



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

**PROTOCOLOS INNOVADORES DE CRITERIOS DE CALIDAD
LARVARIA DE OSTIÓN JAPONÉS QUE PERMITAN
INCREMENTAR EL RENDIMIENTO EN CULTIVO Y MEJORAR
LOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE SEMILLA**

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestra en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación Acuicultura)

Presenta

Nairoby Pacheco Carlón

La Paz, Baja California Sur, Julio de 2016

ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 13:00 horas del día 29 del Mes de Junio del 2016, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

"Protocolos innovadores de criterios de calidad larvaria de ostión japonés que permitan incrementar el rendimiento en cultivo y mejorar los sistemas de producción de semilla"

Presentada por la alumna:

Nairobi Pacheco Carlón

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN **Acuicultura**

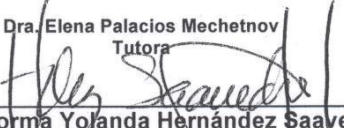
Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA


Dr. Ilie Sava Racotta Dimitrov
Co-Director


Dr. Edouard Kraffe de Laubarede
Co-Director


Dra. Elena Palacios Mechetnov
Tutora


Dra. Norma Yolanda Hernández Saavedra,
Directora de Estudios de Posgrado y
Formación de Recursos Humanos

COMITÉ TUTORIAL

Co-directores

Dr. Ilie Sava Racotta Dimitrov

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

Dr. Edouard Kraffe de Laubarede

University of Western Brittany (UBO)

Co-tutora

Dra. Elena Palacios Mechetnov

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

COMITÉ REVISOR DE TESIS

Dr. Ilie Sava Racotta Dimitrov

Dr. Edouard Kraffe de Laubarede

Dra. Elena Palacios Mechetnov

JURADO DE EXAMEN

Dr. Ilie Sava Racotta Dimitrov

Dr. Edouard Kraffe de Laubarede

Dra. Elena Palacios Mechetnov

SUPLENTE

Dr. Pedro Cruz Hernández

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

RESUMEN

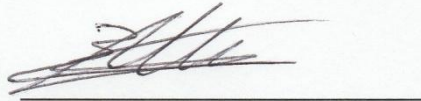
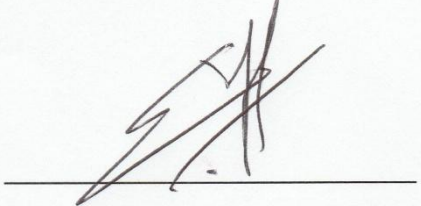
Actualmente, el punto más crítico para la expansión de la actividad ostrícola en México representa la producción de semilla y su calidad. La calidad larvaria se refiere a la condición fisiológica y a la capacidad de la larva para crecer y sobrevivir bajo varias condiciones ambientales durante su ciclo de vida. En la producción de semilla en criaderos de bivalvos, una de las etapas críticas del cultivo es el proceso de fijación como consecuencia de la metamorfosis al final del cultivo larvario y que su vez depende de un serie de características de las larvas pre-metamórficas como son la velocidad previa de crecimiento y las reservas acumuladas durante la fase larvaria. El objetivo del presente trabajo fue el de evaluar la influencia de la condición reproductiva sobre la calidad larvaria y de semilla y analizar en qué medida la condición de la larva pre-metamórfica influye sobre el éxito de metamorfosis.

Se obtuvieron desoves en mayo, junio y agosto que potencialmente corresponden al inicio, pleno y final del ciclo reproductivo, a partir de reproductores de cultivo en la Laguna de San Ignacio, Mulegé, BCS. Se realizó el cultivo larvario y la pre-engorda en las instalaciones de la empresa Marimex operando en el Parque Biohelis. La calidad larvaria fue evaluada en las condiciones de producción comercial de semilla por medio de criterios productivos, morfológicos y bioquímicos. En la etapa de pre-metamorfosis se separaron dos lotes de acuerdo a su velocidad de crecimiento (alto y bajo), cuyo seguimiento se dio hasta la etapa de post-fijación.

El índice de cobertura gonádica y el análisis histológico de las gónadas confirman el inicio de la época reproductiva en el mes de mayo, que correspondió a la primera madurez en el año, en contraste con junio y agosto donde los reproductores estaban re-madurando o desovados. Mayo se caracterizó por una mayor longitud de larva D inicial ($76.2 \mu\text{m}$) y un mayor crecimiento ($16.4 \mu\text{m d}^{-1}$); Junio por una larva D con longitud intermedia ($73.6 \mu\text{m}$) y un baja tasa de crecimiento ($11.3 \mu\text{m d}^{-1}$); agosto por una menor longitud de larva D ($69 \mu\text{m}$) y un crecimiento intermedio ($14.3 \mu\text{m d}^{-1}$), con diferencias significativas entre las tres épocas para las dos variables. Si bien no hubo diferencias claras en los componentes bioquímicos más importantes, se observaron correlaciones entre la velocidad de crecimiento y los niveles de lípidos totales en ovocitos ($R^2=0.47$, $P<0.05$), así como con la proporción de varios ácidos grasos entre los cuales destaca el 20:5n-3 (EPA) en lípidos polares de ovocito ($R^2=0.75$, $P<0.01$) o de larva D ($R^2=0.6$, $P<0.05$). El porcentaje de metamorfosis, fue significativamente

mayor en mayo (65%) comparado con junio (43.5%) y agosto (39%) pero no fue diferente entre lotes de alto y bajo crecimiento en cada época y la correlación entre metamorfosis y velocidad de crecimiento no alcanzó la significancia estadística ($R^2=0.38$, $P=0.08$), por lo cual no se justifica del todo el descarte de larvas de bajo crecimiento. Ni el nivel de lípidos ni el de proteínas pudo explicar el menor éxito en la metamorfosis en agosto lo que sugiere que larvas pre-metamórficas de alto y bajo crecimiento tenían energía suficiente para la metamorfosis. La única variable bioquímica correlacionada fue el contenido de carbohidratos ($R^2=0.28$, $P=0.024$). Sin embargo, es poco probable que la importancia de los carbohidratos sea energética, dado por los bajos niveles comparados con lípidos y proteínas. La correlación entre el porcentaje de metamorfosis y niveles de DHA en lípidos neutros ($R^2=0.23$, $P<0.05$) y polares ($R^2=0.28$, $P<0.05$) de larvas pre-metamórficas sugiere cierto papel de este ácido graso en este proceso.

Palabras claves: ostión, calidad larvaria, ciclo reproductivo, porcentaje de metamorfosis.

	Vo. Bo	
Dr. Ilie Sava Racotta Dimitrov		Dr. Edouard Kraffe de Laubarede

ABSTRACT

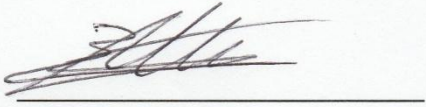
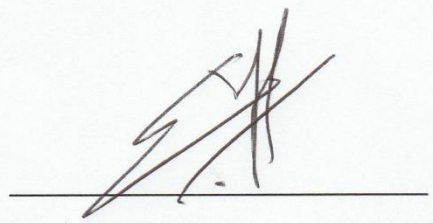
Currently, the most critical point for the expansion of pacific oyster cultivation in Mexico is oyster seed production and quality. Larval quality refers to the physiological condition and the capacity of larvae to grow and survive under various environmental conditions. For seed production in bivalve hatcheries, one of the critical stages is the process of metamorphosis when larvae become juveniles. This period of larval development depends on a number of features of the pre-metamorphic larvae such as larval growth rate and accumulated reserves during the larval stage. The aim of this study was to evaluate the influence of reproductive status on larval quality seed and analyze to what extent the condition of pre-metamorphic larvae influences their success in metamorphosis.

Oysters cultivated in the Laguna de San Ignacio, Mulege, BCS were induced to spawn in May, June and August corresponding to the beginning, full and end of the reproductive cycle. Experiments were conducted in Marimex hatchery operating in the BioHelis Park. Larval quality was evaluated under the conditions of commercial seed production evaluating productive, morphological and biochemical criteria. Pre-metamorphic larvae were separated into two batches according to their growth rate (high and low), which were followed during metamorphosis.

Gonadal coverage and histological analysis of the gonads confirmed the beginning of the breeding season in May, in contrast to June and August when oysters were re-maturing or spawned. May was characterized by a greater length of D larvae (76.2 μm) and higher growth rate (16.4 $\mu\text{m d}^{-1}$); June by D larvae with intermediate length (73.6 μm) and a low growth rate (11.3 $\mu\text{m d}^{-1}$); August by the smallest larva D (69 μm) and an intermediate growth rate (14.3 $\mu\text{m d}^{-1}$), with significant differences between the three periods for both variables. While there were no clear differences in the major biochemical components, correlations were observed between the growth rate and total lipid levels in oocytes ($R^2=0.47$, $P<0.05$) and the proportion of various fatty acids among which the 20:5 n-3 (EPA) in polar lipids of oocyte ($R^2=0.75$, $P<0.01$) or larva D ($R^2=0.6$, $P<0.05$). The percentage of metamorphosis was significantly higher in May (65%) compared with June (43.5%) and August (39%) but did not differ between pre-metamorphic larvae of high and low growth rate in each period. The correlation between metamorphosis and groups of growth rate did not reach statistical significance ($R^2=0.38$, $P=0.08$), which does not support the idea of later maturing larvae as poor setters. Neither the level of lipid nor protein could explain the lower percentages of metamorphosis in August suggesting that pre-metamorphic larvae of both high and low growth rate had enough energy to sustain the process of metamorphosis. The only constituent

that was correlated was the carbohydrate content ($R^2=0.28$, $P=0.024$). Nevertheless, this cannot be conclusive for carbohydrate to meet the energetic demands of metamorphosis given the low levels of carbohydrate compared with lipids and proteins. The correlation between percentage of metamorphosis and DHA levels in neutral lipids ($R^2 = 0.23$, $P<0.05$) and polar ($R^2=0.28$, $P<0.05$) of pre-metamorphic larvae suggests a role of this fatty acid in this process.

Keywords: oyster, larval quality, reproductive cycle, percentage of metamorphosis

	Vo. Bo	
Dr. Ilie Sava Racotta Dimitrov		Dr. Edouard Kraffe de Laubarede

DEDICATORIA

Con mucho cariño a mis padres

Hermanos y sobrinos

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, en especial al personal de Posgrado por las facilidades brindadas para el desarrollo de este trabajo de tesis.

Al CONACYT por el apoyo económico otorgado a través de la beca no. 301928

Al proyecto que financió el desarrollo de esta tesis “Protocolos innovadores de criterios de calidad larvaria de ostión japonés que permitan incrementar el rendimiento en cultivo y mejorar los sistemas de producción de semilla” PROINNOVA CONACYT-MARIMEX-CIBNOR-CIAD 212952, a cargo del Dr. Ilie Sava Racotta Dimitrov.

A mi comité tutorial: al Dr. Ilie Racotta por aceptarme en el proyecto, por la confianza y paciencia. Sin duda además por el apoyo eficiente para el avance de la tesis a pesar de las circunstancias, por la enseñanza y las facilidades para la realización de este proyecto, muchas gracias! Al Dr. Edouard Kraffe, primero por estar presente a lo largo de todo el experimento, por dirigirlo y sobre todo por participar activamente en la zootecnia y obtención de muestras. Es difícil imaginar lo que se hubiese obtenido en esta etapa sin su disciplina y exigencias. Gracias por todas las atenciones, la paciencia, el apoyo, empatía y palabras de ánimo en esa etapa difícil. Además por las enseñanzas y guía en cada etapa del proyecto. A la Dra. Elena Palacios por el apoyo eficiente en la obtención y manejo estadístico de los resultados, así como en la revisión de este documento, gracias!

A la Dra. Citlali Guerra, encargada del criadero larvario Innova 1, por su apoyo en la zootecnia, obtención y procesamiento de muestras, así como en el procesamiento de datos y resultados.

A los compañeros del Innova 1: A Mario Osuna y Adalberto Parral por su guía para realizar los larvarios. A Luis Mijares y Brenda Monroy por su constante disposición para ayudarnos a alimentar a las larvas. A Araceli, José Velis y Miguel Regalado.

A la Dra. Liliana Carvalho por su apoyo en la obtención de muestras y en la obtención de resultados. Por sus enseñanzas y paciencia.

Al técnico José Luis Ramírez del Laboratorio de Mejoramiento Genético por el apoyo en la manipulación de los desoves.

A la técnico del Laboratorio de Metabolismo de Lípidos Olivia Arjona por su apoyo eficiente y constante que facilitaron grandemente el procesamiento de las muestras y la obtención de resultados. Además por las excelentes condiciones de trabajo dentro del laboratorio.

A los técnicos de los laboratorios: Carmen Rodríguez de Histología e Histoquímica, a Roberto Hernández de Bioquímica Fisiológica, a Laura Carreón de Biotecnología de Microalgas y a Gabriela Mendoza de Microalgas, por las facilidades para el análisis de las muestras.

A Manuel Moreno del Laboratorio de Microbiología Ambiental por su apoyo en el análisis estadístico.

A mis compañeros de Laboratorio de Metabolismo Energético y Metabolismo de Lípidos Saúl Zamora, Alessandra Casanova, Celene Navarro, Eduardo Toyos, Laura Nájera, Bryan Licona y Jazmín Durán. Pero sobre todo a Arlett Robles por su gran empatía y apoyo incomparables durante las largas horas en el laboratorio.

A los compañeros de vigilancia, en especial a Fabián Rosas, por ayudarme a regresar a casa cuando se me hacía tarde en el lab.

A mis compañeras de cubículo Iris del Castillo, Elvia Perez y Claudia Maytorena por su motivación y apoyo.

INDICE GENERAL

RESUMEN	ii
ABSTRACT	iv
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTOS	vii
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABLAS	xiv
1. INTRODUCCION	1
2. ANTECEDENTES	4
2. 1 BIOLOGÍA.....	4
2.1.1 Taxonomía.....	4
2.1.2 Distribución.....	4
2.1.3 Ciclo de vida	6
2.1.4 Anatomía	10
2.1.5 Alimentación	11
2.1.6 Reproducción	12
2.1.7 Ciclos reproductivos	14
2.1.7.1 Acumulación de energía.....	17
2.1.8 Patrones bioquímicos durante el desarrollo larvario	19
2.2 CULTIVO DE OSTION.....	20
2.2.1 Producción a nivel mundial y nacional de <i>C. gigas</i>	21
2.2.2 Producción de larvas y semillas en el criadero.....	26
2.2.2.1 Acondicionamiento gonádico.....	26
2.2.2.2 Cultivo larvario.....	26
2.2.2.3 Metamorfosis.....	28
2.2.2.4 Pre-engorda y engorda.....	30
2.3 CALIDAD LARVARIA.....	33
2.3.1 Calidad reproductiva.....	34

2.3.2 Calidad larvaria y postlarvaria	37
3. JUSTIFICACIÓN	40
4. OBJETIVO GENERAL	41
4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	41
5. HIPOTESIS	42
6. MATERIALES Y MÉTODOS	43
6.1 OBTENCIÓN DE REPRODUCTORES DEL CAMPO.....	43
6.2 CULTIVO LARVARIO	43
6.3. PARÁMETROS REPRODUCTIVOS.....	46
6.3.1 Determinación de estadios reproductivos.....	46
6.3.2 Área de cobertura gonádica (ACG)	47
6.3.3 Diámetro de ovocitos	48
6.3.4 Viabilidad de ovocitos	48
6.4 PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS.....	49
6.4.1 Rendimiento de larva D	49
6.4.2 Crecimiento larvario.....	49
6.4.3 Éxito de metamorfosis	49
6.5 ANÁLISIS BIOQUÍMICOS	50
6.5.1 Determinación de peso seco y materia orgánica	50
6.5.2 Proteína total	51
6.5.3 Carbohidratos totales.....	51
6.5.4 Triacilglicéridos.....	51
6.5.5 Lípidos totales por gravimetría	52
6.5.6 Ácidos grasos de lípidos neutros y polares	52
6.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	53
6.6.1 Correlaciones	54
7. RESULTADOS.....	56
7.1 OBJETIVO I: CALIDAD LARVARIA TEMPRANA DE <i>C. gigas</i> RESPECTO A LA CONDICION DE REPRODUCTORES.	56

7.1.1 Estadio reproductivo, área de cobertura gonádica (ACG) y composición bioquímica de gónadas.....	56
7.1.2 Desempeño en embriogénesis y primer semana de desarrollo larvario	59
7.1.3 Composición bioquímica general de ovocito y larva D	61
7.1.4 Composición de ácidos grasos de ovocito y larva D.....	65
7.2 OBJETIVO II: CALIDAD LARVARIA/POSTLARVA DE <i>C. gigas</i> EN CRIADERO	69
7.2.1 Parámetros de desempeño	69
7.2.2 Composición bioquímica general de larva pediveliger y postlarva	73
7.3.3 Composición de ácidos grasos de larva pediveliger y postlarva.....	77
7.3 OBJETIVO III. CRITERIOS PREDICTIVOS Y DE EVALUACION DE LA CALIDAD LARVARIA.....	91
7.3.1 Parámetros zootécnicos	91
7.3.2 Parámetros bioquímicos	91
7.3.2.1 Bioquímica general.....	91
7.3.2.2 Ácidos grasos.....	94
8. DISCUSION	107
8.1 VALORES OBTENIDOS EN EL PRESENTE TRABAJO.....	107
8.2 CALIDAD LARVARIA TEMPRANA DE <i>C. gigas</i> EN RELACION A LA TEMPORADA REPRODUCTIVA EN CAMPO.....	109
8.2.1 Condición de reproductores obtenidos en la temporada de desoves ..	109
8.2.2 Calidad larvaria temprana.....	113
8.3 CALIDAD LARVARIA TARDIA DE <i>C. gigas</i> EN RELACION A LA VELOCIDAD DE CRECIMIENTO	115
8.3.1 Crecimiento larvario.....	115
8.3.2 Fijación y metamorfosis	119
8.4 CRITERIOS PREDICTIVOS DE CALIDAD LARVARIA	123
9. CONCLUSIONES	130
10. LITERATURA CITADA.....	132
11. ANEXO.....	143

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribución global del ostión del Pacífico, <i>C. gigas</i> . En sus rangos nativos y no nativos (Ruesink <i>et al.</i> , 2005).	5
Figura 2. Ciclo de vida de <i>C. gigas</i> (Rico-Villa, 2009).	8
Figura 3. Pediveliger de <i>C. gigas</i> (Stanton, 2012).	9
Figura 4. Postlarva de <i>Pecten maximus</i> con filamentos alongados de branquias funcionales y disoconcha (Henry, 2014).	9
Figura 5. <i>Crassostrea gigas</i> (adaptado de Barillé <i>et al.</i> , 1997 citado en Enriquez-Díaz <i>et al.</i> , 2009) mostrando tres niveles de cortes histológicos. 1) Sección anterior; 2) Sección media; y 3) Sección posterior.	11
Figura 6. Cuerpos de agua donde se cultiva <i>C. gigas</i> en el noroeste de México y número de productores (Unidades de Producción Acuícola) en cada uno de ellos. Se presentan los principales sistemas de cultivo utilizados en cada sitio de producción (Chávez-Villalba, 2014).	23
Figura 7. Principales problemas y retos en la producción de ostión <i>C. gigas</i> en la región noroeste de México, señalados en los Programa Maestro del Sistema de Producción de Ostión de Sonora (2008), Baja California (2008) y Baja California Sur (2011).	25
Figura 8. Diagrama temporal de cultivo larvario, señalando los muestreos de larva para análisis de composición bioquímica de larvas.	45
Figura 9. Tejido blando de <i>C. gigas</i> ilustrando los cortes transversales tomados para 1) análisis histológico (sección media) y 2) análisis de composición bioquímica (sección anterior).	46
Figura 10. Corte transversal de <i>C. gigas</i> de A) hembras y B) machos, en el que se muestra la relación que guarda la gónada con respecto al resto de los tejidos.	47
Figura 11. Determinación de la viabilidad de ovocitos.	48
Figura 12. Frecuencia de estadios de desarrollo gonádico de <i>C. gigas</i> determinados por histología en A) hembras (n=28) y en B) machos (n=41), muestreados a lo largo de la temporada reproductiva en La Laguna de San Ignacio, BCS.	57
Figura 13. Área de cobertura gonádica. Porcentaje en A) hembras (n=21) y B) machos (n=30) de <i>C. gigas</i> en tres épocas de la temporada reproductiva.	57
Figura 14. Contenido total (mg g ⁻¹ de muestra) de proteínas, lípidos, carbohidratos y triacilglicéridos. A) Hembras (n=29) y en B) machos (n=30) de <i>C. gigas</i> colectados en diferentes épocas.	59

Figura 15. Crecimiento larvario en tres épocas de desove consideradas: mayo, junio y agosto..	61
Figura 16. Peso seco de individuos y contenido de materia orgánica en ovocito. 62	62
Figura 17. Contenido total en ng por individuo de proteína, lípidos, carbohidratos y triacilglicéridos en ovocito.....	62
Figura 18. Contenido total en ng por individuo de peso seco y materia orgánica en larva D..	63
Figura 19. Contenido total en ng por individuo de proteína, lípidos, carbohidratos y triacilglicéridos en larva D.....	63
Figura 20. Crecimiento a lo largo del cultivo larvario en tres épocas de producción: mayo, junio y agosto.....	69
Figura 21. Parámetros zootécnicos en pre y post-fijación. A) Talla de larva pediveliger, B) talla de postlarva, C) velocidades de crecimiento postlarval ($\mu\text{m día}^{-1}$) al día 2 post-fijación y D) Éxito de metamorfosis de semilla de los grupos de crecimiento en las tres épocas de producción.	71
Figura 22. Parámetros zootécnicos en preengorda. A) Número de postlarvas al inicio de la pre-engorda, B) Biomasa acumulada (ml^3) en las primeras semanas: mayo (al día 14), junio (al día 11) y agosto (al día 11) y C) Número de semillas $>2400 \mu\text{m}$	72
Figura 23. Composición bioquímica en ng por individuo de peso seco, materia orgánica, proteína, lípidos, carbohidratos y triacilglicéridos en larva pediveliger..	74
Figura 24. Composición total en ng por individuo de materia orgánica, proteína, lípidos, carbohidratos y triacilglicéridos en postlarva.	75
Figura 25. Porcentaje de ácidos grasos específicos de larva pediveliger de fracción neutra (columna izquierda) y fracción polar (columna derecha)....	83
Figura 26. Porcentaje de ácidos grasos específicos de postlarva de fracción neutra (columna izquierda) y fracción polar (columna derecha). Datos reportados como media \pm error estándar ($n=3$)..	89
Figura 27. Correlaciones entre la composición bioquímica de la larva (ng individuo ⁻¹) y los parámetros zootécnicos.....	94
Figura 28. Correlaciones significativas ($P<0.05$) entre parámetros zootécnicos y la composición en porcentaje de algunos ácidos grasos desde fracción neutra (columna izquierda) y fracción polar (columna derecha).	102
Figura 29. Correlaciones significativas ($P<0.05$) entre parámetros zootécnicos y la composición en porcentaje de ácidos grasos: ΣSAT , ΣMONO , ΣNMI , ΣHUFA y 22:6/20:5 de fracción neutra (columna izquierda) y fracción polar (columna derecha).....	105

