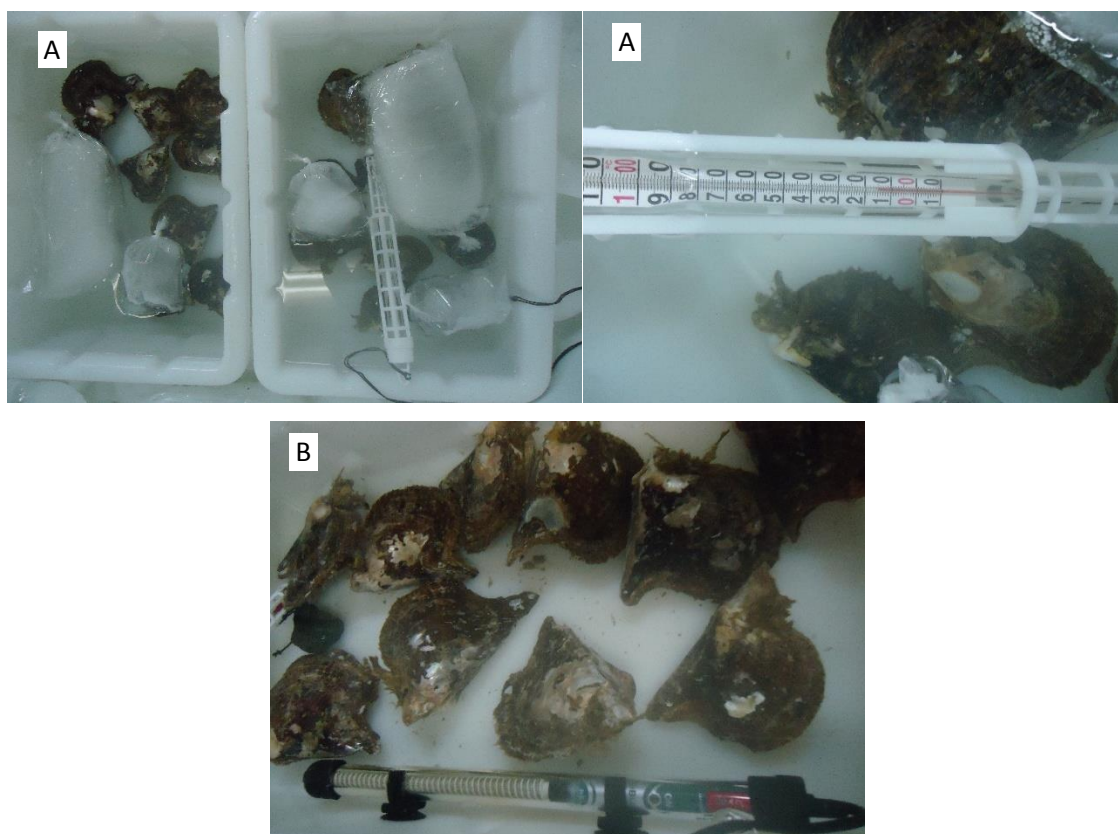


Figura 17. Inducción al desove por “shock” térmico a la ostra *P. sterna*: A) Control horario de la disminución de la temperatura con hielo; B) Incremento de la temperatura con calentadores sumergibles.

Luego de realizar el desove y obtener la liberación de los gametos los espermios mostraron una tonalidad lechosa, los reproductores de ostras fueron retirados de las cubetas de desove y colocados en los respectivos tanques de acondicionamiento, posteriormente se realizó el tamizado de los óvulos con un tamiz de 100 μm , con la finalidad de eliminar las heces y otros residuos orgánicos. Luego estos óvulos fueron colocados en un beaker de 1000 ml se completó el volumen con agua de mar tratada, posterior se tomó una muestra con una pipeta automática de 0,5 ml la cual fue y colocada la muestra en una cámara de Sedgewick Rafter para el conteo de individuo. Los óvulos fueron colocados en un tanque de 200 litros de

capacidad, se utilizó agua de mar filtrada a 1 μm y esterilizada con lámpara UV se mantuvieron a 24 °C de temperatura (ver Anexo. 5).

3.5. Análisis Estadístico de datos

Se realizó la prueba Kolmogorov-Smirnov, para detectar la normalidad y homocedasticidad de varianzas y así definir el tipo de pruebas estadísticas a utilizar ya sea paramétricas o no paramétricas. Una vez confirmado anterior, se aplicaron ANOVAS de una vía para detectar diferencias significativas en los indicadores antes mencionados. En el caso de que existieran diferencias significativas se utilizó una prueba *post hoc* de Tukey modificado por Kramer para determinar diferencias específicas en los indicadores entre los diferentes tratamientos. Para el análisis estadístico de la data se utilizaron los programas Minitab16[®], SPSS[®] Statistics 21. El nivel de significancia se fijó en $\alpha = 0.05$ para todos los análisis.

IV. RESULTADOS

4.1. Comparación del efecto de cuatro temperaturas (Control 24, 26, 28 y 30 °C) en el acondicionamiento gonádico (madurez sexual, diámetro ovocitario) en condiciones de laboratorio de la ostra perlífera *Pteria sterna*.

4.1.1. Evaluación de la temperatura y salinidad

Los resultados muestran pequeñas variaciones diarias de temperatura del agua en los diferentes tratamientos durante el periodo de estudio. En el control (24°C), tratamiento T1 (26°C), y tratamiento T3 (30°C) se registraron variaciones de $\pm 0,3$ °C, en tanto el T2 (28°C) presentó una variación de $\pm 0,25$ °C (Tabla. 3). No se registró variación de salinidad en los diferentes tratamientos dado que mantuvo un valor constante de 30 ups (Tabla .4).

Tabla 3. Registro promedio de temperaturas del agua en los diferentes tratamientos de acondicionamiento de reproductores de *Pteria sterna* durante el periodo de estudio

TEMPERATURAS			
Control 24°C	T1 (26°C)	T2 (28°C)	T3 (30°C)
$\bar{X} (\pm 2ES)$	$\bar{X} (\pm 2ES)$	$\bar{X} (\pm 2ES)$	$\bar{X} (\pm 2ES)$
24,0 \pm 0,6	26,0 \pm 0,3	28,0 \pm 0,3	29,8 \pm 0,3

Tabla 4. Registro promedio de salinidad del agua en los diferentes tratamientos de acondicionamiento de reproductores de *Pteria sterna* durante el periodo de estudio

SALINIDAD ups			
Control 24°C	T1 (26°C)	T2 (28°C)	T3 (30°C)
30	30	30	30

4.1.2. Madurez sexual

Empleando la clasificación del ciclo gonádico propuesto por García Domínguez *et al* (1996) durante el periodo de estudio de acondicionamiento gonádico de la ostra *Pteria sterna* se pudo observar organismos en estado de desarrollo (DES), maduro (MAD) y desove parcial (DSP), no se pudo observar organismos en post-desove (PSD) en ninguno de los tratamientos (Fig. 18). En los ejemplares hembra el control (24°C) y T3 (30°C), se presentaron tres estadios mencionados, siendo que en el control (24°C) los valores fueron de 2 y 17%, y en el segundo de T3 (30°C) fue de 2 y 17%. En los tratamientos T1 (26°C) y T2 (28°C) sólo fue posible observar el estadio maduro.

En los ejemplares macho, de forma similar a las hembras, se presentaron los tres estadios de madurez: desarrollo, maduro y desove parcial. A la temperatura del T1 (26°C) y T2 (28°C), se presentaron valores altos de estadio maduro. En el T1 (26°C) los valores fueron de 6 y 50%, y en T2 (28°C) de 5 y 42 %, respectivamente. En el control (24°C) y T3 (30°C) fue posible observar bajo número de organismos en estadio maduro (Fig. 19)

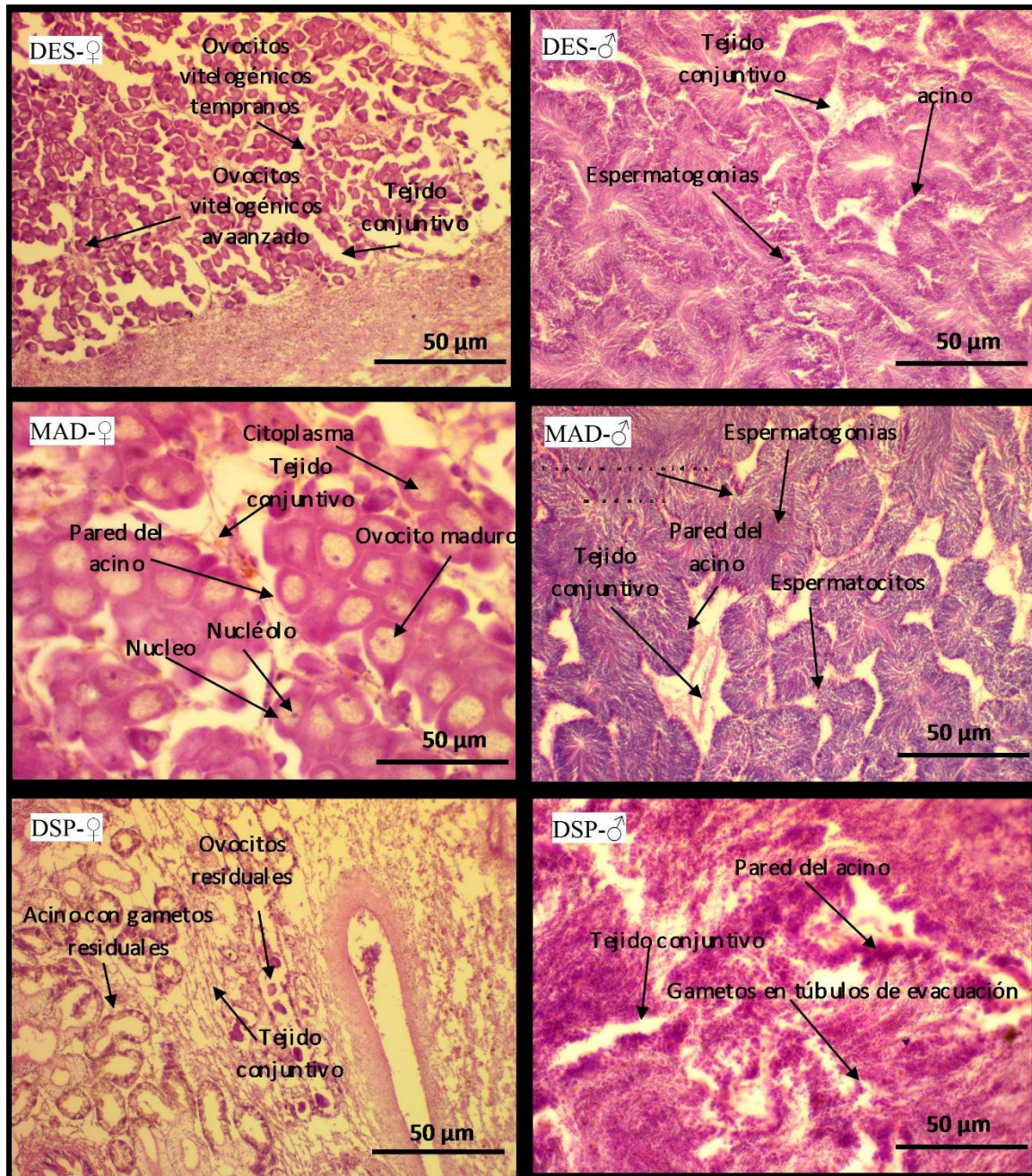


Figura 18. Microfotografía de gónada (40X) de *P. sterna* teñida con hematoxilina-eosina donde se muestran diferentes estadios de madurez: DES= Desarrollo, MAD= Maduro, DSP= Desove Parcial.

