



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE INGENIERÍA PESQUERA Y
CIENCIAS DEL MAR
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE
INGENIERÍA PESQUERA



TESIS DE PREGRADO

**REPRODUCCIÓN INDUCIDA POR SHOCK TÉRMICO Y
SUPERVIVENCIA LARVARIA DE *Anadara grandis***

PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO
PESQUERO

PRESENTADO POR:

Est. FELICIANO SANDOVAL SÁNCHEZ

Est. EDGAR GIORDANO CALERFAN DIOS

TUMBES, PERÚ

2016



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE INGENIERÍA PESQUERA Y
CIENCIAS DEL MAR
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE
INGENIERÍA PESQUERA



TESIS DE PREGRADO

**REPRODUCCIÓN INDUCIDA POR SHOCK TÉRMICO Y
SUPERVIVENCIA LARVARIA DE *Anadara grandis***

PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO
PESQUERO

PRESENTADO POR:

Est. FELICIANO SANDOVAL SÁNCHEZ

Est. EDGAR GIORDANO CALERFAN DIOS

TUMBES, PERÚ

2016

RESPONSABLES

FELICIANO SANDOVAL SÁNCHEZ

EJECUTOR

EDGAR GIORDANO CALERFAN DIOS

EJECUTOR

Dr. OSCAR MENDOZA NEYRA

ASESOR

JURADO DICTAMINADOR

Dr. LEOCADIO MALCA ACUÑA

PRESIDENTE

Dr. DAVID E. SALDARRIAGA YACILA

SECRETARIO

MSC. TEODORO SEMINARIO CHIRINOS

VOCAL

AGRADECIMIENTO

A Dios, por darnos salud, vida y fuerza necesaria para culminar con la tesis que nos propusimos hacerla hace un tiempo atrás.

Agradecemos a nuestras respectivas familias: Sandoval Sánchez Y Calerfán Dios

Al Ing. Ronald García Camizán por su apoyo incondicional durante todas las actividades realizadas en el presente trabajo, del mismo modo en la redacción del informe final.

A nuestro asesor Dr. Oscar Mendoza Neyra y miembros del Jurado de Tesis, Dr. Leocadio Malca Acuña, Dr. David Saldarriaga Yacila y al MSc. Teodoro Seminario Chirinos, por su asesoramiento, observaciones y recomendaciones que condujeron a la mejora del informe final de tesis.

DEDICATORIA

A Dios por darme la fortaleza necesaria, vida y salud. Por permitirme haber llegado a este momento tan importante de mi formación profesional.

A mi familia Sandoval Sánchez, por haberme apoyado en todo momento de mi vida, tanto en mi vida personal como en mi formación profesional, por brindarme sus consejos y valores que permitieron desarrollarme y desenvolverme como una persona de bien.

Feliciano Sandoval Sánchez

A mi familia Calerfán Dios, por darme el coraje, la fuerza, la voluntad y los principios morales para lograr este objetivo y no desistir ante los problemas de la vida, además del apoyo moral e incondicional que me brindaron en cada momento de mi formación académica.

Edgar Calerfán Dios

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
I. INTRODUCCION	15
II. ANTECEDENTES	18
2.1. Concha pata de burro (<i>A. grandis</i>).	18
2.2. Reproducción inducida	21
2.3. Shock térmico	21
2.4. Métodos de la reproducción inducida	21
2.5. Investigaciones relacionadas con la reproducción inducida por Shock térmico y supervivencia larvaria	22
III. MATERIAL Y MÉTODOS	27
3.1. MATERIALES	27
3.2. MÉTODOS	29
3.2.1. Lugar y periodo de ejecución del experimento	29
3.2.2. Tipo y diseño de la investigación	29
3.2.3. Población y muestra de estudio	29
3.2.4. Obtención de ejemplares de <i>A. grandis</i>	30
3.2.5. Transporte de los ejemplares de <i>A. grandis</i>	30
3.2.6. Medición de ejemplares	30
3.2.7. Lavado de ejemplares	31
3.2.8. Determinación de la madurez sexual	31
3.2.9. Acondicionamiento de los estanques de 200 L	32
3.2.10. Control de parámetros	32
3.2.12. Alimentación para los reproductores	32
3.2.13. Método aplicado: Shock térmico	33
3.2.14. Conteo de gametos	33
3.2.15. Conteo de reproductores que emiten gametos	34
3.2.16. Supervivencia de las larvas de <i>A. grandis</i>	34
3.2.17. Desarrollo larval	34
IV. RESULTADOS	36
4.1. Reproducción de <i>A. grandis</i> por Shock térmico	36
4.2. Supervivencia larval de <i>A. grandis</i>	36

V. DISCUSIÓN	38
VI. CONCLUSIONES	40
VII. RECOMENDACIONES	41
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
ANEXOS	47

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Características de madurez sexual de bivalvos.	31
Tabla 2. Parámetros tomados en la reproducción y supervivencia larval de <i>A. grandis</i> .	32
Tabla 3. Microalgas para la alimentación de reproductores y larvas de <i>A. grandis</i> .	33
Tabla 4. Supervivencia de los reproductores de <i>A. grandis</i> .	34
Tabla 5. Reproducción inducida de <i>A. grandis</i> , de acuerdo al tratamiento por shock térmico (5 °C y 10 °C).	36
Tabla 6. Población, densidad, supervivencia y estadio larval de <i>A. grandis</i> de acuerdo a su tiempo de cultivo.	37

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Identificación de la gónada de <i>A. grandis</i> .	31
Figura 2. Larva trocófora, observada a 100X en un microscopio electrónico.	34
Figura 3. Larva D observada a 100X en microscopio electrónico	35
Figura 4. Larva pediveliger observada a 100X en un microscopio electrónico	35

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Peso, talla y desove de los reproductores de <i>A. grandis</i> en el tanque N° 1.	48
Anexo 2. Peso, talla y desove de los reproductores de <i>A. grandis</i> en el tanque N° 2.	49

Est. Feliciano Sandoval Sánchez¹
Est. Edgar Giordano Calerfan Dios¹
Dr. Oscar Mendoza Neyra²

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar la producción mediante inducción a la reproducción por shock térmico con cambios de temperatura del agua de 10 °C y 5 °C por 30 minutos y supervivencia larval de *A. grandis*. El estudio se realizó desde el 5 de diciembre del 2015 hasta el 5 de enero del 2016; se extrajeron 74 reproductores de *A. grandis* del manglar de Puerto Pizarro y llevados al laboratorio de la empresa Inca Biotec, ubicada en Puerto Pizarro, en donde fueron seleccionados 50 de los 74 reproductores con peso promedio de 120 g \pm 1 g y 11 cm \pm 1 cm, estos fueron puestos en 2 tanques con 100 L de agua, se aplicó el método de shock térmico de 5 °C y 10 °C, por 30 minutos para ambos tanques, sin embargo, no se logró obtener larvas a 5 °C, siendo a 10 °C, que se logró la producción de larvas, logrando desovar 23 de 50 ejemplares en total de *A. grandis* (13 hembras y 10 machos); siendo de estos 12 para el tanque 1 (8 H y 4 M); y el resto para el tanque 2 (5 H y 6 M) con una eficiencia al desove de 48 % y 44 %,obteniendo una eficiencia total del 46 %, además se obtuvo una densidad de cultivo de 14 225,38 ind/L y 8 890,65 ind/L para cada tanque, en donde se logró llegar a la fase de larva pediveliger con el 0,11 % y 0,13 % respectivamente, sin embargo, es necesario mencionar que la mayor mortalidad larval se dio desde la fase de larva trocófora a larva D, llegando a una supervivencia del 7,16 % y 8,70 %, esto debido a la presencia de microorganismos no identificados y la flotabilidad larval que se visualizó desde el primer día del cultivo; llegando a concluir que la producción de larvas por shock térmico a una escala gradual de 10 °C, es buena y la supervivencia larval final de *A. grandis* fue de 0,11 % y 0,15 % concluyéndose baja.