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Ciclos reproductivos de <i>C. gigas</i> en diferentes regiones del mundo, índices de desarrollo gonádico y parámetros ambientales.	16
Tabla II. Producción mundial de <i>C. gigas</i> por origen de producción (FAO, 2016). ..	22
Tabla III. Calidad reproductiva de algunas especies de larvas.	35
Tabla IV. Efecto de la época del desove en parámetros zootécnicos de la larva hasta la primera semana de desarrollo.....	60
Tabla V. Variación de componentes bioquímicos durante la embriogénesis (ng por individuo). Δ = ovocito – larva D.	64
Tabla VI. Ácidos grasos (%) en lípidos neutros y polares de ovocito en diferentes épocas de desove.	66
Tabla VII. Porcentaje de ácidos grasos en lípidos neutros y polares de larva D en diferentes épocas de desove.....	67
Tabla VIII. Tiempo post fertilización (días) en el cual se obtuvieron los grupos de larva pediveliger o competente a metamorfosis.	69
Tabla IX. Cambios en tamaño y componentes bioquímicos (ng individuo ⁻¹) durante la metamorfosis. Δ = postlarva – pediveliger.	76
Tabla X. Ácidos grasos (%) en lípidos neutros de larva pediveliger de alto y bajo crecimiento en las tres épocas de producción.....	78
Tabla XI. Ácidos grasos (%) en lípidos polares en larva pediveliger de alto y bajo crecimiento en las tres épocas de producción.....	79
Tabla XII. Porcentaje de ácidos grasos en lípidos neutros de postlarva al día 2 post-fijación obtenida a partir de los grupos de larva pediveliger de alto y bajo crecimiento de las diferentes épocas de producción.	84
Tabla XIII. Porcentaje de ácidos grasos en lípidos polares de postlarva al día 2 post-fijación obtenida a partir de los grupos de larva pediveliger de alto y bajo crecimiento de las diferentes épocas de desove.	85
Tabla XIV. Correlaciones significativas ($P < 0.05$) entre parámetros zootécnicos y variables morfométricas (ej. tamaños de ovocitos, larva D, pediveliger y postlarva).....	91
Tabla XV. Contenido de proteína, lípidos, carbohidratos y triacilglicéridos en ovocito (μg por mg de materia orgánica)..	143
Tabla XVI. Contenido de proteína, lípidos, carbohidratos y triacilglicéridos en larva D (μg por mg de materia orgánica).....	143
Tabla XVII. Contenido de proteína, lípidos, carbohidratos y triacilglicéridos en larva pediveliger (μg por mg de materia orgánica)..	144

Tabla XVIII. Contenido de proteína, lípidos, carbohidratos y triacilglicéridos en postlarva (μg por mg de materia orgánica).....	144
Tabla XIX. Ácidos grasos de lípidos neutros en larva pediveliger (PD) y postlarva (PL) que presentaron las más altas relaciones con los parámetros zootécnicos, y niveles en cada uno de los grupos de crecimiento y épocas.	145
Tabla XX. Ácidos grasos de lípidos polares en larva pediveliger (PD) y postlarva (PL) que presentaron las más altas relaciones con los parámetros zootécnicos, y niveles en cada uno de los grupos de crecimiento y épocas.	146
Tabla XXI. Resultados de crecimiento y sobrevivencia en la etapa de pre-engorda representados indirectamente por mililitros obtenidos de postlarva por talla de tamiz en A) mayo (14 días) B) junio (11 días) y C) agosto (11 días)...	148
Tabla XXII. Cantidad de semilla talla $>2400 \mu\text{m}$ en envíos a campo.....	149

1. INTRODUCCION

La especie *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1973) es conocida principalmente como ostión del Pacífico u ostión japonés. Es originaria de los mares de Japón y Corea pero debido a su gran tolerancia a las condiciones ambientales y a un potencial de rápido crecimiento, la especie ha sido introducida en varias regiones del mundo, con fines ya sea de cultivo o como reemplazo de poblaciones nativas de ostión afectadas por enfermedades o sobre-explotación (Chávez-Villalba, 2014). La primera experiencia de cultivo de *C. gigas* en México se realizó en la Bahía de San Quintín, B.C., en el año de 1973 con semilla fijada en “concha madre” adquirida en Estados Unidos (Oregon).

En México, la producción de *C. gigas* en 2012 fue de 5,939 T que es considerablemente menor a la producción de la especie nativa del Atlántico *Crassostrea virginica* (37,006 T) (CONAPESCA, 2013) cultivada ampliamente en la costa Este de Norteamérica. Sin embargo, la producción de *C. gigas* en el noroeste del país tiene ventaja sobre la de *C. virginica*, ya que cuenta con certificados internacionales de inocuidad (como el Programa Mexicano de Sanidad de Moluscos Bivalvos) lo que permite su exportación, debido a que las aguas del Atlántico con frecuencia muestran elevados índices de contaminantes provenientes de las descargas de hidrocarburos. En este sentido, las aguas en el pacífico y golfo de California son consideradas limpias por lo que el cultivo de *C. gigas* de calidad e inocuo en la región tiene el potencial de seguir creciendo (Programa Maestro del Sistema de Producción de Ostión de Baja California, 2008). Sin embargo, a la fecha no se encuentran bancos naturales, por lo que se tiene que importar semilla, lo cual hace que los cultivos programados en la región dependan de las producciones de larvas de laboratorios extranjeros.

Para dejar de depender de la importación de larva fijadora y semilla se debe poner en marcha laboratorios nacionales con producción de larvas y semillas desde

reproductores cultivados en la región, primero para abastecer la demanda interna de semilla y segundo por producir organismos más adaptados a las condiciones de cultivo. Por otro lado, para aumentar el rendimiento en la producción de semilla en criadero de bivalvos es necesario establecer criterios de calidad consistentes relacionados al desempeño de las larvas y semillas desde el contexto de producción del criadero (Rico-Villa *et al.*, 2006; Ben Kheder *et al.*, 2010). El concepto de “calidad larvaria” es muy común entre los acuicultores y representa un punto crítico dentro de la producción debido a que de ello depende que los organismos tengan un buen desempeño en producción en términos de crecimiento y supervivencia. Sin embargo, la evaluación de la calidad larvaria representa cierta problemática logística en la cual hay que balancear cuáles son los criterios más adecuados a evaluar y sobre todo la certeza del poder predictivo de estos criterios (Racotta *et al.*, 2004). Hasta el momento, no hay índices de condición adecuados para larvas de bivalvos que permitan predecir el crecimiento larvario y/o metamorfosis y desempeño en cultivo en campo. Tales índices deben ser aplicados desde la obtención de los desoves, los cuales pueden presentar variaciones estacionales de tasas de fertilización (Massapina *et al.*, 1999), hasta los juveniles producidos (Gómez-Robles *et al.*, 2013).

En los criaderos de bivalvos, el porcentaje de semilla que sobrevive y se destina a la engorda varía enormemente según la especie, el criadero, el año y las variaciones dentro de un mismo año. La mayor parte de las mortalidades se dan en la primera semana después de la fijación como consecuencia de la metamorfosis al final del cultivo larvario (Helm *et al.*, 2006). Por otro lado, una de las prácticas comunes en los criaderos de bivalvos es eliminar las larvas de lento crecimiento que se presentan de manera general en los lotes individuales, justificando esta práctica en que aquellas difícilmente llegaran a tener éxito en la metamorfosis (Loosanof y Davis, 1963). Sin embargo se ha observado que esto no siempre se cumple, y que las larvas que alcanzan la etapa pediveliger mas tarde por presentar lento crecimiento tienen supervivencias similares durante la

metamorfosis (Laing *et al.*, 1998). Esto es importante porque el descarte de larvas por su talla/lento crecimiento en los cultivos, aunado a las mortalidades durante la metamorfosis, merma significativamente la producción de semilla en el criadero.

En el presente trabajo se evaluó el efecto de la condición de reproductores colectados en el medio natural durante la temporada reproductiva (mayo, junio y agosto) sobre la calidad de sus larvas hasta la metamorfosis. Se evaluó el desempeño y composición bioquímica de las larvas para determinar índices de calidad en las condiciones propias del cultivo. Además, en los mismos organismos se evaluó el efecto del crecimiento de las larvas pediveligers sobre el éxito de metamorfosis.

2. ANTECEDENTES

2.1 BIOLOGÍA

2.1.1 Taxonomía

(Invasive species compendium, 2014).

Filo: Mollusca

Clase: Bivalvia

Orden: Ostreoida

Familia: Ostreidae

Género: *Crassostrea*

Especie: *Crassostrea gigas*

La familia Ostreidae está compuesta por varios géneros, entre ellos los más distintivos son *Ostrea* y *Crassostrea* por contener un número considerable de especies comestibles. El ostión japonés *C. gigas* es una especie de molusco bivalvo eurihalina, con una distribución que ocurre desde la zona intermareal hasta los 40 metros de profundidad. Habita naturalmente en zonas costeras de Asia, aunque ha sido introducido en diversos sitios costeros alrededor del mundo para su cultivo, gracias a la plasticidad fenotípica y capacidad adaptativa que presenta en distintos ambientes (Leffler y Greer, 1991). Es una especie hermafrodita secuencial, con ciclos reproductivos estacionales y con un importante rol trófico como organismo filtrador en sistemas costeros (Cognie *et al.*, 2006).

2.1.2 Distribución

C. gigas es procedente del noreste de Asia pero se ha introducido con fines de acuicultura, a casi todo el mundo (Nehring, 2011). En Norteamérica la especie se puede encontrar desde Alaska al sureste de Baja California, México, mientras que

en aguas europeas la especie se cultiva desde Noruega hasta Portugal, así como en el Mar Mediterráneo. Algunas de las introducciones de esta especie han sido exitosamente establecidas teniendo poblaciones permanentes en regiones como el Oeste de EU., Europa, Australia, México, Nueva Zelandia y Sudáfrica, sin embargo algunas introducciones no han logrado establecerse y la producción artificial es practicada (ej. Namibia) (Fig. 1).

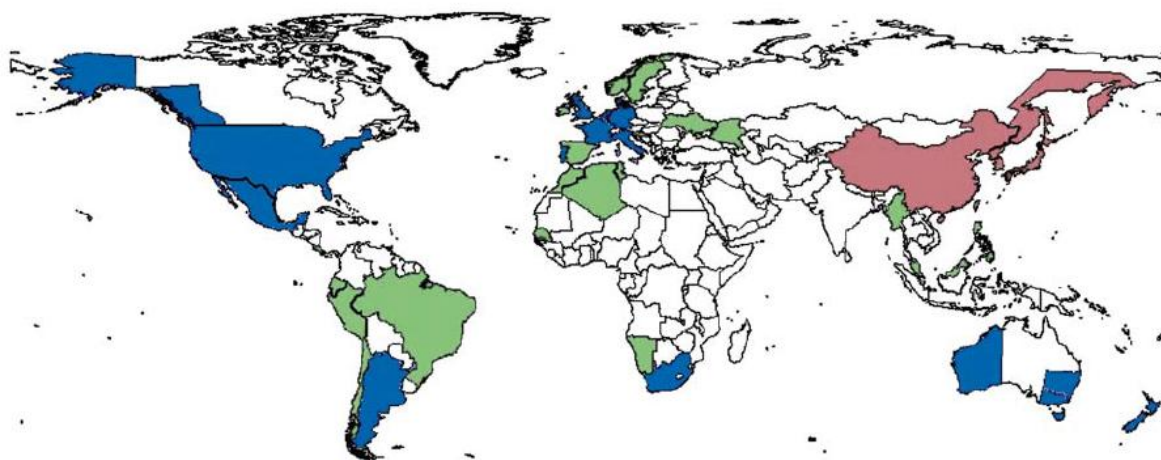


Figura 1. Distribución global del ostión del Pacífico, *C. gigas*. En sus rangos nativos y no nativos. Rojo=rango nativo, azul=poblaciones establecidas, verde=introducida (Ruesink *et al.*, 2005).

Con respecto a las zonas adecuadas para crías, la principal limitación es la capacidad de carga. Por lo general, las zonas costeras y de estuarios son altamente productivas, debido a los aportes de agua dulce y la productividad primaria resultante. Por lo tanto, una gran disponibilidad de alimentos facilita densidades de crianza más intensivos. Debido a que *C. gigas* es altamente tolerante a las variaciones en la temperatura del agua de mar y a un amplio rango de salinidad, tiene la capacidad de crecer en ambientes altamente variables de las zonas desde estuarios de aguas salobres a aguas oceánicas. El hecho de que la semilla esté ampliamente disponible y se pueda transferir fácilmente facilita el uso de los diversos entornos, incluso en zonas en las que no se produce el

reclutamiento natural. Por el contrario, las áreas de reclutamiento naturales se encuentran normalmente en aguas de estuarios costeros, impactados por aportes de agua dulce. La tasa de supervivencia de las larvas depende de una combinación adecuada de temperatura-salinidad, que es óptima en las zonas de salinidad ligeramente menor a la del agua de mar. Desde un punto de vista geográfico, la distribución mundial de *C. gigas* muestra que sólo las regiones ecuatoriales y polares no son favorables para el cultivo (Invasive species compendium, 2014).

2.1.3 Ciclo de vida

El ostión *C. gigas* es una especie ovípara asíncrono dicogámica (Buroker, 1983). Los adultos pueden cambiar de sexo con el tiempo con un primer ciclo reproductivo como machos (Guo *et al.*, 1998). En el comienzo del invierno la gametogénesis se reduce, pero aumenta al final de esta temporada. El desarrollo de células germinales se acelera en la primavera para alcanzar la madurez sexual en el comienzo del verano (Gouletquer, 1997). La gametogénesis, al igual que otras funciones biológicas de la ostra, está directamente relacionada con cambios en las condiciones bióticas y abióticas (disponibilidad de alimento, temperatura, concentración de oxígeno, salinidad, etc.) (Chávez-Villalba *et al.*, 2003; Fabioux *et al.*, 2005; Enríquez-Díaz *et al.*, 2009). Durante el verano, un estímulo externo lleva a la expulsión de gametos, que puede ser parcial o total (Gouletquer, 1997). Las reservas energéticas se reponen en el otoño antes de la re-introducción a un nuevo ciclo de reproducción (Berthelin *et al.*, 2000).

C. gigas tiene una reproducción ovípara expulsando ovocitos pequeños (<50 μm) liberados en grandes números (Mackie, 1984; Le Pennec *et al.*, 2003; Helm y Bourne, 2004). Muestra una estrategia planctotrófica con una fertilización y desarrollo larvario ocurriendo en el ambiente planctónico, así las larvas tienen un alto requerimiento de alimento que depende de la disponibilidad del plancton.

Una vez que ocurre la fecundación del ovocito, este pasa por las fases multicelulares de blástula y gástrula hasta convertirse en una trocófora con motilidad. La embriogénesis es llevada a cabo debido principalmente a las reservas derivadas de los padres. Las reservas del ovocito almacenadas son catabolizadas en esta etapa hasta la larva D (24 h post-fertilización) y hasta que la larva pasa a la etapa de alimentación exógena (Whyte *et al.*, 1990), en larva de *C. gigas* esto ocurre aproximadamente al día 6 post fertilización (Ben-Kheder *et al.*, 2010).

La larva D, por la forma de su caparazón conocido también como prodisoconcha, cuyo tamaño es de aproximadamente 80 μm (Fig. 2), posee un velo que emplea para alimentarse y para la locomoción. La forma de la prodisoconcha cambia con el desarrollo de las larvas con la aparición de una extensión en forma de gancho que corresponde al umbo. Cuando las larvas alcanzan 250-280 μm , se desarrolla un cuerpo sensorial que figura como un punto negro, uno a cada lado entre la glándula digestiva y las valvas lo cual es una indicación de que ha comenzado o va a comenzar la búsqueda de sustrato, como preparación para la fijación (a veces también denominado adhesión o agarre). A este estadio se le denomina larva veliger competente. Posteriormente, la secreción de disoconcha comienza y la aparición del pie que permite la fijación (larva pediveliger) (Fig. 3). Así, las larvas de un tamaño mayor a 280 μm ya están preparadas morfológica y fisiológicamente para iniciar la metamorfosis (Coon *et al.*, 1990; Helm *et al.*, 2006).

La fijación es un fenómeno que representa la etapa inicial de la metamorfosis. Se desconocen los factores que la desencadenan, aunque el tipo de sustrato y los aspectos físicos, químicos y biológicos indudablemente son importantes. Puede producirse de forma rápida, pero puede retrasarse si no se cumplen las condiciones idóneas (Helm *et al.*, 2006).

La metamorfosis es una etapa crítica del desarrollo larvario donde suceden considerables cambios anatómicos hacia la forma juvenil y pueden presentarse

grandes mortalidades. La supervivencia en esta etapa depende de una serie de factores, entre ellos, la disponibilidad de reservas energéticas acumuladas durante la fase larvaria (Helm *et al.*, 2006). Los cambios morfológicos que ocurren durante la metamorfosis son: la reorientación de las estructuras internas, incrementando la complejidad de los sistemas de órganos y la secreción de la concha adulta, conocida como disoconcha (Fig. 4) (Bayne, 1965; Coon *et al.*, 1985; Widdows, 1991; Gosling, 2003). Además de la desaparición del pie, la degeneración del velo y el desarrollo de branquias ciliadas cuales se convierten en el órgano de alimentación de la postlarva (Gruffy y Beaumont, 1972; Gosling, 2003; García-Lavandeira *et al.*, 2005).

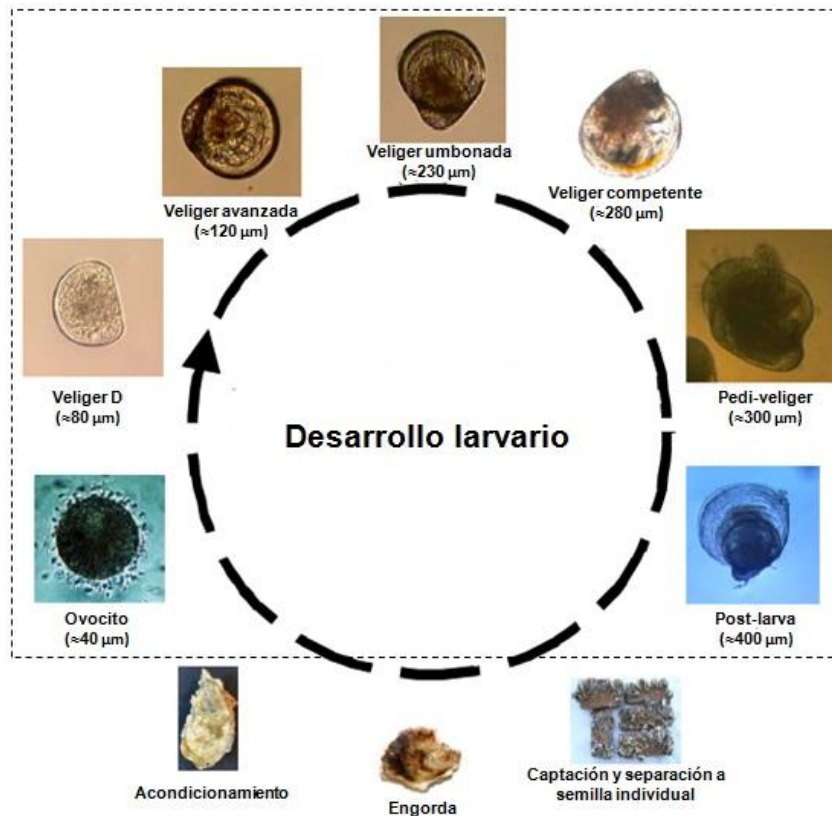


Figura 2. Ciclo de vida de *C. gigas* (Rico-Villa, 2009).

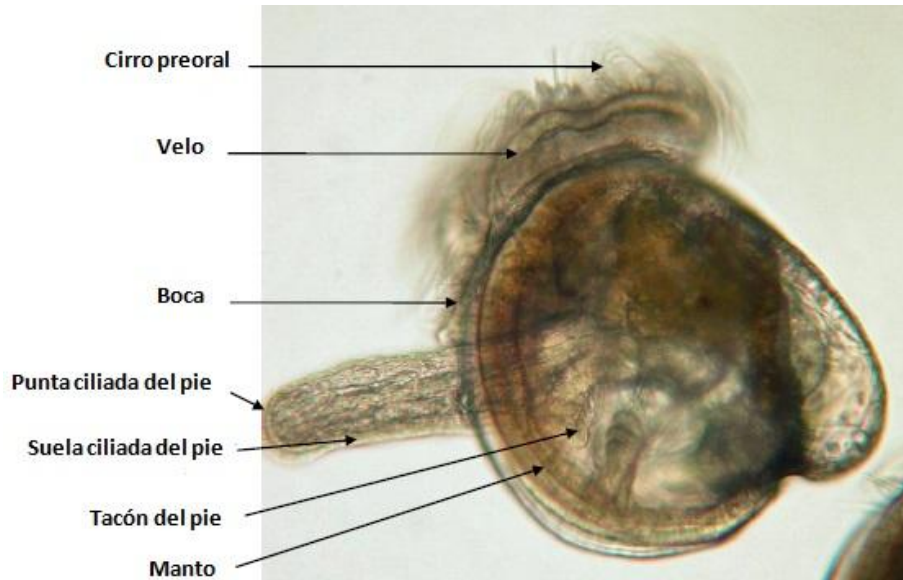


Figura 3. Pediveliger de *C. gigas* (Stanton, 2012).

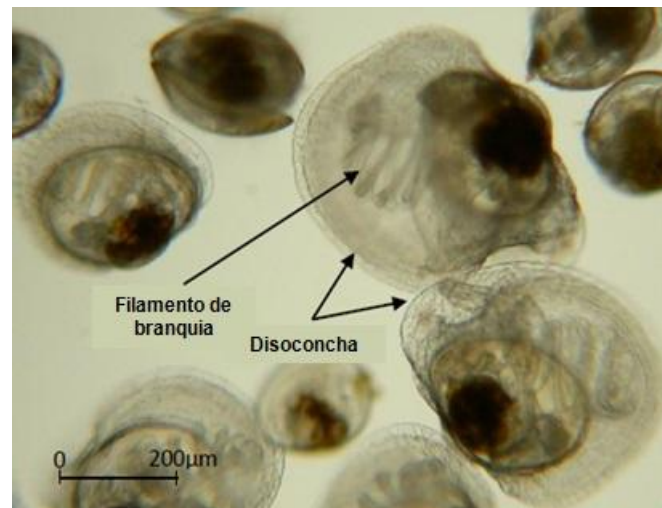


Figura 4. Postlarva de *Pecten maximus* con filamentos alargados de branquias funcionales y disoconcha (Henry, 2014).