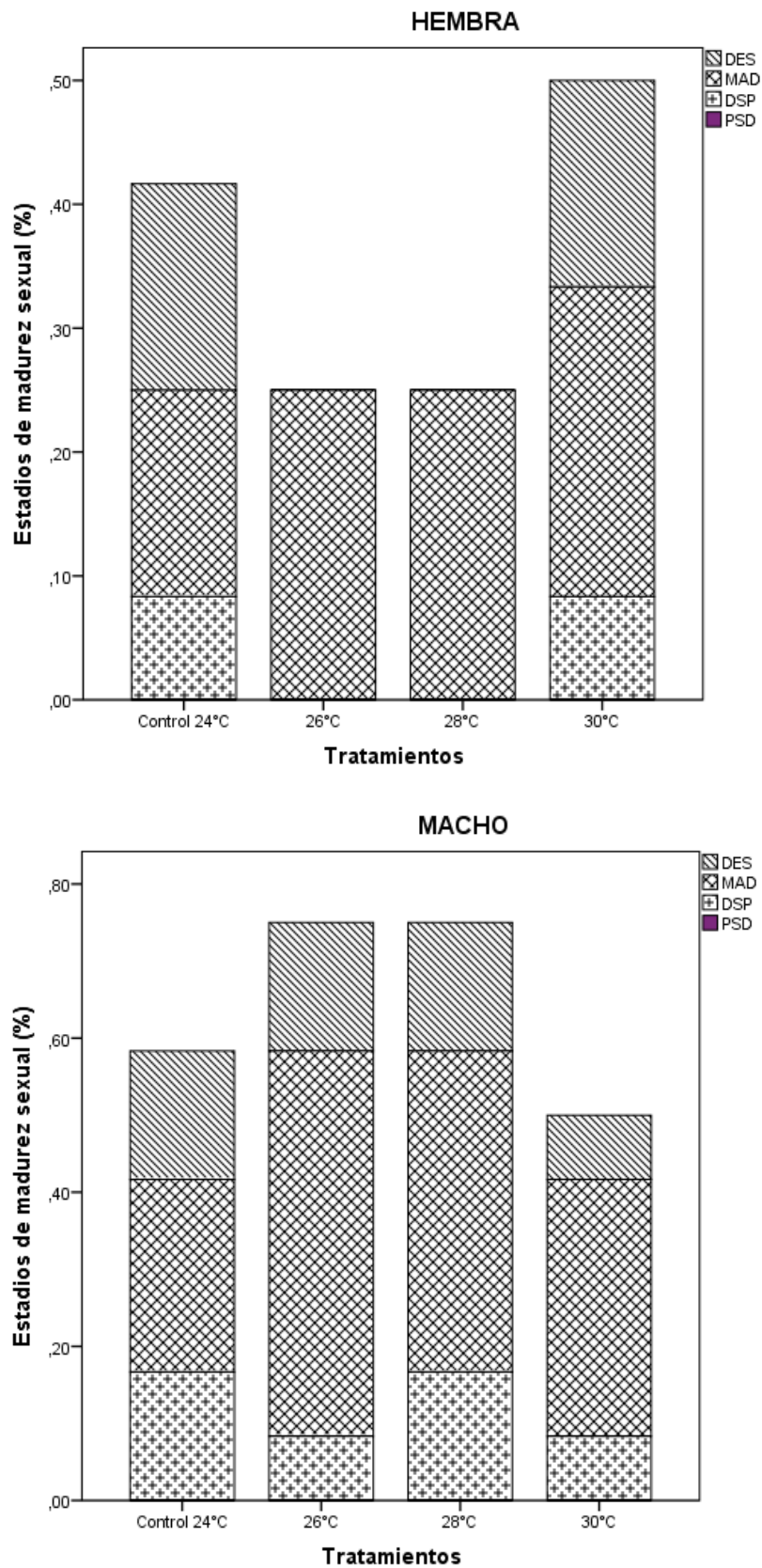


Figura 19. Porcentaje acumulado de estadios de madurez sexual de hembras y macho de los diferentes tratamientos de acondicionamiento de *P. sterna*: DES= Desarrollo, MAD= Maduro, DSP= Desove Parcial, PSD= Post-desove.

4.1.3. Diámetro de ovocitos

El diámetro promedio de ovocitos durante el periodo de estudio presentó valores entre $28,47 \pm 3,5$ y $38,72 \pm 3,3$ μm con diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$) (Tabla 5). Los menores valores para el control (24°C) se observaron en la tercera semana $28,47 \pm 3,5$ μm , en tanto los mayores estuvieron en la segunda semana $33,04 \pm 3,7$ μm . En el T1 (26°C) se observó una disminución del diámetro promedio desde la primera semana alcanzando el menor valor la cuarta semana con $29,76 \pm 3,8$ μm . El T2 (28°C) presentó los valores más altos durante todo el periodo de acondicionamiento gonádico alcanzando un valor máximo en la segunda semana $38,72 \pm 3,3$ μm , y disminuyendo en las semanas posteriores. El T3 (30°C) tuvo un incremento de diámetro promedio entre la primera y la tercera semana con una pequeña disminución en la cuarta semana, sin embargo, sus valores se mantuvieron entre las $31,0 \pm 3,8$ y $33,95 \pm 4,0$ μm .

Tabla 5. Análisis de varianza del diámetro de ovocitos promedios ($\bar{x} \pm 2\text{ES}$), en *P. sterna* en los diferentes días de acondicionamiento gonádico control: 24°C , (T1) 26°C , (T2) 28°C , 30°C), durante 29 días de estudio.

Tratamientos de acondicionamiento	N. de ovocitos	Día 7 $\bar{x} (\pm 2\text{ES})$	Día 14 $\bar{x} (\pm 2\text{ES})$	Día 21 $\bar{x} (\pm 2\text{ES})$	Día 29 $\bar{x} (\pm 2\text{ES})$
Control (24°C)	25	$30,57 \pm 4,0^{\text{b}}$	$33,04 \pm 3,7^{\text{b}}$	$28,47 \pm 3,5^{\text{b}}$	$30,99 \pm 2,8^{\text{ac}}$
Tratamiento (26°C)	25	$34,24 \pm 4,1^{\text{a}}$	$30,15 \pm 3,2^{\text{c}}$	$31,33 \pm 4,4^{\text{a}}$	$29,76 \pm 3,8^{\text{c}}$
Tratamiento (28°C)	25	$36,79 \pm 4,0^{\text{a}}$	$38,72 \pm 3,3^{\text{a}}$	$33,99 \pm 3,2^{\text{a}}$	$34,47 \pm 3,3^{\text{a}}$
Tratamiento (30°C)	25	$31,0 \pm 3,8^{\text{b}}$	$30,07 \pm 3,3^{\text{c}}$	$33,95 \pm 4,0^{\text{a}}$	$32,80 \pm 3,2^{\text{ab}}$

Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas, $P < 0.05$.

4.2. Evaluar el efecto de tres temperaturas de “shock” térmico (15 , 17 , 21°C) sobre el desove de la ostra perlífera *Pteria sterna*, en condiciones de laboratorio

4.2.1. Desove, desarrollo embrionario y larval

De los 4 tratamientos donde los organismos de *P. sterna* produjeron desoves, tanto machos como hembras, solo se pudo observar respuesta positiva en dos de tres réplicas en el T2

(28°C). Este tratamiento fue el único que respondió al estímulo de shock térmico, de temperatura descendente a 17°C a los 20 minutos de exposición, obteniéndose la liberación de gametos. El tamaño promedio de los óvulos fue $43,08 \pm 0,69 \mu\text{m}$ (Fig. 20). La fertilización ocurrió aproximadamente 25 minutos luego del contacto entre los gametos, donde se pudo apreciar la formación del primer cuerpo polar a 28°C. La formación de larvas trocóforas activas ocurrió entre 10-12 h. Luego de transcurrido 23 a 24 horas se observaron las primeras larvas D, con una altura y longitud de la valva de $37,69 \pm 1,52 \mu\text{m}$ y $47,31 \pm 0,82 \mu\text{m}$ a 28°C. En cuanto al promedio de larvas obtenidas el valor más alto se observó en el T2 réplica dos con $556,000 \pm 11,52$ y el valor más bajo en la réplica uno del T2 con $500,000 \pm 10,95$ larvas por 1000 ml. Las larvas fueron colocadas en tanque de 500 litros a 24° C con agua de mar tratada, filtrada con filtro de hilo de algodón a 5 μm , clorinada e irradiada con lámpara UV.



Figura 20. Desarrollo embrionario de *P. sterna* en las primeras 24 horas: (A) óvulo (B) cigoto; (C) larva D. cp: cuerpo polar; pa: polo animal; pv: polo vegetal

4.3. Calidad gonádica en ostra *Pteria sterna*, mediante las variaciones en el índice de condición general, índice gonadosomático, índice de rendimiento muscular, e índice del manto.

4.3.1. Índice de condición general

El análisis de varianza de los índices de condición general (ICG), en *P. sterna* mostró que hubo diferencias significativas entre los diferentes tratamientos (26, 28, 30°C) ($P < 0.05$) en los 29 días de acondicionamiento. El control 24°C no presentó diferencia significativa ($P > 0.05$) (Tabla 6, Fig. 21). El control (24°C) presentó valores casi constantes $20,46 \pm 5,7 - 23,41 \pm 3,9$ a partir de la primera y segunda semana, disminuyendo a la cuarta semana $20,44 \pm 2,5$ siendo de menor incremento entre todos los tratamientos. El T2 (28°C) y el T3 (30°C), presentaron valores más altos con incremento entre $30,98 \pm 3$ y $31,92 \pm 5,5$ a partir de la

tercera semana, disminuyendo en la cuarta semana $21,77 \pm 5,4$ y $20,30 \pm 2$ estos tratamientos fueron los de mayor incremento entre todos los tratamientos. El T1 (26°C) presentó valores altos $27,10 \pm 2,5$ y $27,20 \pm 0,7$ las primeras dos semanas disminuyendo en las semanas posteriores.

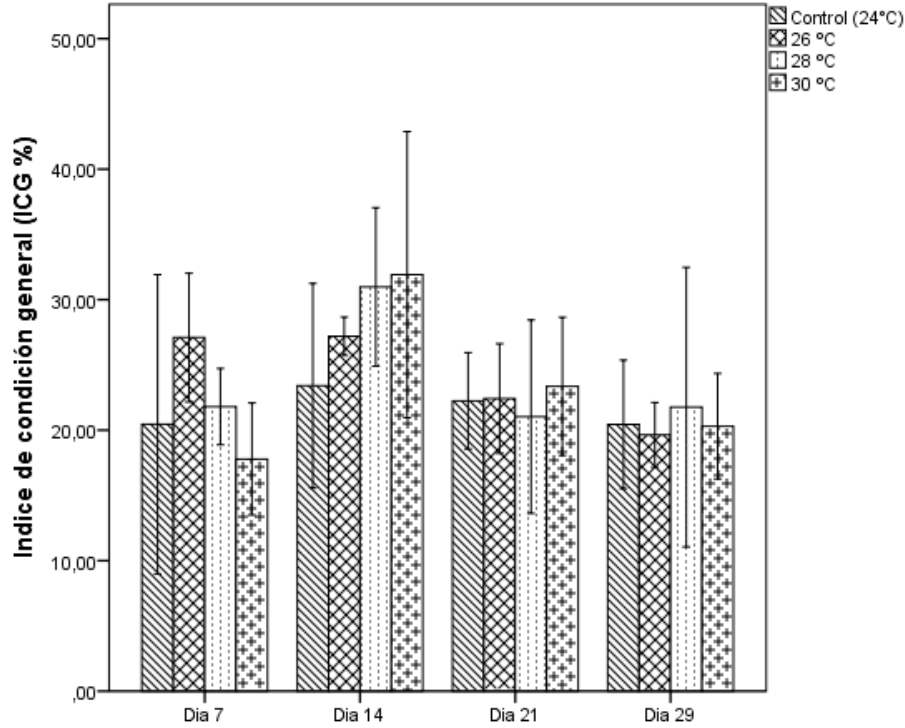


Figura 21. Promedios porcentuales de los índices de condición general (ICG) ($\bar{x} \pm 2\text{ES}$) de *P. sterna* entre los diferentes tratamientos de acondicionamiento durante la maduración sexual de 29 días en condiciones de laboratorio

Tabla 6. Análisis de varianza de los índices de condición general (ICG) ($\bar{x} \pm 2\text{ES}$), en *P. sterna* entre los diferentes tratamientos de maduración gonadal control: 24°C , (T1) 26°C , (T2) 28°C , (T3) 30°C , durante 29 días de estudio

Tratamientos de acondicionamiento	N. Org	Día 7 $\bar{x} (\pm 2\text{ES})$	Día 14 $\bar{x} (\pm 2\text{ES})$	Día 21 $\bar{x} (\pm 2\text{ES})$	Día 29 $\bar{x} (\pm 2\text{ES})$
Control (24°C)	3	20,46 ± 5,7 ^a	23,41 ± 3,9 ^a	22,25 ± 1,8 ^a	20,44 ± 2,5 ^a
Tratamiento (26°C)	3	27,10 ± 2,5 ^a	27,20 ± 0,7 ^a	23,43 ± 2,1 ^b	19,65 ± 1,2 ^b
Tratamiento (28°C)	3	21,80 ± 1,5 ^{ab}	30,98 ± 3 ^a	21,04 ± 3,7 ^b	21,77 ± 5,4 ^{ab}
Tratamiento (30°C)	3	17,79 ± 2,2 ^b	31,92 ± 5,5 ^a	23,35 ± 2,7 ^{ab}	20,30 ± 2 ^b

Letras diferentes en filas indican diferencias significativas, $P < 0.05$.

4.3.2. Índice gonadosomático

El análisis de varianza del índice gonadosomático (IGS), en *P. sterna* mostró que hubo diferencias significativas entre los diferentes tratamientos control (24°C), T1 (26°C), T2 (28°C) ($P < 0.05$) en los días de acondicionamiento. El T3 (30 °C) no presentó diferencias significativas ($P > 0.05$) (Tabla 7, Fig. 22). El T1 (26°C) presentó valores bajos a partir de la primera y segunda semana $9,84 \pm 1,9 - 9,69 \pm 0,3$ incrementando su valor la cuarta semana $14,51 \pm 1,1$ siendo de menores valores entre todos los demás tratamientos. El control (24°C) y el T2 (28°C) presentaron valores altos a partir de la segunda semana $14,28 \pm 1,6$ y $17,26 \pm 0,9$ respectivamente, disminuyendo a partir de la cuarta semana $11,54 \pm 1,3$ y $13,54 \pm 0,2$ solo estos tratamientos presentaron disminución del IGS entre todos los tratamientos. El T3 (30°C) presentó valores constantes de incremento $12,65 \pm 1,5 - 14,67 \pm 1,7 - 13,93 \pm 2,5$ y $15,37 \pm 2,2$ durante el acondicionamiento a diferencia de los demás tratamientos que presentaron variaciones de incremento y disminución en las semanas posteriores.