Palabras claves: *Anadara grandis*, shock térmico, Larva trocófora, larva D, larva pediveliger

¹ Estudiantes de la Escuela de Ingeniería Pesquera de la Universidad Nacional de Tumbes.

² Profesor Principal de la Escuela de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar de la Universidad Nacional de Tumbes

Est. Feliciano Sandoval Sánchez¹
Est. Edgar Giordano Calerfan Dios¹
Dr. Oscar Mendoza Neyra²

ABSTRACT

This research aimed to determine the production by inducing thermal shock reproduction with changes in water temperature of 10 °C and 5 °C for 30 minutes and larval survival of *A. grandis*. The study was conducted from 5 of december 2015 end 5 of january 2016; 74 players *A. grandis* mangrove of Puerto Pizarro were removed and taken to the laboratory of Inca Biotec, located in Puerto Pizarro, where they were selected 50 of the 74 players with an average weight of 120 g ± 1 g and 11 cm ± 1 cm, these were put into 2 tanks with 100 L of water, the method of heat shock of 5 °C and 10 °C was applied for 30 minutes for both tanks, however, failed to obtain larvae at 5 °C, with 10 °C, larval production was achieved, achieving spawn 23 of 50 copies in total *A. grandis* (13 females and 10 males); being of these 12 for tank 1 (8 H and 4 M); and the rest for tank 2 (5 H and 6 M) with an efficiency spawning 48 % and 44 %, for a total efficiency of 46 %, is also a culture density of 14 225,38 ind/L was obtained and 8 890,65 ind/L for each tank, where he managed to reach the larval stage pediveliger with 0,11 % and 0,13 % respectively, however, it is necessary to mention that most larval mortality occurred since the trocófora larva stage to D larva, leading to a survival of 7,16 % and 8,70 %, this due to the presence of unidentified microorganisms and larval buoyancy visualized from day of cultivation; coming to the conclusion that the production of larvae by thermal shock to a gradual scale of 10 °C, is good and the larval survival of *A. grandis* of 0,11 % y 0,15 % is low.

Keywords: *Anadara grandis*, thermal shock, larva D, larva trochophore y larva pediveliger

¹ Students of the Fishery Engineering School of the National University of Tumbes.

² Principal Professor of the Fishery Engineering School and Marine Sciences of the National University of Tumbes

Thesis to obtain the professional title of Fishery Engineer
National University of Tumbes
Fishery Engineering and Marine Sciences Faculty
Fishery Engineering School
The Ceibos S/N Street, Puerto Pizarro, Tumbes-Perú
e-mail: juanfess_1993@hotmail.com , calefan.dios@hotmail.com

I. INTRODUCCION

En el presente trabajo se estudió la reproducción inducida por shock térmico y supervivencia larvaria de *Anadara grandis*, este trabajo es sumamente importante debido a la fuerte explotación que recibe este recurso de los manglares, predisponiendo a un futuro no muy lejano tienda a desaparecer. Con este trabajo se da a conocer su reproducción inducida por shock térmico y supervivencia larvaria, como uno de los principales pilares a tener en cuenta, porque a partir del conocimiento de su reproducción y supervivencia larval se puede realizar investigación con fines de repoblamiento.

La región Tumbes, cuenta con una diversa e importante fauna marina, entre peces, crustáceos y moluscos con un buen potencial para realizar acuicultura. Existe una gran diversidad de invertebrados distribuidos en todos los ambientes acuáticos: marinos, continentales o zonas de mezcla como los canales de marea o esteros del ecosistema de los manglares (IMARPE 2003).

La concha pata de burro (*A. grandis*) forma parte de la dieta diaria del poblador tumbesino y además tienen una gran aceptación en los principales mercados del norte y de la capital de la república, esta circunstancia provoca una drástica extracción de la especie, pues su explotación es cada día más intensa (IMARPE 2008).

La población para esta especie en los manglares de Puerto Pizarro es de 26 497 individuos y su talla comercial recomendada por el Ministerio de la Producción es de 8 cm. La densidad poblacional se ha reducido significativamente, indicando como una amenaza para la especie (vulnerable) debido a factores como: la extracción desmedida y a la alteración del hábitat por efectos del fenómeno de El Niño de 1983 y 1997-1998 (Inrena 2005).

La reproducción inducida permite acelerar el desove mucho más rápido de la especie *A. grandis* ya que estará en un control susceptible y eficaz, de manera que los reproductores obtendrán mejor eficiencia a la hora de la expulsión de los gametos en un medio que se encuentre libre de patógenos.

A todo esto se han realizado varios ensayos en laboratorio teniendo en cuenta diversos bivalvos con diferentes métodos de inducción reproductiva; los cuales han servido de gran mejora para los bancos naturales (Borda y Cruz 2004).

En la actualidad la metodología más empleada para la estimulación de los moluscos bivalvos y otras especies para el desove en medio artificial es por shock térmico que consiste en la elevación gradual de la temperatura a intervalos y tiempos iguales hasta obtener desoves de los bivalvos. Esta técnica es muy usada especialmente para estimular al desove de bivalvos en aguas templadas o frías. La estimulación de moluscos bivalvos para desovar en ambiente controlados se puede llevar a cabo mediante cualquier método que provoque *stress* en el organismo y por ende la evacuación de los productos sexuales. Es importante saber que todos los tipos de *stress* producen el desove cuando los organismos se encuentran en plena fase de madurez sexual, con óvulos totalmente maduros que se caracterizan por su forma de pera, reserva lipídica y núcleo desarrollado, así mismo como los espermatozoides muy activos. El mayor crecimiento de las larvas procedentes de los desoves grupales en comparación a los individuales sugiere que la manipulación de los gametos que se debe hacer cuando se aplica el sistema individual, incide negativamente sobre el crecimiento larval. Así mismo, la falta de influencia del sistema de fertilización sobre la supervivencia de los embriones y larvas, en tanto a la poliespermia se presentó en la fertilización 89 890 grupal, o que sus efectos fueron pocos aprovechables (Velasco y Barros 2008).

La reproducción y supervivencia larvaria de *A. grandis* son parámetros que se deben tener en cuenta para evitar la extensión de una especie por tal motivo se realizó el estudio en *A. grandis* y que tuvo como objetivo general.

Producir y evaluar la supervivencia de larvas de *A. grandis* obtenidas mediante inducción a la reproducción por shock térmico con cambios de temperatura del agua de 10° C y 5° C por 30 minutos.

Y como objetivos específico

1. Determinar la producción de larvas de *A. grandis* obtenidas mediante inducción a la reproducción por shock térmico con cambios de temperatura del agua de 10° C y 5° C por 30 minutos.
2. Evaluar la supervivencia larvaria de *A. grandis* obtenidas mediante inducción a la reproducción por shock térmico con cambios de temperatura del agua de 10° C y 5° C por 30 minutos.

II. ANTECEDENTES

2.1. Concha pata de burro (*A. grandis*).

Los moluscos representan en la acuicultura uno de los grupos más importantes desde el punto de vista productivo y económico. Sus costos de producción son bajos dentro de las tecnologías de producción de cultivos acuícolas y su rentabilidad es alta (Gutiérrez 2002).