2.1.4 Anatomía

El cuerpo se encuentra envuelto por un manto que presenta dos pliegues laterales al eje sagital. El manto está involucrado en la síntesis de la concha y en funciones sensoriales. La masa cefálica está ausente, y no es más representada que por la boca y palpos labiales. El estómago forma un ciego largo donde se ubica un estilete cristalino, el cual es una estructura utilizada en la digestión del alimento. El estómago continúa en un intestino y recto. El epitelio del estómago consiste en una sola capa de células epiteliales ciliadas y no ciliadas expuesta sobre una lámina basal. La glándula digestiva es un órgano que rodea al estómago y gran parte del intestino, compuesto de divertículos ciegos interconectados que desembocan por canales hacia el intestino. Los conductos digestivos presentan una forma externa redondeada con un lumen, el epitelio está constituido por una zona ciliada y otra no ciliada. El ostión posee un par de branquias lamelares que constan cada una de dos pliegues paralelos vascularizados (Fig. 5). Las branquias se extienden en la región ventral, desde la boca hasta el ano, con función respiratoria, excretora y nutricia. La alimentación ocurre por filtración branquial de partículas suspendidas. El ostión posee un órgano muscular, el músculo abductor, empleado para la apertura y cierre de las valvas. Es un órgano masivo, situado en la parte posterior y dorsal del cuerpo, que se encuentra firmemente anclado a la cara interna de la valva. En el manto también ocurre un tipo de tejido muscular, capaz de presentar retracción ante estímulos nerviosos. Las branquias también presentan tejido muscular que permiten mantener la circulación de la hemolinfa (Rodríguez-Jaramillo, 2014).

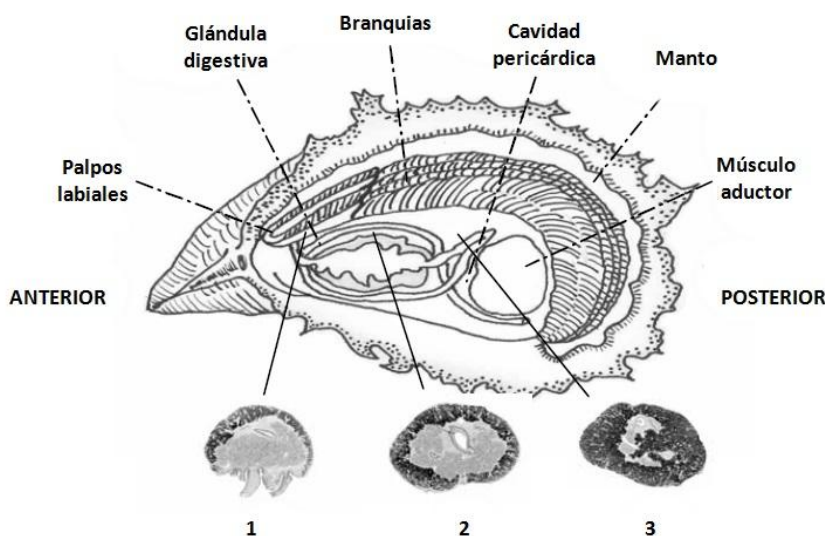


Figura 5. *Crassostrea gigas* (adaptado de Barillé *et al.*, 1997 citado en Enriquez-Díaz *et al.*, 2009) mostrando tres niveles de cortes histológicos. 1) Sección anterior; 2) Sección media; y 3) Sección posterior.

La gónada de ostión es un órgano difuso y acinoso compuesto por lóbulos derechos e izquierdos situados entre la glándula digestiva y el epitelio exterior del manto (Eckelbarger y Davis, 1996). En ostiones maduros los acinos se extienden entre el tejido conjuntivo vesicular del manto hasta la glándula digestiva (FAO, 2006).

2.1.5 Alimentación

La energía necesaria para satisfacer la demanda de diversos procesos fisiológicos, incluida la gametogénesis, proviene de dos fuentes de alimentación: el fitoplancton y el seston (protozoarios, zooplancton, detritus, etc.), filtrados por los ostiones. En los juveniles y adultos los ctenidios, o branquias están bien desarrollados y ejercen la doble función de alimentación y respiración. Los ctenidios están cubiertos de cilios-diminutos filamentos vibradores-cuyos latidos concentrados y a menudo coordinados, inducen una corriente de agua. Cuando descansan o se encuentran sobre el sustrato, el animal absorbe el agua a través de la abertura o sifón inhalante. Las branquias recogen plancton y lo pegan a la mucosa. Gracias al latido de los cilios, los filamentos de mucosa cargados de

alimento pasan por unos surcos especiales en las branquias hacia el interior hasta los palpos labiales que dirigen el alimento a la boca y lo introducen. Los bivalvos pueden seleccionar parte del alimento y periódicamente los palpos rechazan pequeñas masas de alimento, que conforman las pseudoheces y que son expulsadas de la cavidad paleal por un batido vigoroso de las valvas (Helm *et al.*, 2006)

Tal como se explicará mas a detalle, la disponibilidad o cantidad de alimento serán determinantes en la proliferación y calidad de los gametos (Kang *et al.*, 2000; Fabioux *et al.*, 2005; Chávez-Villalba *et al.*, 2008).

2.1.6 Reproducción

La explotación y manejo adecuado de cualquier especie requiere del conocimiento preciso de su ciclo reproductivo para inferir periodos de desove, tasas de producción de huevos, tasas de reposición poblacional, e instaurar, si es el caso, periodos de veda precautorios (Rodríguez-Jaramillo, 2014).

En la mayoría de los bivalvos, la madurez sexual depende del tamaño del animal más que de su edad, y el tamaño que alcanza en la madurez sexual varía de una especie a otra y según la distribución geográfica. La producción de óvulos y esperma es un proceso denominado gametogénesis, además del tamaño del bivalvo, se modifica por la temperatura y la cantidad y calidad de alimento disponible. Aunque el desarrollo de la gónada es un proceso continuo, se pueden distinguir varias fases descriptivas; descanso, desarrollo, madurez, desove parcial y desove completo (Helm *et al.*, 2006).

En la actualidad existen diferentes escalas para clasificar y ordenar los estadios de desarrollo gonádico de los ostiones. En relación a los valores cuantitativos o continuos que pueden indicar el estadio de desarrollo gonádico (con especial énfasis en el estadio de madurez), uno de los más utilizados es el índice gonadosomático (IGS) definido como la relación entre el peso de las gónadas y el peso corporal. Las ventajas del método IGS es que es barato, rápido, objetivo, y

genera datos continuos de la proporción de biomasa que un ostión invierte en reproducción. El IGS se ha utilizado en *C. gigas* (Frias-Espericueta *et al.*, 1997; Ren *et al.*, 2003; Kang *et al.*, 2003; Ngo *et al.*, 2006), sin embargo, y en contraste con las almejas y otros organismos marinos, la gónada en los ostiones puede ser difícil de separar de los tejidos adyacentes (principalmente glándula digestiva) ocasionando un sesgo para determinar el peso de la gónada (Mori, 1979; Frias-Espericueta *et al.*, 1997). Además, el IGS no es un reflejo preciso de la actividad gonadal porque puede haber diferencias temporales en el desarrollo de los ovocitos o el contenido de líquido en el tejido gonádico durante el proceso de maduración (Grant y Tyler, 1983; Palacios *et al.*, 2004), e incluso restos de células muertas o de hemocitos que limpian las gónadas de gametos residuales. Así, Costil *et al.* (2005) observaron que incluso si no existen gametos que permanecen en los folículos, la presencia de abundante tejido conectivo podría aparentar morfológicamente el estadio de madurez, dado que la gónada aparece voluminosa. Gracias al uso reciente de cámaras digitales y programas que estiman las áreas de ovocitos, estas mediciones han incrementado su precisión. Por ejemplo, el área de cobertura gonádica (ACG) tiene la ventaja de ser cuantitativa y relativamente rápida y simple para analizar, aunque el análisis de imágenes requiere proceso histológico anterior que puede ser costoso y consume tiempo. Este índice ya ha sido reportado para *C. gigas*, dando información acerca del esfuerzo reproductivo basado en la biomasa invertida del total hacia la formación de la gónada. De manera general, la proporción aumenta con la proliferación de los gametos y alcanza su valor máximo en la madurez. Se han reportado valores máximos en la madurez gonadal de hembras de 72% en Francia (Enríquez-Díaz *et al.*, 2009) y de 54% en Sinaloa, México (Rodríguez-Jaramillo, 2014).

El diámetro del ovocito también resulta un indicador adecuado de la etapa de maduración en especies con periodo reproductivo corto y definido donde el tamaño de los ovocitos es un descriptor claro del avance de la ovogénesis. El

diámetro del ovocito aumenta durante la proliferación y alcanza su tamaño máximo en el pico de madurez, en particular en climas templados. Sin embargo, las ostras tropicales tienen un periodo reproductivo extendido y varios desoves parciales por lo que no siempre se observan aumentos significativos en el crecimiento de los ovocitos durante la gametogénesis. Los diámetros de ovocitos maduros (post-vitelogénicos) son promediados con las tallas de ovocitos inmaduros (previtelogénicos y vitelogénicos) durante todo el año y las tallas máximas no llegan a ser lo suficientemente diferentes durante los periodos del desarrollo gametogénico, madurez y desove (Rodríguez-Jaramillo, 2014). Por lo anterior, también es común usar el diámetro máximo que refleja mejor el estadio de madurez alcanzado en esos casos (Rodríguez-Jaramillo, 2014).

2.1.7 Ciclos reproductivos

En general, el alimento, la temperatura y el fotoperiodo regulan la proliferación gonádica y la maduración de los gametos de los moluscos. La concentración de alimento determina la intensidad de la gametogénesis; así, los ostiones que se desarrollan en diferentes ambientes pueden presentar diferentes estrategias reproductivas, tales como desoves completos y sincronizados o desoves parciales no sincronizados (Enríquez-Díaz *et al.*, 2009). La salinidad es otro factor que participa en el control del ciclo reproductivo: la salinidad baja puede resultar en una reducción del tamaño y desarrollo de tejido gonadal (Hofmann *et al.*, 1994).

En climas cálidos la temporada de desove es más larga, mientras que en latitudes más altas con climas fríos las temporadas de desove son cortas y marcadas (Hoffmann *et al.*, 1994; Baqueiro *et al.*, 2007). Se puede observar una relación de esto en la tabla I en donde las regiones que presentaron las temporadas de desove más largas (de 4 a 6 meses) coinciden en una temperatura máxima anual entre los 25-30°C (las zonas de cultivo en México, Portugal y Corea) (Massapina *et al.*, 1999; Cáceres-Martínez *et al.*, 2004; Ngo *et al.*, 2006; Chávez-Villalba, 2007; Rodríguez-Jaramillo, 2014), mientras que las regiones que muestran periodos más cortos (2 meses) alcanzan una temperatura anual máxima cercana a

los 20°C, como es el caso de los cultivos en Francia, Nueva Zelanda y Japón (Li *et al.*, 2000; Enríquez-Díaz *et al.*, 2009; Ren *et al.*, 2010). La temperatura en climas cálidos y fríos determina las floraciones de fitoplancton las cuales influyen el patrón de desoves y la longitud del periodo, así las regiones con periodos largos muestran varias floraciones (picos de clorofila a) de baja intensidad a lo largo de la primavera y verano (Ngo *et al.*, 2006) en comparación con las floraciones presentadas en regiones templadas con picos de clorofila en primavera justo antes de los desoves masivos (Enríquez-Díaz *et al.*, 2009; Ren *et al.*, 2010).

Tabla I. Ciclos reproductivos de *C. gigas* en diferentes regiones del mundo, índices de desarrollo gonádico y parámetros ambientales.

Lugar	Proliferación	Madurez	Desove parcial	Desove total	Anual		Fuente
Cultivo Alfonsos	Todo el año	Mayo-Sept., Marzo	-	Mayo-Sept, Marzo	T °C=20-25		Cáceres-Martínez <i>et al.</i> (2004)
Cultivo Agromarinos Bahía de San Quintín, BC, México	Todo del año	Febrero-Nov.	-	Mayo-Sept., Nov-Dic	T °C=20-24		
Estero El Soldado, Sonora, México.	Abril, Junio-Sept.	Abril, Junio-Sept.	-	-	T °C=13-32 Chl a ($\mu\text{g L}^{-1}$)=0- 6.5		Chávez-Villaba <i>et al.</i> (2007)
Bahía de Ceuta, Sinaloa, México	Enero-Febrero	Abril-Mayo	Mayo	Junio-octubre	T °C=20-30 ACG=54% D=54.4 μm		Rodríguez-Jaramillo (2014)
Ria Formosa, Portugal	Abril-Mayo	Mayo-Agosto	Mayo-Agosto	Julio-Septiembre	T°C=20-25(abril-sept) F=11 M ovocitos		Massapina <i>et al.</i> (1999)
Bahía de Veys, Normandía.	Marzo-Julio	Julio-Agosto	Agosto	-	Bahía de Veys T °C=6-19 Chl a ($\mu\text{g L}^{-1}$)=2-25 ACG=72% BG= 6 g	Marennes-Oléron T °C=6-19 Chl a ($\mu\text{g L}^{-1}$)=2-12 ACG=68% BG= 2 g	Enríquez-Díaz <i>et al.</i> (2009)
Marennes-Oléron, C.M, Francia	Mayo	Mayo-Agosto	Julio	Agosto			
Puerto Coirselle, Nueva Zelanda.	Abril-Agosto	Diciembre	-	Dic.-Enero	T °C=12.5-22 D=36 μm		Ren <i>et al.</i> (2010)
Profundidad=0-2 m	Marzo-Abril	Junio y Julio	-	Mayo-Agosto	Profund. =0-2 m T °C=4.3-30.4 Chl a ($\mu\text{g L}^{-1}$)=0-4.9 IGS=49.5 % F=1.6-106 M ovocitos	Profund. =3-5 m T °C=4.4-26.6 Chl a ($\mu\text{g L}^{-1}$)=0-4.2 IGS= 41.1 F=4.9-99 M ovocitos	Ngo <i>et al.</i> (2006)
Profundidad=3-5m Bahía Gosung, Corea	Marzo-Abril	Junio	-	Mayo-Agosto			
Bahía Onagawa, Japón.	Mayo-Junio	Julio-Agosto	Agosto-Sept.	-	T °C=8-21 D= 48.7 μm		Li <i>et al.</i> (2000)

Valores máximos de IGS= índice gonadosomático; ACG= Área de cobertura gonádica; D= diámetro de ovocito en la gónada; BG= Biomasa de la gónada; F=Fecundidad; Chl a= Clorofila a

2.1.7.1 Acumulación de energía

El ciclo gametogénico en bivalvos está vinculado estrechamente con el ciclo estacional de almacenamiento y uso de las reservas de glucógeno. Varios autores han encontrado un máximo contenido de glucógeno inmediatamente antes y durante la proliferación de gametos (Ansell *et al.*, 1980; Barber y Blake 1985; Chávez-Villalba *et al.*, 2003), seguida de un periodo de gametogénesis y biosíntesis de lípidos, relacionados con la utilización de glucógeno durante la vitelogénesis. Un periodo reproductivo extenso implica mayor esfuerzo individual y mayor gasto de reservas energéticas que son limitadas en tiempo y espacio. Estas deben ser repartidas de manera diferencial para su uso en el crecimiento de los tejidos somáticos y/o la reproducción (MacDonals y Thompson, 1986; Paulet y Boucher, 1991; Duinker, 2002). Los moluscos se clasifican en función de la fuente de energía disponible para la reproducción en:

- 1) Especies conservadoras, que acumulan energía en sus tejidos de almacenamiento como el caso del tejido conjuntivo vesicular y adipogranular en ostreidos o el músculo abductor en pectinidos, para su posterior movilización para la reproducción independientemente de la disponibilidad de alimento en el medio ambiente.
- 2) Especies oportunistas son las que aprovechan la disponibilidad de alimento para los procesos de reproducción, con poco impacto en los tejidos de reserva (Epp *et al.*, 1988; Racotta *et al.*, 2003).

Secundariamente, las diferentes estrategias en que la energía se adquiere, almacena y se metaboliza pueden variar entre las especies y entre poblaciones de la misma especie (Racotta *et al.*, 2003). Los ostiones de zonas templadas como *C. gigas* presentan un estrategia conservadora donde las reservas de glucógeno almacenado en el tejido conectivo vesicular (Berthelin *et al.*, 2000) y otras reservas bioquímicas se acumulan durante el otoño y parte del invierno (Matus de la Parra *et al.*, 2005) y se utilizan junto con el alimento disponible durante los florecimientos

de fitoplancton de primavera para el proceso gametogénico (Hefferman *et al.*, 1989; Lango-Reynoso *et al.*, 2006).

En bahía de Ceuta, Sinaloa, *C. gigas* tiende a presentar una estrategia conservadora por la caída de los carbohidratos en el tejido conjuntivo vesicular, que disminuyen paulatinamente a partir de enero, aun si los cambios no son tan marcados como en la misma especie en climas más fríos. En comparación, un ostión endémico de la península, *C. corteziensis*, presentó una estrategia intermedia entre conservadora y oportunista (Rodríguez-Jaramillo *et al.*, 2008).

Los lípidos en *C. gigas* de Bahía Ceuta, tuvieron una tendencia a que se almacenan durante finales del otoño-invierno en el tejido conjuntivo vesicular, posteriormente fluctúan durante la primavera en el primer periodo de maduración y decrecen significativamente en mayo, previos al desove de junio. Por otro lado, la glándula digestiva mostró mayor cantidad de lípidos que el tejido conjuntivo, que disminuyeron notablemente desde el inicio del desove (Rodríguez-Jaramillo, 2014).

Se ha reportado que la acumulación de ácidos grasos en bivalvos marinos ocurre por incorporación directa en los tejidos somáticos a partir del alimento disponible o a través de la conversión de carbohidratos almacenados vía lipogénesis (Gabbott, 1975; Palacios *et al.*, 2005), por lo que la lipogénesis a menudo depende de las reservas de glucógeno almacenado en distintos tejidos (Mann, 1979; Gabbott, 1983; Racotta *et al.*, 1998; Cigarría, 1999). En las especies templadas con estrategias de maduración conservadora como *C. gigas*, los lípidos también se pueden almacenar en los tejidos cuando prevalecen condiciones de elevada abundancia de fitoplancton en el hábitat. De esto se desprende la importancia de los lípidos ya que durante la embriogénesis son los principales combustibles en los bivalvos, predominantemente triacilglicéridos (Gallager y Mann, 1986; Whyte *et al.*, 1990), que son transferidos a los huevos a través de la lipogénesis en la hembra (Gabbott, 1983). Los ácidos grasos esenciales (EFA, por sus siglas en inglés),

críticos para la estructura y función de membrana (Kraffe *et al.*, 2004; Palacios *et al.*, 2005), no se sintetizan de *novo* en los bivalvos (Laing *et al.*, 1990; Chu y Greaves, 1991) y por lo tanto, las hembras reproductoras deben acumular selectivamente este tipo de EFA directamente en el tejido gonadal u otro tipo de tejidos de reservas a partir de fuentes de alimento exógeno (Soudant *et al.*, 1996; Utting y Millican, 1997, 1998; Palacios *et al.*, 2005).

2.1.8 Patrones bioquímicos durante el desarrollo larvario

Los cambios morfológicos que ocurren en la larva durante su desarrollo requieren de energía para llevarse a cabo. El desarrollo embriogénico y larvario inicial de los bivalvos depende principalmente de las reservas de energía materna, lo cual se conoce como lecitotrofia (Whyte *et al.*, 1990). De manera similar, la metamorfosis es completada a la expensa de reservas endógenas conformadas a partir de la primera alimentación de la fase larvaria anterior, lo que se ha denominado como lecitotrofia secundaria (Holland y Spencer, 1973; Farias *et al.*, 1998). Por lo tanto, estas etapas lecitotróficas de desarrollo son críticas en los bivalvos dado que dependen de la disponibilidad de alimento externo durante fases anteriores (maduración gonádica y desarrollo larvario) y están generalmente asociadas con una disminución significativa de las reservas energéticas que puede resultar en un incremento de mortalidades si estas reservas no son suficientes (Haws, 1993).

Basado en los patrones de acumulación de proteínas, lípidos y carbohidratos entre la embriogénesis y metamorfosis de bivalvos marinos, al menos tres tipos de estrategias larvales han sido propuestas para la adquisición y utilización de energía:

- a) Tipo *Crassostrea gigas*: la embriogénesis toma lugar a expensas de los lípidos, mientras las proteínas son acumuladas. Posterior a la embriogénesis los requerimientos energéticos son grandemente dependientes del alimento externo. Las proteínas aportan más energía que

los lípidos durante la metamorfosis y en los cortos periodos de inanición en la etapa postlarval (Bartlett, 1979).

- b) Tipo *Ostrea edulis*: la larva utiliza las proteínas endógenas (además del alimento externo) para suplir sus requerimientos energéticos durante el desarrollo, y acumula lípidos. Los lípidos se convierten en la principal fuente de energía durante la metamorfosis y en los pequeños periodos de estrés de alimento (Holland y Spencer, 1973).
- c) Tipo *Patinopecten yessoensis*: tanto los lípidos como las proteínas son grandemente utilizadas durante el desarrollo, y son acumulados durante la etapa pre-metamórfica. No es claro qué sustrato es más importante durante la metamorfosis, pero presuntamente ambos, con una contribución máxima de los lípidos (Whyte *et al.*, 1987).

2.2 CULTIVO DE OSTION

La ostricultura es una actividad dirigida a producir y crecer (engordar) organismos desde la obtención de las larvas hasta llegar a tamaños comerciales. Las técnicas necesarias para llevarlas a cabo están siendo desarrolladas en muchas partes del mundo como una actividad tendiente a racionalizar la explotación de los recursos acuáticos y proporcionar alimento y trabajo (SAGARPA, 2010). La engorda del ostión en campo se realiza actualmente en cuerpos de agua costeros. Los sistemas de engorda más utilizados son los cultivos en suspensión en línea madre y balsas, los cultivos de fondo en costales sobre “estantes” y las camas flotantes (Robles y Salinas, 1993; Mazón, 1996). La mayoría de las actividades relacionadas con el cultivo de ostión consisten en la recolección de semillas en conchas vacías, las cuales se colocan en sartas que se cuelgan de postes de madera de mangle hasta que los ostiones adquieran el tamaño adecuado para su consumo (60-70 mm) (Chávez-Villalba *et al.*, 2005). Para el noroeste de México, debido a que no hay captación natural, toda la semilla proviene de laboratorios. La

secuencia que se sigue para producirla es la siguiente: inducción al desove, fertilización, obtención de larvas, cultivo larvario, fijación y metamorfosis, obtención de semilla y pre-engorda de semilla (también llamada postlarva) (Chávez-Villalba, 2014).