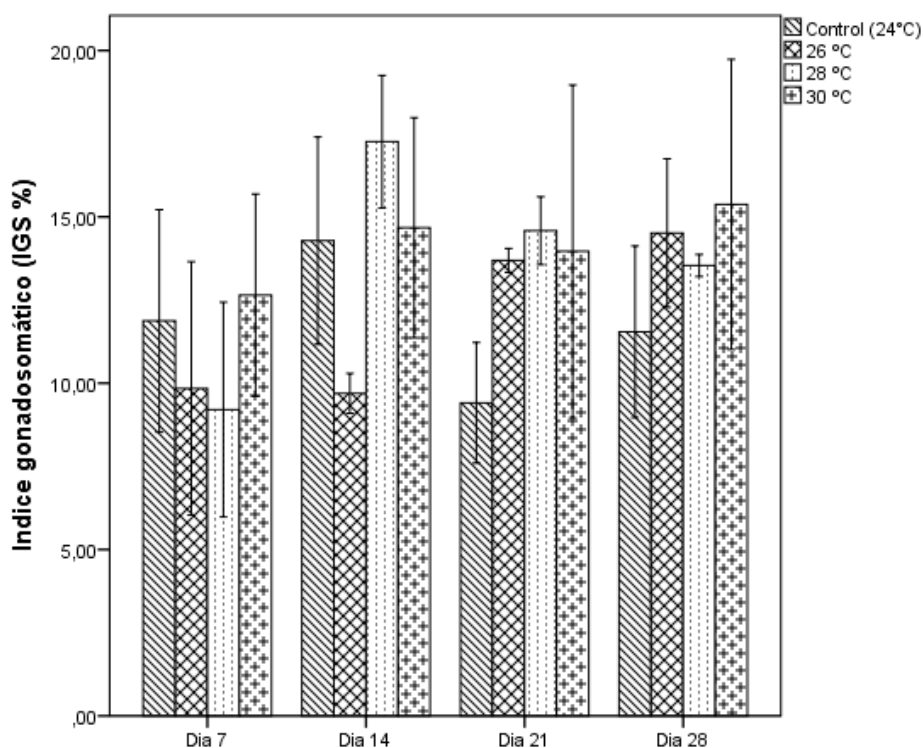


Figura 22. Promedios porcentuales de los índices gonadosomático (IGS) ($\bar{x} \pm 2ES$) de *P. sterna* entre los diferentes tratamientos durante la maduración sexual de 29 días en condiciones de laboratorio

Tabla 7. Análisis de varianza de los índices gonadosomático (IGS) ($\bar{x} \pm 2ES$), en *P. sterna* entre los diferentes tratamientos de acondicionamiento gonádico Control: 24°C, (T1) 26°C, (T2) 28°C, (T3) 30°C), durante 29 días

Tratamientos de acondicionamiento	N. Org	Día 7 $\bar{x} (\pm 2ES)$	Día 14 $\bar{x} (\pm 2ES)$	Día 21 $\bar{x} (\pm 2ES)$	Día 29 $\bar{x} (\pm 2ES)$
Control (24°C)	3	11,87 \pm 1,7 ^{ab}	14,28 \pm 1,6 ^a	9,41 \pm 0,9 ^b	11,54 \pm 1,3 ^{ab}
Tratamiento (26°C)	3	9,84 \pm 1,9 ^b	9,69 \pm 0,3 ^b	13,69 \pm 0,2 ^a	14,51 \pm 1,1 ^a
Tratamiento (28°C)	3	9,20 \pm 1,6 ^c	17,26 \pm 0,9 ^a	14,59 \pm 0,5 ^b	13,54 \pm 0,2 ^b
Tratamiento (30°C)	3	12,65 \pm 1,5 ^a	14,67 \pm 1,7 ^a	13,96 \pm 2,5 ^a	15,37 \pm 2,2 ^a

Letras diferentes en filas indican diferencias significativas, $P < 0.05$.

4.3.3. Índice de rendimiento muscular

El análisis de varianza de los índices de rendimiento muscular (IRM), en *P. sterna* mostró diferencias significativas entre los diferentes tratamientos control: 24°C, (T1) 26°C, (T2) 28°C, (T3) 30°C) ($P < 0.05$) en los 29 días de acondicionamiento gonádico (Tabla 8 y Fig. 23). El tratamiento T1 y T2 presentaron bajos valores 11,85 \pm 0,6 y 13,28 \pm 1,4 en la segunda semana, incrementándose a la tercera semana 23,14 \pm 4,3 y 19,61 \pm 2,2 siendo estos tratamientos los de mayor incremento entre todos los demás tratamientos. El control (24°C) y el T3 (30°C), presentaron tendencias y valores similares con incremento entre 12,17 \pm 0,5 a 22,78 \pm 1,3 y 12,17 \pm 0,5 a 22,95 \pm 3,7 a partir de la segunda semana respectivamente.

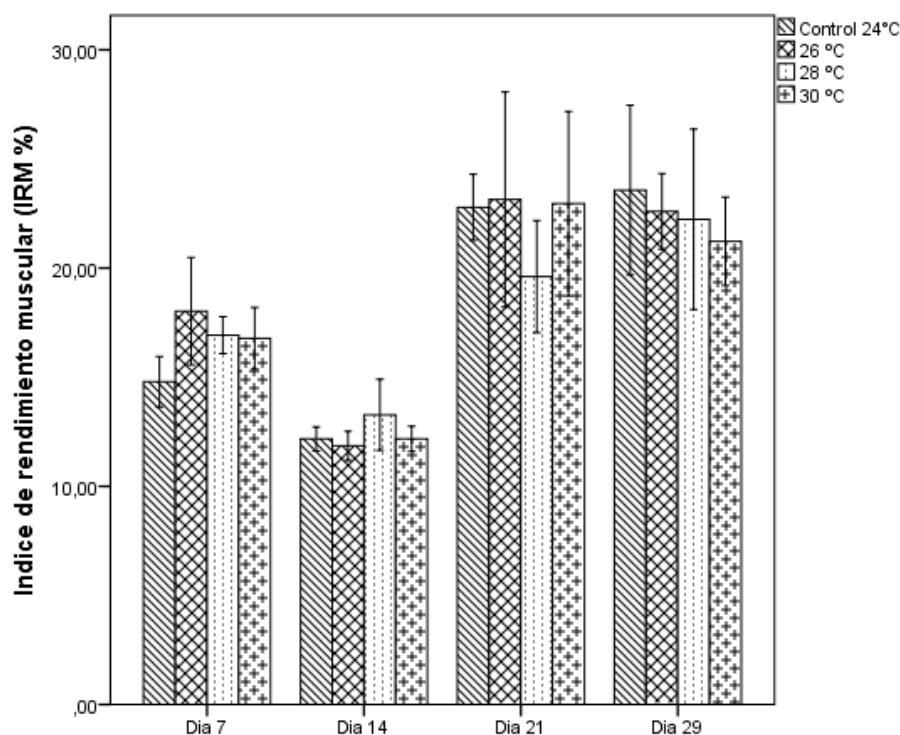


Figura 23. Promedios porcentuales de los índices de rendimiento muscular (IRM) ($\bar{x} \pm 2ES$) de *P. sterna* entre los diferentes tratamientos durante la maduración sexual de 29 días en condiciones de laboratorio

Tabla 8. Análisis de varianza de los índices de rendimiento muscular (IRM) ($\bar{x} \pm 2ES$), en *P. sterna* entre los diferentes tratamientos de acondicionamiento gonádico Control: 24°C, (T1) 26°C, (T2) 28°C, (T3) 30°C, durante 29 días

Tratamientos de acondicionamiento	N. Org	Día 7 $\bar{x} (\pm 2ES)$	Día 14 $\bar{x} (\pm 2ES)$	Día 21 $\bar{x} (\pm 2ES)$	Día 29 $\bar{x} (\pm 2ES)$
Control (24°C)	3	14,79 ± 0,9 ^b	12,17 ± 0,5 ^b	22,78 ± 1,3 ^a	23,57 ± 3,4 ^a
Tratamiento (26°C)	3	18,02 ± 2,1 ^{ab}	11,85 ± 0,6 ^b	23,14 ± 4,3 ^a	22,60 ± 1,5 ^a
Tratamiento (28°C)	3	16,92 ± 0,7 ^{ab}	13,28 ± 1,4 ^b	19,61 ± 2,2 ^a	22,23 ± 3,6 ^a
Tratamiento (30°C)	3	16,78 ± 1,2 ^{bc}	12,17 ± 0,5 ^c	22,95 ± 3,7 ^a	21,23 ± 1,8 ^{ab}

Letras diferentes en filas indican diferencias significativas, $P < 0.05$.

4.3.4. Índice de manto

El análisis de varianza del índice de manto (IMA), en *P. sterna* mostró que no hubo diferencias significativas entre tres tratamientos (control, 26, 28°C) ($P > 0.05$) en los días de

acondicionamiento gonádico, sin embargo, el T3 (30°C) si presentó diferencia significativa durante el periodo de estudio ($P < 0.05$) con respecto a los otros tratamientos (Tabla 9 y Fig. 24). El control (24°C) y el T3 (30°C), presentaron valores más altos de $19,00 \pm 0,5$ y $18,64 \pm 1,3$ a partir de la primera semana, disminuyendo en las semanas posteriores $14,98 \pm 3,3$ y $12,57 \pm 1,4$ siendo los de mayor incremento entre todos los demás tratamientos. El T2 (28°C), presentó valores bajos casi constantes de incremento de $12,61 \pm 1,0$ a $12,51 \pm 1,2$ a partir de la segunda y tercera semana, alcanzando su mayor valor la cuarta semana $17,06 \pm 4,3$ este tratamiento fue el que presentó el menor incremento en comparación con los demás tratamientos.

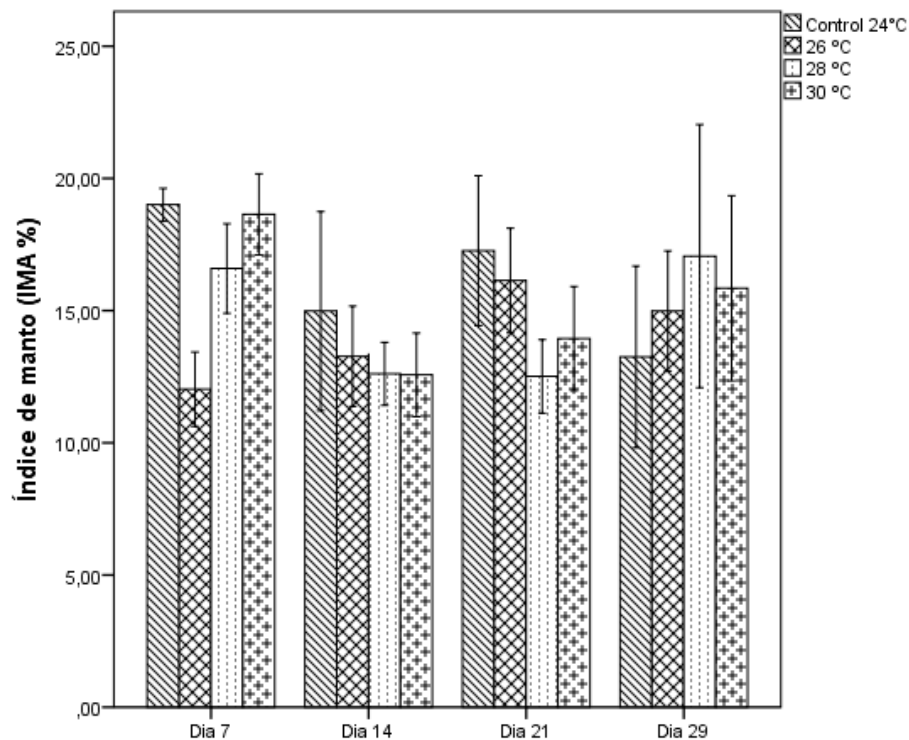


Figura 24. Promedios porcentuales de los índices de manto (IMA) ($\bar{x} \pm 2ES$) de *P. sterna* entre los diferentes tratamientos durante la maduración sexual de 29 días en condiciones de laboratorio

Tabla 9. Análisis de varianza de los índices del manto (IMA) ($\bar{x} \pm 2ES$), en *P. sterna* entre los diferentes tratamientos de acondicionamiento gonádico control: 24°C, (T1) 26°C, (T2) 28°C, (T3) 30°C, durante 29 días

Tratamientos de acondicionamiento	N. Org	Día 7 $\bar{x} (\pm 2ES)$	Día 14 $\bar{x} (\pm 2ES)$	Día 21 $\bar{x} (\pm 2ES)$	Día 29 $\bar{x} (\pm 2ES)$
Control (24°C)	3	19,00 \pm 0,5 ^a	14,98 \pm 3,3 ^a	17,26 \pm 2,5 ^a	13,25 \pm 2,1 ^a
Tratamiento (26°C)	3	12,03 \pm 1,2 ^a	13,27 \pm 1,6 ^a	16,14 \pm 1,7 ^a	14,98 \pm 1,9 ^a
Tratamiento (28°C)	3	16,60 \pm 1,5 ^a	12,61 \pm 1,0 ^a	12,51 \pm 1,2 ^a	17,06 \pm 4,3 ^a
Tratamiento (30°C)	3	18,64 \pm 1,3 ^a	12,57 \pm 1,4 ^b	13,94 \pm 1,7 ^{ab}	15,85 \pm 3,0 ^{ab}

Letras diferentes en filas indican diferencias significativas, $P < 0.05$.

4.3.5. Incremento en peso

El análisis de varianza de incremento en peso (g) durante el acondicionamiento a la maduración sexual mostró diferencias significativas entre los diferentes tratamientos (control (24); 26, 28, 30°C) ($P < 0.05$) (Tabla 10 y Fig. 25). El control (24°C) presentó valores casi constantes de incremento (0,91-0,94 \pm 0,2 g) en las tres primeras semanas, disminuyendo en la cuarta semana (0,88 g), siendo el de menor incremento entre todos los tratamientos. El T1 (26°C) y el T3 (30°C), presentaron tendencias y valores similares con incremento entre 1,06 \pm 0,3 a 1,14 \pm 0,3 g y 0,99 \pm 0,1 a 1,14 \pm 0,1, respectivamente. El T2 (28°C) presentó valores de incremento de 1,23 \pm 0,3 y 1,31 \pm 0,2 g con diferencias significativas con los otros tratamientos.