A. grandis se encuentra mayormente en los lechos de los canales de marea tipo fango-arenosos y también limo-arenosos, a una profundidad aproximada de 10-15 cm de la superficie (Aguilar2005).

A. grandis habita en zonas de manglares con playones limo-arcillosos con descargas leves de agua dulce (García 2002). Por otro lado, Miranda, Voltolina y Cordero (2006), indican que *A. grandis* es un buen candidato para la acuicultura tropical; mientras que Camacho (2000), menciona que respecto a la alimentación de ésta especie, esta se da por intermedio de la filtración de materia orgánica.

En la provincia de El Oro-Ecuador, la recolección de moluscos en manglares corresponde a la *A. tuberculosa* (concha negra), *Anadara similis* (concha macho) y *A. grandis* (concha pata de mula); las cuales se encuentran en peligro de desaparecer por problemas de sobreexplotación (Rengel y Hualpa 2009).

La concha *A. grandis* desova en octubre, noviembre y diciembre, en el Golfo de Nicoya, los juveniles desovan por primera vez entre los 21-24 mm de longitud total (Camacho 2000).

A. grandis se puede reproducir en grandes cantidades en sus bancos naturales porque está siendo depredada por aquellos que la extraen, motivo por el cual es necesario conocer la bio-ecología y

tener en cuenta un repoblamiento o un cultivo comercial de esta especie, Un aspecto importante y necesario para el manejo de *A. grandis* es el estudio de su reproducción, porque proporcionan datos relacionados con la distribución, estructura, reclutamiento a la población y principalmente la talla en la que los organismos maduran. Se han identificado dos períodos: el reproductivo que incluye desde el inicio de la gametogénesis, la madurez y el desove, y el vegetativo que incluye la fase de reposo de la gónada. Entre las características principales del ciclo vital de las especies del género *Anadara*, destacan los siguientes: hábito sedentario, tasa de crecimiento lento, fecundación externa con larva planctónica de vida corta, que luego se fijan el sustrato a sobre conchas adulta y desoves durante todo el año (Borda y Cruz, 2004).

Por otra parte, una de las etapas críticas de la reproducción es la temporada de desove, que en los invertebrados marinos se encuentra relacionada con una alta disponibilidad de alimento. También se ha relacionado la disponibilidad de alimento y los valores máximos de abundancia de fitoplancton en el medio ambiente con el inicio de la gametogénesis en los bivalvos (Muñetón et al. 2001, Villalejo et al. 2002).

La temperatura es uno de los factores externos más importantes que influyen en el ciclo reproductivo del bivalvo. En algunas especies, el desove se inicia cuando la temperatura excede de un nivel crítico característico como, es el caso de *Pinctadamaz atlantica* ocurría entre 25°C y 27°C (García et al. 2004)

Al presentar actividad de desove todo el año con dos periodos máximos de desove de *P. mazatlanica*, en Bahía Magdalena, afirmando que su comportamiento reproductivo es intermedio entre el presentado por las especies de climas templados y por las de climas tropicales, lo cual es razonable ya que el área de estudio se

encuentra en la zona de transición templado-tropical (Pérez Medina 2005).

A. grandis se reproduce todo el año, pero su principal época de maduración de sus gametos ocurre en noviembre y febrero. Dadas las diferencias expuestas en el comportamiento temporal del ciclo reproductivo de *A. grandis* en los estudios en referencia y lo observado en el presente trabajo (Borda y Cruz 2004).

La intensidad durante El Niño, y corto y tardío durante La Niña, en la Isla Espíritu Santo, Golfo de California, México. De manera similar, este fenómeno, que en Bahía Magdalena indujo anomalías positivas de temperatura hasta de +4,4 °C en verano de 1997 y causó cambios importantes en la abundancia de peces y copépodos, pudo inducir variaciones en el comportamiento reproductivo de *A. tuberculosa* y *A. grandis* en Bahía Magdalena, donde el desove fue más prolongado en 1998 que el encontrado en el año 2000 (Pérez Medina 2005).

En *A. grandis*, el ciclo reproductivo presenta una serie de etapas, que en general comienza con la activación de la gónada y diferenciación celular, continúa con el desarrollo y la maduración de los gametos, posteriormente se produce el desove (liberación de gametos al medio) y por último se tiene un periodo de reposo o post desove en donde los gametos residuales son reabsorbidos. El ciclo biológico comprende cuatro fases: huevo, larva, juvenil y adulto. La fase larval es planctónica y presenta tres estadios: 1 trocófora (larva ciliada) 2 larva tipo D (con velo u órgano ciliado nadador) larva umbonada, larva con ojo, larva pediveliger, larva asentada que se caracteriza por la segregación de la concha y del pie, que le sirve para adherirse al sustrato adecuado. Los ejemplares de *A. grandis* adquieren la primera madurez gonadal cuando alcanzan la talla de 45 mm, a los 10 o 12 meses de edad, desovando de 1 a 10 millones de óvulos. El proceso del desove se inicia generalmente expulsando

al exterior primero el esperma para después seguir con los óvulos (figura 1) (Bermúdez et al. 2004).

2.2. Reproducción inducida.

La inducción al desove, es el método por el cual se obtienen los óvulos y espermatozoides necesarios para realizar la fertilización. Para lograr la inducción es necesario aplicar un estímulo físico a los reproductores acondicionados. Esta consiste en aumentar la temperatura hasta 7 °C sobre la temperatura ambiente; es decir, si se colocan los reproductores acondicionados en agua a temperatura de 28 °C, a éstos se le aumentará la temperatura hasta los 35 °C, 36°C y 38 °C se mantendrá.

2.3. Shock térmico

El shock térmico es un método muy confiable para determinar el desove y a la misma vez el porcentaje de organismos desovantes en una población natural, con fines de predicción de la fijación de semillas para su uso con fines de acuicultura (Alfaro et al. 2001).

2.4. Métodos de la reproducción inducida.

Entre las técnicas de inducción en moluscos bivalvos se encuentran las siguientes: métodos de naturaleza física, métodos de naturaleza química, métodos nutricionales y métodos de naturaleza mecánica, este último consiste en la incisión de la gónada o punciones en los músculos aductores (Carretero 2002).

El período de desove en poblaciones naturales varía según la especie y situación geográfica. Existen varios factores ambientales que pueden inducir el desove, de los cuales cabe mencionar la temperatura, los estímulos químicos y físicos, las corrientes de agua o una combinación de estos y otros factores. La presencia de esperma en el agua a menudo estimula el desove de animales de la misma especie (Carretero 2002)

2.5. Investigaciones relacionadas con la reproducción inducida por shock térmico y supervivencia larvaria.

La expulsión de gametos de los moluscos bivalvos está íntimamente relacionados a la temperatura de su ambiente. (Arellano et al.2002); tal y como lo menciona en un Documental que *Pinna rugosa*, los desoves se presentaron en un intervalo de temperatura de 23 °C a 31 °C, para la misma especie.