2.2.1 Producción a nivel mundial y nacional de *C. gigas*.

La FAO (2005) reportó que en 2003 hubo una producción mundial de *C. gigas* de 4.38 millones de toneladas generando China el 84% de esta producción. Sin embargo, Ruesink *et al.* (2005) concluyo que la mayor parte de la producción en China está sostenida por ostiones nativos, en este caso por *Crassostrea picatula*=*Saccostrea cucullata* (Nie, 1991), mientras que en Japón y Corea la mayor producción de ostión es de *C. gigas*. Por consecuencia, algunos reportes hablan de producciones mundiales de *C. gigas* cercanas a las 660,000 toneladas, excluyendo a China (FranceAgrimer, 2011). Secundariamente, se pueden mencionar a países con una producción mayor a las 100,000 T como la República de Corea (303 347 T) y Japón (184 100 T). Finalmente, se consideran países con una producción mayor a las 10 000 toneladas como Francia (75 100 T), Estados Unidos (38 320 T) y la Provincia China de Taiwán (25 276 T). *C. gigas* ha demostrado ser altamente susceptible a la acuicultura, y en la actualidad, la explotación de las poblaciones silvestres contribuye poco a la producción mundial (FAO, 2002).

Tabla II. Producción mundial de *C. gigas* por origen de producción (FAO, 2016).

País	Acuicultura	Captura
Republica de Corea	283,232	20,115
Japón	184,100	-
Francia	75,100	1
Estados Unidos	29,116	9,204
Prov. China de Taiwán	25,276	-
Irlanda	8,887	-
Canadá	8,101	-
México	3,525	-
Noruega	1,983	-
Nueva Zelandia	1,509	189
Islas Anglonormandas	1,274	-
Reino Unido	1,250	3
Namibia	670	-
España	557	22
Portugal	471	66
Sudáfrica	245	-

Actualmente, México ocupa el octavo lugar en la producción mundial de *C. gigas* (Tabla II). En 2012, la producción nacional fue sólo de 2127 T, de las cuales Baja California obtuvo 1324 T, Baja California Sur 576 T, Sonora 116 T, Sinaloa 108 T, entre otros estados como Jalisco, Guerrero y Nayarit que produjeron menos de 5 T (SAGARPA, 2013). En Chávez Villalba, (2014) mostraron los sitios donde se cultiva la especie en la región (Fig. 6).

La principal problemática para alcanzar mayores volúmenes de producción en la región es el abasto de semilla (Fig. 7). Tanto el Consejo Nacional ostrícola, el comité Nacional sistema producto ostión, y el Programa Maestro Nacional de Ostión declaran como su principal problemática y objetivo el lograr el abasto o provisión del insumo básico del cultivo y de la cadena de valor: la semilla de ostión. En los casos de los comités Estatales del Sistema producto ostión de Baja

California y Baja California Sur es declarado como el primer o uno de los principales problemas en la cadena productiva. Por ejemplo, la demanda de semilla para alcanzar la producción máxima sostenible en el estado de Baja California, se estima en 275 millones de semillas anuales (Programa Maestro del Sistema Producto Ostión de Baja California, 2008)



Figura 6. Cuerpos de agua donde se cultiva *Crassostrea gigas* en el noroeste de México y número de productores (Unidades de Producción Acuícola) en cada uno de ellos. Se presentan los principales sistemas de cultivo utilizados en cada sitio de producción (Chávez-Villalba, 2014).

Para el estado de Baja California Sur, la demanda de semilla para cubrir las necesidades del sector para el año 2012 fue estimada en 76.5 millones de semillas (datos modificados de la Secretaria de Pesca del Estado de Baja California Sur, 2012), de los cuales, la empresa Sol Azul usa 65% del total de la semilla, que en este caso principalmente proviene de Chile (50 millones por año, Danigo, com. pers.).

En México, existe una capacidad instalada para la producción de semilla de ostión japonés de aproximadamente 300 millones anuales. Sin embargo, de los laboratorios nacionales el Centro Reprodutor de Especies Marinas del Estado de Sonora (CREMES) tiene una capacidad instalada de producción de semilla de 80 millones anuales, sin embargo, su producción real es del orden de 15 a 20 millones. Sea Farmers en el Estado de Sinaloa tiene una capacidad de producción de 100 millones de semillas, pero su producción real oscila entre 20 a 30 millones por año. Maxmar Mariscos en Baja California su capacidad instalada es de 15 millones anuales, en tanto que su producción real oscila entre 4 a 8 millones. Hasta la fecha, la mayoría de estos laboratorios depende de la importación de larva de los EUA para la producción de la semilla, y la importación directa de semilla del extranjero por algunos engordadores (Chile y EUA). Por ejemplo, para el año 2008, la importación de larva fijadora de los laboratorios de los Estados Unidos en el estado de Baja California, fue de 90% de la producción estatal, los principales proveedores de esta larva son los laboratorios Taylor Shellfish Farms con el 50% y Whisky Creek Shellfish Hatchery 40% aproximadamente. Las cifras anteriores demuestran la alta dependencia que tienen los productores de ese estado de la proveeduría de larvas y semillas del extranjero (Programa Maestro del Sistema Producto Ostión de Baja California, 2008).

Esta dependencia del extranjero ha ocasionado una producción incierta. Por ejemplo, a partir del año 2007, algunos de los laboratorios productores de larva y semilla en EUA presentaron problemas que han resultado a la fecha en una disminución drástica de la oferta del insumo biológico básico para el cultivo del

osti3n en M3xico. Esos problemas han sido causados por la reemergencia de una bacteria patog3nica en la costa oeste de EUA: *Vibrio tubiashii* impactando sobre la supervivencia larvaria (Elston *et al.*, 2008). Adicionalmente a la dependencia del extranjero del insumo b3sico, la importaci3n de larva y semilla ha tra3do conjuntamente la introducci3n de pat3genos como el herpes-virus del osti3n japon3s (Os-HV1). El virus Os-HV1, no era considerado dentro de agentes causales de enfermedades certificables a nivel internacional, y fue introducido a Sonora por v3a no conocida, consider3ndose uno de los agentes patog3nicos causales de altas mortalidades de semilla y juveniles en ese estado (C3ceres-Mart3nez *et al.*, 2008).

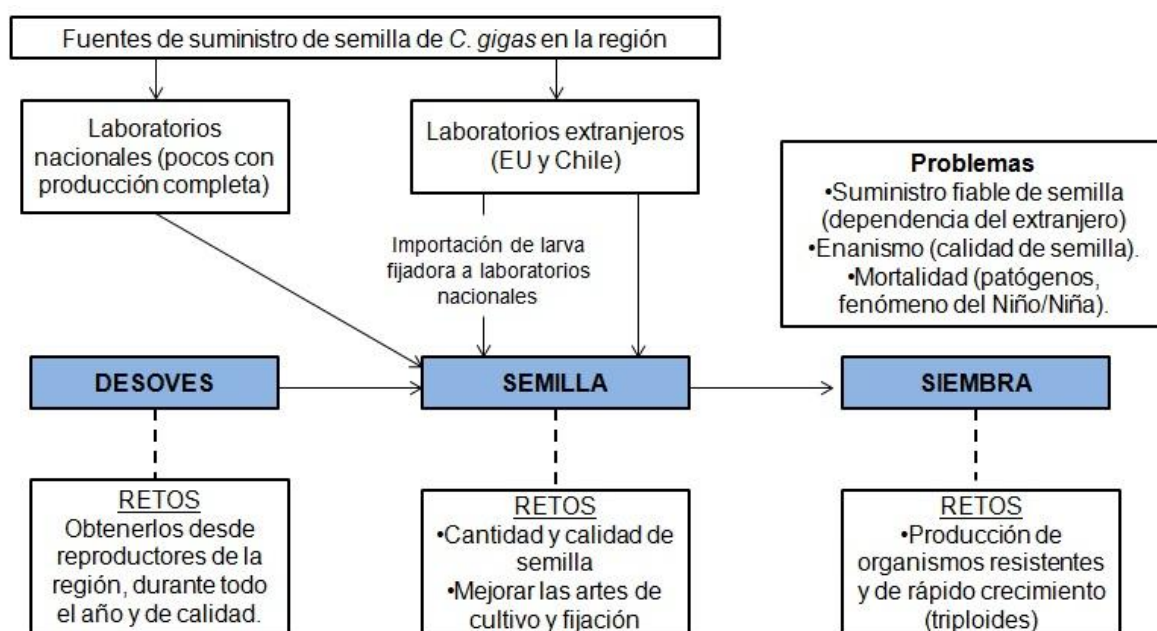


Figura 7. Principales problemas y retos en la producci3n de osti3n *C. gigas* en la regi3n noroeste de M3xico, sealados en los Programa Maestro del Sistema de Producci3n de Osti3n de Sonora (2008), Baja California (2008) y Baja California Sur (2011).

2.2.2 Producción de larvas y semillas en el criadero

2.2.2.1 Acondicionamiento gonádico

El acondicionamiento gonádico de los reproductores es fundamental si se quiere contar con larvas para el cultivo. Se trata de un procedimiento a través del cual los criaderos pueden ampliar su ciclo productivo sin tener que depender del periodo, relativamente corto, durante el cual los adultos de la especie de interés portan gametos maduros en el medio natural. Los bivalvos de climas sub-tropicales, como los que hay en el Noroeste de México, exhiben unos periodos de desove menos definidos; desovan durante la mayor parte del año y en algunos casos un pequeño porcentaje de adultos puede alcanzar la madurez en cualquier momento (Helm *et al.*, 2006).

2.2.2.2 Cultivo larvario

En la obtención de desoves y fertilización de los gametos es una buena práctica utilizar huevos de al menos 6 hembras y esperma de un número parecido de machos para proporcionar larvas para un turno de producción. Este número asegura una variabilidad genética satisfactoria entre la descendencia. El alcance de esta variabilidad dependerá del grado de heterocigosis de los reproductores (Helm *et al.*, 2006).

El cultivo larvario de *C. gigas* fue caracterizado por Rico-Villa *et al.* (2006). Un primer periodo comienza desde la larva D (día 2 $\geq 70\mu\text{m}$) hasta larva umbonada temprana (día 8 $\geq 120\mu\text{m}$) el cual fue caracterizado por un bajo pero progresivo consumo de fitoplancton con valores desde 600 hasta 4,000 células d^{-1} larva $^{-1}$. Este periodo representa el comienzo de la vida larvaria donde el metabolismo de la larva es parcialmente sustentado por las reservas endógenas desde el ovocito. El segundo periodo está relacionado desde la larva umbonada hasta la larva competente. Durante este periodo la velocidad de filtración incrementa considerablemente pasando desde 6,000 hasta 25,000 células d^{-1} larva $^{-1}$ entre el día 10 y 15, con 80,000 hasta 90,000 células d^{-1} larva $^{-1}$ al día 21, mientras la larva crece activamente hasta ≈ 15 vs $8 \mu\text{m} \text{d}^{-1}$ alcanzando entre 250-280 μm . Un tercer

periodo fue descrito hasta la larva $\geq 320 \mu\text{m}$ durante el cual la ingestión disminuye levemente. Este tamaño es conocido para ser crítico para las larvas de ostiones debido a que estas son normalmente competentes para la metamorfosis o listas para fijarse (Gerdes, 1983; Helm y Bourne, 2004). De hecho durante la metamorfosis el velo se degenera mientras que las branquias no son todavía funcionales y la capacidad de filtración es reducida (Baker y Mann, 1994). Finalmente un cuarto periodo fue detectado desde las 24 h a las 48 h post-fijación correspondiendo a la reanudación del consumo de alimento.

Las dietas del cultivo larvario generalmente contienen una mezcla de algas. Una combinación de dos o más especies de alto valor nutritivo que incluya un flagelado y una diatomea de tamaño adecuado propicia mejores velocidades de crecimiento y desarrollo larvario que las dietas de una sola especie (Rico-Villa *et al.*, 2006; Ben-Kheder *et al.*, 2010). También mejoran los rendimientos en semilla e inciden en el comportamiento posterior de la semilla en cuanto a su crecimiento y supervivencia. Las especies de alto valor nutritivo suelen contener proporciones relativamente altas de 20:5n-3 (EPA-ácido eicosapentaenoico) y 22:6n-3 (DHA-ácido docosahexaenoico) (Caers *et al.*, 1999; Nevejan *et al.*, 2003; Rico-Villa *et al.*, 2006). Aunque el clon T-Iso de *Isochrysis* contiene sólo entre un 50 y 70% de DHA en comparación con *Isochrysis galbana*, suele cultivarse en más criaderos que sus parientes próximos porque es más fácil de cultivar durante todo el año y es tolerante a temperaturas más altas (Ewart y Pruder, 1981; Napolitano *et al.*, 1990). Además han sido determinados otros tipos de componentes esenciales como las vitaminas B12 y ácido fólico, en las especies de microalgas comúnmente utilizadas en los criaderos (De Roeck-Holtzhauer *et al.*, 1991; Segueineau *et al.*, 1996; Brown *et al.*, 1999).

Además de la alimentación otro factor a cuidar es la calidad del agua de mar. Es bien sabido que el agua de mar sufre variaciones estacionales en cuanto a su capacidad para ayudar al crecimiento y supervivencia de embriones y larvas. La calidad inestable del agua de mar suele coincidir con una intensa producción de

fitoplancton en las aguas costeras durante las proliferaciones de primavera. Se cree que los responsables del deterioro de la calidad del agua son las bacterias asociadas a las proliferaciones o los metabolitos, incluyendo las exotoxinas que producen (Utting y Helm, 1985).

2.2.2.3 Metamorfosis

Al llegar a la larva pediveliger existen varias estrategias para facilitar y potenciar la fijación. Se utilizan sustratos convenientes (material de fijación) y estímulos físicos y químicos, que ayudan a iniciar estos procesos. El método físico más común que se emplea es el choque térmico, enfriando las larvas competentes y poniéndolas luego en agua templada en los tanques de fijación. Los resultados son variables pero existen indicios de mejora del éxito de la metamorfosis al emplear este método (Breese y Malouf, 1975; Bourne *et al.*, 1989). Otro método habitual para estimular e incrementar el éxito de la metamorfosis es el empleo de productos químicos como los llamados neurotransmisores que incluye la L-DOPA (L-3-4-dihidroxifenilalanina), la epinefrina y la norepinefrina (Coon *et al.*, 1990). Los neurotransmisores permiten alcanzar la metamorfosis a algunas larvas que de otro modo no lo hubieran conseguido, pero es probable que aún no cuenten con las reservas suficientes para seguir creciendo hasta la etapa de juveniles. La proporción de larvas que llegan a sobrepasar con éxito la metamorfosis está relacionada con las condiciones de cultivo, entre ellas la dieta y ración, la temperatura, salinidad y factores como la calidad del agua y las enfermedades (Helm *et al.*, 2006). Dichas proporciones han sido estimadas por varios autores y existe gran variabilidad aún en las mismas condiciones de cultivo, reportándose valores de mortalidad entre 23 y 77% (Haws, 1993) a los dos días post-fijación o entre 20 y 50% a los cinco días post-fijación (García-Esquivel *et al.*, 2001; Ben Kheder *et al.*, 2010).

Uno de los parámetros zootécnicos que puede predecir altas sobrevivencias en esta etapa crítica de la larva y que ha sido poco señalado es el crecimiento en la metamorfosis: el patrón de crecimiento post-metamórfico temprano, con rápida

formación de concha, observado en almejas y ostiones (Holland y Spencer, 1973) es probablemente una medida básica predictiva común para todos los bivalvos (Whyte *et al.*, 1992). Lo anterior fue evidenciado por García-Esquivel *et al.* (2001), con una relación entre el rápido crecimiento durante la metamorfosis y la sobrevivencia acumulada hasta la primera semana post fijación. En ese estudio el desarrollo normal del ostión durante la metamorfosis fue caracterizado por el crecimiento continuo de la concha: los mejores lotes con respecto a mortalidad acumulada < 20% tuvieron una velocidad de crecimiento de $\approx 80 \mu\text{m d}^{-1}$ entre el día 0-2 post-fijación mientras que los peores lotes (mortalidad acumulada $\approx 50\%$) tuvieron una velocidad de crecimiento < $25 \mu\text{m d}^{-1}$ en el mismo periodo. Por otro lado, en *Pecten maximus* se mostró que la más rápida fijación y metamorfosis también estuvo relacionada a más altas velocidades de crecimiento postlarval al día 41 post-fijación (Gagné *et al.*, 2010). El crecimiento larvario es el parámetro que más ha sido estudiado en la literatura debido a que generalmente representa un indicador de que las condiciones del cultivo son favorables, correlacionando a los mayores porcentajes de larva pediveliger o competente (Nevejan *et al.*, 2003; Aranda-Burgos *et al.*, 2014; Costa *et al.*, 2015a) y éxito de metamorfosis más alto (Rico-Villa *et al.*, 2006).

Por otro lado, la supervivencia de las larvas a partir de la fase D hasta la metamorfosis depende mucho de los protocolos de cultivo y el grado de eliminación de las larvas de crecimiento más lento durante el proceso de cría. Gran parte de las pérdidas de larvas durante el periodo de cultivo se asocian al descarte y eliminación de los individuos de crecimiento más lento que a la muerte de las larvas (Helm *et al.*, 2006). Esta práctica se ha realizado de manera rutinaria desde hace décadas. Parece ser que los primeros que reportaron el rendimiento de fijación de larvas de alto y bajo crecimiento fueron Loosanof y Davis (1963) quienes compararon varias especies de bivalvos: vieron que aun cuando las larvas fueron originarias de un mismo desove y a veces de los mismos padres, cultivadas bajo las mismas condiciones (en un solo tanque), los individuos crecieron con

tasas muy variables, y por lo tanto, llegaron a la metamorfosis en diferentes tiempos y las larvas que crecieron más lentamente presentaron un bajo éxito de fijación. Sin embargo, en otros trabajos se ha observado que aquellas larvas que crecen más lento son igual de competentes en la metamorfosis y resultan proveer semilla de calidad similar a las larvas creciendo más rápido (Laing *et al.*, 1998). Si bien las larvas que llegan más rápido al estadio pediveliger por presentar una velocidad de crecimiento más alta tienen significativamente mayor cantidad de peso seco y materia orgánica, no se observa diferencia para la cantidad de lípidos comparado con larvas que crecieron más lento en el mismo cultivo (Laing *et al.*, 1998). En contraste, larvas *Crassadoma gigantea* (nombre común en inglés: giant rock scallop) de alto crecimiento (día 22) presentaron niveles de lípidos y proteínas mayores (7.5 y 17.8 mg g⁻¹ respectivamente) comparadas con las de lento crecimiento (día 29): 4.5 y 17.1 mg g⁻¹, respectivamente (Whyte *et al.*, 1992). Con esos resultados ellos concluyeron que las larvas del alto crecimiento tienen mejor condición o mayor competencia energética para la metamorfosis que las del bajo crecimiento, pero no evaluaron el desempeño postlarval individual de estos dos grupos.

2.2.2.4 Pre-engorda y engorda

Los semilleros o sistemas de pre-engorda sirven como punto de contacto entre los criaderos y la fase de engorde. El propósito de estos sistemas es cultivar rápidamente semilla pequeña de bajo costo hasta que alcanza una talla apta para la transferencia a los sistemas de engorda. Los índices de supervivencia en los ostiones después de la fijación son normalmente elevados, llegando a alcanzar 2 mm de longitud de concha el 50 o 70% de las que se fijan (Helm *et al.*, 2006).

La velocidad de crecimiento de la semilla se ve enormemente afectada por la calidad del alimento suministrado en lo que se refiere al valor nutritivo de las especies que componen la dieta, la ración alimenticia suministrada y la temperatura del agua. Hay que tener en cuenta otros factores, como la salinidad y la genética, pero sus efectos son relativamente menores (Helm *et al.*, 2006).

Los alimentos apropiados para semilla pequeña en condiciones muy controladas en criadero son los mismos que se utilizan en el cultivo larvario. Las dietas para semilla más grande suelen estar compuestas de especies más resistentes como *Tetraselmis sp.* y de diatomeas *Chaetoceros muelleri*, *Thalassiosira weissflogii* y *Skeletonema costatum* (Helm *et al.*, 2006). El DHA no parece ser tan importante en el desarrollo de la semilla como durante el desarrollo larvario (Whyte *et al.*, 1992); por consiguiente, *Isochrysis galbana* y las especies con un perfil similar de DHA, aunque útiles como componente menor de la dieta, no son tan esenciales.

La semilla de ostiones crece hasta una talla de semilla comerciable con mayor rapidez que la semilla de diferentes pectínidos comerciales. Al final de un periodo de 3 semanas a partir de la fijación, la semilla de ostión japonés crece hasta una longitud media de concha de aproximadamente 3.4 mm (Helm *et al.*, 2006).

En la fase de cultivo de engorda la mortalidad está asociada a la calidad de la semilla, a las condiciones del medio en que se cultiva, a la tecnología utilizada y al manejo propiamente dicho de los organismos por parte del acuicultor. Las causas directas de mortalidad a partir de la siembra pueden ser el estrés y “shock” térmico, debido a la introducción de la semilla sin previa aclimatación y un manejo inadecuado de la misma (Galtsoff, 1964). La temperatura incide sobre el metabolismo en general y ello se refleja en la tasa de filtración y ritmo de alimentación, ritmo de crecimiento, desarrollo gonádico y desove de los adultos reproductores. De la experiencia de los acuicultores sudcalifornianos con *C. gigas*, se sabe que esta especie presenta un desarrollo óptimo a temperaturas de 20 a 25°C, pero soporta temperaturas de 10 a 30°C, aunque con algunos problemas fisiológicos que pueden causar mortalidad, principalmente por el incremento de la temperatura por arriba de los 31°C (Vázquez-Arriaga, 1988). Posteriormente, la semilla puede morir por depredación, bajas concentraciones de oxígeno disuelto, excesiva turbidez, altas temperaturas en el agua y, en general, si se presentan condiciones ambientales extremas. Un indicador más cercano a la realidad de los proyectos comerciales, que incluyen un componente de experimentación

tecnológica, es una mortalidad acumulada del 30 al 40% en función de la talla y calidad de la semilla (Programa Maestro del Sistema de Producción Ostión B.C.S, 2011).

La talla comercial del ostión japonés es de 80 a 120 mm. En Baja California Sur los organismos pueden alcanzar esta talla a los siete meses a partir de semilla de 3 a 5 mm. Sin embargo, el periodo de cultivo considerado para un proyecto productivo es generalmente de nueve meses, con objeto de dar oportunidad a que todos los organismos de la población cultivada puedan alcanzar una talla óptima de cosecha, debido a una bien conocida dispersión de tallas e incluso “enanismo” (Programa Maestro del Sistema de Producción de Ostión B.C.S, 2011). La proporción de enanismo se relaciona directamente con el historial genético de los reproductores y el control de calidad aplicado en el laboratorio productor (Chávez-Villalba, 2014). El principal factor a cuidar, para lograr un oportuno crecimiento y, en consecuencia, la talla óptima de los organismos en el tiempo previsto, es la calidad y homogeneidad de la semilla, así como su adecuado mantenimiento y manejo de densidades de cultivo en sus diferentes etapas (Helm *et al.*, 2006).