Tabla 10. Análisis de varianza de incremento en peso promedio (g) semanal de *P. sterna* a diferentes temperaturas de acondicionamiento gonádico durante el periodo de estudio

Días de acondicionamiento	N. Org	Control 24°C $\bar{x} (\pm 2ES)$	26°C $\bar{x} (\pm 2ES)$	28°C $\bar{x} (\pm 2ES)$	30°C $\bar{x} (\pm 2ES)$
Día 7	18	0,91 \pm 0,2 ^b	1,06 \pm 0,3 ^b	1,23 \pm 0,3 ^a	0,99 \pm 0,1 ^a
Día 14	18	0,93 \pm 0,2 ^c	1,14 \pm 0,3 ^{ab}	1,25 \pm 0,3 ^a	1,03 \pm 0,2 ^{bc}
Día 21	18	0,94 \pm 0,2 ^c	1,08 \pm 0,2 ^{bc}	1,30 \pm 0,2 ^a	1,14 \pm 0,1 ^b
Día 29	18	0,88 \pm 0,2 ^c	1,08 \pm 0,2 ^b	1,31 \pm 0,2 ^a	1,13 \pm 0,1 ^b

Letras diferentes en filas indican diferencias significativas, $P < 0.05$.

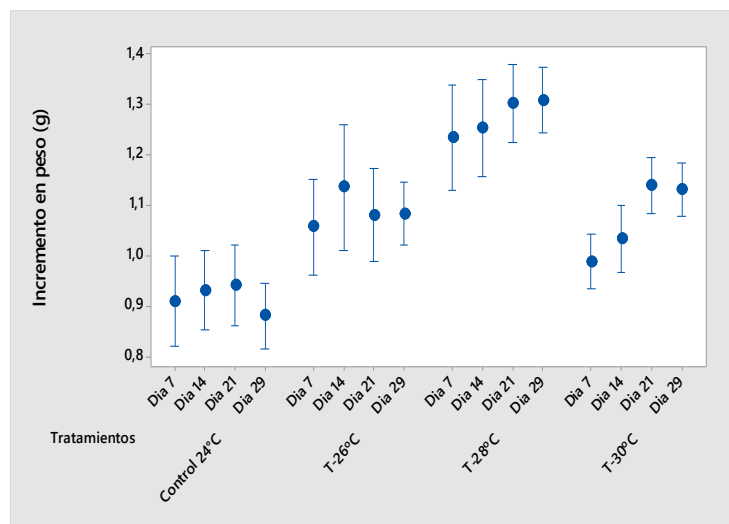


Figura 25. Incremento en peso promedio (g) de *P. sterna* a diferentes días de los diferentes tratamientos de temperatura

V. DISCUSIÓN

5.1. Comparación del efecto de cuatro temperaturas (24, 26, 28 y 30°C) en el acondicionamiento gonádico (madurez sexual, diámetro ovocitario) en condiciones de laboratorio de la ostra perlífera *Pteria sterna*.

En este estudio el sistema de acondicionamiento de reproductores resulto adecuado para el fin propuesto, los grupos experimentales se mantuvieron a una temperatura constante de 24, 26, 28, 30 °C para todos los tratamientos de acondicionamiento, estas temperaturas constantes parecen haber favorecido el desarrollo gonádico de los reproductores de ostras *Pteria sterna*, por lo que se considera que 30 días es un periodo razonable para detectar cambios mínimos en el desarrollo y composición de la gónada y otros tejidos. Esto concuerda con los tiempos sugeridos para otros bivalvos madurados en cautiverio, como *A. purpuratus* (Avendaño y Le Pennec 1996, 1997), *A. ventricosus* (Luna-González 1997), y *C. gigas* (Baltazar *et al.*, 1999), en donde ha sido posible obtener organismos con gónadas en estadios de madurez en periodos de tiempo relativamente cortos. Este trabajo se enfocó principalmente en comparar el efecto de diferentes temperaturas en el acondicionamiento gonádico, relacionado a la madurez sexual y diámetro de ovocitos.

Experiencias realizadas por Navarro *et al.* (2000) indican que la temperatura y la dieta son factores ambientales que juegan un papel importante en el ciclo reproductivo de bivalvos por tanto la variación de estos factores influye directamente en el proceso de obtención y almacenaje de la energía necesaria para realizar dicho ciclo (Sastry 1979) siendo la energía generalmente almacenada en carbohidratos, lípidos y proteínas y cuando el alimento ingerido excede los requerimientos básicos de mantenimiento se inicia la gametogénesis (Barber y Blake 1981).

Durante el periodo de acondicionamiento, para la maduración sexual de la ostra *P. sterna*, a diferentes temperaturas, es posible observar en el análisis histológico organismos en estadios de desarrollo (DES), maduro (MAD), y desove parcial (DSP), en los diferentes tratamientos,

no siendo posible observar organismos en post-desove en ninguno de los tratamientos. Asimismo trabajos realizados por varios autores indican que el desarrollo de la gónada y la movilización de reservas de los tejidos somáticos a la gónada, pudiera ser atribuible a la temperatura del agua, que es uno de los factores más relevantes en el proceso de maduración sexual y juega un papel clave en la regulación de numerosos procesos fisiológicos involucrados en la reproducción de los moluscos de las familias Bivalvia (Bayne, 1977), Mytilidae (Seed, 1976), Ostreidae (Andrews, 1979), Veneridae (Mackie, 1984), Pectinidae (Román *et al.*, 2002; Barber y Blake, 2006), y Pteriidae (Saucedo y Southgate, 2008).

Trabajos realizados por varios autores han logrado obtener maduración gonádica de moluscos en condiciones controladas de laboratorio, manteniendo temperaturas estables y suministrando una dieta de alimento adecuada. La idea de maduración de organismos a temperatura estable se basa en el supuesto de evitar que parte de la energía destinada a la reproducción se desvíe a procesos de compensaciones fisiológicas, lo cual sucede cuando la temperatura es variable o desfavorable. Un ejemplo es la almeja *N. subnodosus* la cual siendo sometida a temperaturas constantes de 24 °C y a un suministro continuo de microalgas, presentó madurez gonádica (Villavicencio, 1997). También, se han obtenido organismos reproductivamente maduros e incluso con desoves prematuros al emplear dichas temperaturas estables (Sicard-González *et al.*, 2006).

Es importante mencionar que las temperaturas del agua seleccionadas en este estudio control 24°C; T1 (26°C); T2 (28°C); T3 (30°C) se encuentran dentro del intervalo de distribución natural de la especie *P. sterna* (19 a 30°C) (Mazón-Suástegui y Avilés-Quevedo, 1988; Araya-Nuñez *et al.*, 1991, 1995; Saucedo y Monteforte, 1997a). Esta selección de temperatura se estableció de esta forma para identificar la temperatura óptima para la maduración de *P. sterna*, particularmente para controlar la reproducción y la producción de semilla en condiciones de laboratorio (Gómez-Robles *et al.*, 2013).

Con respecto al diámetro de los ovocitos, se detectaron diferentes tamaños de ovocitos en los tratamientos y el control en las primeras dos semanas, con una tendencia a estandarizarse hacia el final del experimento; el T2 (28°C) registró la talla más grande de ovocitos con $38,72 \pm 3,31 \mu\text{m}$ seguido del T3 (30 °C) con $33,95 \pm 3,98 \mu\text{m}$. El diámetro de los ovocitos mantuvo una relación directa con el estadio de madurez donde se observó un mayor número de organismos es estado maduro, tanto en machos como en hembras. Esto sugiere que

temperaturas constantes seguidas de un régimen de alimentación adecuado favorecen la madurez sexual y por ende incrementa el diámetro de los ovocitos. Durante el periodo de estudio las medidas del diámetro de los ovocitos encontradas en los diferentes tratamientos están sobre la talla máxima reportada por Vite-García y Saucedo (2008) para la especie *P. sterna* (31 μm).

5.2. Evaluar el efecto de tres temperaturas de “shock” térmico (15, 17, 21°C) sobre el desove de la ostra perlífera *Pteria sterna*, en condiciones de laboratorio.

Durante el periodo de estudio de inducción al desove los organismos acondicionados a diferentes temperaturas fueron sometidos a tres estímulos térmicos de temperatura descendente (15, 17, 21°C). Dicha inducción fue realizada a partir del día 29 cuando los organismos mostraban madurez suficiente para inducir al desove, basados en el análisis histológico. En el presente trabajo se pudo obtener desove a una temperatura de acondicionamiento de 28°C y una temperatura descendente de 17 °C la cual se mantuvo durante 20 minutos hasta que ocurrió la emisión de gametos. Este resultado es similar a trabajos realizado con respecto a la influencia de la temperatura en el desove de bivalvos en experimentos de laboratorio, donde se observó que los estímulos térmicos son un disparador del desove en ostras perleras maduras (*P. sterna* y *P. mazatlanica*) (Rangel- Davalos *et al.*, 2000; Hernández-Olalde, 2001), menciona que la *P. sterna* mantenidas a una temperatura de 28°C y posterior se realizó un descenso de la temperatura a 22,8 °C donde inicia el desove, el periodo de desove está directamente relacionado con el descenso de la temperatura del agua.

Cabe recalcar que, de acuerdo con el análisis histológico realizado a las ostras, tanto el estadio de madurez sexual como el diámetro de ovocito los organismos eran adecuados para el desove en todos los tratamientos, sin embargo, no se obtuvo la respuesta esperada. Es posible que en los tratamientos que no presentaron respuesta al desove se deba a la temperatura a la cual fueron sometidos los organismos durante el experimento o el tiempo de acondicionamiento, o alimentación y manejo que pudo influir en obtener una respuesta positiva en los demás tratamientos y por ende estos factores limitarían un adecuado almacenamiento de reservas de nutrientes y movilización de reservas hacia la gónada. Sin embargo, se pudo observar una relación inversa entre el índice gonadosomático y el índice de rendimiento muscular las primeras dos semanas donde al parecerse dio una movilización

de reservas hacia la gónada y por ende pudo haber ocurrido un desove. Trabajos similares son reportados por (Liu *et al.*, 2008) para las especies *Placopecten magellanicus*, *A. irradians*, *P. maximus*, entre otros, donde el ciclo de almacenamiento y uso de reservas energéticas para sustentar la gametogénesis en moluscos bivalvos son atribuidos al almacenamiento y movilización de reservas energéticas entre el músculo aductor y gónada durante la maduración sexual.

En cuanto al desarrollo embrionario de la ostra perlífera *Pteria sterna* durante el presente trabajo se observó en el T2 (28°C) un alto número de larvas $556,000 \pm 11,52$ por litro. Sin embargo, durante el desove se pudo observar un alto número de individuos en liberación de gametos, pero al final se obtuvo un bajo número de huevos fertilizados y posterior se pudo observar el 100% de mortalidad de larvas. Asimismo, como se mencionó anterior mente solo uno de los tratamientos respondió positivamente al desove a pesar de que de acuerdo a los análisis histológicos se encontraban potencialmente maduros en los diferentes tratamientos. Sería recomendable evaluar diferentes concentraciones de microalgas y un mayor tiempo de acondicionamiento a la madurez gonádica a 28°C para la obtención de un mayor número de huevos fertilizados y por ende un mayor número de larvas de *P. sterna* en trabajos posteriores. El presente trabajo tuvo resultados similares a los publicados por algunos autores que mencionan que el desarrollo embrionario y larvario de *P. mazatlanica* y *P. sterna* presentan un bajo número de huevos fertilizados en condiciones de laboratorio (Araya-Núñez *et al.*, 1991, 1995; Martínez-Fernández *et al.*, 2003, 2004; Saucedo *et al.*, 2007), en dichos trabajos, realizados en México, se reportan bajas tasas de supervivencia larvaria (<2%) de un total de 184000 larvas, esta respuesta también se presenta en otras especies de ostras perleras, como *P. fucata* (Dharmaraj *et al.*, 1987; Victor *et al.*, 1995), *P. maxima* (Rose y Baker, 1994; Taylor, 1999) y *P. margaritifera* (Southgate y Beer, 1997; Doroudi *et al.*, 1999).

La madreperla *Pinctada mazatlanica* y la ostra perlífera *P. sterna* son especies que aparentemente se encuentran sujetas a ciclos reproductivos distintos en el tiempo; para la primera de ellas ocurre, desde la gametogénesis al desove, principalmente en los meses cálidos del año (abril a octubre en promedio) cuando la temperatura del agua oscila entre los 23 a 30 °C, por lo que se dice que tiene una afinidad tropical (Sevilla, 1969; Arizmendi-Castillo, 1996; García - Domínguez, 1996; Saucedo y Monteforte, 1997). Por su parte, *P. sterna* presenta desoves continuos a lo largo de todo el año, aunque con mayor intensidad en

los meses fríos del año (noviembre a febrero) con temperaturas de 17 a 24 °C. (Hernández-Díaz, 1993; Arizmendi-Castillo, 1996; Saucedo y Monteforte, 1997). La temperatura empleada para inducir el desove en el presente experimento (17 °C) se encontraría en el límite inferior de dicho rango.