Estudios realizados en inducción al desove de *A. tuberculosa*, se utilizó las técnicas de shock térmico, elevando la temperatura hasta 10 °C por encima de la temperatura ambiental del agua; shock térmico más adición de gametos maduros de machos al agua y la incisión mecánica, abriendo las valvas de los moluscos para extraer las gónadas. De las tres técnicas indicadas, sólo en la última se logró la fecundación. La incubación y eclosión se llevó a cabo en depósitos de 1 000 mililitros de capacidad, logrando obtener larvas, manteniéndolas vivas hasta 48 horas, después de ese tiempo murieron. Con respecto al asentamiento larval, esta etapa no se pudo realizar puesto que el tiempo que se mantuvieron vivas las larvas fue muy corto. Las microalgas: *Chaetoceros sp*, *Tetraselmis sp* y *Thalassiosira sp.*, fue el alimento suministrado tanto a los reproductores como a las larvas (Mendoza y Peralta 2005)

Wedler (2003), logró producir semilla de *A. tuberculosa* siguiendo un protocolo de inducción al desove que consiste en aplicar desecación en frio por un corto periodo 20°C por 1h y posteriormente inmersión en agua a alta temperatura 32°C y baja salinidad 20 ppm. Aunque esta técnica permitió obtener un número considerable de larvas.

En el ensayo de desoves en el laboratorio se observó que aunque no se tuvo éxito en la obtención de gametos, debido a que los callos ya estaban sexualmente inmaduros en agosto, si se observó una respuesta al drástico cambio de temperatura de 22°C a 32°C, por lo que es recomendable realizar este proceso en especímenes

fisiológicamente adaptados, es decir maduros y no estresados. Por ejemplo para la maduración en *A. maura*, (Rodríguez et al. 2001); se llevó a cabo las condiciones en laboratorio y establecieron que esta especie tiene mejor calidad y maduración de gametos a temperaturas altas con mejores resultados a los 25°C y 30°C.

Mendoza (2005) determinó visualmente el sexo de *A. tuberculosa* en el caso de hembras las gónadas, el color es anaranjado y en el caso de los machos el color de las gónadas es crema. El grado de madurez sexual, se determinó observando las gónadas y su capacidad ocupada dentro del manto, teniendo en cuenta cinco estadios (I, inmaduro; II en desarrollo; III desarrollado; IV maduro y V desovado), en cuanto al grado de madurez sexual correspondió al grado II en desarrollo y el grado III desarrollado.

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. Aunque estos aspectos serán revisados en otra presentación podemos señalar que nuestro grupo ha realizado estudios para mejorar el acondicionamiento de reproductores de *Argopecten purpuratus* en los cuales se ha demostrado que una dieta mixta de microalgas de 15×10^7 cel./ml y enriquecida en lípidos insaturados permite mejorar los resultados en la maduración y porcentajes de desove a un 80 % (Martínez et al. 2000).

Miranda et al. (2006) evaluó las tasas de filtración y a la misma vez la clarificación de semillas de *A. grandis* en laboratorio (largo de la concha = $9,50 \pm 0,37$ mm) con una concentración de alimento $7,5$ mg.L⁻¹ de *I. galbana* y cuatro diferentes temperaturas empleando método de choques térmicos (22, 25,28 y 31 °C con pH = $7,5 \pm 0,2$, concentración de O₂ de $6,4 \pm 0,5$ mg.L⁻¹; experimento 1); y con una temperatura 25 °C y cinco concentraciones de material suspendido

(de 7,5 a 29,5 mg.L⁻¹ y niveles de pH y O₂ de 7,9 ± 0,2 y 6,8 ± 0,4 mg.L⁻¹ , experimento 2).

Existen estudios que muestran que aumentos en la temperatura del agua no dan por resultado necesariamente una mejoría en el desempeño reproductivo de los bivalvos. En *Ostrea chilensis*, temperaturas bajas mostraron ser importantes en estimular tanto la ovogénesis temprana como la espermatogénesis Jeffs et al. (2002). Sin embargo, Chávez et al. (2002) examinando el efecto de esta variable sobre el acondicionamiento reproductivo de *Crassostrea gigas*; detectaron que efectivamente se acelera el crecimiento de los ovocitos entre 16 °C y 22 °C, sin embargo, a 25 °C decrece significativamente.

En *A. maura* la inducción al desove se realizó en 4 ensayos realizados, colocando reproductores juntos en un solo acuario y realizando la fecundación del mismo. En este ensayo se logró producir larvas que fueron cultivadas por 3 días los resultados mostraron que fue posible la inducción de los reproductores con eficiencias de inducción de 26.7 %, 33.3 %, 33.3 %, y 100 % para cada uno de los mismo. En el cuarto ensayo se pudo observar los estadios larvarios de la larva trocófora al primer día y larva veliger (larva D) en el segundo y tercer día. Las densidades de las larvas obtenidas fueron de 8571,4 ind/L, 628,6ind/L y 14 ind/L para las 18, 24 y 72 horas del cultivo larval respectivamente mientras que la supervivencia fue del 100 %, 7,33 % y 016 % respectivamente de los mismo utilizando el método de shock térmico (Sánchez y Moran 2014).

Martínez et al., (2000), Provo dietas y ensayó dos temperaturas para el acondicionamiento de reproductores de *A. purpuratus*, y se encontraron mejores resultados, tanto en porcentaje de maduración como en respuesta a estímulos desovantes, en aquellos individuos mantenidos a 16 °C que en aquellos a 20 °C. Con el fin de

profundizar acerca de este efecto positivo, observado a temperatura más baja, se realizó otro estudio en el que se evaluó la influencia de cambios en la temperatura, aplicados durante el proceso de acondicionamiento reproductivo, sobre el desarrollo gonadal y calidad de la progenie en este bivalvo.

Mendoza y Peralta (2007) evaluó el número de óvulos maduros producidos antes del desove en *A. tuberculosa* se calculó gravimétricamente, se pesó la gónada, el producto se diluyó en 5 ml de agua de mar, luego con una pipeta micrométrica se sacó una sub muestra de 2 μ l se colocó en una lámina porta objeto, finalmente con la ayuda de un microscopio con cámara fotográfica incorporada se realizó el conteo de óvulos. Se observó que en promedio mensual el 15,7 % de hembras y 15,5 %, siendo los meses de marzo a junio los que presentan los mayores promedios de desove.

Rodríguez et al. (2001), estudió el desove en *A. Maura* comprendiendo los dos picos de mayor actividad gametogénica o desoves importantes se activaron cuando la temperatura alcanzó 29.2 °C tanto en abril como en octubre, coincidiendo con el incremento y decremento de la temperatura del agua mientras que el período vegetativo o de reposo ocurrió durante la temporada más cálida del año de julio a septiembre, a 30.3 °C y 30.8 °C.

Asimismo, Robles et al. (2001), refieren que los reproductores de *A. maura* maduran en laboratorio y se les hace desovar mediante choques térmicos, levantando la temperatura de 19 °C a 27 °C. Los huevos después de fecundarse tardaron entre 20 y 21 horas en alcanzar el estadio D o véliger de charnela recta. Las larvas fueron alimentadas con *Isochysis galbana* y *Chaetoceros calcitrans*, en proporción 1:1 y densidades de 30 000 a 40 000 cel. /ml de principio a fin del cultivo. Las larvas "D" al segundo día medían en promedio 108 μ m de largo por 78 μ m de alto, al octavo día un 50 % de la población estaba umbada con talla de 160 por 130 μ m y el onceavo

día un 30 % tenía mancha ocular. Al doceavo día la mayoría presentaba mancha ocular con 233 por 196 μm de largo y alto. Siete días más tarde, midieron 272 por 211 μm de largo y alto, respectivamente. Asimismo, indican que se obtuvo un 50 % de sobrevivencia hasta la larva oculada y tardó ocho días más en alcanzar la metamorfosis. Demostrando que el inicio se presentaron semillas de 150 000 y Al final se obtuvieron 70 000 semillas de 3 a 8 mm de largo (Gonzales, 2003).