2.3 CALIDAD LARVARIA

El concepto de “calidad larvaria” es muy común entre los acuicultores y representa un punto crítico dentro de la producción debido a que de ello depende que los organismos tengan un buen desempeño en producción en términos de crecimiento y supervivencia. La calidad larvaria se ha referido a la condición fisiológica y a la capacidad de la larva para crecer y sobrevivir bajo varias condiciones ambientales durante su ciclo de vida (Racotta *et al.*, 2003). Una de las categorías en las que se dividen a los criterios de calidad es por su naturaleza, pudiendo ser de tipo bioquímico, fisiológico, morfológico, comportamentales y productivos. La composición bioquímica refleja la condición fisiológica (Lucas *et al.*, 1986) y, como consecuencia, las condiciones ambientales durante la vida pelágica.

La evaluación de la calidad larvaria representa cierta problemática logística en la cual hay que balancear cuáles son los criterios más adecuados a evaluar y sobre todo la certeza del poder predictivo de estos criterios. En este sentido, se puede dividir la aplicación de los criterios de calidad larvaria en (Cannuel y Beninger, 2005):

- 1) Evaluación de la condición final de larvas como respuesta a determinada dieta, condición de cultivo, etc., considerados como criterios validadores.
- 2) Capacidad de predicción del desempeño posterior, o criterios predictores.

En el primer caso, es mucho más común la aplicación de diferentes criterios para distintas especies en cultivo, mientras que en términos de indicadores predictivos, hay menos información y la certidumbre es en términos probabilísticos (Racotta *et al.*, 2004).

La utilidad práctica de los criterios con capacidad predictiva es innegable: estos pueden revelar posibles perturbaciones antes de que sean mostradas por un detenimiento en el crecimiento y/o la muerte de los individuos (Ben-Kheder *et al.*,

2010). Aquellas características que se relacionan a buenos desempeños larvarios pueden ser usadas como indicadoras de calidad. Esta definición funcional de calidad requiere el vínculo de características a los indicadores finales de rendimiento del cultivo.

2.3.1 Calidad reproductiva

En la producción comercial de criaderos de ostión Japonés, es necesario un gran número de larvas fijadoras para alcanzar los requerimientos de producción. No es inusual para un criadero de grande escala en un periodo de producción fijar 3 billones de larvas y desovar tantos como 10 a 15 billones de huevos para alcanzar esta demanda (Lipovsky, 1984). Así, se vuelve de extrema importancia predecir con algún grado el éxito de un desove de reproductores hasta etapas de desarrollo avanzadas de la larva. De esta manera, el rol de los criaderos ha venido aumentando con énfasis en la optimización de la calidad reproductiva o de los gametos (Massapina *et al.*, 1999; Caers *et al.*, 2002; Boulais *et al.*, 2015). Aunque se reconoce de manera extensiva que las reservas del ovocito en larvas planctotróficas como *C. gigas* tienen influencia hasta la primera semana de su desarrollo (Ben-Kheder *et al.*, 2010), se han encontrado características de los reproductores o del ovocito que pueden relacionarse con el desempeño postlarval (Tabla III). Por otro lado, el efecto de la condición de los reproductores en el desempeño de la larva hasta etapas avanzadas de su desarrollo no ha sido claramente fundamentado. Bayne (1972) menciona que la condición de los reproductores tiene un efecto medible durante los periodos de máxima actividad morfogénica de la larva (como la embriogénesis y la metamorfosis) y un mínimo efecto durante la principal fase de crecimiento de la larva. Por otro lado, Lipovsky (1984) observó en producción comercial de *C. gigas* que el porcentaje de larva D no fue un factor determinante para predecir el éxito de metamorfosis. Los desoves que presentaron porcentajes de larvas D entre 20-30% fueron tan viables como las larvas que obtuvieron el 100%. Esto podría sugerir que el predictor en la larva temprana (% larva D) no parece ser el adecuado para una característica que a su

vez representa un criterio validador (% metamorfosis) o que las reservas almacenadas hasta la larva pediveliger influyeron más grandemente que las reservas del ovocito en la fijación/metamorfosis.

Tabla III. Calidad reproductiva de algunas especies de larvas.

Especie	Criterio predictivo	Criterio validador	Referencia
<i>O. chilensis</i>	Diámetro de ovocito Proteína y carbohidratos en ovocito	Velocidad de crecimiento postlarval	Wilson <i>et al.</i> (1996)
<i>C. gigas</i>	Índice de condición Materia orgánica, lípidos y proteínas de ovocito	-Velocidad normal de formación de veliger	Massapina <i>et al.</i> (1999)
<i>N. nodosus</i>	% Larva D	%Larva competente % Metamorfosis	Sühnel <i>et al.</i> (2012)
<i>P. sterna</i>	Índice gonadosomático Diámetro de ovocito Frecuencia de ovocitos en gónada %ácidos grasos saturados en gónada	Número de larvas pediveligers juveniles y	Gómez-Robles <i>et al.</i> (2013)

Respecto a criterios validadores de rango corto que dependen de un posible criterio predictivo relacionado con la condición de ovocitos, el más común evaluado es el ya mencionado porcentaje de larvas D. La sobrevivencia en esta etapa ha sido correlacionada con el contenido total de lípidos de ovocitos en ostión del Pacífico (Massapina *et al.*, 1999) y de la almeja (*Pecten maximus*) (Dorange *et al.*, 1989). Sin embargo, Boulais *et al.* (2015) no encontraron correlaciones positivas entre estas variables en *C. gigas*.

La calidad de los huevos, en cuanto a su composición bioquímica desde el punto de vista cualitativo también tiene relación con el rendimiento posterior de las larvas. Los estudios sobre este tema se han centrado grandemente en el papel de los ácidos grasos altamente insaturados (HUFA, por sus siglas en inglés), transferidos por la hembra durante la ovogénesis o movilizados directamente en la dieta durante el periodo de maduración del huevo antes del desove. Altos niveles

de DHA han sido asociados con una mejor velocidad de formación de larvas D en *P. maximus* (Soudant *et al.*, 1996). Respecto al EPA se ha descrito su importancia como combustible en la embriogénesis dada su disminución drástica en el ovocito (Whyte *et al.*, 1990), sin embargo su relación con parámetros productivos ha sido poco determinada.

La calidad larvaria en términos de criterios productivos y bioquímicos ha demostrado que es dependiente del estado de los reproductores en términos de índices relacionados al desarrollo de la gónada y composición bioquímica de organismos reproductores colectados en el medio natural durante la temporada reproductiva (Massapina *et al.*, 1999) así como de aquellos que son madurados artificialmente en laboratorio (Cannuel y Beninger, 2005). Esto debido a que las diferentes condiciones durante la maduración (alimentación, temperatura, fotoperiodo) afectan la composición bioquímica de los gametos cual representa las reservas energéticas para que se lleve a cabo el desarrollo larvario temprano en donde todavía no es eficiente el consumo de alimento exógeno.

En *C. gigas* la viabilidad de gametos en el desarrollo temprano y a nivel de postlarva ha sido evaluada en reproductores sometidos a diferentes dietas e inanición durante el proceso de acondicionamiento (Caers *et al.*, 2002; Cannuel y Beninger, 2005). En algunos casos no se encontraron diferencias notables en el rendimiento larvario dependiendo de los tratamientos, muy probablemente a que los reproductores fueron obtenidos del medio natural en primavera cuando los organismos ya contaban con reservas para la gametogénesis, lo que coincide con la estrategia conservadora de utilización de reservas de esta especie. Por otro lado, en *Nodipecten subnodosus* el acondicionamiento bajo diferentes dietas dadas a reproductores con cierto grado de desarrollo gonádico afectó de manera significativa el desarrollo de las larvas (Sühnel *et al.*, 2012). En *C. corteziensis* ciertos componentes esenciales como el 20:4n-6 (ARA) son tomados directamente de la dieta durante el proceso de maduración en dicha especie (Hurtado *et al.*, 2009).

En general, la calidad de los desoves de reproductores madurados en el medio natural es superior a la de aquellos organismos madurados en el laboratorio en *Mytilus edulis* (Bayne, 1972) y *Ostrea chilensis* (Wilson *et al.*, 1996) desde la comparación de la maduración en ambas condiciones. En caso de *C. gigas* los animales que maduraron en la naturaleza tuvieron más tejido de gónada y lípidos justo antes del desove más que los que fueron acondicionados artificialmente (Soudant *et al.*, 1999). Además, la proporción de MUFA (ácidos grasos monoinsaturados por sus siglas en inglés) fue más alta en los ostiones acondicionados artificialmente probablemente como un resultado de las diferencias entre la composición de las dietas en la naturaleza y en el criadero. A su vez la calidad larvaria de desoves de reproductores del medio natural también es variable en relación a la temporada reproductiva. En *C. gigas* se observó variabilidad en la calidad de ovocitos a través de una temporada reproductiva larga (abril-septiembre), con una velocidad mayor de formación de veliger al inicio de la temporada cuando el índice de condición también fue el más alto (Massapina *et al.*, 1999). Sin embargo, la calidad de los embriones de *Crepidula fornicata* (nombre común en inglés: slipper limpet) fue mejor en la mitad de la temporada reproductiva (mayo y julio) en términos de mayor acumulación de ácidos grasos polinsaturados (n-3) en los embriones de esas épocas. Por último, el mejor rendimiento en larvas pediveligers de *P. sterna* coincidió con el mayor índice de condición y tamaño de ovocito en la mitad de la temporada reproductiva (abril) (Gómez-Robles *et al.*, 2014).

2.3.2 Calidad larvaria y postlarvaria

El crecimiento larvario es el parámetro que más ha sido estudiado en la literatura debido a que generalmente representa un indicador de que las condiciones del cultivo son favorables, correlacionando a los mayores porcentajes de larva pediveliger o competente (Nevejan *et al.*, 2003; Aranda-Burgos *et al.*, 2014; Costa *et al.*, 2015) y al éxito de metamorfosis más alto (Rico-Villa *et al.*, 2006). En el crecimiento de larvas de bivalvos es innegable el rol de las reservas energéticas

para alcanzar las más altas velocidades. El tipo de criterios más utilizados para este parámetro es de evaluación final donde se analiza el crecimiento larvario con respecto a una determinada dieta o condición del cultivo (temperatura, salinidad, etc.).

Debido a que los lípidos son los componentes energéticos más importantes para el crecimiento, se ha puesto énfasis en la evaluación de los triacilglicéridos y ácidos grasos incorporados a la larva desde diferentes dietas. Dentro de los índices propuestos, la proporción triacilglicéridos/esteroles (TAG/ST) ha sido clasificado como un índice que explica una condición nutricional más que una condición fisiológica (Ben-Kheder *et al.*, 2010; Fiz da Costa *et al.*, 2015a).

Respecto a los ácidos grasos, las proporciones de algunos saturados como el 14:0 y 16:0 han sido relacionados positivamente con el crecimiento, mientras que un incremento en las cantidades de 20:5n-3 fue asociado con una reducción en las velocidades de crecimiento larvario de *C. gigas* (Thompson *et al.*, 1992). En la misma especie, Fiz da Costa *et al.* (2015a) encontraron que las proporciones del 20:1n-7 y 22:2j (NMI) de lípidos polares se correlacionaron positivamente al crecimiento, mientras que el 18:1n-9 en lípidos neutros y polares se correlacionó de manera negativa a este parámetro. En *Ostrea edulis*, el 16:0, 18:1n-9, 18:3n-3, 18:4n-3 y 22:6n-3 (DHA) en el total de ácidos grasos fueron correlacionados positivamente con el crecimiento (Jonsson *et al.*, 1999). Por último, altas proporciones del 20:4n-6 (ARA) han favorecido altas tasas de crecimiento en *R. decussatus* (Aranda-Burgos *et al.*, 2014).

Los parámetros para describir la metamorfosis de *C. gigas* han sido de tipo predictivos de rango corto desde la composición de reservas energéticas y componentes estructurales de la larva pediveliger hasta postlarva en los primeros días post-fijación. García-Esquivel *et al.* (2001) relacionaron las tasas de consumo de proteína con los porcentajes de sobrevivencia en esta etapa. Haws (1993) obtuvieron una correlación positiva del contenido de carbohidratos en larva

pediveliger con el mismo parámetro. Los estudios sugieren que los lípidos son mucho más importantes como fuente de energía durante la metamorfosis en *Ostrea edulis* que en las especies ovíparas como *C. gigas* (Helm *et al.* 2006).

En relación a ácidos grasos, no se han definido aún cuales son los componentes críticos para *C. gigas* en la metamorfosis (Rico-Villa *et al.*, 2006), sugiriendo que los ácidos grasos esenciales como el EPA juegan un rol más importante en otras etapas como la embriogénesis (Whyte *et al.*, 1990; Helm *et al.*, 1991). Por otro lado, las proporciones del 20:4n-6 (ARA) se han relacionado con altas tasas de sobrevivencia en especies como *P. magellanicus* (Pernet *et al.*, 2005) y *P. maximus* (Gagné *et al.*, 2010). Finalmente, el DHA no parece ser tan importante en el desarrollo de la semilla como durante el desarrollo larvario de bivalvos (Helm *et al.*, 2006).

3. JUSTIFICACIÓN

El cultivo de ostión japonés en el noroeste mexicano es una actividad que pretende incrementarse en los próximos años, dado que actualmente no cubre la demanda del producto para su exportación: El punto más crítico para la expansión de la actividad ostrícola representa la producción de semilla por un lado, ya que aún se depende de manera importante de la importación de esta semilla producida por laboratorios en Chile y EUA. Por otro lado, es necesario establecer una buena calidad de semilla, desarrollando en el proceso indicadores predictivos para seleccionar los organismos de mejor desempeño que permita optimizar los costos de producción. Sin embargo, no existe una aplicación directa de este conocimiento a nivel comercial. El presente estudio se aboca a la implementación, evaluación, validación y escalamiento a nivel comercial de los criterios más adecuados para incrementar el rendimiento en la producción de semilla de ostión. Los criterios potenciales propuestos aquí van desde el nivel bioquímico hasta el productivo y se aplicarán en diferentes estadios biológicos con el fin de asegurar la selección de organismos más aptos en cada fase del proceso de producción de semilla, lo cual se traducirá en optimizar la relación costo-beneficio en cada una de estas fases en cultivo.

4. OBJETIVO GENERAL

Implementar, evaluar, validar y escalar a nivel comercial un índice de calidad larvaria y de semilla de ostión japonés (*Crassostrea gigas*), basado en criterios productivos y bioquímicos que tengan un carácter predictivo del desempeño en fases posteriores del cultivo y que representen una estrategia de retroalimentación para posibles mejoras en los procesos de producción en fases anteriores.

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

I.- Comparar la calidad larvaria temprana en relación al estado de los reproductores obtenidos a lo largo de la temporada reproductiva.

II.- Comparar la calidad de semilla entre lotes de larvas que son normalmente descartadas por bajo crecimiento en los procesos de cultivo larvario contra las larvas de óptimo crecimiento.

III.- Determinar índices de calidad reproductiva y larvaria con enfoque predictivo hasta etapas tardías del desarrollo.

5. HIPOTESIS

1.- Las reservas que son almacenadas en los ovocitos dependen del ciclo reproductivo de los ostiones en campo, lo cual a su vez determinará la viabilidad en cuanto a composición bioquímica y crecimiento larvario inicial.

2.- Se ha considerado que la velocidad de crecimiento larvaria es un parámetro de calidad, entonces las larvas que crecen más rápido dentro de un cultivo tendrán mejor condición fisiológica para afrontar la metamorfosis y se obtendrán mayores porcentajes de éxito de metamorfosis que las larvas que crecieron más lento.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 OBTENCIÓN DE REPRODUCTORES DEL CAMPO

Los reproductores de *C. gigas* se obtuvieron de la zona de cultivo de ostión de la empresa “Sol Azul” S.A. de C.V. ubicada en el estero “El Cardón” en La Laguna de San Ignacio, Municipio de Mulegé, en tres épocas: mayo, junio y agosto (inicio, pleno y casi final de la temporada reproductiva, respectivamente) en el año 2014. Por cada época, se colectaron aproximadamente 60 ostiones los cuales fueron transportados en hieleras hasta el criadero de la empresa “Marimex del Pacífico S.A de C.V” ubicado en las instalaciones del Parque Biohelis del CIBNOR. De estos, 30 organismos se destinaron a histología para caracterizar los ciclos reproductivos (ver abajo), y el resto para la producción de larvas. La comparación entre épocas reproductivas de variables hasta larvas de 10 días constituye el objetivo I, asumiendo que el estado de reproductores (e.g. estadio de madurez y reservas acumuladas) afectan principalmente los primeros estadios.

6.2 CULTIVO LARVARIO

En cada época se hicieron tres desoves individuales rasgando las gónadas de hembras y machos (aprox. 5 hembras y 3 machos/desove) hasta obtener una relación 1:10 ovocitos/espermatozoides y aproximadamente 300 millones de gametos fertilizados. Después de 24 horas post-fertilización se obtuvieron las larvas D. A partir de este punto inició la rutina del cultivo larvario partiendo de 7.5 millones de individuos dentro de tanques de 1500 L (densidad larvaria inicial de 5 individuos mL⁻¹). Dicha rutina consistió en el monitoreo de temperatura, verificación de crecimiento (tamizaje) y recambio de agua cada tercer día. Las larvas fueron alimentadas diariamente, iniciando en el estadio de larva D (20 a

25,000 células mL⁻¹ usando 100% de *Isochrysis galbana* clon *T-iso*) y posteriormente cuando la larva creció (día 4) se añadió *Chaetoceros calcitrans* a una proporción de 20% y 40% al día 9 (40,000 células mL⁻¹), hasta terminar con una relación 50:50 *T-iso*:*C. calcitrans* a una concentración total de 50 a 60,000 células mL⁻¹ al final del cultivo. Con el fin de ajustar densidades para obtener valores óptimos de crecimiento y no inducir mortalidades por estrés de densidad, se eliminaron larvas del cultivo en algunos tanques hasta llegar a 1-2 individuos mL⁻¹ al final del cultivo. Por lo anterior, no se pudieron obtener los porcentajes de sobrevivencia larvaria a lo largo del cultivo.

Cuando una cantidad considerable de larvas presentó una talla mayor a 230 µm (calculado por retención en tamiz con ese tamaño de malla), se inició la cosecha de larva pediveliger cada tercer día conteniendo aprox. de 1 a 2 millones de individuos al inicio y 0.5 millones al final. Dado que el crecimiento fue diferencial dependiendo de la época reproductiva (ver resultados), el inicio y la duración de las cosechas dependieron de la época. Para la fijación de estas larvas se formaron grupos de dos cosechas respecto a cómo se fueron obteniendo del cultivo debido a las diferentes velocidades de crecimiento: el primer grupo obtenido representó el alto crecimiento y el grupo que se formó al final el bajo crecimiento.

Las larvas se guardaron en papel filtro a temperatura de refrigeración causando un estímulo físico por choque térmico para inducir la fijación y metamorfosis (Helm *et al.*, 2006). La fijación se llevó a cabo en bandejas de flujo continuo. Las postlarvas fueron colectadas cada tercer día en tamiz de malla 315 µm, obteniendo los volúmenes de biomasa por cada cosecha. El éxito de metamorfosis se obtuvo desde la proporción de larvas que fueron puestas a fijar y el total de postlarva que fue colectada entre los días 2, 4 y 6 post-fijación (Fig. 8). La comparación en el desempeño de los grupos de alto y bajo crecimiento constituye el objetivo 2. Dado que la separación entre grupos de crecimiento se hizo en las tres épocas, adicionalmente se siguió la comparación entre éstas y su interacción con el factor grupo de crecimiento como parte de este objetivo.

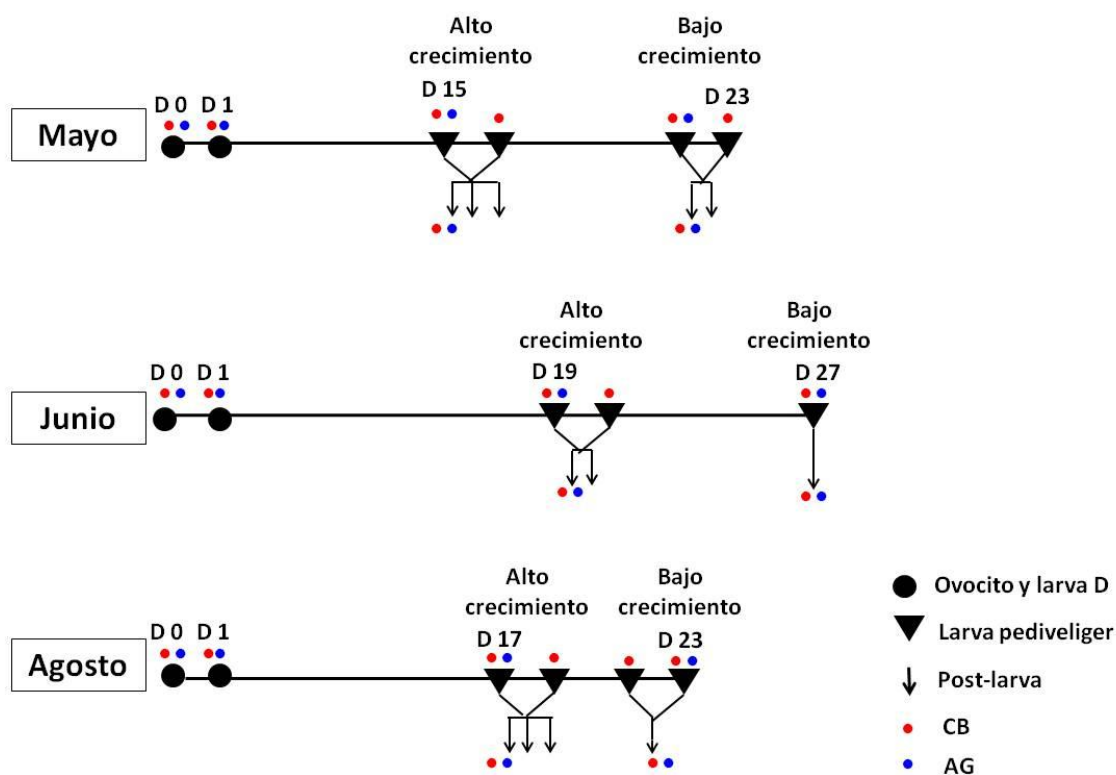


Figura 8. Diagrama temporal de cultivo larvario, señalando los muestreos de larva para análisis de composición bioquímica de larvas. Una, dos o tres flechas para la obtención de postlarva indican que ésta fue obtenida a los días 2, 2 y 4 o 2, 4 y 6 días post-fijación, respectivamente. CB y AG = análisis de composición bioquímica y de ácidos grasos, respectivamente.

Los grupos de alto y bajo crecimiento de postlarva una vez colectados de las bandejas de fijación fueron mezclados en cada época y llevados a los sistemas de pre-engorda en el criadero. Para obtener un monitoreo periódico del crecimiento y controlar densidades, se tamizó la semilla cada 15 días hasta que se obtuvo una talla $>2400 \mu\text{m}$, aproximadamente 2 meses después de iniciada esta etapa. Posteriormente, la semilla se envió al sitio de cultivo de la empresa “Sol Azul S.A de C.V” en “El Cardón”, Laguna de San Ignacio, Mulegé para monitoreo de crecimiento y sobrevivencia en cultivo. Desafortunadamente, el huracán que se

presentó en septiembre de 2014 (Odile) causó la mortalidad de los ostiones de Mayo y Junio.