5.3. Evaluación de la calidad gonádica mediante las variaciones morfo-fisiológicas de la ostra.

En el presente trabajo de determinación de índices morfo-fisiológicos en *P. sterna* el índice gonadosomático (IGS) presentó una relación inversa entre el índice de rendimiento muscular (IRM) e índice de manto (IMA) en los diferentes tratamientos control (24°C), T1 (26°C), T2 (28°C), T3 (30°C), en la segunda semana durante el acondicionamiento de los reproductores. Los valores más altos de IGS coincidieron con valores bajos de IRM e índice de manto IMA en la segunda semana. Es importante aclarar que el IGS empleado en este estudio es solo un indicador parcial de la calidad de la gónada, debido a que a diferencia de los moluscos pectínidos donde la gónada está presente como órgano discreto, en *P. sterna* ésta se desarrolla difusamente como parte de la masa visceral a medida que el animal va madurando. Similar a lo descrito por diversos autores que mencionan que la determinación de índices morfo-fisiológicos está comúnmente relacionado con el ciclo de almacenamiento y uso de reservas energéticas destinadas al uso de la gametogénesis en moluscos bivalvos, se observa en los resultados obtenidos que exhiben un patrón inverso. Esto es consistente con lo reportado para ciertas especies de importancia comercial, como *Argopecten circularis* (Villalejo-Fuerte y Ceballos-Vázquez, 1996), *Nodipecten subnodosus* (Arellano-Martínez *et al.*, 2004), *Ruditapes decussatus* (Ojea *et al.*, 2004), *C. gigas* (Dridi *et al.*, 2007), *Modiolus barbatus* (Mladineo *et al.*, 2007) y *Fluvia mutica* (Liu *et al.*, 2008), entre otros. También se ha reportado que algunas especies (e.g. *Placopecten magellanicus*, *A. irradians*, *P. maximus*, entre otros) que exhiben un patrón inverso entre el índice gonadosomático (IGS) y el índice de rendimiento muscular (IRM), atribuido al almacenamiento y movilización de reservas energéticas entre el músculo aductor y gónada durante la gametogénesis (Robinson *et al.*, 1981; Barber y Blake, 2006).

En los laboratorios de cultivo de moluscos se emplean generalmente microalgas como alimento vivo, el cual incluyen diversas especies entre las que destacan los flagelados *Isochrysis* spp. y *Pavlova* spp., así como las diatomeas del género *Chaetoceros* (Helm,

2006). Estas cepas son relevantes para las larvas por su tamaño pequeño, que facilita la ingestión y digestión (Martínez-Fernández y Southgate, 2007), y por sus perfiles nutricionales balanceados (Brown *et al.*, 1989), particularmente de ácidos grasos altamente insaturados (Ehteshami *et al.*, 2011). Combinaciones de algunas de estas microalgas han dado resultados positivos en el cultivo de larvas de *P. margaritifera* (Martínez-Fernández y Southgate, 2007), *P. maxima* (Rose y Baker, 1994) y *P. mazatlanica* (Saucedo *et al.*, 2007; Ojeda-Ramírez *et al.*, 2008). De hecho, en *P. margaritifera* se ha observado una relación directa entre la concentración de alimento (mezcla de *I. galbana* y *Ch. calcitrans* a concentraciones de 18×10^3 células. ml⁻¹) y el desarrollo gonádico y diferenciación de células germinales (Ehteshami *et al.*, 2011). En este estudio, las microalgas *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis sp.* y *Chaetoceros gracilis* fueron proporcionadas en una proporción de 1:1:1 a una concentración de 150 a 180 mil células por ml para satisfacer los requerimientos nutricionales de las ostras perlíferas *Pteria sterna*, durante el acondicionamiento gonádico. Aunque existe a la fecha un cierto grado de conocimiento sobre los requerimientos nutricionales de ciertas especies de bivalvos de las familias Pectinidae, Ostreidae y Mitylidae (ver revisión de Knauer y Southgate, 1997 y Brown *et al.*, 1989), para otras especies de la familia Pteriidae, para *P. sterna*, se desconocen casi por completo estos requerimientos, particularmente la ración diaria de alimento requerida para animales mantenidos en laboratorio.

La utilización de una mezcla combinada de microalgas de *I. galbana*, *Tetraselmis sp.* y *Ch. gracilis*, durante el acondicionamiento gonádico ha sido una estrategia útil para optimizar el cultivo de diversas especies de moluscos bivalvos, particularmente con el fin de obtener mejores resultados en las etapas de acondicionamiento gonádico para maduración de reproductores en el laboratorio (Knauer y Southgate, 1997; Helm, 2006). Algunos autores indican que la cantidad y calidad de alimento suministrado juega un papel fundamental en el incremento en peso y acumulación de reservas energéticas en los gametos para mejorar su condición fisiológica y asegurar el éxito de las subsiguientes etapas de desarrollo embrionario y larvario (Langdon y Waldock, 1981; Langdon y Siegfried, 1984; Gallager *et al.*, 1986).

Con relación al valor nutricional que las microalgas ofrecen depende de la naturaleza y composición de sus constituyentes bioquímicos (Taylor *et al.* 1997) ya que con su capacidad fotosintética produce nutrientes que los organismos como bivalvos no pueden sintetizar tal

es el caso de los ácidos grasos y las vitaminas (Medina y Cordero 1997), siendo por lo tanto dicho valor altamente influenciado por la composición de ácidos grasos específicamente los ácidos grasos insaturados del grupo omega 3 los cuales juegan un papel importante ya que son esenciales para la nutrición de organismos marinos (Kaplan *et al*, 1986; Benemann, 1992 Millan, 1997). Considerando que todos los organismos muestreados presentaron desarrollo de gametos y un nivel de madurez sexual adecuado para la inducción por shock térmico, se podría considerar que la combinación de diferentes especies de microalgas habría proporcionado los requerimientos nutritivos requeridos para esta experiencia. Sin embargo, debido a que solo un tratamiento llegó a completar el desove, sería recomendable evaluar diferentes concentraciones de estas microalgas o la adición de otras que pudieran mejorar la respuesta al desove de *P. sterna* en experiencias posteriores.

VI. CONCLUSIONES

- Bajo condiciones experimentales los mejores indicadores de calidad gonádica durante el acondicionamiento se observaron en las ostras perlíferas del tratamiento de T2 (28°C) $17,26 \pm 0,9$ y T3 (30°C) $15,37 \pm 2,2$ presentando valores altos de estadios de madurez.
- En cuanto a la madurez sexual de *Pteria sterna*, durante el acondicionamiento gonádico los mejores indicadores se registraron en hembras en los tratamientos T1 (26°C), T2 (28°C) y T3 (30°C) donde fue posible observar mayor número de organismos en estadio de madurez del 25% y en machos el T1 (26°C) presentó valores altos del 50 %.
- El mayor diámetro promedio de los ovocitos se registró en el tratamiento T2 (28°C) con un valor de $38,72 \pm 3,31$ μm de acuerdo con el análisis histológico realizado.
- Bajo las condiciones experimentales, de inducción al desove de la ostra perlífera *P. sterna* la temperatura de acondicionamiento de 28°C y de “shock” térmico de 17°C fue adecuada para inducir la liberación de gametos.

VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda que los organismos recolectados y seleccionados para el acondicionamiento a la madurez sean aclimatados por un periodo no menor a 4 días en condiciones naturales cerca del área de estudio, ya que el estrés es uno de los principales factores que afectan directamente a los organismos al llevarlos a condiciones controladas.
- Se recomienda el transporte de los organismos por la noche en seco con esponjas húmedas y humedeciéndolas cada hora durante el trayecto.
- Se recomienda continuar con trabajos acerca de la viabilidad de las larvas provenientes de organismos acondicionados a la madurez, en cuanto al asentamiento y supervivencia de las larvas que son las etapas críticas en un laboratorio, para llevar a cabo repoblamiento de la especie en bancos naturales y realizar sistemas de cultivos y engorde.
- Se recomienda que la temperatura del agua durante el acondicionamiento gonádico para *Pteria sterna* no sea mayor a 28 °C ya que a dicha temperatura se puede obtener organismos maduros y obtener la liberación de los gametos.
- Se recomienda evaluar un tiempo de acondicionamiento mayor a 29 días en condiciones de laboratorio para la obtención de un mayor número de organismos en estadios de madurez.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁLAMO V. & V. VALDIVIESO. 1997. Lista sistemática de moluscos marinos del Perú. Segunda Edición. Instituto del Mar del Perú. Callao - Perú. 183 pp.
- ANDREWS, J.D. 1979. Pelecypoda: Ostreidae. *En*: Giese, C., Pearse, J.S. (Eds.), *Reproduction of Marine Invertebrates*. Academic Press, New York, Pp. 293-341.
- ARAYA-NÚÑEZ, O., B. GANNING, F. BÜCKLE-RAMÍREZ. 1991. Gonad maturity, induction of spawning, larval breeding and growth in the American pearl-oyster (*Pteria sterna* Gould). *Calif. Fish Game* 77: 181–193.
- ARAYA-NÚÑEZ, O., B. GANNING, F. BÜCKLE-RAMÍREZ. 1995. Embryonic development, larval culture, and settling of American pearl-oyster (*Pteria sterna*, Gould) spat. *Calif. Fish Game* 81: 10–21.
- ARELLANO-MARTÍNEZ, M., I.S. RACOTTA, B.P. CEBALLOS-VÁZQUEZ, J.F. ELORDUY-GARAY. 2004. Biochemical composition, reproductive activity and food availability of the lion's paw *Nodipecten subnodosus* in the Laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur, Mexico. *J Shellfish Res.* 23: 15–23.
- ARIZPE C.O. 1992. Los moluscos y su importancia comercial en el Pacífico mexicano. Serie Didáctica U.A.B.C.S., Num.1, 219 pp.
- ARIZMENDI-CASTILLO, F. 1996. Ciclo reproductivo de las ostras perleras *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) y *Pteria sterna* (Gould, 1851) (Pteriidae), en el área de Guaymas, Sonora, México. Tesis de Maestría. ITESM-Campus Guaymas, México.

- AVENDAÑO, M. & M. LE PENNEC. 1996. Contribución al conocimiento de la biología reproductiva de *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) en Chile. *Estud. Oceanol.* 15: 1-10.
- AVENDAÑO, M. & M. LE PENNEC. 1997. Intraspecific variation in gametogenesis in two populations of the Chilean molluscan bivalve, *Argopecten purpuratus* (Lamarck). *Aquaculture Research*, 28: 175- 182.
- AVELLANAL, M.; E. JARAMILLO; E. CLASING; P. QUIJÓN y H. CONTRERAS. 2002. Reproductive Cycle of the Bivalves *Ensis macha* (Molina, 1782) (Solenidade), *Tagelus dombeyi* (Lamarck, 1818) (Solecurtidae), and *Mulinia edulis* (King, 1831) (Mactridae) in Southern Chile. *The Veliger*. 45 (1): 33-44.
- AVILÉS-QUEVEDO, A., J.M. MAZÓN-SUÁSTEGUI. 1989. Acondicionamiento gonádico e inducción al desove de *Pteria sterna* (Gould, 1851) con dietas artificiales. VII Simposio Int Biol. Mar, 1-5 de junio de 1989. Pp. 71-77.
- BAGHURST, B.C., J.G. MITCHELL. 2002. Sex-specific growth and condition of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquacult. Res.* 33: 1253–1263.
- BALTAZAR P., D. BERMUDEZ, W. Rivera. 1999. Cultivo de la ostra *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1795) en un vivero artesanal, la arena, Casma. *Revista Peruana de biología.* (6) 2: Pp.4.
- BARBER, B. y N. BLAKE. 1981. Energy Storage and Utilization in Relation to Gametogenesis in *Argopecten irradians concentricus* (Say). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 52: 121-134.
- BARBER, B.J., N.J. BLAKE. 1985. Intra-organ biochemical transformations associated with oogenesis in the bay scallop *Argopecten irradians concentricus* (Say) as indicated by ¹⁴C incorporation. *Biol. Bull.* 168, 39-49.

- BABER, B.J. & N.J. BLAKE. 1991. Reproductive physiology. Pp. 377-428. *En*: S.E. Shumway (ed.). Scallop: Biology, Ecology and Aquaculture. Elsevier Science, New York.
- BARBER, B.J., N.J. BLAKE. 2006. Reproductive physiology. *En*: Shumway, S.E., Parsons, G.J. (eds.) Scallops: biology, ecology, and aquaculture. Elsevier. Second edition. The Netherlands. 357–416p.
- BAYNE, B.L. 1976. Aspects of reproduction in bivalve mollusks. *En*: Wiley, M. (ed.) Estuarine processes. Academic Press, London. 432–448p.
- BAYNE, B. L., AND C. SCULLARD. 1977. An apparent specific dynamic action in *Mytilus edulis*. pp. 371-378.
- BERG, J.A., R.I.E. NEWELL. 1986. Temporal and spatial variations in the composition of seston available to the suspension feeder *Crassostrea virginica*. *Est. Coast. Shelf Sci.* 23: 375–386.
- BENEMANN, J. 1992. Microalgae Aquaculture Feeds. *Journal of Applied Phycology.* 4: 233-345.
- BLAKE, N. J. & A.N SASTRY. 1979. Neurosecretory regulation of oogenesis in the bay scallop *Argopecten irradians* (Lamarck). Pp. 181-190. *En*: E. Naylor & R. G. Hartnoll (eds.). Cyclic Phenomena in Marine Plants and Animals. Pergamon Press, New York.
- BROWN, J.R., E.B HARTWICK. 1988. Influences of temperature, salinity and available food upon suspended culture of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. II. Condition index and survival. *Aquaculture* 70: 253–267
- BROWN, M.R., S.W. JEFFREY, J.K. VOLKMAN, G.A. DUNSTAN. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151: 315-331.