Rico et al., (2006); Degremont et al., (2007), en donde se separan reproductores de *A. maura* en cada acuarios en tanto a machos y hembras respectivamente y la fertilización de los ovocitos se hace en una relación espermios y ovocitos está controlada para evitar problemas de polispermia, que consiste en la entrada de más de un espermatozoide dentro de un ovocito, lo que causa segmentaciones anormales y la muerte de los embriones. Con animales provenientes de una misma colecta se probaron dos técnicas de inducción al desove:

- 1) Cubana: desecación a 16 °C por 12 h, luego exposición al sol elevando la temperatura por 45 min y finalmente inmersión en agua a 30 °C y 30 ppm de salinidad.
- 2) Colombiana: desecación a 20 °C durante 1 hora y finalmente inmersión en agua a 32 °C y 20 ppm de salinidad Wedler, (2003); Cada tratamiento se aplicó en paralelo, utilizando grupos experimentales de al menos 30 ostras en cada uno. Esta operación se repitió en ocho ocasiones diferentes entre abril y septiembre de 2004. Para la inmersión de los animales y la obtención de sus desoves se utilizaron acuarios de fondo negro (30 L) con agua microfiltrada a 1 μm , esterilizada con luz ultravioleta y aireada (Helmet et al. 2006).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. MATERIALES

Material biológico

30 ejemplares reproductores de *A. grandis*

Equipos y materiales

❖ **Equipos**

- 4 acuarios de 70 L
- 1 autoclave
- 1 estufa
- 1 cámara de flujo laminar
- 1 mechero de alcohol
- 2 microscopios
- 3 termostatos de 100 vatios
- 1 balanza analítica
- 1 vernier de ± 1 mm
- 1 cámara neubauer
- 1 refractómetro
- 1 potenciómetro

❖ **Materiales**

- 3 baldes de 20 L.
- 1 tina mediana.
- 1 caja de portaobjetos
- 2 cajas de mascarillas
- 2 paquetes de gasa
- 1 docena de pabito
- 4 piedras difusoras
- 5 marcadores de tinta indeleble
- 4 gradillas para tubos de ensayos
- 1 micro pipeta de 100-1000 μ l
- 1 micro pipeta de 20-200 μ l

- 3 kg de algodón
- 1 plancha de tecnopor
- 2 estuches de disección
- 1 metro de franela
- 10 placas Petri
- 1 pipeta de 10 ml
- 2 vasos de precipitación
- 3 embudo
- 3 frascos de 200 ml
- 2 frascos de 475 ml
- 2 espátulas drigalsky
- 1 pipeta gotero de 3 ml
- 2 pares de guantes quirúrgicos
- 30 metros de manguera
- 3 baldes de 12 L
- 1 balón de gas
- 35 jeringas de 5 ml
- 100 jeringas tuberculinas
- 2 jarras de 1500 ml
- 1 tamiz de celosilla
- 1 caja de papel filtro de 0,40 μm
- 1 tamiz de 70 μm
- 1 tamiz de 100 μm
- 2 escobas
- 2 escobillas
- 2 pares de botas
- 2 cuchillos medianos
- 2 toallas medianas
- 2 pares de guantes
- 2 mascarillas

❖ **Material de oficina**

- 1 millar de papel bond tamaño A-4 de 75 g
- 1 memoria USB de 4 Gb

- 1 libreta de apuntes
- 4 CD Rom
- 2 lapiceros

❖ **Insumos**

- 1 L de hipoclorito de sodio al 5 %.
- 1 L de formol al 40 %
- 4 galones de agua destilada

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Lugar y periodo de ejecución del experimento.

El experimento se realizó en el Laboratorio del CEBAP, de la empresa Inca Biotec, durante un periodo de tiempo de 50 días, ubicado en el desembarcadero pesquero de Puerto Pizarro, el cual se limpió con escobas y escobillas, además se desinfectó con hipoclorito de sodio al 5 %.

3.2.2. Tipo y diseño de la investigación.

La presente investigación fue de acuerdo a su finalidad de tipo aplicada, por cuanto se buscó determinar las variables de interés: la reproducción y supervivencia.

El diseño de contrastación de la investigación fue de acuerdo de tipo experimental, debido a que la investigación se realizó un diferentes momentos.

3.2.3. Población y muestra de estudio.

La población y muestra de *A. grandis* que se utilizó en la investigación fue de 78 reproductores de 11 cm \pm 1 cm de longitud valvar promedio y 120 g \pm 5 g de peso promedio, que

fueron extraídas del ecosistema del manglar del Estero Jelí en Puerto Pizarro, Tumbes.

3.2.4. Obtención de ejemplares de *A. grandis*.

Los ejemplares de *A. grandis* obtenidos fueron de talla comercial (8 cm – 11 cm), y fueron extraídos por el Sr. Agustín Cortés Campos, extractor experto en la recolección de moluscos bivalvos, quien se encargó de buscar los ejemplares en el fango del manglar de Puerto Pizarro, estos fueron medidos con un vernier en el mismo manglar y seleccionados con la talla mínima de captura mencionada líneas arriba; y luego estos ejemplares fueron transportados al Laboratorio del CEBAP de la empresa Inca Biotec ubicado en el desembarcadero Pesquero de Puerto Pizarro, Tumbes.

3.2.5. Transporte de los ejemplares de *A. grandis*

Los 78 ejemplares de *A. grandis* ya seleccionados fueron transportados en cuatro baldes de plástico de 20 L, estos fueron llevados en seco hasta el laboratorio del CEBAP de la empresa Inca Biotec.

3.2.6. Medición de ejemplares

Los ejemplares de *A. grandis* adquiridos, fueron medidos individualmente por segunda vez con un vernier de la Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar, en una mesa desinfectada y se colocaron las muestras en filas y columnas contabilizando un total de 78 conchas de *A. grandis* y luego se pasó a medir la longitud valvar y el peso total de las cuales fueron seleccionadas 54 ejemplares con una longitud promedio de 11 cm \pm 1 cm y un peso promedio de 120 g \pm 5 g.

3.2.7. Lavado de ejemplares

Los 54 ejemplares de *A. grandis* fueron individualmente lavados y cepillados con escobillas para eliminar desechos y lodo putrefacto que contenían en sus valvas y costillas, y luego se lavó con abundante agua potable, quedando finalmente totalmente limpios.

3.2.8. Determinación de la madurez sexual

Se sacrificaron al azar cuatro reproductores de *A. grandis*, estos fueron abiertos con una tabla abre concha individualmente, en donde se observó las gónadas y se identificó de forma visual y con la ayuda de la tabla de madurez sexual para bivalvos reportada por Malca (1996) citada por Sánchez y Moran (2014), ver tabla 1 y figura 1.

Tabla 1. Características de los estadios de madurez sexual de los bivalvos.

Estadio	Características
Inmaduro	Las gónadas rodean parcialmente el intestino
En desarrollo	Las gónadas rodean completamente el intestino
Desarrollado	Las gónadas rodean completamente el intestino y parcialmente el esófago
Maduro	Las gónadas rodean completamente el intestino y estómago
Desovado	Se observan pequeñas trazas o residuos gonadales

Fuente: IMARPE



Figura 1. Identificación de la gónada de *A. grandis*

3.2.9. Acondicionamiento en los tanques de 200 L.

Se lavaron 2 tanques de 200 L de capacidad, estos fueron desinfectados con hipoclorito de sodio al 5 %, y a la misma vez restregados con una esponja, finalmente estos fueron lavados con abundante agua y dejados al sol por un día para eliminar algún agente patógeno, luego estos tanques fueron llenados con 100 L de agua de mar filtrada con oxígeno y se colocaron 25 ejemplares de *A. grandis* para cada tanque.