6.3. PARÁMETROS REPRODUCTIVOS

6.3.1 Determinación de estadios reproductivos

Para el análisis histológico se hizo un corte transversal de la sección media del ostión (Fig. 9), la cual fue colocada en un “casette” para la fijación del tejido en solución de Davison (Shaw y Batle, 1957). Posteriormente, los tejidos fueron teñidos con hematoxilina-eosina (Humanson, 1979). La muestra de gónada para análisis bioquímico (proteína, lípidos, carbohidratos y triacilglicéridos) se tomó de un corte en la parte anterior del ostión la cual fue almacenada a -80°C hasta su análisis.



Figura 9. Tejido blando de *C. gigas* ilustrando los cortes transversales tomados para 1) análisis histológico (sección media) y 2) análisis de composición bioquímica (sección anterior).

Para analizar el proceso reproductivo los cortes histológicos fueron examinados microscópicamente a 40x con un microscopio marca Olympus BX41. Se asignó una fase de desarrollo tomando como base la escala propuesta por Paniagua-Chávez y Acosta-Ruiz (1995) la cual incluye fases de desarrollo, madurez, desove parcial (o inicial), desove y post-desove.

6.3.2 Área de cobertura gonádica (ACG)

El área que ocupa la gónada con respecto a la masa visceral se basó en lo descrito por Rodríguez-Jaramillo (2014). El método fue modificado para seleccionar de manera completa el área de la gónada y la masa visceral desde la imagen escaneada de las laminillas (Fig. 10). Las áreas fueron seleccionadas con el software Image Pro Plus v.7.0 mientras se observaban en estereoscopio (marca Zeiss) a 3x para una mejor selección. Cabe mencionar que se hizo una comparación de los resultados con los del método original y no se obtuvieron diferencias significativas. El ACG se calculó con la siguiente fórmula:

$$ACG = \frac{G}{AT} \times 100 \quad (1)$$

En donde G es el área de la gónada y AT el área tejido total (gónada + masa visceral).

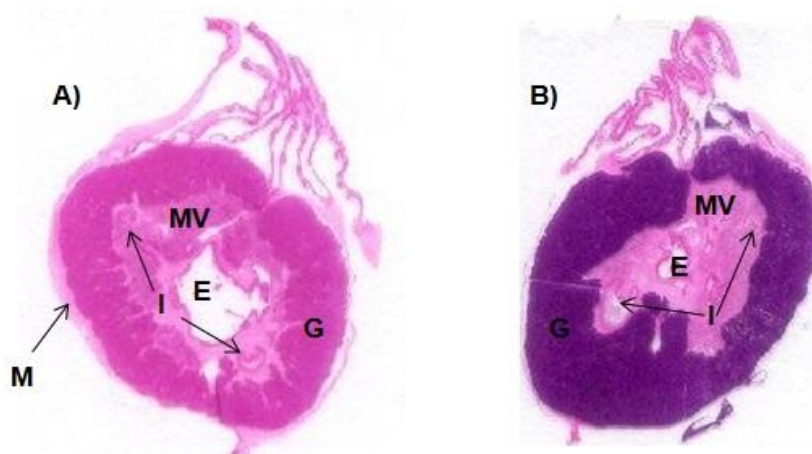


Figura 10. Corte transversal de *C. gigas* de A) hembras y B) machos, en el que se muestra la relación que guarda la gónada con respecto al resto de los tejidos. G= gónada, M= manto, MV= masa visceral (glándula digestiva), I= intestino, E= estómago.

6.3.3 Diámetro de ovocitos

A partir de las muestras obtenidas en formol se tomaron fotografías a 20x con un microscopio electrónico marca Olympus BX-41 y las mediciones fueron hechas con el software Image Pro Plus versión 6.0. En los ovocitos se midió el eje mayor y eje menor los cuales se promediaron para obtener el diámetro medio de un total de 40 ovocitos por réplica de desove en cada época (pool de gametos de varios reproductores).

6.3.4 Viabilidad de ovocitos

El porcentaje de viabilidad se calculó como la relación de los ovocitos considerados post-vitelogénicos por su forma circular y uniforme (Ramírez *et al.*, 1999) en el total (aprox. 60) por réplica de desove en cada época (pool de gametos de varios reproductores). Los ovocitos fueron obtenidos por rasgado de la gónada, tamizados en luz de malla de 60 μm e hidratados (Fig. 11).

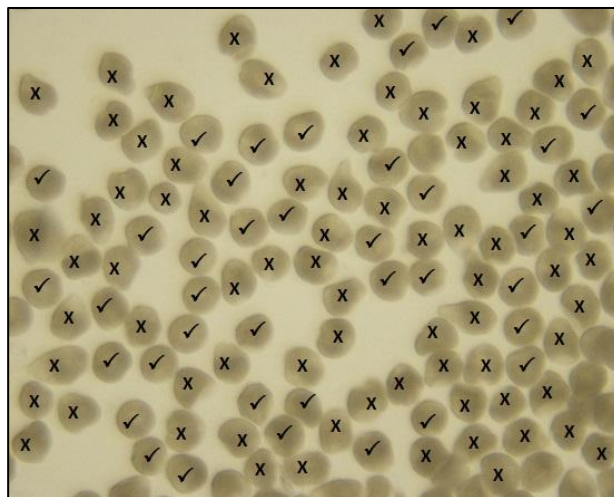


Figura 11. Determinación de la viabilidad de ovocitos. Aquellos considerados viables fueron marcados con ✓ y los no viables con x. Imágenes tomadas a 20x.

6.4 PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS

6.4.1 Rendimiento de larva D

Esta determinación se realizó a las 24 horas post-fertilización contando la proporción de larvas D sobre el total de larvas trocóforas (Bayne, 1972).

6.4.2 Crecimiento larvario

Las muestras para el análisis de crecimiento se tomaron a partir de la larva D (día 1), así como durante el cultivo larvario (día 3, 5, 7, 9, 11, 13, etc.) y en la larva pediveliger y postlarva de alto y bajo crecimiento en cada época. Todas las muestras se guardaron en formol al 10% y se almacenaron a -4°C.

Posteriormente, de las larvas conservadas en formol se tomaron fotografías a 4 y 10x con un microscopio electrónico marca Olympus BX-41 y con el software Image Pro Plus versión 6.0 se midió el largo de concha de 20 larvas por réplica.

Se determinaron tres velocidades de crecimiento: de la larva D al día 9 (VCL 1) y a la primer cosecha de larva pediveliger (VCL Total). Así como también se determinaron las velocidades de crecimiento postlarval (VCPL) por grupo de crecimiento y época considerando la talla de la larva pediveliger y de postlarva al día 2.

$$VCL = (Talla_f - Talla_i) / \text{tiempo (d)} \quad (2)$$

6.4.3 Éxito de metamorfosis

Se obtuvo con la proporción de postlarvas cosechadas respecto a las larvas pediveligers puestas a fijar por grupos de crecimiento y épocas.

$$\% \text{Metamorfosis} = \frac{\text{Postlarvas}}{\text{Pediveligers}} \times 100 \quad (3)$$

6.5 ANÁLISIS BIOQUÍMICOS

Los estadios muestreados para composición bioquímica (peso seco, materia orgánica, proteína, lípidos, carbohidratos, triacilglicéridos y ácidos grasos de lípidos neutros y polares) fueron: ovocito, larva D, larva pediveliger y postlarva. Para este último estadio solo se consideró la toma de muestra obtenida al día 2 post-fijación (cuando se fijó la mayor proporción de individuos), ver detalles en figura 11. Las muestras se obtuvieron directamente del tamiz donde fueron retenidas las larvas, se secaron en papel y se almacenaron en tubos criogénicos a -80°C .

Para poder obtener la determinación de la composición bioquímica por individuo, se obtuvo una submuestra la cual se pesó y se guardó en formol para posterior conteo de larvas en el peso total y extrapolarlo al número de larvas en el peso de la muestra analizada para composición bioquímica.

6.5.1 Determinación de peso seco y materia orgánica

Las muestras de larvas y semillas fueron lavadas con formiato de amonio 0.5 M para retirar las sales. Para la determinación de peso seco las muestras fueron llevadas al horno a una temperatura de 70°C por 24 h y posteriormente a la mufla a 450°C por 14 h para la obtención de materia orgánica (Lora-Vilchis y Doktor, 2001).

Para la obtención de extractos de trabajo de los análisis de proteína, carbohidratos y triacilglicéridos las muestras fueron liofilizadas (-30°C a 100 mTorr durante 6 h) y pulverizadas con ayuda de un homogeneizador (MPI, Fast Prep-24, CA-USA). Posteriormente fueron re-hidratadas (1 mL de agua destilada por 0.1 g de muestra) y homogeneizadas nuevamente.

6.5.2 Proteína total

Se utilizó la técnica del Ácido bicinconínico o BCA basado en Fujimoto *et al.* (1985), empleando una solución reactiva comercial de Sigma (solución de ácido bicinconínico B9643 y solución de sulfato de cobre II C2284).

Se tomó una alícuota de 25 μL del tejido homogeneizado que se puso a digerir en 500 μL de NaOH 0.1N durante 120 minutos; posteriormente se tomaron 25 μL del extracto digerido que se colocaron en una microplaca y que se hicieron reaccionar con 200 μL del reactivo preparado de BCA. Se incubó a 60°C durante 15 minutos y se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro de placas (Termo, Multiskan spectrum, Vantaa-Finlandia) a 562 nm. Para la curva estándar, se usó una solución estándar con una concentración de 2 mg mL^{-1} de albúmina bovina, la cual se diluyó en proporción 1:2 en solución salina hasta tener concentraciones de 2.0, 1.0, 0.5, 0.25, 0.125, .0625 y 0.03125 mg mL^{-1} de proteína y solución salina como blanco.

6.5.3 Carbohidratos totales

Se utilizó el método basado en Roe *et al.* (1961): Se tomaron 50 μL del homogeneizado a los cuales se les añadieron 50 μL de TCA al 20%. Se centrifugó a 3600 rpm, 10 min, a 5°C. Se tomaron 25 μL de sobrenadante y se colocaron en un tubo de vidrio, se le agregaron 250 μL de solución de antrona 0.1% diluida en H_2SO_4 al 72%. Se calentaron a baño maría a 90°C durante 5 minutos y enfriaron en baño de hielo. Lectura de absorbancia en un espectrofotómetro a 620 nm. Para la curva estándar se usó una solución estándar de carbohidratos (5 mg mL^{-1}), de donde se prepararon diluciones en proporción 1:2, en 500 μL de TCA, quedando concentraciones de 5.0, 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125, 0.15625, 0.078125 mg mL^{-1} de carbohidratos.

6.5.4 Triacilglicéridos

Para el análisis de triglicéridos (Koditschek y Umbreit, 1969) se utilizó una prueba enzimática colorimétrica (kit de RANDOX, No. catálogo TR 1697). Los triglicéridos

se determinaron a partir de la hidrólisis enzimática con lipasas. El glicerol liberado es convertido a una quinoimena a partir de la reacción con peróxido de hidrógeno, 4-aminofenazona y 4-clorofenol, bajo la influencia de una peroxidasa. Se colocaron 20 μL del homogeneizado en una microplaca, se le agregaron 200 μL de solución reactiva, se incubaron 10 minutos y se leyó la absorbancia a 540 nm. Para la curva estándar, se usó una solución estándar de triglicéridos con 200 mg dL^{-1} , de ésta se prepararon diluciones en proporción 1:2, en 1 mL de agua desionizada, quedando concentraciones de 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 y 3.125 mg dL^{-1} de triglicéridos. Se utilizó solución diluyente como blanco.

6.5.5 Lípidos totales por gravimetría

Se obtuvo el extracto lipídico basado en el método de Folch (1956). A las muestras (100 mg) se les agregaron 6 mL de solución Folch (cloroformo:metanol, 2:1) y 10 μl de BHT (butilhidroxitolueno en metanol) como antioxidante a una concentración de 0.5 mg mL^{-1} . Posteriormente, se disgregaron usando un homogenizador de vidrio y se sonicaron por 15 minutos en baño frío. Se colocaron tubos de 10 mL en un horno de temperatura controlada a 80°C por 24 horas, hasta alcanzar un peso constante. Se colocaron los tubos en un desecador y se dejaron enfriar 1 h, después se registró el peso de cada uno de los tubos. Se agregaron 2 mL del extracto lipídico de las muestras y se pasó por micro-columnas en pipetas Pasteur rellenas de sílice hidratado al 6%, eluyendo con 10 mL de solución Folch (cloroformo:metanol, 2:1) y evaporando a sequedad con nitrógeno. Se colocaron los tubos nuevamente en el horno a 30°C por 24 h y se pesaron nuevamente los tubos conteniendo ahora el extracto lipídico.

6.5.6 Ácidos grasos de lípidos neutros y polares

Los ácidos grasos se analizaron por el método descrito por Palacios *et al.* (2005). Los lípidos totales fueron extraídos como se mencionó anteriormente con la excepción de que a la muestra se le añadió además 10 μL de colestano y 10 μL de 23:0 como estándares internos. Del extracto lipídico se tomaron 3 mL y se evaporaron a aproximadamente 0.5 mL con nitrógeno gaseoso (N_2),

posteriormente fueron colocados en microcolumnas preparadas con pipetas Pasteur rellenas de fibra de vidrio y sílice hidratado con agua al 6%. Los lípidos estructurales y de reserva fueron separados eluyendo las microcolumnas con 10 mL de cloroformo:metanol (98:2) y 15 mL de metanol, respectivamente. La mitad de las fracciones obtenidas (5 y 7.5 mL de lípidos de reserva y estructurales, respectivamente) de cada muestra fueron evaporadas a sequedad y derivatizadas con trifloruro de boro metanol (BF_3) por 15 minutos a 95°C . La extracción de los metil-ésteres de los ácidos grasos se realizó con hexano y lavados de agua. Los metil-ésteres fueron analizados en un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard (CG 6890-N) equipado con una columna capilar de sílice fundida DB-23 (J & W Scientific, Folsom, CA, E. U. A) (30 m de largo x 0.25 mm de diámetro interno x 0.25 μm de espesor de película) y un detector de ionización de flama (FID) a una temperatura de 280°C , helio como gas acarreador. La rampa de temperatura del horno para la separación de los ácidos grasos fue de $110\text{-}220^\circ\text{C}$ a una tasa de incremento de 3°C min^{-1} . La identificación de los metil-ésteres de los ácidos grasos se realizó comparando los tiempos de retención de una mezcla de ácidos grasos como estándar (47885-U, Supelco, Bellefonte, PA, E. U.A) y para la cuantificación se compararon las áreas de los picos con el del ácido graso 23:0 como estándar interno, usando un macro desarrollado por la Dra. Palacios.

6.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los análisis fueron realizados con el programa Statistica v. 6.0, utilizando un nivel de significancia de 95% ($P < 0.05$). Inicialmente, se verificó la homocedasticidad de varianzas con la prueba Cochran, Hartley, Bartlett. En los casos donde alguna de estas condiciones no se cumplió, los datos fueron transformados a arcosenos y verificados nuevamente; en todos los casos después de la transformación se cumplió con el criterio de homocedasticidad

En el objetivo 1 se realizó un análisis de varianza unifactorial considerando el efecto de la época sobre los parámetros de desempeño evaluados y la composición bioquímica de ovocito y larva D.

En el objetivo 2 se realizó un análisis de varianza bifactorial considerando el efecto de la época y los grupos de crecimiento (alto y bajo) sobre los parámetros de desempeño y composición bioquímica a nivel de larva pediveliger y postlarva.

En ambos objetivos, en los casos donde se presentaron diferencias significativas, se procedió a la comparación de medias individuales o globales con la prueba *a posteriori* de Fisher.

6.6.1 Correlaciones

Para la búsqueda de indicadores predictivos y criterios de evaluación final (objetivo 3), se realizaron análisis de correlaciones entre los parámetros de desempeño y la composición bioquímica de las larvas.

Criterios predictivos:

-Rango amplio: el desempeño y variables morfométricas en etapas tardías de desarrollo (ej. % metamorfosis y tamaño de larva pediveliger) fueron correlacionarlos al desempeño reproductivo y de la larva temprana (ej. % viabilidad de ovocito y % larva D, respectivamente), así como a la composición bioquímica de ovocito y larva D. La velocidad de crecimiento larvario (VCL Total) también fue correlacionada con el desempeño y composición bioquímica de la larva temprana.

-Rango corto: En etapas tempranas, el % larva D y VCL1 se correlacionaron a la composición bioquímica del ovocito. En etapas tardías, la velocidad de crecimiento postlarval (VCPL), % metamorfosis y tamaño de postlarva se correlacionaron a la composición bioquímica de la larva pediveliger con ambos grupos de crecimiento.

Criterios de evaluación final:

Estos criterios se obtuvieron con correlaciones entre variables de desempeño/morfométricas y composición bioquímica evaluadas en el mismo punto (ej. entre el % larva D y la composición bioquímica de la larva D). Un caso especial fue el de la velocidad de crecimiento larvario (VCL Total), la cual fue correlacionada con la composición bioquímica y tamaño de larva pediveliger con los datos del alto y bajo crecimiento por separado.

7. RESULTADOS

7.1 OBJETIVO I: CALIDAD LARVARIA TEMPRANA DE *C. gigas* RESPECTO A LA CONDICION DE REPRODUCTORES.

7.1.1 Estadio reproductivo, área de cobertura gonádica (ACG) y composición bioquímica de gónadas.

Los organismos muestreados presentaron gónadas desde desarrollo hasta post-desove a lo largo de la temporada reproductiva, siendo los estadios de desove inicial y total los más predominantes (Fig. 12). El estadio de desarrollo inicial se presentó en baja proporción y únicamente en junio en hembras (20%) mientras que en machos se presentó tanto en Junio como en agosto (33 y 14%, respectivamente). Hubo poca proporción de organismos en madurez, y únicamente en hembras de junio (10%). En hembras, los desoves iniciales se presentaron en el 60 y 50% de los organismos de mayo y junio, respectivamente, mientras que los organismos en desove total representaron un 30, 20, y 62% en mayo, junio y agosto, respectivamente. En machos, los desoves iniciales se presentaron en el 72 y 66% de los organismos de mayo y junio, respectivamente, mientras que el 27 y 76% de los organismos se encontraban en pleno desove en mayo y agosto, respectivamente. El post-desove estuvo presente en mayo y agosto en el 10 y 37% de las hembras y en machos en un 9% en agosto únicamente.

En relación al índice de cobertura gonádica, se tuvieron diferencias significativas entre mayo y junio con respecto a agosto en hembras, y diferencias entre junio y agosto para machos, con índices mayores al 65% en mayo y junio seguido de una disminución importante en agosto que fue más marcada en hembras que en machos con índices de cobertura gonádica del 26 y 52% en hembras y machos respectivamente (Fig. 13).

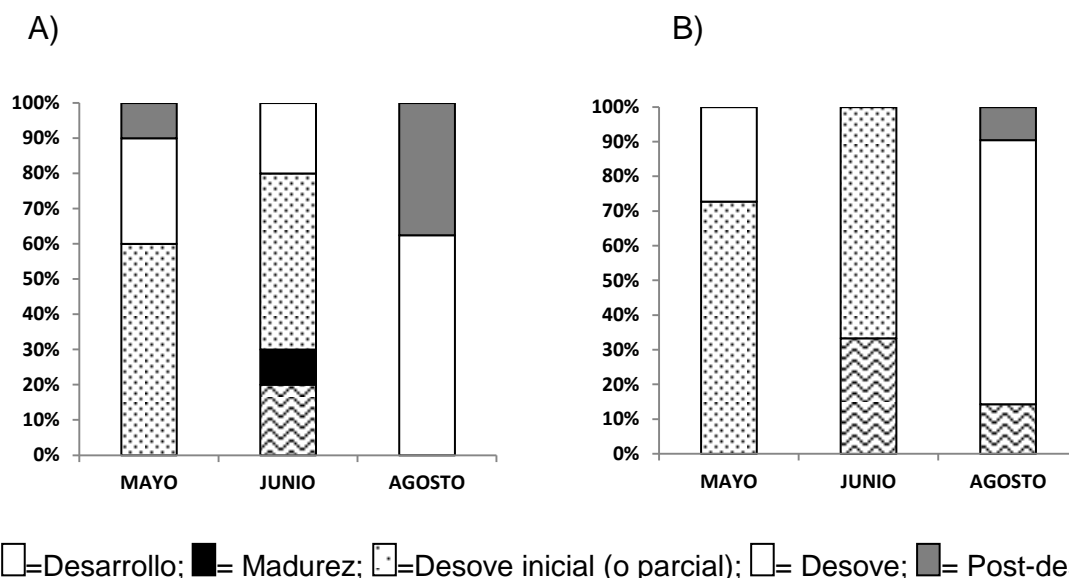


Figura 12. Frecuencia de estadios de desarrollo gonádico de *C. gigas* determinados por histología en A) hembras (n=28) y en B) machos (n=41), muestreados a lo largo de la temporada reproductiva en La Laguna de San Ignacio, BCS.