- BROWN, M.R., S.W. JEFFREY, C.D. GARLAND. 1989. Nutritional aspects of microalgae used in mariculture: a literature review. CSIRO Marine Laboratories Report 205. 44p.
- CÁCERES-PUIG, J.I., F. ABASOLO-PACHECO, J.M. MAZÓN-SUASTEGUI, A.N. MAEDA-MARTÍNEZ, P.E. SAUCEDO. 2007. Effect of temperature on growth and survival of *Crassostrea corteziensis* spat during late-nursery culturing at the hatchery. 272 (26): 417–422.
- CÁCERES-PUIG, J.I. 2012. Dinámica del reclutamiento de semilla de la concha nácar *Pteria sterna* en la Bahía de La Paz Baja California Sur, México. Tesis de Doctorado, Centro de Investigaciones Biológicas de Noroeste, México.
- CASTAGNA, M. y W. DUGGAN. 1971. Spawning and rearing the bay scallop *Aequipecten irradians*. Proceed. Natl. Shellfish. Ass. 61: 80-85.
- CASTAGNA, M. AND J.N. KRAEUTER. 1981. Manual for growing the hard clam *Mercenaria*. Spec. Rep. No. 249, Virginia Institute of Marine Science, Gloucester Point, Virginia.
- COSTELLO, T. J., J. H. HUDSON, J. L. DUPUY y S. RIVKIN. 1973. Larval culture of the callico scallop *Argopecten gibbus*. Proceed. Natl Shellfish. Ass. 63: 72-76.
- CROSBY, M.P., L.D. GALE. 1990. A review and evaluation of bivalve condition index methodologies with a suggested standard method. J Shellfish Res. 9: 233–237.
- CHANLEY, P. 1965. Larval development of the brackish water mactrid clam *Rangia cuneata*. Chesapeake Science 6 (4): 209-213.
- CHO CY, COWEY CB. & T WATANABE. 1985. Methodological approaches to research and development. LD.R.C. 154 pp.

- 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.
- DE LA ROCHE, J.P. 1997. Acondicionamiento reproductivo de *Nodipecten nodosus* durante la época de downwelling en la región de Santa Marta, Caribe colombiano. Informe de actividades. Proyecto Cultivo de Moluscos Bivalvos del Caribe colombiano. 40p.
- DE LA ROCHE, J.P., B. MARÍN, L. FREITES & A. VELEZ. 2002. Embryonic development and larval and post-larval growth of the tropical scallop *Nodipecten* (*Lyropecten*) *nodosus* (L. 1758) (Mollusca: Pectinidae). *Aquaculture International*, 33: 819-827.
- DEL RIO-PORTILLA, M. A. 1991. Crecimiento de *Pteria sterna* (Gould, 1851) (Mollusca, Bivalvia), bajo diferentes condiciones de temperatura y de concentración de alimento. Tesis de Maestría, CICESE, Ensenada, 77 pp.
- DEL RÍO-PORTILLA M.A., A.D. RE-ARAYO & D. VOLTOLINA. 1992. Growth of the pearl oyster *Pteria sterna* under different thermic and feeding conditions. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 89: 221-227.
- DHARMARAJ, S., D. KANDASAMI, K. ALAGARSWAMI. 1987. Some aspects of physiology of pearl oyster. *Central Mar. Fish. Res. Inst. Bull. (Cochin)* 39: 21–29.
- DÍAZ A. & L. ORTLIEB. 1993. El fenómeno “El Niño” y los moluscos de la costa peruana. *Bull. Inst. fr. études andines*. 22 (1): 159 – 177.
- DIAZ, A.Y L. BUCKLE. 1996. Ciclo Gonádico de *Pteria sterna* (Gould, 1851) (Mollusca: Bivalvia) en Baja California Sur, Mexico. *Ciencias Marinas*. 22 (4): 495-509.
- DOROUDI, M.S., P.C. SOUTHGATE. 2003. Embryonic and larval development of *Pinctada margaritifera* (Linnaeus, 1758). *Moll. Res.* 23: 101–107.

- DOROUDI, M.S., P.C. SOUTHGATE, R.J. MAYER. 1999. The combined effects of temperature and salinity on embryos and larvae of the black-lip pearl oyster, *Pinctada margaritifera* (L.). *Aquacult. Res.* 30: 271–277.
- DUPUY, J. L., N. T. WINDSOR y C. E. SUTTON. 1977. Manual for the design and operation of an oyster seed hatchery for the American oyster *Crassostrea virginica*. Virginia Institute of Marine Science, Special report N°142-104 pp.
- DRIDI, S., M.S. ROMDHANE, M. ELCAFSI. 2007. Seasonal variation in weight and biochemical composition of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* in relation to the gametogenic cycle and environmental conditions of the Bizert lagoon, Tunisia. *Aquaculture* 263: 238–248.
- EPIFANIO, C.E. 1975. Culture of bivalve in recirculating systems: nutritional requirements, proceedings of the first international conference on aquaculture nutrition. Pp.173-194.
- EPIFANIO, C.E., AND C. A. MOOTZ. 1976. Growth of oysters in a recirculating maricultural system. pp. 32-37.
- EPIFANIO, C. E., AND J. EWART. 1977. Maximun Ration of four algal diets for oyster *Crassostrea virginica*. Pg. 13-29.
- EPIFANIO, C.E., 1981. Phytoplankton and Yeast for Juvenile Bivalves: A review of research at the University of Delaware.
- EPP, J., V.M. BRICELJ, R.E. MALOUF. 1988. Seasonal partitioning and utilization of energy reserves in two age classes of the bay scallop *Argopecten irradians* (Lamark). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 121, 113-136.
- EHTESHAMI, F., A. CHRISTIANUS, H. RAMESHI, S.A. HARMIN, C.R. SAAD. 2011. Proximate and fatty acid composition of the gonads of wild versus hatchery-conditioned *Pinctada margaritifera* broodstock. *Aquacult. Nutr.* 17: 675–682.

- FERRÁN, E. J. 1991. Ciclo gonadal y del tejido de reserva del mejillón de las rías de Galicia *Mytilus galloprovincialis*. Lmk. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.
- FOGG, G.E., 1975. Primary productivity. In: J.P. Riley and G. Shirrow (Editors), Chemical Oceanography. Academic Press, London, 2nd ed., pp. 385-453.
- FISCHER, W., SOMMER, C., CARPENTER, K. E., NIEM., V. H. 1995. Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico centro-oriental. Volumen I. plantas e invertebrados. Roma. 646 pp.
- GABBOTT, P. A. 1983. Developmental and seasonal metabolic activities in marine molluscs. pp. 165-217 *En*: P. W. Hochachka (ed.). The Mollusca, vol. 2, Environmental Biochemistry and Physiology. Academic Press, New York.
- GALLAGER, S.M., R. MANN. 1986b. Individual variability in lipid content of bivalve larvae qualified histochemically by absorption photometry. *J Plankton Res.* 8: 927–937.
- GALLAGER, S.M., R. MANN, G.C. SASAKI. 1986. Lipid as an index of growth and viability in three species of bivalve larvae. *Aquaculture* 56: 81–103.
- GARCÍA-DOMÍNGUEZ, F.; B. CEBALLOS- VÁZQUEZ y A. TRIPP-QUEZADA. 1996. Spawning Cycle of the Pearl Oyster, *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) (Pteriidae) at Isla Espíritu Santo, Baja California Sur, México. *J. Shellfish Res.* 15 (2): 297-303.
- GERVIS, M. H. y N. A. SIMS. 1992. The biology and culture of pearl oyster (Bivalvia:Pteriidae). International Center for Living Aquatic Resources Management (ICLARM) Manila. Phillipines. 48 pp.
- GIESE, A.C., J.S. PEARSE. 1979. Introduction: general principles. *En*: Giese, A.C., Pearse, J.S. (eds.) Reproduction of marine invertebrates. Academic Press, Nueva York. 1–49p.

- GÓMEZ, J.A. & J.R. VILLALÁZ. 1991. Inducción al desove con serotonina en el bivalvo tropical *Lyropecten nodosus*. Memoria II Congreso Nacional de Acuicultura. 13-15 noviembre. Ciudad de Panamá. 214-223 pp.
- GÓMEZ-ROBLES E., MAZÓN-SUÁSTEGUI J. M., ACOSTA-SALMÓN H., HAWKYNS-MARTÍNEZ M., SAUCEDO P. E. 2013. Internal nutrient management associated with gonad quality and successful reproduction in the winged pearl oyster *Pteria sterna*. *Aquaculture*, 412-413:45-51.
- GOSLING, E. 2003. Bivalve Molluscs: Biology, Ecology, and Culture. Fishing News Books, Blackwell Science, New York, 443 p.
- HAVEN, D. E. 1965. Supplemental feeding oyster with starch. *Chesapeake Science* 6 (1): 43-51.
- HELM, M.M. & MILLICAN, P.F. 1977. Experiments in the hatchery rearing of Pacific oyster larvae (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquaculture*, 11: 1-12
- HELM, M. M.; N. BOURNE, A. LOVATELLI, (COMP./ED.). 2006. Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico. FAO Documento Técnico de Pesca. No. 471. Roma, FAO. Pp. 184.
- HERNÁNDEZ-DÍAZ, A. 1993. Ciclo anual de madurez gonádica de *Pteria sterna* (Gould, 1851) (Mollusca: Bivalvia) en Baja California, México. Tesis de Maestría. CICESE, México.
- HERNÁNDEZ-OLALDE, L. 2001. Inducción a la madurez gonádica de la madre perla *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) (Mollusca: Pteriidae) mediante control de temperatura y alimentación. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur. 59 pp.
- HUMASON, G. L. 1979. Animal tissue techniques. W. H. Freeman and Company, USA, 649 pp.

- JARAMILLO, R.; J. WINTER; J. VALENCIA y A. RIVERA. 1993. Gametogenic Cycle of the Chiloé Scallop (*Chlamys amandl*). *J. Shellfish Res.* 12 (1): 59-64.
- JEFFS, A. G., DUNPHY, B. J. y WELLS, M. G. 2002. Experimental effects of water temperature on the gametogenic development of broodstock in the oyster, *Ostrea chilensis*. *J Shellfish Res.*, (21): 743–747.
- KAPLAN, D.; Z. COHEN Y A. ABELIOVICH. 1986. Optimal Growth Conditions for *Isochrysis galbana*. *Biomass* 9: 37-48.
- KAMEYA A, CASTILLO R, PAREDES F. 1996. Estudio de los recursos potenciales y sub explotados en el litoral norte Piura y Tumbes. Perú.
- KNAUER, J., P.C. SOUTHGATE. 1997. Growth and fatty acid composition of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) spat fed a microalgae and microcapsules containing varying amounts of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid. *J. Shellfish Res.* 16: 447-454.
- KEEN, M. 1971. Sea Shells of Tropical West America. Marine Mollusks from Baja California to Perú. 2nd ed. Stanford University Press. USA. 1064 pp.
- LANGDOM, C. J., M. J. WALDOCK. 1981. The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* spat. *J. Marine Biological Association of the United Kingdom* 61:431-438.
- LANGDON, C.J., C.A. SIEGFRIED. 1984. Progress in the development of artificial diets for bivalve filter feeders. *Aquaculture*. 39: 135-153.
- LIU, W.G., Q. LI, Y.D. YUAN, S.H. ZHANG. 2008. Seasonal variations in reproductive activity and biochemical composition of the Cockle *Fluvia mutica* (Reeve) from the Eastern Coast of China. *J Shellfish Res* 27: 405–411.