3.2.10. Control de parámetros

El control de parámetros se hizo desde el primer día del acondicionamiento de los ejemplares hasta el término del estudio, los parámetros abióticos que fueron medidos: temperatura, salinidad y oxígeno, estos fueron medidos a las 8:00 am y 6:00 pm, sin embargo, en la inducción se midió cada 30 minutos.

Tabla 2. Parámetros tomados en reproducción y supervivencia larval de *A. grandis*

PARÁMETROS	HORA	
	08:00	16:00
Temperatura (°C)	28	28
Salinidad (‰)	34	34,3
Oxígeno disuelto (mg/l)	5,12	5,26

3.2.11. Alimentación para los reproductores

Se realizó cultivos de microalgas en el laboratorio del SEBAT, Ubicado en el desembarcadero de Puerto Pizarro, y se alimentó a los reproductores y larvas dos veces por día 8: 00 am y 6 pm, Para esta etapa la ración diaria de alimento fue de 1 L de microalgas para 30 L de agua de mar filtrada.

La ración de alimento contuvo diatomeas de alto valor nutritivo como *C. gracilis* e *I- galbana*.

Tabla 3. Microalgas para la alimentación de reproductores y larvas de *A. grandis*.

Especies de Microalgas	Cantidad (L)	Concentración (Cel/L)
<i>Chaetoceros gracilis</i>	1	305, 23 x 10 ⁴
<i>Isocrhysis galbana</i>	1	201, 95 x 10 ⁴

3.2.12. Método aplicado: Shock térmico

La estimulación se realizó de manera masiva colocando 25 ejemplares de *A. grandis* en cada tanque; mediante un calentador de agua con termostato, se subió la temperatura entre 5 °C a 10 °C, desde la temperatura ambiente del agua, manteniéndola constante hasta la puesta, o bien, volviendo después de 30 minutos a la temperatura inicial y repitiendo el proceso hasta la expulsión de los gametos. Una vez que fueron expulsados los gametos, se colectaron y se depositaron en un tanque con agua a temperatura ambiente y aireación constante.

3.2.13. Conteo de gametos

Cuando se aplicó el shock térmico se realizó el conteo de gametos en cada tanque de los reproductores de *A. grandis*, a esto se realizó el conteo tomando una muestra de gametos de cada tanque, y luego se contó con ayuda de una cámara neubauer y un microscopio para encontrar la cantidad de gametos expulsados.

3.2.14. Conteo de reproductores que emiten gametos

Este método de dio por observación directa, se evaluaron en cada tanque la cantidad de reproductores que emitieron gametos en su debido momento, y se tuvo en cuenta la variación de la temperatura con la cual se trabajó, en donde se obtuvo la expulsión de gametos con 10 °C y se contaron

los reproductores que no emitieron sus gametos al medio donde fueron inducidos tal como lo muestra la tabla 5.

3.2.15. Supervivencia de los ejemplares de *A. grandis*

Se realizó mediante un conteo directo en el acuario observando los ejemplares que tengan permanentemente las valvas abiertas que indicaron que estos ejemplares murieron.

Tabla 4. Supervivencia de los reproductores de *A. grandis*

Tanques	Nº de <i>A. grandis</i> muertos a 10 °C	Supervivencia (%)
Tanque 1	5	80
Tanque 2	4	84
Total	9	82

3.2.16. Desarrollo Larval

Se consideraron 3 etapas de desarrollo hasta su fijación, sin embargo, en una a dos horas posterior al desove se tomó la primera muestra donde se observó los huevos fecundados.

- **Primer Estadio Larva Trocófora.**

En la figura 2 se observa una larva trocófora, luego de nueve horas posteriores a los huevos fecundados se comienza a observar la formación de la concha y se empieza a acomodar sus penachos de cilios, características típicas de una larva trocófora, esto se dio en 9 a 18 horas.



Figura 2. Larva trocófora observada a 100X en un microscopio electrónico

- **Fases de Larva D**

En la figura 3 se observa una larva D, esta se observó a las 20 horas, en esta fase los cilios se acomodaron de forma tal que sus movimientos permitieron generar una corriente de agua succionando su alimento hasta su boca para alimentarse, siendo visible su alimento en el tracto digestivo



Figura 3. Larva D, observada a 100X en un microscopio electrónico

- **Etapa de cultivo de larva oculada o pediveliger**

En la figura 4 se observa una larva oculada o pediveliger *A. grandis*, y se observó a los 23 días, donde se observó una concha ya formada y la aparición de sus costillas.



Figura 4. Larva Pediveliger, observada a 100X en un microscopio electrónico

IV. RESULTADOS

4.1. Reproducción de *A. grandis* por Shock térmico

En la tabla 5 se observa el número de reproductores que expulsaron gametos, de acuerdo al tratamiento por shock térmico que consistió en la variación de la temperatura de (5 °C y 10 °C), además se observa que con la variación de 10 °C, se dio la expulsión de gametos de *A. grandis*, sin embargo, con la variación de 5 °C no se dio ninguna expulsión de gametos al medio.

Tabla 5. Reproductores inducidos de *A. grandis*, que expulsaron sus gametos de acuerdo al tratamiento por Shock térmico (5 °C y 10 °C).

Tanq.	Nº Ejem.	Nº de repetición	Var. de Tº en 5 °C		Var. de Tº en 10 °C		Eficiencia de inducción (%)
			HEM	MACH	HEM	MACH	
Tanq. 1	25	3	-	-	8	4	48,00
Tanq. 2	25	3	-	-	5	6	44,00
Total	50	6			13	10	46,00

4.2. Supervivencia larval de *A. grandis*.

En la tabla 6 se observa la población total, densidad por tanques de cultivo de larvas de *A. grandis*, así como la supervivencia que alcanzó durante el tiempo de cultivo en horas tal como también se observa en la figura 5 alcanzando una supervivencia de 0,15 a las 23 horas, encontrándose en el estadio de larva pediveliger, sin embargo, es necesario mencionar que durante el tiempo de cultivo se observó muchos microorganismos no identificados, los cuales pudieron influir en la supervivencia de las larvas, así como la flotabilidad larval.

Tabla 6. Población, densidad, supervivencia y estadio larval de *A. grandis* de acuerdo a su tiempo de cultivo.

Tanques	Horas	Población total	Densidad ind/L	Superv (%)	Estadio
Tanq. 1	9 - 18	1 422 503,38	14 225,03	100	Larva
Tanq. 2		889 064,62	8 890,65	100	Trocófora
Tanq. 1	20	101 851,24	1 01,51	7,16	Larva D
Tanq. 2		77 348,62	773,49	8,70	
Tanq. 1	23 días	1 564,75	15,65	0,11	Larva
Tanq. 2		1 333,60	13,34	0,15	Pediveliger