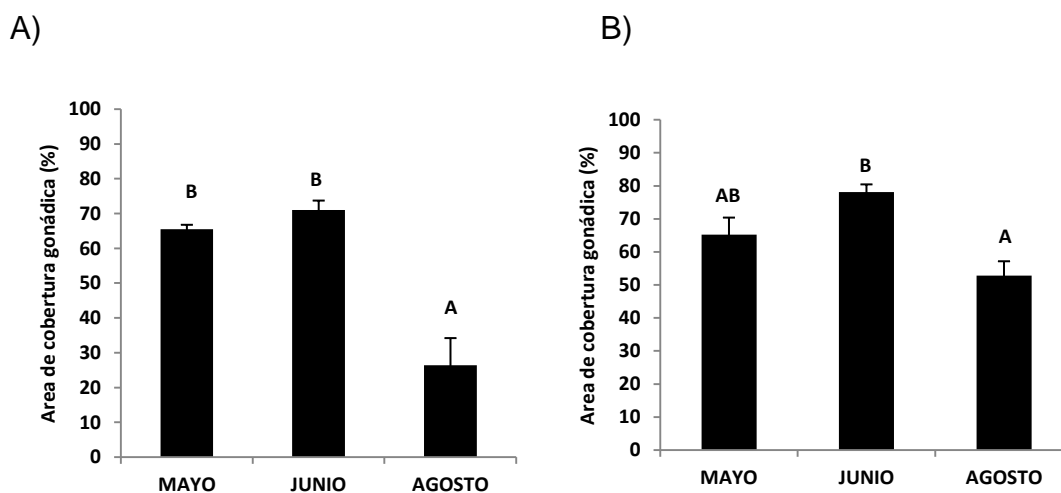
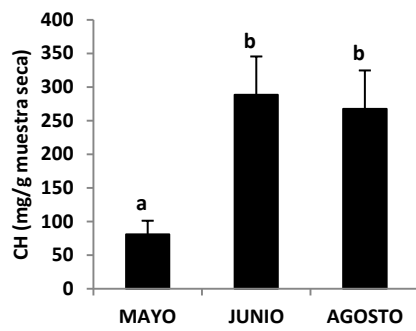
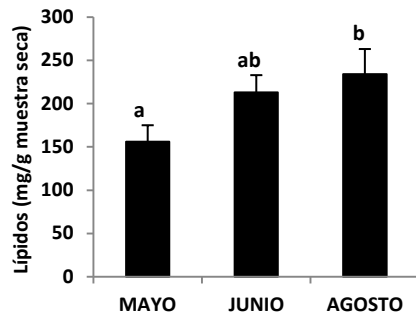
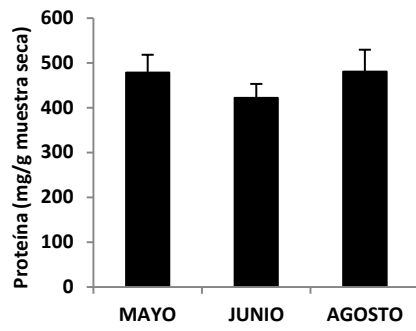
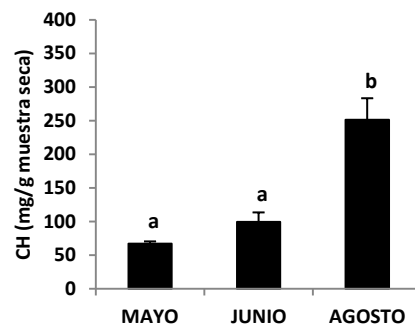
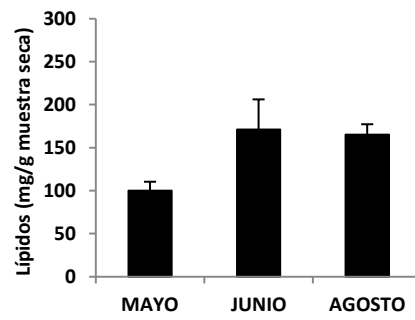
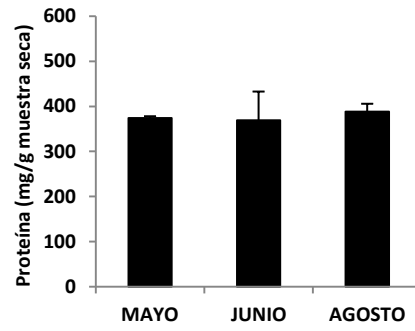


Figura 13. Área de cobertura gonádica. Porcentaje en A) hembras (n=21) y B) machos (n=30) de *C. gigas* en tres épocas de la temporada reproductiva. Los datos fueron analizados usando la época como variable independiente en un ANOVA unifactorial ($P < 0.05$). Datos presentados como media \pm error estándar.

A)



B)



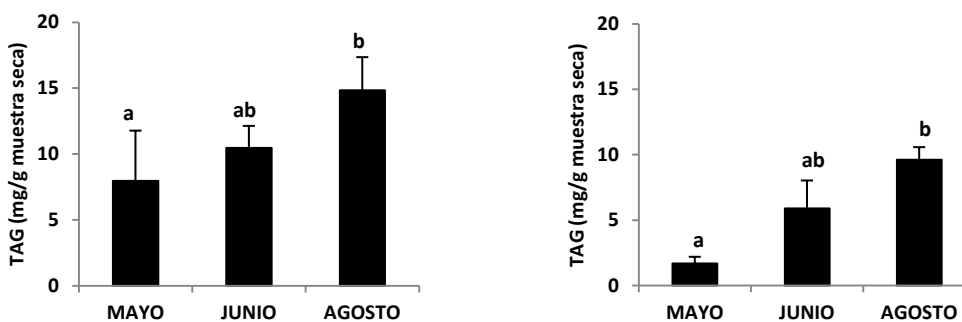


Figura 14. Contenido total (mg g^{-1} de muestra) de proteínas, lípidos, carbohidratos y triacilglicéridos. A) Hembras ($n=29$) y en B) machos ($n=30$) de *C. gigas* colectados en diferentes épocas. Los datos fueron analizados usando la época como variable independiente en un ANOVA unifactorial ($P<0.05$). Datos presentados como media \pm error estándar.

En la composición bioquímica de gónadas, se encontraron diferencias más marcadas en el caso de hembras, donde se observa cómo los niveles de lípidos, carbohidratos y triacilglicéridos fueron aumentando significativamente de mayo a agosto (Fig. 14A). En machos, si bien el patrón fue similar para lípidos y triacilglicéridos (aumento gradual entre mayo y agosto), no se obtuvieron diferencias significativas en caso de lípidos (Fig. 14B). Para carbohidratos, los patrones de hembras y machos fueron diferentes dado que en hembras los valores de carbohidratos de junio fueron mayores que mayo y similares a los de agosto, mientras que en machos, los niveles se incrementaron entre junio y agosto. Los niveles de proteína no variaron.

7.1.2 Desempeño en embriogénesis y primer semana de desarrollo larvario

En parámetros zootécnicos de ovocito a larva (hasta día 9 post-fertilización), no se tuvieron diferencias significativas entre épocas en el tamaño de ovocito, pero sí en el tamaño de larva D, con mayor talla en mayo, seguido de junio y con larvas más pequeñas en agosto. La viabilidad de los ovocitos fue menos en mayo. Para el porcentaje de rendimiento de larva D, se obtuvieron valores significativamente más bajos para el mes de junio (75.3%) con respecto a mayo y agosto, con valores superiores al 95%. Asimismo, la velocidad de crecimiento en la primera

semana post-fertilización (VCL 1) fue significativamente menor en junio con respecto a agosto, con valores intermedios en mayo (Tabla IV).

El menor crecimiento en el mes de junio comparado con mayo se observa a partir del día 5 (Fig. 15). Por otro lado, en agosto se inicia con un menor tamaño de larva D pero existe un crecimiento compensatorio en los días 7 y 9, alcanzándose tamaños similares a los de mayo, y por ende un crecimiento promedio ligeramente mayor (ver Tabla IV). Las diferencias en velocidad de crecimiento al día 7 no pudieron ser calculadas debido a que en agosto solo se obtuvo una réplica para el análisis de crecimiento.

Tabla IV. Efecto de la época del desove en parámetros zootécnicos de la larva hasta la primera semana de desarrollo.

PARÁMETROS	MAYO	JUNIO	AGOSTO	P
Diámetro teórico de ovocito (μm)	54.2 ± 1.8	54.3 ± 1.2	50.2 ± 1.4	NS
Viabilidad de ovocito (%)	44.4 ± 7.2^a	67.5 ± 3.8^b	71.0 ± 7.8^b	0.055
Rendimiento de larva D (%)	95.5 ± 1.9^b	75.3 ± 2.7^a	95.9 ± 1.9^b	0.000
Longitud de larva D (μm)	76.2 ± 0.7^c	73.6 ± 0.5^b	69.1 ± 0.5^a	0.000
Longitud de larva día 7 (μm)	127.3 ± 1.3	110.6 ± 5.1	$110.8 \pm -$	-
Longitud de larva día 9 (μm)	144.1 ± 3.3	121.2 ± 10.0	145.0 ± 3.5	0.065
VCL 1 ($\mu\text{m d}^{-1}$)	8.5 ± 0.3^{ab}	6.0 ± 1.3^a	9.5 ± 0.3^b	0.051

VCL 1= velocidad de crecimiento larvario (del día 1 al 9). Los datos fueron analizados usando la época como variable independiente en un ANOVA unifactorial ($P < 0.05$). NS = no significativo. Datos reportados como media \pm error estándar (n=3).

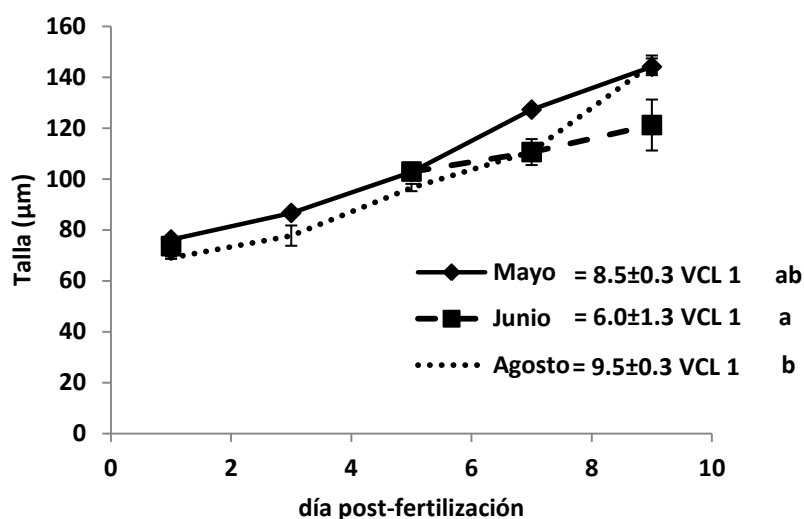


Figura 15. Crecimiento larvario en tres épocas de desove consideradas: mayo, junio y agosto. Datos graficados como la media de tres réplicas. Véase Tabla 4 para los valores de velocidad de crecimiento promedio a lo largo del periodo de 9 días.

7.1.3 Composición bioquímica general de ovocito y larva D

No se observaron diferencias significativas entre el peso seco de los ovocitos y su contenido de materia orgánica entre las tres épocas (Fig. 16). Por otro lado, solo se encontraron diferencias significativas en el contenido de carbohidratos, obteniendo un nivel mayor en mayo y menor en agosto. Para los niveles de proteína se observa el mismo patrón, mientras que para lípidos los menores niveles fueron en junio, aunque no se encontraron diferencias significativas (Fig. 17).

Al igual que para ovocitos, no se observaron diferencias significativas en el peso de larva D ni en su contenido de materia orgánica entre épocas (Fig. 18). Por otro lado, en composición bioquímica (Fig. 19) se encontraron diferencias significativas entre épocas para proteína con un nivel mayor en junio, menor en mayo y el más bajo en agosto. En triacilglicéridos se obtuvo un descenso gradual entre mayo y agosto, patrón observado también para lípidos y carbohidratos aunque sin diferencias significativas.

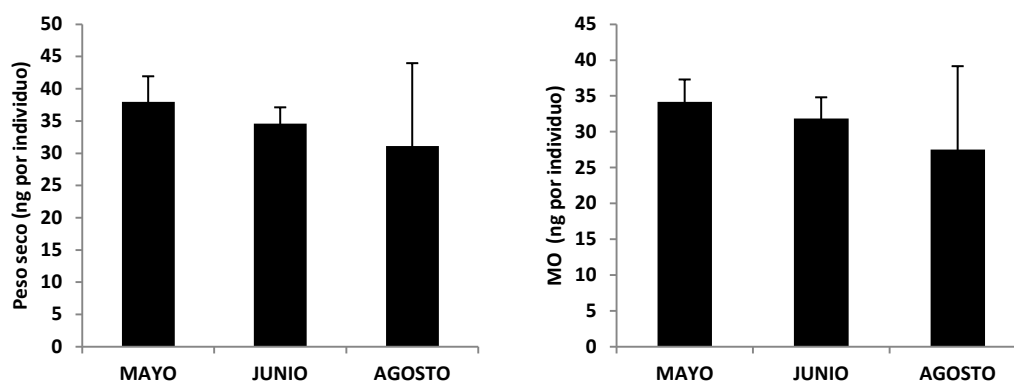


Figura 16. Peso seco de individuos y contenido de materia orgánica en ovocitos. Datos reportados como media \pm error estándar ($n=3$). Los datos fueron analizados usando la época como variable independiente en un ANOVA unifactorial ($P<0.05$).

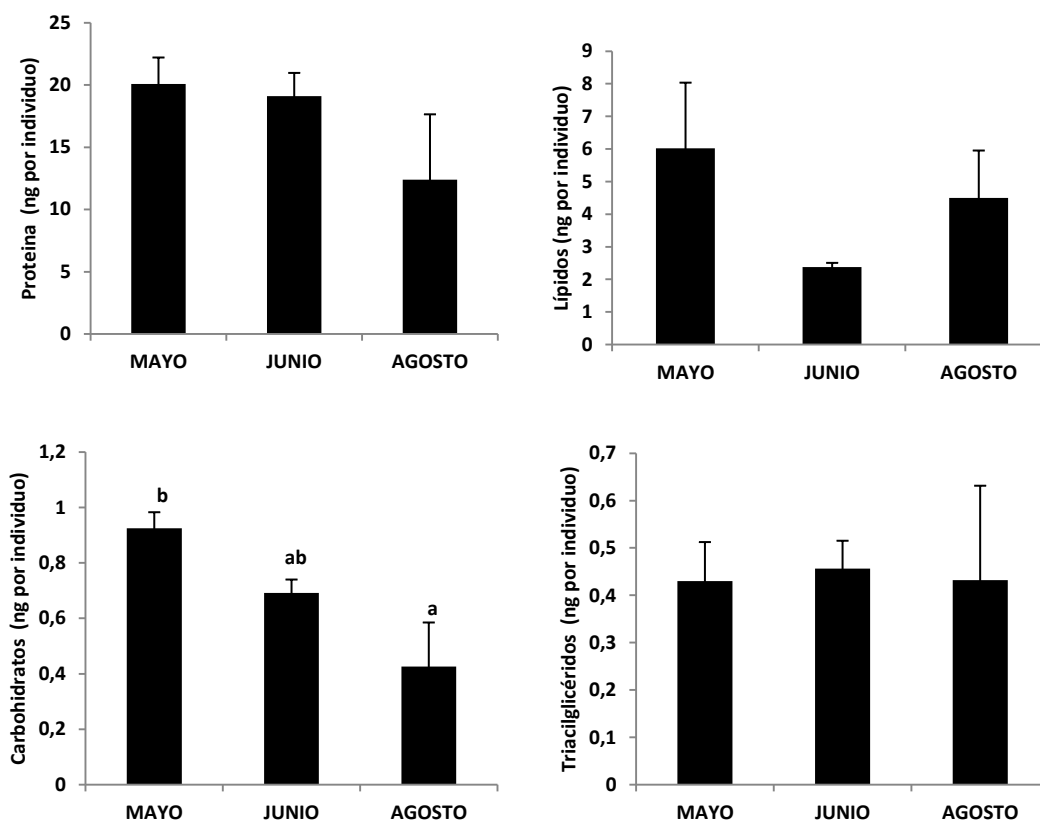


Figura 17. Contenido total en ng por individuo de proteína, lípidos, carbohidratos y triacilglicéridos en ovocito. Datos reportados como media \pm error estándar ($n=3$). Los datos fueron analizados como en la Fig 16.

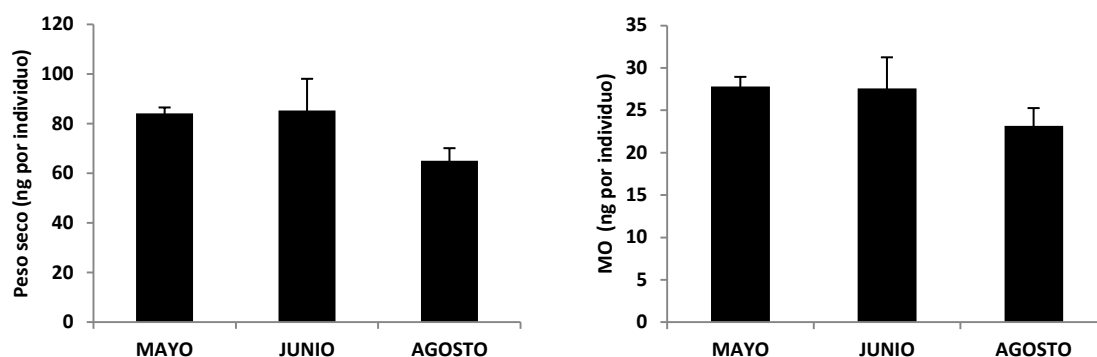


Figura 18. Contenido total en ng por individuo de peso seco y materia orgánica en larva D. Datos reportados como media \pm error estándar (n=3). Los datos fueron analizados como en la Fig 16.

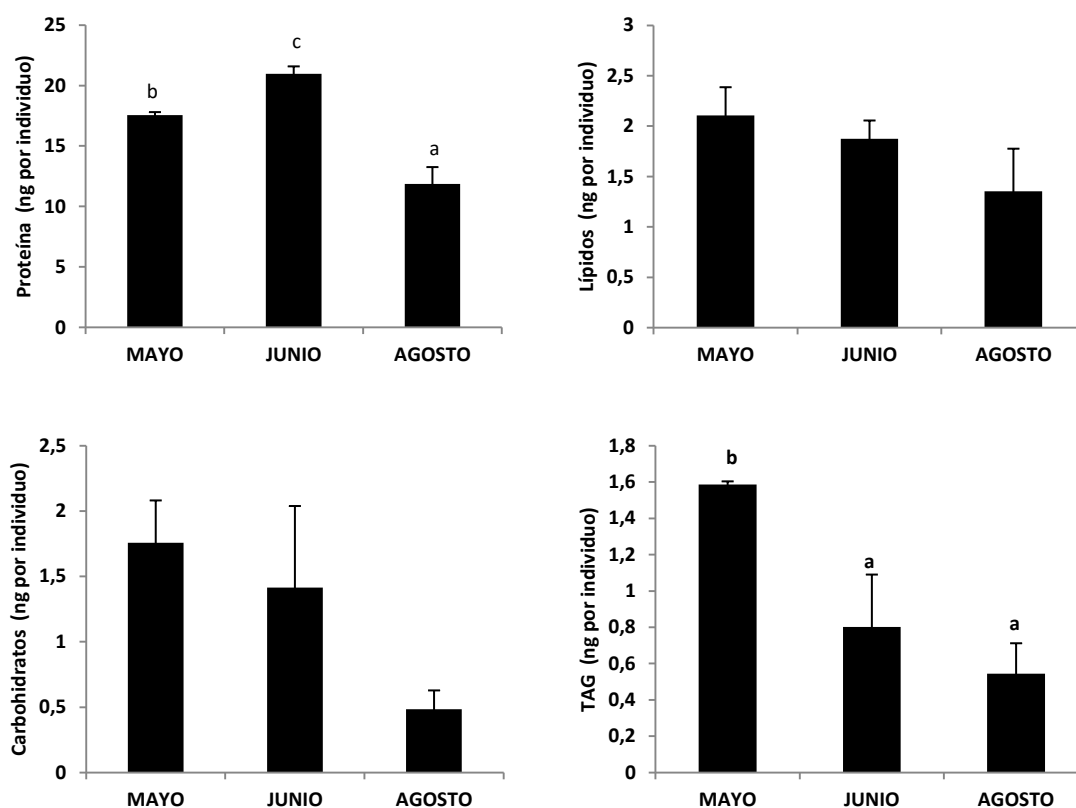


Figura 19. Contenido total en ng por individuo de proteína, lípidos, carbohidratos y triacilglicéridos en larva D. Datos reportados como media \pm error estándar (n=3). Los datos fueron analizados como en la Fig 16.

Tabla V. Variación de componentes bioquímicos durante la embriogénesis (ng por individuo). Δ = ovocito – larva D.* indica diferencia significativa entre ovocito y larva D.

COMPONENTE		EPOCA		
		Mayo	Junio	Agosto
PESO SECO	Ovocito	38.0±3.9	34.6±2.5	31.1±12.8
	Larva D	84.0±2.4*	85.2±12.8*	65.0±5.0
	Δ	46.0	50.6	33.9
MO	Ovocito	34.2±3.1	31.9±2.9	27.5±11.6
	Larva D	27.8±1.1	27.6±3.7	23.2±2.1
	Δ	-6.4	-4.3	-4.3
PROTEINA	Ovocito	20.1±2.1	19.1±1.8	12.4±5.2
	Larva D	17.6±0.3	21±0.6	11.9±1.4
	Δ	-2.5	1.9	-0.5
LIPIDOS	Ovocito	6.0±0.6	2.4±0.1	4.5±1.5
	Larva D	2.1±0.3*	1.9±0.2	1.4±0.4
	Δ	-3.9	-0.5	-3.1
CARBOHIDRATOS	Ovocito	0.9±0.1	0.7±0.0	0.4±0.2
	Larva D	1.8±0.3	1.4±0.6	0.5±0.1
	Δ	0.9	0.7	0.1
TAG	Ovocito	0.4±0.1	0.5±0.1	0.4±0.2
	Larva D	1.6±0.0*	0.8±0.3	0.5±0.2
	Δ	1.2	0.3	0.1

En relación a la variación de niveles de ovocito a larva D (Tabla V), se presentó mayor pérdida de materia orgánica en mayo (-6.4) con respecto a junio y agosto (-4.3 en ambos casos), a su vez estas pérdidas de materia orgánica pudieron haberse reflejado en los consumos de proteína (con excepción de junio donde hubo una ganancia) y de lípidos con mayor pérdida en mayo de -3.9 y menor en junio de -0.5. Por otro lado se presentaron ganancias de carbohidratos y triacilglicéridos en todos los casos en mayor medida en mayo.

7.1.4 Composición de ácidos grasos de ovocito y larva D

Para la composición de ácidos grasos de ovocitos de la fracción neutra (Tabla VI), se obtuvieron diferencias significativas entre épocas sólo para algunos ácidos grasos (14:0, 18:2n-6, 18:4n-3 y 22:4n-6). En contraste, para la fracción polar, se obtuvieron diferencias significativas para un mayor número de ácidos grasos: en todos los tipos de ácidos grasos a excepción de los NMI's (ácidos grasos no metilen interrumpidos). En los ácidos grasos más relevantes se observó que las proporciones fueron más altas en la fracción polar que en la neutra. En la fracción polar el ARA fue significativamente más alto en agosto, mientras el DHA fue significativamente mayor en mayo y junio y en la relación DHA/EPA se obtuvo un valor significativamente mayor en junio, seguido de mayo y menor en agosto.

Para la composición de ácidos grasos de larva D de fracción neutra (Tabla VII), se obtuvieron diferencias significativas entre épocas en casi todos los grupos de ácidos grasos en mayor medida en los PUFA y ninguna en los NMI's. En contraste para la fracción polar, se obtuvieron diferencias significativas en todos los grupos de ácidos grasos, incluidos los NMI's. En larva D como en ovocito las proporciones de los ácidos grasos más importantes se observan mayores en la fracción polar. En ambas fracciones, se observó un incremento significativo de ARA de mayo a agosto y una mayor relación DHA/EPA en junio. Además el DHA en la fracción neutra fue significativamente mayor en mayo y junio. Por otro lado, el EPA en la fracción polar fue significativamente mayor en agosto, seguido de mayo y menor en junio.

Tabla VI. Ácidos grasos (%) en lípidos neutros y polares de ovocito en diferentes épocas de desove. Los datos fueron analizados usando la época como variable independiente en un ANOVA unifactorial ($P < 0.05$). Datos reportados como media \pm error estándar ($n=3$).