- LOOSANOFF, V. L. y H. C. DAVIS. 1963. Rearing of bivalve molluscs. En: F. S. Renaull (Ed.), *Advances in Marine Biology*, Academic Press, London, p. 1-136.
- LOOSANOFF, V. L., AND T. MURRAY, JR. 1974. Maintaining adult bivalves for long periods on artificially growth phytoplankton. pp. 93-94.
- LUNA-GONZÁLEZ, A. 1997. Ciclo reproductivo de la almeja Catarina *Argopecten ventricosus* (Sowerby II, 1842), cultivada en la rada del Puerto de Pichiligue, B.C.S., y su relación con el medio. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Baja California Sur, México.
- LUNA-GONZÁLEZ, A.; C. CÁCERES-MARTÍNEZ; C. ZÚÑIGA-PACHECO; M. ARELLANO-MARTÍNEZ Y A. CAMPA-CÓRDOVA. 2000. Análisis Bioquímico del Seston Disponible para los Moluscos Bivalvos en la Rada del Puerto Pichilingue, B. C. S., México. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. 35 (1): 49-56.
- LUBET, P. 1981. Action de la température sur le cycle de reproduction des lamellibranches. *Bull. Soc. Zool. Fr.* 106: 283–292.
- MANN, R., AND J. H. RYTHER. 1977. Growth of six species of bivalve molluscs in a waste recycling – aquaculture system. pp. 231- 245.
- MALOUF, R. 1970. Pilot oyster hatchery. Oregon State University. 9 pp.
- MARTÍNEZ, G. 1991. Seasonal variation in biochemical composition of three size classes of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus* Lamarck, 1819. *Veliger* 34: 335-343.
- MARTÍNEZ, E., 1998. Medios Alternativos y Evaluación de Costos para el Cultivo de la Microalga *Nannochloris* sp. Como Alimento del Rotífero *Brachionus plicatilis* (Muller, 1786). Tesis de Maestría. U. A.B. C. S. 90 pp

- MARTÍNEZ, G., AGUILERA, C. y METTIFOGO, L. 2000a. Interactive effects of diet and temperature on reproductive conditioning of *Argopecten purpuratus* broodstock. *Aquaculture*, (183): 149–159.
- MÁRQUEZ B., C. LODEIROS, M. JIMÉNEZ & J.H. HIMMELMAN. 2000. Disponibilidad de juveniles por captación natural de la ostra *Pteria colymbus* (Bivalvia: Pteriidae) en el Golfo de Cariaco, Venezuela. *Rev. Biol. Trop.* 48 Supl. 1:151–158.
- MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, E., H. ACOSTA-SALMÓN, C. RANGEL-DÁVALOS, A. OLIVERA-BONILLA, H. RUIZ-RUBIO, A.K. ROMO-PIÑERA. 2003. Spawning and larval culture of the pearl oyster *Pinctada mazatlanica* in the laboratory. *World Aquac.* 34: 36–39.
- MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, E., H. ACOSTA-SALMÓN, C. RANGEL-DÁVALOS. 2004. Ingestion and digestion of 10 species of microalgae by winged pearl oyster *Pteria sterna* (Gould, 1851) larvae. *Aquaculture* 230: 417–423.
- MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, E., P.C. SOUTHGATE. 2007. Use of tropical microalgae as food for larvae of the black-lip pearl oyster *Pinctada margaritifera*. *Aquaculture* 263: 220– 226.
- MASON, C.J., J.A. NELL. 1995. Condition index and chemical composition of meats of Sydney rock oysters (*Saccostrea commercialis*) and Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) at four sites in Port Stephens, NSW. *Mar. Freshw. Res.* 46: 873–881.
- MAZON-SUASTEGUI, J. M. 1987. Evaluación de cinco dietas microalgales en el crecimiento larval de *Modiolus capax* (Conrad, 1837) y *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1845), Mollusca, Bivalvia. Tesis de Maestría, CICIMAR-I.P.N., La Paz, 70 pp.
- MAZÓN-SUÁSTEGUI, J.M. 1988. Acondicionamiento y desove de cuatro especies de moluscos bivalvos, alimentados con dietas artificiales. *Rev. Lat. Acui.* No. 38:4-12. ISSN 0250-2135.

- MAZÓN-SUÁSTEGUI J. M., AVILÉS-QUEVEDO M. A. 1988. Ensayo preliminar sobre la alimentación de bivalvos juveniles con dietas artificiales. *Revista Latinoamericana de Acuicultura*, 36:56-62.
- MACKIE, G.L. 1984. Bivalves. In: Wilburg, K.M. (Ed.), *The Mollusca Reproduction*. Academic Press, New York, (7) Pp. 351-417.
- MEDINA, C. Y B. CORDERO. 1997. Crecimiento y Composición Bioquímica de la Diatomea *Chaetoceros muelleri* Lemmerman, Mantenida en Cultivo Estático con un Medio Comercial. *Ciencia y Mar*. 11 (6): 19-23.
- MICHELL, P. H. 1916. Nutrition of oyster: Glycogen formation and storage. *Bull. U.S. Bur. Fish* 35: 151-162.
- MLADINEO, I., M. PEHARDA, S. ORHANOVIĆ, J. BOLOTIN, M. PAVELAVRANČIĆ, B. TREURSIĆ. 2007. The reproductive cycle, condition index and biochemical composition of the horse-bearded mussel *Modiolus barbatus*. *Helgol Mar. Res.* 61:183–192.
- MILLAN M 1997. Experimentos de Inducción a la Maduración Gonádica de *Argopecten ventricosus* (Sowerby, 1842) y Estudio del Valor Nutricional de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros gracilis*, durante su crianza larvaria. Tesis de Maestría. U. A. B. C. S. 76 pp.
- MILKE, L.M., V.M. BRICELJ, C.C. PARRISH. 2004. Growth of postlarval sea scallops, *Placopecten magellanicus*, on microalgal diets, with emphasis on the nutritional role of lipids and fatty acids. *Aquaculture*. (234): 293–317.
- MILKE, L.M., V.M. BRICELJ, C.C. PARRISH. 2006. Comparison of early life history stages of the bay scallop, *Argopecten irradians*: Effects of microalgal diets on growth and biochemical composition. *Aquaculture*. (260): 272-289.

- MONTEFORTE, M.1990. Ostras perleras y perlicultura: situación actual en los principales países productores y perspectivas para México. *Ser. Cient.*, UABCS. 1 (No. Esp. AMAC 1): 13-18.
- MONTEFORTE M. 2005. Ecología, biología y cultivo extensivo de la madreperla de calafia, *Pinctada mazatlanica* (Hanley 1856), y la concha nácar arcoíris *Pteria sterna* (Gould 1852) en Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. Tesis para optar el grado de Doctor en Ciencias. Biológicas. Universidad de La Habana. Cuba. 132 pp.
- MORA E. 1990. Catálogo de bivalvos marinos del Ecuador. Instituto Nacional de Pesca. Boletín Científico Técnico. Vol. X. Nº 1. Guayaquil – Ecuador. 136 pp.
- NAVARRO, J.; G. LEIVA; G. MARTÍNEZ Y C. AGUILERA. 2000. Interactive Effects of Diet and Temperature on the Scope for Growth of the Scallop *Argopecten purpuratus*. During Reproductive Conditioning. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 247: 67-83.
- OJEA, J., A.J. PAZOS, D. MARTÍNEZ, S. NOVOA, J.L. SÁNCHEZ, M. ABAD. 2004. Seasonal variation in weight and biochemical composition of the tissues of *Ruditapes decussatus* in relation to the gametogenic cycle. *Aquaculture* 238: 451–468.
- OJEDA-RAMÍREZ, J.J., J.I. CÁCERES-PUIG, J.M. MAZÓN-SUÁSTEGUI, P.E. SAUCEDO. 2008. Nutritional value of *Pavlova* spp. (Prymnesiophyceae) for spat of the Cortez oyster *Crassostrea corteziensis* during late-nursery culturing at the hatchery. *Aquacult. Res.* 39: 18–23.
- OKUMUS, I., H.P. STIRLING. 1998. Seasonal variations in the meat weight, condition index and biochemical composition of mussels (*Mytilus edulis* L.) in suspended culture in two Scottish sea lochs. *Aquaculture* 159: 249–261.
- ORDINOLA E., P. MONTERO, S. ALEMÁN & J LLANOS. 2010a. El bivalvo concha perlífera *Pteria sterna* (Gould) en Talara, Perú. Abril 2007. *Inf. Inst. Mar Perú.* 37(3–4): 127-137.

- OZAKA, K. & K. KOBAYASHI. 1929. The seasonal variation in the glycogen content in the oyster *Ostrea circumpicta*. *Sci. Rep. Tohoku. Univ.* 4: 183-191.
- PAREDES, C., J. TARAZONA, E. CANHAUIRE, L. ROMERO, O. CORNEJO Y F. CARDOSO. 1998. Presencia de moluscos tropicales de la Provincia Panameña en la costa central del Perú y su relación con los eventos “El Niño”. *Rev. Perú. Biol.* 5 (2):123-128.
- PROGRAMA DE MANEJO DE RECURSOS COSTEROS. 1993. Plan de Manejo la ZEM –Bahía – San Vicente – Canoa. Guayaquil, Ecuador.
- PERSOONE, G., C. CLAUS. 1980. Mass culture of algae: A bottleneck in the nursery culturing of mollusks.- In: G. Shelef & C.J. Soeder (eds.): *Algae Biomass*. Elsevier/North-Holland Biomedical Press. Pp. 265-285.
- PERNET, F., V.M. BRICELJ, C.C. PARRISH, 2005. Effect of varying dietary levels of s6 polyunsaturated fatty acids during the early ontogeny of the sea scallop, *Placopecten magellanicus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, (327): 115–133.
- POUTIERS, J. M. 1995. Bivalvos (Acephala, lamellibranchia, pelecypoda). *En: W. Fischer; F. Krupp; w. Schneidre: C. Sommer; K. E. Carpenter y V. H. Niem (eds.). Guía FAO para la identificación de especies para los fines de pesca. Pacífico Centro- Oriental: Plantas e invertebrados. Vol. 1. (pp. 100-222) Roma, Italia.*
- RANGEL-DAVALOS. & CHÁVEZ-VILLALBA. 1994. Desarrollo científico y tecnológico de la madreperla y la concha nácar. Secretaría de pesca, Gobierno del estado de California sur, México. 104 PP.
- RANGEL- DÁVALOS, C; E. ACOSTA- SALMÓN Y E. MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ. 2000. Propuesta preliminar para la recuperación de las poblaciones de concha nácar (*Pteria sterna* Gould, 1851) en la Bahía de la Paz, Baja California Sur, México. *En: Aburto-Oropeza O. y C. Sánchez-Ortiz (eds). Recursos Arrecifales del Golfo de California. Estrategias de Manejo para las Especies Marinas de Ornato. (pp. 95-106). Universidad Autónoma de Baja California Sur.*

- ROSE, R.; R. DYBDALH y S. HARDERS. 1990. Reproductive Cycle of the Western Australian silver lip Pearl Oyster *Pinctada maxima* (Jameson) (Mollusca: Pteridae). *Journal of Shellfish Research*. 9(2): 261-272.
- ROSE, R.A., S.B. BAKER. 1994. Larval and spat culture of the Western Australian silver or gold lip pearl oyster, *Pinctada maxima* Jameson (Mollusca: Pteriidae). *Aquaculture* 126: 35–50.
- ROBINSON, W.E., W.E. WEHLING, M.P. MORSE, G.C. MCLEOD. 1981. Seasonal changes in soft-body component indices and energy reserves in the Atlantic deep-sea scallop, *Placopecten magellanicus*. *Fish. Bull.* 79: 449–458.
- ROMÁN, G., G. MARTÍNEZ, O. GARCÍA, L. FREITES. 2002. Reproduction. En: Maeda-Martínez, A.N. (Ed.), *los Moluscos Pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura*. Editorial Limusa, México. Pp. 27-60.
- RUPP, G.S. 1997. Desenvolvimento de tecnologia de cultivo de *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758). (Bivalvia: Pectinidade). Informe Final. Programa RHAE/ PIBIO-UFSC. 71 pp.
- RUPP, G.S. & C.R. POLI. 1994. Spat production of the sea scallop *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758), in the hatchery: initial studies in Brazil. pp. 91-96. En: N.F. Bourne, B.L. Bunting & L.D. Townsend (eds.). *Proceedings of the 9th International Pectinid Workshop*, Nanaimo, B. C. Canada. April 22-27, 1993. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.* 1994.
- RUSSELL, E. S. 1923. Report on seasonal variations in the chemical composition of *Oysters*. *Fish. Invest. London*. Ser: 1-10.
- RHYTHER J.H. 1969. Photosynthesis and fish production in the sea. *Science*. 166: 72-76.
- SAUCEDO-LASTRA, P. 1995. Crecimiento, Relaciones Alométricas y Reproducción de las Ostras Perleras *Pinctada mazatlanica* y *Pteria sterna* (Bivalvia: Pteridae) Bajo condiciones de repoblamiento en el Mérito, Bahía de la Paz, Baja California Sur,

México. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas del IPN.
101 pp.

SAUCEDO, P. y M. MONTEFORTE. 1997. Breeding Cycle of Pearl Oysters *Pinctada mazatlanica* and *Pteria sterna* in Bahía de La Paz, South Baja California, México. *Journal of Shellfish Research*. 16 (1): 348-349.

SAUCEDO, P.E., P. ORMART-CASTRO, M. OSUNA-GARCÍA. 2007. Towards development of large-scale hatchery cultivation of larvae and spat of the pearl oyster *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) in Mexico. *Aquaculture* 273: 478–486.

SAUCEDO, P.E., P.C. SOUTHGATE. 2008. Reproduction, Development, and growth. *En* Southgate P.C., J.S. Lucas (Eds.). *The Pearl Oyster: Biology and Culture*. Cap. 5. Elsevier Science Publishers, Australia. Primera edición. Pp. 131-186.

SASTRY, A. N. 1963. Reproduction of the bay scallop *Aequipecten irradians* LAMARCK, Influence of temperature on maturation and spawning. *Biol. Bull. Of the Woods Hole mar. Biol. Lab.* 125: 146- 153.

SASTRY, A. N. 1979. Pelecypoda (Excluding Ostreidae). *En*: Giese, A. C., Pearse, J.S., eds. *Reproduction of Marine Invertebrates*, vol. V, pags. 113–192. New York, Academic Press.

SASTRY, A. N. & N. J. BLAKE. 1971. Regulation of gonad development in the bay scallo, *Aequipecten irradians* Lamarck. *Biol. Bull. (Woods Hole)* 140: 274-282.

SEED, R. 1976. Ecology. In: Bayne, B.L. (Ed.), *Marine Mussels: Their Ecology and Physiology*. Cambridge University Press, Cambridge. Pp. 13-65.

SEVILLA, M. L. 1969. Contribución al conocimiento de la madreperla *Pinctada mazatlanica* (Hanley 1856). *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 30: 223-262.