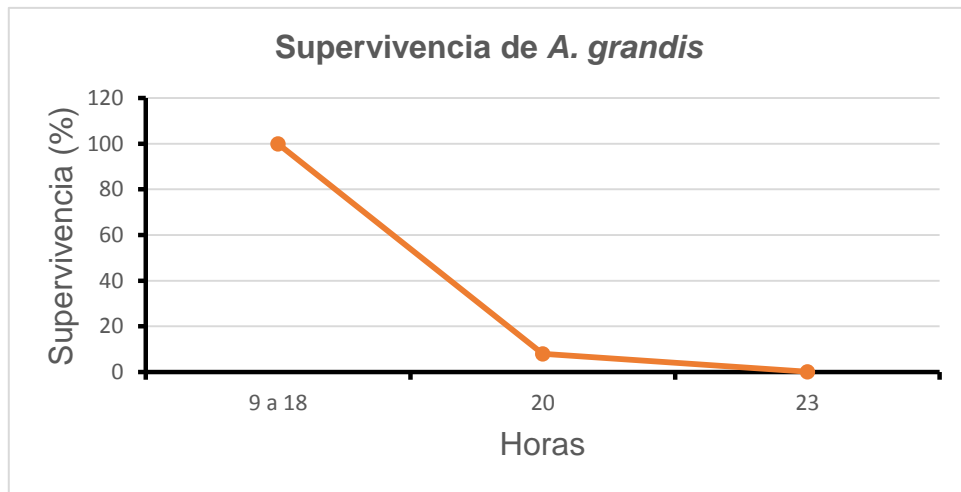


Figura 5. Supervivencia larval de *A. grandis* durante el tiempo de cultivo

V. DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación no fue posible lograr una expulsión de gametos por el método de Shock térmico con una variación gradual de temperatura de 5 °C a un tiempo de 30 min, con respecto a la temperatura ambiente, sin embargo, Arellano et al. (2002), reportó que obtuvo desoves exitosos de *Pinna rugosa*, a variación gradual de la temperatura de 23 °C a 31 °C, es decir variando la temperatura en 4 °C de la misma forma Sánchez y Moran (2014), obtuvieron reproducción de *A. maura*, elevando su temperatura de 6 °C.

El shock térmico aplicado a la reproducción de *A. grandis* de 10 °C, por un tiempo de 30 min, fue posible la expulsión de sus gametos al medio expuestos, sin embargo, estos datos son similares a los reportados por Mendoza y Peralta (2005), quienes obtuvieron reproducción de *A. tuberculosa* elevando la temperatura a 10 °C, por encima de la temperatura ambiente, de la misma forma Wedler (2003), logro obtener larvas de *A. tuberculosa*, con el método de shock térmico, bajando la temperatura a 20 °C y luego aumentándola a 32 °C.

La inducción al desove de *A. grandis* fue de 13 hembras y 10 machos, de un total de 50 ejemplares de *A. grandis*; los cuales fueron identificados por el método visual de sus gametos, tal como lo indica Mendoza (2005), quien reporto la coloración e identificación del sexo de *A. tuberculosa*: Para las hembras la coloración de sus gónadas es de color anaranjado y en machos es de color crema, además se obtuvo una eficiencia de inducción del 46 %, datos superiores a los reportados por Sánchez y Moran (2014), quienes obtuvieron una eficiencia de inducción de 26,7 %; 33,3 %; y 100 %.

La supervivencia larval de *A. grandis*, al día 23, fue de 0,11 % a 0,13 %. Para cada tanque de cultivo, llegando hasta la fase de larva pediveliger, sin embargo, la mayor caída de larvas se dio en la fase de larva D, esto debido a la gran cantidad de microorganismos no identificados que se

encontraron presentes en los tanques de cultivo, además de la flotabilidad larval, coincidiendo con los resultados reportados por Robles (2004); Sánchez y Moran (2014), quienes mencionan que la producción de larvas de *A. maura*, es factible aun cuando la posibilidad de éxito es mínima y se ha conseguido con una supervivencia menos al 1 %, además la mayor mortalidad observada fue por la flotabilidad de larvas, desde el primer día de cultivo en sus respectivos tanques, sin embargo, Enríquez et al. (2003), hace mención que la mayor mortalidad larval, es producto de la deficiencia nutricional en la formación de los gametos.

VI. CONCLUSIONES

1. La técnica de reproducción inducida por shock térmico a una temperatura gradual de 5 °C, no se logró obtener desove de gametos de *A. grandis* al medio expuesto.
2. La reproducción inducida por shock térmico a una temperatura gradual de 10 °C, se logró el desove de gametos de 23 de 50 especies de *A. grandis*, concluyendo estos datos como buenos.
3. La inducción al desove fue de 13 hembras y 10 machos, obteniendo una eficiencia al desove con una variación gradual de temperatura de 10 °C, siendo resultados buenos.
4. La supervivencia larval de *A. grandis* obtenida hasta el día 23 fue de 0,11 % y 0,13 %, para cada tanque de cultivo, obteniendo resultados muy bajos.
5. La supervivencia larval fue afectada en su mayoría por la flotabilidad larval que se apreció desde el primer día de cultivo, además de la presencia de microorganismo no identificados.

VII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar ensayos con el método de shock térmico incrementando el tiempo de 30 minutos a una hora de duración de este método con la finalidad de poder lograr una mejor reproducción.
2. Se recomienda utilizar agua filtrada de mar y no agua dulce cuando se realiza el lavado de los ejemplares de *A. grandis* a fin de reducir el estrés.
3. Investigar un método que sirva para evitar la flotabilidad de la larva de *A. grandis*.
4. Continuar con las investigaciones de *A. grandis*, en la reproducción y cultivo de larvas.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, C. 2005. Contribución al estudio histológico de las Gónadas de *Anadara grandis* Sowerby, 1835 (Mollusca: Arcidae). Tesis de licenciatura en Biología, Instituto Politécnico Nacional, México D.F., México.
- Alfaro, A., G. Jeffs and S. Hooker. 2001. Reproductive behavior of the green-lipped mussel, *Perna canaliculus*, in northern New Zealand. *Bull. Mar. Sci.*, 69(3): 1095-1108.
- Ahumada A., J. Serrano and N. Ruiz. 2002. Abundancia, estructura poblacional y crecimiento de *Atrina maura* (Bivalvia: Pinnidae) en una laguna costera tropical del Pacífico Mexicano. *Rev Biología Tropical*. 50: 1091-1100.
- Arellano M., I. Racotta, P. Ceballos and J. Elorduy. 2002. Biochemical composition, reproductive activity, and food availability of the lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus* in the Laguna Ojo de Liebre, B.C.S., México. *J. Shellfish Res.* 23:15-23.
- Bermúdez, P. J. Maidana; H. Aquino and Palomino, A. 2004. Manual de Cultivo Suspendido de *Anadara tuberculosa* y *Anadara grandis*. *aecei/padespa – Fondepes*. Ed. Díaz, E y J. Iomas, 45-69. Lima, Perú. Nova Print S.A.C.
- Borda, C. y R. Cruz. 2004. Reproducción y Reclutamiento del Molusco (*Anadara tuberculosa* y *Anadara grandis*) sowerby, 1833 en el Pacífico colombiano. *Biología Tropical e Investigación Marinas*. 25:185-195.
- Caez, J. y G. Velez. 2000. *Reproducción artificial y levante de larvas de la ostra de mangle Crassostrea rhizophorae (Guilding, 1828) con el fin de elaborar un método aplicable a proceso de repoblamiento de la especie en la CGSM*. Tesis de grado de Ingeniero Pesquero. Universidad de Magdalena, 250.
- Camacho, O. Tumbes 2000. Situación actual del recurso *Anadara grandis* en el intermareal de Puerto Pizarro el 24 de noviembre, 2011 <http://www.untumbes.edu.pe/investigadores/fiipdf/fiipdf0013.pdf>.

- Carretero, I. 2002. Técnico en piscifactorías. 3era edición. Madrid, España: Internacional, 10-13
- Chávez, J., J. Pommier, J. Andriamiseza, S. pouverau, J. Barret, J. Cochard y L. Pennek. 2002. Broodstock conditioning of the oyster *Crassostrea gigas*: origin and temperature effect *Aquaculture* (214): 115-130.
- Degremont, L., B. Emande, E. Bedier y P. Boudry. 2007. Summer mortality of hatchery produced Pacific oyster spat (*Crassostrea gigas*). I. Estimation of genetic parameters for survival and growth. *Aquaculture* 262: 41-53.
- García, F. 2002. Estrategias reproductivas de bivalvos marinos en el noroeste mexicano. Tesis de Doctor en Ciencias Pecuarias, Universidad de Colima
- García C, F. García, D. Lluch and S. Hernández. 2004. El Niño and La Niña effects on reproductive cycle of the pearl oyster *Pinctada mazatlanica*. *Journal of Shellfish Research* 23: 13-120.
- Gonzales, E. 2003. Estudio de la fisiología reproductiva y gametogénesis del callo de Hacha (*Atrina maura*) sowerby, 1835. Tesis de Maestría en Ciencias, Universidad de Sonora, 74.
- Gutiérrez, F. 2002. Producción de Semillas y Larvas de Moluscos. Una Perspectiva Industrial. [Documento en línea]. [Disponible en: www.mispecies.com/estudios/2002/moluscos-fgg/moluscos-fgg.asp]
- Helm, M., N. Bourne y A. Lovatelli. 2006. Cultivo de bivalvos en criadero. *Documento Técnico de Pesca*. FAO, 471. 182. Roma, Italia: Ilustración de moluscos.

- Instituto Nacional de Recursos Naturales. 2005. Plan Maestro del Santuario Nacional los Manglares de Tumbes. Peru. *Maeda* 2(5):10-16
- Jeffs, A., G. Dunphy y M Wells. 2002. Experimental effects of water Temperature on the gametogenic development of broodstock in the oyster, *Ostrea chilensis*. *J Shellfish Rev.*, 21(9): 743-747.
- Martínez, G. y H. Pérez, 2003. Effect of different temperature regimes on reproductive Conditioning in the scallop *Argopecten purpuratus*. *Aquaculture*, 228(71): 153–167.
- Martínez, G., C. Aguilera y L. Mettifogo. 2000. Interactive effects of diet and temperatura on reproductive conditioning of *Argopecten purpuratus* broodstock. *Aquaculture*, 17(183):149–159.
- Martínez, G., L. Mettifogo, A. Pérez y C. Callejas. 2007. Effects on growth and survival rates of larvae and juveniles. *Aquaculture* (In press).
- Mendoza, O. 2005. *Explotación responsable del recurso Anadara Tuberculosa (sowerby 1883) "concha negra" en los manglares de Tumbes*. Trabajo de investigación. Universidad Nacional de Tumbes.
- Mendoza, O y T, Peralta. 2005. *Reproducción inducida y obtención de semillas de Anadara tuberculosa (sowerby, 1833) en laboratorio*. Trabajo de investigación. Universidad nacional de tumbes.
- _____. 2007. *Bilogía reproductiva de Anadara tuberculosa (Sowerby 1833)*. Trabajo de investigación. Universidad nacional de tumbes.
- Miranda, I., A. Voltolina and E. Cordero. 2006. *Densidad absoluta de Anadaragrandis en el estero la Pitaya*, 2da edición. Guasave Sinaloa, México. Editorial Fundación UNA. 180p.
- Muñetón, G., M. Villalejo and L. Gárate. 2001. Contenido estomacal de *Anadara grandis* (Mollusca: Arcidae) y su relación con la temporada de

- reproducción y la abundancia de fitoplancton en Isla Danzante. *Revista de Biología Tropical* 49(5): 581-590.
- .Pérez Medina D. 2005. *Biología reproductiva de Anadara tuberculosa (Bivalvia: Arcidae) en el Estero Santo Domingo, B.C.S., México*. Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional, 70p.
- Rengel, P. y A. Hualpa. 2009. *Plan de manejo manglares de archipiélago de Jambeli*. Tesis de grado, Universidad Técnica Particular de Loja.
- Rico, B., L Coz, C. Mingant y R. Robert. 2006. Influence of phytoplankton diet mixtures on microalgae consumption, larval development and settlement of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture* 256: 377-388.
- Robles M, and T. Sicard. 2001. The effect of temperatura on the reproductive maturity of the penshell *Atrina maura* (Sowerby, 1835) (Bivalvia: Pinnidae). *J. Shellfish Res.* 20(8): 39–47
- Rodríguez J., N. Maeda, E. Valdez, P. Reynoso, S. Monsalvo, D. Prado, V. Cardoza, M. Robles and T. Sicard. 2001. The effect of temperatura on the reproductive maturity of the penshell *Atrina maura* (Bivalvia: Pinnidae). *J. Shellfish Res.* 20(6): 39–47.
- Sánchez, M. y J. Moran. 2014. *Reproducción inducida y desarrollo larvario de Atrina maura (sowerby 1835) en condiciones de laboratorio*. Tesis de pregrado. Universidad Nacional de Tumbes.
- Velasco, L. y J. Barros 2008. *Puesta y fertilización en los pectínidos de y Biología y cultivo de los pectínidos de interés comercial de Colombia*. 3 era Edición. Magdalena, Colombia. Universidad del Magdalena. 125-258.

Villalejo C, M.Fuerte, M. Arellano, B. Ceballos and F. García. 2002. Reproductive cycle of *Spondylus calcifer* Carpenter, (Bivalvia: Spondylidae). *Journal of Shellfish Research* 21(15): 103-108.

Wedler, E. 2003. *Desarrollo de un programa de tecnologías de acuicultura como combinación entre producción pesquera y manejo ambiental en lagunas eutrofizadas*. 2da edición. Bogotá. ColombiaColciencias-unimag. 100-200.

ANEXOS

ANEXO 1

Tabla 7. Peso, talla y desove de los ejemplares de *A. grandis* en el tanque N° 1.

N° de ejemplares	Peso (g)	Talla (cm)	Desove 5 °c	Desove 10 °C
1	121	12	NO	SI
2	118	11	NO	SI
3	120	10	NO	NO
4	122	11	NO	NO
5	119	11	NO	NO
6	118	11	NO	SI
7	119	10	NO	SI
8	120	11	NO	NO
9	121	12	NO	NO
10	120	13	NO	SI
11	120	11	NO	SI
12	120	12	NO	NO
13	120	10	NO	NO
14	118	10	NO	SI
15	120	11	NO	NO
16	119	11	NO	NO
17	119	10	NO	SI
18	120	11	NO	NO
19	120	12	NO	SI
20	120	10	NO	SI
21	120	11	NO	NO
22	118	12	NO	NO
23	119	11	NO	SI
24	121	10	NO	SI
25	121	12	NO	NO

ANEXO 2

Tabla 8. Peso, talla y desove de los ejemplares de *A. grandis* en el tanque N° 2.

N° de ejemplares	Peso (g)	Talla (cm)	Desove 5 °c	Desove 10 °C
26	120	11	NO	NO
27	119	10	NO	SI
28	120	10	NO	NO
29	119	11	NO	NO
30	120	12	NO	SI
31	118	12	NO	SI
32	119	11	NO	SI
33	121	10	NO	NO
34	121	11	NO	NO
35	121	11	NO	SI
36	120	12	NO	SI
37	120	10	NO	NO
38	121	11	NO	NO
39	119	10	NO	SI
40	121	10	NO	NO
41	120	12	NO	SI
42	120	10	NO	NO
43	119	12	NO	NO
44	118	11	NO	NO
45	120	12	NO	SI
46	121	11	NO	SI
47	120	12	NO	NO
48	121	11	NO	NO
49	119	11	NO	SI
50	121	12	NO	NO