- SERNA-GALLO, M.I. 2011. Crecimiento y ciclo reproductivo de la concha nácar *Pteria sterna* cultivada en la Bahía de Acapulco. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Nayarit, México.
- SERRANO-GUZMÁN, S.J, D. SALINAS-ORDÁZ. 1993. Cultivo de larvas y producción de semilla de *Pteria sterna* (Mollusca: Bivalvia) en un criadero comercial. Rev. Inv. Cient. 4: 81–90.
- SICARD, M.T., A.N. MAEDA-MARTÍNEZ, S.E. LLUCH-COTA, C. LODEIROS-SEIJO, L.M. ROLDÁN-CARRILO, R. MENDOZA-ALFARO. 2006. Sicard Frequent monitoring of temperature: an essential requirement for site selection in bivalve aquaculture in tropical-temperate transition zones. Aqua. Res. 37, 1040-1049.
- SOUTHGATE, P.C., A.C. BEER. 1997. Hatchery and early nursery culture of the blacklip pearl oyster (*Pinctada margaritifera* L.). J Shellfish Res. 16: 561–567.
- TAKASHI, I. 1979. Controlled breeding of molluscs. En: Coastal aquaculture in the Indopacific region, fishing News (Books) Ltd., London, 260-272.
- TAYLOR, J.; P. SOUTHGATE; M. WING Y R. ROSE. 1997. The Nutritional Value of Five Species of Microalgae for spat of the silver-lip pearl Oyster, *Pinctada maxima* (Jameson) (Mollusca: Pteriidae). Asian Fisheries Science. 10: 1-8
- TAYLOR, A.C. & T. J. VENN. 1979. Seasonal variation in weight and biochemical composition of the tissues of the queen scallop, *Chlamys opercularis*, From the Clyde Sea Area. J. mar. boil. Ass. U.K. 59, 605-621.
- TAYLOR, J.J. 1999. Spat production, nursery rearing and grow-out of the silver-lip pearl oyster, *Pinctada maxima* (Jameson). Tesis de Doctorado, James Cook University, Australia.
- TREVIÑO, Z. L. M. Y FIGUEROA, D. L. A. 2009. Crecimiento y Supervivencia de la Ostra Perlífera (*Pteria sterna*) en Cultivo Suspendido Flotante en la Desembocadura

- del Estuario del Río Chone, Provincia de Manabí. Tesis de Licenciado en Acuicultura. Universidad Técnica de Manabí. 140 pp.
- TSUJII, T. 1960. Studies on the mechanism of shell and pearl formation in Mollusca. J. Fac. Fish., Univ. Mie- Tsu, 5: 1-70.
- URIARTE, I., G. RUPP, A. ABARCA. 2001. Producción de juveniles de Pectinidos iberoamericanos bajo condiciones controladas. *En*: “Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: ciencia y acuicultura” A. Maeda. Limusa, Pp. 147-171.
- UKELES, R. 1970. Nutritional requirements in shellfish culture. Pg. 43-46
- VICTOR, A.C.C., A. CHELLAM, S. DHARMARAJ, T.S. VELAYUDHAN. 1995. Manual on pearl oyster seed production, farming and pearl culture. CMFRI, Special Publication, No. 63. India. 53p.
- VILLALEJO-FUERTE, M; P. CEBALLOS-VÁZQUEZ Y F. GARCÍA-DOMÍNGUEZ 1996. Reproductive Cycle of *Laevicardium elatum* (Sowerby 1833) (Bivalvia: Cardiidae) in Bahía Concepción, Baja California Sur, México. J. Shellfish Res. 15: 741-745.
- VILLAVICENCIO-PERALTA, G. 1997. Acondicionamiento gonadal, desarrollo embrionario y cultivo de larvas de la almeja mano de león, *Lyropecten subnodosus* (Sowerby, 1835), alimentadas con cuatro especies de microalgas. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico del Mar Guaymas, Unidad La Paz, México. 93 pp.
- VITE-GARCÍA, M.N., SAUCEDO P.E. 2008. Energy storage and allocation during reproduction of Pacific winged pearl oyster *Pteria sterna* (Gould, 1851) at Bahía de La Paz, Baja California Sur, Mexico. J. Shellfish Res. 27: 375-383.
- WADA, K. 1962. Biomineralogical studies on the mechanism of pearl formation. Bull. Nat. Pearl Res. Lab., 8: 948-1059.

WALNE, P. R. 1974. Culture of Bivalve Molluscs, 50 years experience at Conwy. Fishing News (books) Ltd, West Byfleet, 173 pp.

WALNE, P.R. 1976. Factors affecting the relation between feeding and growth in bivalves. *En: Harvesting Polutes Waters*. O. Devin (Ed.). pp: 169-183.

WEBB, L.K., CHU, E., 1981. Phytoplankton as a food for bivalve larvae.

ZÚÑIGA, C. 1998. Descripción Anatómica e Histológica de la Madre perla *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) (Mollusca: Pteriidae). Tesis Licenciatura. U. A. B. C. S. 78 pp.

IX. ANEXO

9.1. ANEXO 1. Preparación del medio de cultivo f/2 de "Guillard" (modificado por Martínez, 1998)

REACTIVOS	
Macronutrientes	Cantidad
Nitrato de sodio	75 g
Fosfato de Sodio monobásico	5 g
Disolver los reactivos en agua destilada (solución de trabajo), aforando a 1000 ml. Utilizar 1ml de la solución de trabajo por litro de agua de mar.	
REACTIVOS	
Micronutrientes	Cantidad
Soluciones "stock" de metales traza:	
Sulfato cúprico	0,98 g
Sulfato de Zinc	2,20 g
Cloruro de Cobalto	1,00 g
Cloruro de manganeso	1,80 g
Molibdato de Sodio	0,63 g
* Disolver en 90 ml de agua destilada cada uno de los metales traza por separado.	
Cloruro Férrico	3,15 g
EDTA Disódico	4,36 g
Disolver los últimos dos reactivos juntos con 1 ml de cada una de las soluciones "stock" en agua destilad, aforando a 1000ml (solución de trabajo). Utilizar 1 ml de solución por litro de agua de mar.	
REACTIVOS	
Vitaminas	Concentración
Hidroxocobalamina	10,000 mcg
Piridoxina	50 mg
Tiamina	100 mg
Para preparar la solución de trabajo, se disuelve 1 Ampolleta de Bedoyecta Tri@ en un litro de agua destilada. Utilizar 0,5 ml de la solución de trabajo por litro de agua de mar, agregándola al momento de la siembra.	
REACTIVOS	
Silicatos	Cantidad
Metasilicatos de sodio	30 g
Para preparar la solución de trabajo, disolver en agua destilada, aforando a 1000 ml. Utilizando 1 ml de la solución de trabajo por cada litro de agua de mar. Utilizar solo en el caso del cultivo de diatomeas.	

9.2. Anexo 2. Proceso de inclusión en parafina (Humason, 1979; Zúñiga, 1998).

(1) Toma de muestra	
Fijación	Formol al (10%)
Agua	1 hora
(2) Inclusión en Paraplast.	
Deshidratación	Tiempo
Alcohol 40% (1)	1 hora
Alcohol 40 % (2)	1 hora
Alcohol 50 % (1)	1 hora
Alcohol 50 % (2)	1 hora
Alcohol 70 % (1)	1 hora
Alcohol 70 % (2)	1 hora
Alcohol 90 % (1)	1 hora
Alcohol 90 % (2)	1 hora
Alcohol 100 % (1)	1 hora
Alcohol 100% (2)	1 hora
Aclaramiento	
Xilol 1	1 hora
Xilol 2	1 hora
Inclusión	
Parafina	1 hora

9.3. Anexo 3. Tinción de Hematoxilina-Eosina (Humason, 1979 en Zuñiga, 1998).

Proceso de Tinsión de gónada de <i>Pteria sterna</i>	
Desparafinación	Tiempo
Xilol	15 minutos
Hidratación	
Alcohol 100%	5 minutos
Alcohol 90 %	5 minutos
Alcohol 80 %	5 minutos
Agua destilada	5 minutos
Tinción	
Hematoxilina	1,5 minutos
Agua destilada	5 minutos
Eosina	30 segundo
Deshidratación	
Alcohol 80 % (1)	1 minuto
Alcohol 80 % (2)	1 minuto
Alcohol 90 % (1)	1 minuto
Alcohol 90 % (2)	1 minuto
Alcohol 100 % (1)	1 minuto
Alcohol 100 % (2)	1 minuto
Aclaramiento	
Xilol	2 minutos

9.4. Anexo 4. Registro Fotográfico



Figura 26. Recolección y transporte de reproductores de *P. sterna*



Figura 27. Aclimatación de reproductores de ostras de *P. sterna* en ambiente natural, A: muelle de desembarque de personas, B: zona rocosa Punta Napo (Ecuador).



Figura 28. Aclimatación y limpieza en laboratorio, A: reproductores de ostra *P. sterna*, B: limpieza de organismos, C: aclimatación de organismos en tanques de acondicionamiento

9.5. Anexo 5. Estimación del desove mediante el conteo de larvas

Se utilizó el método empleado por Castagna y Kraeuter (1981), el cual consiste en:

Lavar y tamizar los huevos o las larvas (que son recogidos de las cubetas de desove), los cuales son transferidos a un beaker de 1000 ml.

1. Completar el volumen hasta la marca de nivel con agua de mar filtrada
2. Utilizar una pipeta automática de 0,5 ml y mientras se agita el contenido con un émbolo perforado tomar tres muestras replicadas desde el beaker. Asegurarse de que los huevos o larvas se distribuyen de manera uniforme en la columna de agua durante el muestreo
3. Transferir las muestras a una cámara Sedwig rafter para el conteo de individuos
4. Contar los huevos o larvas en cada muestra usando un microscopio binocular
5. Realizar el conteo del número total de huevos o larvas de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{NHD} = 1000 \text{ ml}/0.5 \text{ ml} * \text{N}$$

Dónde:

NHD = Número de larvas trocóforas

Volumen de la muestra = 0.5 ml.

Volumen total del Cilindro = 1000 ml.

N = Número de larvas en la sub-muestra (promedio de tres conteos)

9.6. Anexo 6. Hoja de registro de datos

Hoja 1

Hoja de Registro de Acondicionamiento Gonádico				
Registro diario de (Temperatura)				
Proyecto de ostra perlífera <i>Pteria sterna</i>				
Fecha:				
Registros diarios de Temperatura de los diferentes tratamientos durante el acondicionamiento, Grupo control 24°C, Tratamiento 26°C, Tratamiento 28°C y Tratamiento 30°C.				
Fecha:	Control (24°C)	Tratamiento (26 °C)	Tratamiento (28 °C)	Tratamiento (30 °C)
d.1				
d.2				
d.3				
d.4				
d.5				
d.6				
d.7				
d.8				
d.9				
d.10				
d.11				
d.12				
d.13				
d.14				
d.15				
d.16				
d.17				
d.18				
d.19				
d.20				
d.21				
d.22				
d.23				
d.24				
d.25				
d.26				
d.27				
d.28				

Hoja 2

Hoja de Registro de Tratamientos ((control 24°C), 26, 28, 30°C)				
Registro Semanal (Ganancia en Peso)				
Proyecto de ostra perlífera <i>Pteria sterna</i>				
Fecha:				
Registros semanales de la ganancia en Peso durante el periodo de estudio, de acondicionamiento Gonádico.				
N°	Longitud Total (mm)	Altura (mm)	Espesor (mm)	Peso Total (g)
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				
21				
22				
23				
24				
25				
26				
27				
28				
29				
30				

Hoja 3

Hoja de Registro (Índice morfo-fisiológico)						
Registro Semanal Grupo ((Control 24 °C) 26, 28, 30°C)						
Proyecto de ostra perlífera <i>Pteria sterna</i>						
Fecha:						
Datos biométricos semanales de organismos adultos de <i>P. sterna</i> . Longitud o eje antero-posterior L (mm) Peso del organismo con concha CO. (g) Peso de la masa visceral MV. (g) Peso del músculo aductor MU. (g) Peso de la gónada GO. (g) Peso del manto MA. (g)						
N°	L (mm)	CO. (g)	MV. (g)	MU. (g)	GO. (g)	MA. (g)
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						

Hoja 4

Hoja de Registro de Inducción al Desove												
Registro de (Numero de Larvas Trocoforas)												
Proyecto de ostra perlífera <i>Pteria sterna</i>												
Fecha:												
Datos de números de larvas trocoforas de los diferentes tratamientos de acondicionamiento ((Control 24°C), 26, 28, 30) (Replicas 1,2,3) Vs Temperatura del Desove 15°C, 17°C, 21°C												
Temperatura Descendente	Control 24 °C			Tratamiento (26 °C)			Tratamiento (28 °C)			Tratamiento (30 °C)		
	R: 1	R: 2	R: 3	R: 1	R: 2	R: 3	R: 1	R: 2	R: 3	R: 1	R: 2	R: 3
15°C												
17°C												
21°C												

Hoja 5

Registro Semanal (Diámetro de ovocitos)				
Proyecto de ostra perlífera <i>Pteria sterna</i>				
Fecha:				
Registro semanal del Diámetro (μm) de los ovocitos de los diferentes tratamientos durante el acondicionamiento Gonádico.				
	Control 24°C	Tratamiento 26°C	Tratamiento 28°C	Tratamiento 30°C
N°	Diámetro (μm)	Diámetro (μm)	Diámetro (μm)	Diámetro (μm)
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				
21				
22				
23				
24				
25				

Hoja 6

Registro final de estadios de madurez ((Control 24 °C) 26, 28, 30°C)																
Proyecto de ostra perlífera <i>Pteria sterna</i>																
Fecha:																
Datos de estadios de madurez organismos adultos de <i>Pteria sterna</i> . Desarrollo (DES), maduro (MAD), deove parcial (DSP), post-desove (PSD).																
Semana 4	Control				26°C				28°C				30°C			
N° Organismos	DES	MAD	DSP	PSD	DES	MAD	DSP	PSD	DES	MAD	DSP	PSD	DES	MAD	DSP	PSD
1																
2																
3																
4																
5																
6																
7																
8																
9																
10																
11																
12																