Acido graso	LIPIDOS NEUTROS			LIPIDOS POLARES		
	MAYO	JUNIO	AGOSTO	MAYO	JUNIO	AGOSTO
14:0	3.8 \pm 0.0 ^b	3.1 \pm 0.3 ^{ab}	2.8 \pm 0.2 ^a	0.62 \pm 0.0 ^b	0.4 \pm 0.0 ^a	0.6 \pm 0.0 ^b
16:0	18.9 \pm 0.4	16.9 \pm 1.4	19.1 \pm 1.2	12.5 \pm 0.2	13.3 \pm 0.9	14.9 \pm 0.6
18:0	4.7 \pm 1.0	5.3 \pm 0.7	4.6 \pm 0.0	3.9 \pm 0.0 ^b	3.4 \pm 0.2 ^a	3.9 \pm 0.0 ^b
Σ SAT	30.4 \pm 1.4	28.4 \pm 1.9	29.6 \pm 1.6	21.5 \pm 0.2 ^{ab}	20.3 \pm 1.2 ^a	24.1 \pm 0.5 ^b
20:2i NMI	0.7 \pm 0.03	0.5 \pm 0.08	0.5 \pm 0.02	0.4 \pm 0.0	0.3 \pm 0.03	0.3 \pm 0.1
20:2j NMI	0.1 \pm 0.01	0.1 \pm 0.02	0.1 \pm 0.02	0.1 \pm 0.0	0.08 \pm 0.0	0.08 \pm 0.0
22:2i NMI	0.8 \pm 0.10	1.0 \pm 0.1	0.9 \pm 0.12	2.2 \pm 0.1	2.0 \pm 0.1	1.9 \pm 0.1
22:2j NMI	2.3 \pm 0.2	2.8 \pm 0.3	3.0 \pm 0.1	5.7 \pm 0.3	5.0 \pm 0.3	4.4 \pm 0.2
Σ NMI	3.9 \pm 0.3	4.4 \pm 0.4	4.5 \pm 0.2	8.4 \pm 0.4	7.5 \pm 0.4	6.6 \pm 0.3
15:1n-8	0.5 \pm 0.1	1.3 \pm 0.5	0.8 \pm 0.3	1.8 \pm 0.6	2.6 \pm 0.1	1.0 \pm 0.0
16:1n-9	1.3 \pm 0.3	1.9 \pm 0.6	1.6 \pm 0.3	1.9 \pm 0.3 ^a	3.2 \pm 0.2 ^b	1.5 \pm 0.2 ^a
16:1n-7	2.8 \pm 0.0	2.3 \pm 0.2	2.3 \pm 0.0	0.4 \pm 0.0	0.5 \pm 0.0	0.5 \pm 0.0
18:1n-9	4.9 \pm 0.9	4.9 \pm 1.1	4.0 \pm 0.1	1.4 \pm 0.0 ^a	1.7 \pm 0.1 ^a	2.0 \pm 0.0 ^b
18:1n-7	3.0 \pm 0.1	2.8 \pm 0.3	3.2 \pm 0.2	1.5 \pm 0.0	2.2 \pm 0.1	1.9 \pm 0.2
20:1n-11	1.2 \pm 0.0	1.3 \pm 0.1	1.2 \pm 0.5	3.4 \pm 0.1 ^b	3.0 \pm 0.0 ^a	4.9 \pm 0.1 ^c
20:1n-7	1.8 \pm 0.2	1.9 \pm 0.1	1.9 \pm 0.0	2.8 \pm 0.1 ^b	2.6 \pm 0.2 ^{ab}	2.1 \pm 0.0 ^a
Σ MUFA	16.7 \pm 1.0	18.0 \pm 1.8	16.0 \pm 0.6	14.5 \pm 1.1 ^a	18.0 \pm 0.5 ^b	15.1 \pm 0.6 ^a
18:2n-6	2.6 \pm 0.0 ^{ab}	2.4 \pm 0.0 ^a	2.8 \pm 0.0 ^b	1.4 \pm 0.0 ^a	1.4 \pm 0.1 ^a	1.9 \pm 0.0 ^b
18:3n-3	4.9 \pm 0.1	4.6 \pm 0.3	5.0 \pm 0.1	1.9 \pm 0.1 ^a	1.7 \pm 0.0 ^a	2.4 \pm 0.0 ^b
18:4n-3	7.2 \pm 0.2 ^b	6.4 \pm 0.6 ^b	4.9 \pm 0.0 ^a	1.6 \pm 0.0 ^b	1.5 \pm 0.0 ^{ab}	1.4 \pm 0.0 ^a
20:4n-6	1.2 \pm 0.0	1.9 \pm 0.5	2.1 \pm 0.1	3.3 \pm 0.0 ^a	4.2 \pm 0.1 ^b	4.9 \pm 0.2 ^c
20:5n-3	13.3 \pm 0.8	13.1 \pm 1.1	14.0 \pm 0.2	22.6 \pm 0.6	19.9 \pm 0.8	21.6 \pm 0.3
22:5n-3	0.6 \pm 0.0 ^b	0.3 \pm 0.0 ^a	0.8 \pm 0.1 ^c	1.1 \pm 0.0	1.1 \pm 0.0	1.2 \pm 0.0
22:6n-3	17.8 \pm 1.3	18.7 \pm 1.8	19.1 \pm 1.5	21.7 \pm 0.7 ^b	21.6 \pm 1.2 ^b	17.7 \pm 0.3 ^a
Σ PUFA	49.0 \pm 2.3	49.3 \pm 2.3	49.9 \pm 1.6	55.5 \pm 1.3	54.1 \pm 1.3	54.0 \pm 0.6
Σ HUFA	40.7 \pm 2.2	41.3 \pm 2.3	41.2 \pm 1.9	51.4 \pm 1.3	50.4 \pm 1.4	48.9 \pm 0.5
Σ (n-6)	4.7 \pm 0.3	5.8 \pm 0.7	5.8 \pm 0.1	5.8 \pm 0.2 ^a	7.4 \pm 0.6 ^a	9.1 \pm 0.6 ^b
Σ (n-3)	44.3 \pm 2.6	43.4 \pm 4.0	44.0 \pm 1.7	49.7 \pm 1.3	47.1 \pm 1.8	45.0 \pm 0.0
(n-3)/(n-6)	9.5 \pm 1.06	7.7 \pm 1.3	7.6 \pm 0.3	8.6 \pm 0.4 ^b	6.8 \pm 0.8 ^{ab}	5.0 \pm 0.3 ^a
22:6/20:5	1.3 \pm 0.0	1.4 \pm 0.0	1.4 \pm 0.0	0.96 \pm 0.0 ^b	1.08 \pm 0.0 ^c	0.82 \pm 0.0 ^a
Sat index	251 \pm 11.7	255 \pm 12.8	256 \pm 9.9	297.5 \pm 6.2	293.6 \pm 8.1	281.7 \pm 2.0
20:4/20:5	0.1 \pm 0.0	0.2 \pm 0.06	0.1 \pm 0.01	0.15 \pm 0.0 ^a	0.21 \pm 0.02 ^b	0.23 \pm 0.01 ^b
Total pg ind ⁻¹	176 \pm 48.4	144 \pm 15.0	90.9 \pm 26.0	30.4 \pm 2.44	26.4 \pm 2.88	22.5 \pm 3.79

Σ SAT=suma de ácidos grasos saturados, Σ MUFA=suma de ácidos grasos monoinsaturados, Σ PUFA=suma de ácidos grasos polinsaturados, Σ HUFA=suma de ácidos grasos altamente insaturados, Σ NMI=suma de ácidos grasos no metilen interrumpidos. Σ n-6=suma de ácidos grasos omega 6, Σ n-3=suma de ácidos grasos omega 3, 22:6/20:5=relación de DHA y EPA, 20:4/20:5=relación de ARA y EPA. Sat index=índice de saturación.

Tabla VII. Porcentaje de ácidos grasos en lípidos neutros y polares de larva D en diferentes épocas de desove. Los datos fueron analizados usando la época como variable independiente en un ANOVA unifactorial ($P < 0.05$). Datos reportados como media \pm error estándar ($n=3$).

	LIPIDOS NEUTROS			LIPIDOS POLARES		
	MAYO	JUNIO	AGOSTO	MAYO	JUNIO	AGOSTO
14:0	3.4 \pm 0.2 ^b	2.8 \pm 0.0 ^{ab}	2.4 \pm 0.2 ^a	0.7 \pm 0.0 ^b	0.4 \pm 0.0 ^a	0.5 \pm 0.0 ^a
16:0	19.0 \pm 1.2	19.2 \pm 0.7	21.6 \pm 1.1	13.1 \pm 0.4	12.7 \pm 0.2	13.3 \pm 1.3
18:0	4.5 \pm 0.3 ^a	4.3 \pm 0.1 ^a	5.7 \pm 0.2 ^b	4.3 \pm 0.1 ^b	3.7 \pm 0.1 ^a	4.2 \pm 0.1 ^b
Σ SAT	29.9 \pm 1.3 ^a	29.1 \pm 0.6 ^a	33.8 \pm 1.0 ^b	21.4 \pm 0.4	18.7 \pm 0.2	22.1 \pm 1.5
20:2i NMI	0.8 \pm 0.03	0.6 \pm 0.05	0.6 \pm 0.03	0.5 \pm 0.0 ^b	0.5 \pm 0.0 ^b	0.3 \pm 0.0 ^a
20:2j NMI	0.1 \pm 0.02	0.1 \pm 0.0	0.1 \pm 0.01	0.12 \pm 0.01	0.1 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0
22:2i NMI	1.2 \pm 0.1	1.4 \pm 0.1	1.2 \pm 0.1	2.5 \pm 0.0 ^b	2.5 \pm 0.1 ^b	1.9 \pm 0.1 ^a
22:2j NMI	3.7 \pm 0.2	4.3 \pm 0.1	4.2 \pm 0.3	6.4 \pm 0.0	6.4 \pm 0.4	5.4 \pm 0.3
Σ NMI	5.8 \pm 0.3	6.4 \pm 0.1	6.1 \pm 0.4	9.5 \pm 0.0 ^b	9.5 \pm 0.5 ^b	7.8 \pm 0.4 ^a
15:1n-8	0.3 \pm 0.1 ^a	1.1 \pm 0.3 ^b	0.4 \pm 0.1 ^a	1.1 \pm 0.1 ^a	2.2 \pm 0.2 ^b	1.2 \pm 0.3 ^a
16:1n-9	1.1 \pm 0.2	1.7 \pm 0.3	0.8 \pm 0.1	1.4 \pm 0.1 ^a	2.9 \pm 0.1 ^b	1.4 \pm 0.1 ^a
16:1n-7	2.3 \pm 0.1	2.1 \pm 0.0	2.1 \pm 0.1	0.6 \pm 0.0	0.6 \pm 0.0	0.5 \pm 0.1
18:1n-9	5.1 \pm 0.6	4.6 \pm 0.2	4.3 \pm 0.0	1.7 \pm 0.0	1.9 \pm 0.0	1.7 \pm 0.0
18:1n-7	3.0 \pm 0.0 ^a	3.1 \pm 0.0 ^a	3.4 \pm 0.0 ^b	2.2 \pm 0.0	2.3 \pm 0.1	2.2 \pm 0.1
20:1n-11	1.6 \pm 0.0	1.6 \pm 0.0	1.8 \pm 0.0	3.9 \pm 0.0	3.7 \pm 0.0	3.9 \pm 0.0
20:1n-7	1.5 \pm 0.5	2.3 \pm 0.0	2.4 \pm 0.0	2.7 \pm 0.1	2.6 \pm 0.2	2.1 \pm 0.1
Σ MUFA	16.6 \pm 0.2	17.3 \pm 0.3	16.4 \pm 0.1	15.0 \pm 0.2 ^a	18.0 \pm 0.4 ^b	14.0 \pm 0.1 ^a
18:2n-6	2.4 \pm 0.0	2.6 \pm 0.1	2.7 \pm 0.0	1.5 \pm 0.0	1.7 \pm 0.0	1.8 \pm 0.0
18:3n-3	4.3 \pm 0.2	4.3 \pm 0.1	4.3 \pm 0.0	1.9 \pm 0.0	1.8 \pm 0.0	2.2 \pm 0.1
18:4n-3	6.1 \pm 0.2 ^c	5.1 \pm 0.1 ^b	3.7 \pm 0.0 ^a	2.0 \pm 0.0 ^c	1.6 \pm 0.0 ^b	1.5 \pm 0.0 ^a
20:4n-6	1.4 \pm 0.1 ^a	1.9 \pm 0.2 ^{ab}	2.3 \pm 0.1 ^b	3.2 \pm 0.1 ^a	3.5 \pm 0.0 ^a	4.4 \pm 0.1 ^b
20:5n-3	10.9 \pm 0.1	10.5 \pm 0.2	10.5 \pm 0.2	14.8 \pm 0.1 ^b	13.4 \pm 0.3 ^a	16.6 \pm 0.4 ^c
22:5n-3	0.7 \pm 0.0 ^{ab}	0.4 \pm 0.2 ^a	0.9 \pm 0.0 ^b	1.2 \pm 0.0	1.3 \pm 0.0	1.4 \pm 0.1
22:6n-3	20.3 \pm 0.9 ^b	20.9 \pm 0.4 ^b	17.5 \pm 0.6 ^a	27.4 \pm 0.2	28.4 \pm 0.8	26.4 \pm 1.9
Σ PUFA	47.7 \pm 0.7 ^b	47.2 \pm 0.3 ^b	43.6 \pm 0.8 ^a	53.9 \pm 0.6	53.6 \pm 0.9	55.9 \pm 1.3

ΣHUFA	40.1±1.0 ^b	39.6±0.5 ^b	35.6±0.9 ^a	49.8±0.7	49.4±0.9	51.2±1.4
Σ(n-6)	5.0±0.2 ^a	5.6±0.2 ^{ab}	6.3±0.2 ^b	6.1±0.4 ^a	6.2±0.2 ^a	7.4±0.4 ^b
Σ(n-3)	42.7±0.5 ^b	41.6±0.2 ^b	37.4±0.7 ^a	47.7±0.1	47.5±1.1	48.5±1.4
(n-3)/(n-6)	8.6±0.2 ^c	7.4±0.3 ^b	6.0±0.1 ^a	7.9±0.5	7.7±0.4	6.6±0.4
22:6/20:5	1.9±0.0 ^{ab}	2.0±0.0 ^b	1.7±0.06 ^a	1.8±0.0 ^{ab}	2.1±0.0 ^b	1.6±0.1 ^a
Sat index	248.8±5.3 ^b	248.3±2.8 ^b	225.6±4.8 ^a	294.7±2.8	297.6±5.3	300.8±8.8
20:4/20:5	0.1±0.01 ^a	0.2±0.02 ^{ab}	0.2±0.01 ^b	0.22±0.01 ^a	0.26±0.01 ^b	0.27±0.01 ^b
Total pg ind ⁻¹	127.4±20.0	111.8±18.0	106.2±24.3	33.2±2.62 ^b	26.4±1.19 ^a	23.1±0.98 ^a

Ver tabla VI para nomenclatura.

7.2 OBJETIVO II: CALIDAD LARVARIA/POSTLARVA DE *C. gigas* EN CRIADERO

7.2.1 Parámetros de desempeño

Se obtuvieron diferencias en crecimiento larvario total (VCL total) lo cual resultó en velocidades de crecimiento significativamente diferentes entre las tres épocas con los valores más altos en mayo y los menores en junio (Fig. 20).

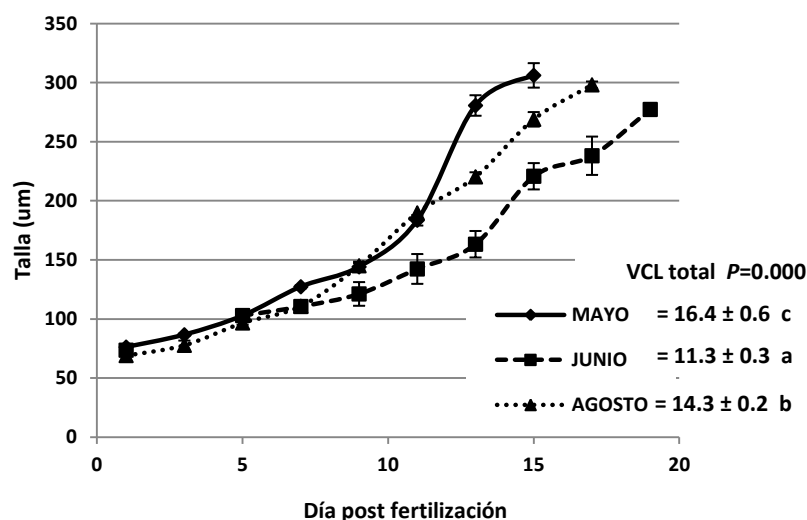


Figura 20. Crecimiento a lo largo del cultivo larvario en tres épocas de producción: mayo, junio y agosto. El último punto en cada gráfica indica el día de la primera cosecha de larva pediveliger. Marcadores indican el promedio ($n=3$) y las barras el error estándar. Valores a un lado de la simbología indican la velocidad de crecimiento larvario (VCL Total) desde larva D hasta la primera cosecha de larva pediveliger (VCL Total en $\mu\text{m d}^{-1}$), que fueron analizados por ANOVA unifactorial, donde medias con letras diferentes son significativamente diferentes.

Tabla VIII. Tiempo post fertilización (días) en el cual se obtuvieron los grupos de larva pediveliger o competente a metamorfosis.

Época de producción	Alto crecimiento	Bajo crecimiento
Mayo	15 y 17	21 y 23
Junio	19 y 21	27
Agosto	17 y 19	21 y 23

Los días en que se obtuvieron las cosechas de larva pediveliger variaron con respecto a las épocas (Tabla VIII). El grupo de alto crecimiento se obtuvo primero en mayo (al día 15) mientras que en junio se obtuvo al día 19. El periodo de cosechas se extendió más en Junio obteniendo el grupo de bajo crecimiento 7 días después del primer grupo mientras que en agosto el bajo crecimiento se obtuvo aproximadamente 3 días después del primer grupo en esa época. La talla de las cosechas de larva pediveliger fue afectada por la época ($P < 0.015$); considerando las medias globales, se obtuvo una talla mayor en agosto de $320 \mu\text{m} \pm 3.81$, seguido de junio $312 \mu\text{m} \pm 1.5$ y menor en mayo con $308.0 \mu\text{m} \pm 5.8$. Las larvas pediveliger que primero llegaron a esta etapa, es decir, las que presentaron el crecimiento más alto alcanzaron una talla mayor al momento de su cosecha que las que llegaron al final (medias globales: $319.8 \pm 2.74 \mu\text{m}$ alto crecimiento vs 307.98 ± 3.4 bajo crecimiento) (Fig. 21A). Sin embargo y tal como lo indica la interacción, esto no fue caso en junio, donde el tamaño es similar para ambos grupos. No se obtuvieron efectos significativos de los grupos de crecimiento ni de la época sobre la talla de la postlarva y la velocidad de crecimiento postlarval (Fig. 21B y C).

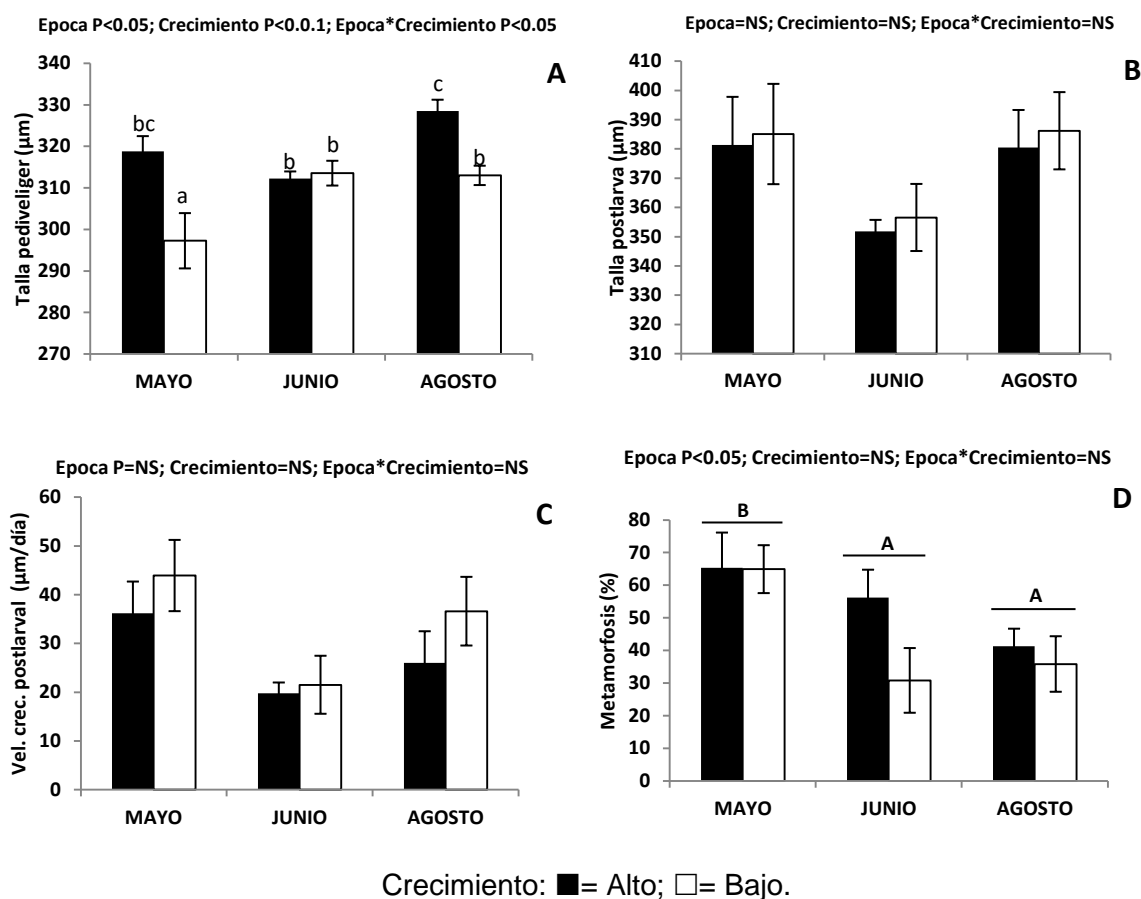


Figura 21. Parámetros zootécnicos en pre y post-fijación. A) Talla de larva pediveliger, B) talla de postlarva, C) velocidades de crecimiento postlarval (μm día⁻¹) al día 2 post-fijación y D) Éxito de metamorfosis de semilla de los grupos de crecimiento en las tres épocas de producción. Datos reportados como media \pm error estándar ($n=3$). Los datos fueron analizados usando la época y el grupo de crecimiento como variables independientes en un ANOVA bifactorial ($P < 0.05$). Cuando la interacción fue significativa ($P < 0.05$), medias individuales con letras diferentes son significativamente diferentes. Cuando sólo el factor época presentó diferencia significativa, se indican las diferencias entre medias globales por épocas con letras mayúsculas: épocas con diferentes letras son significativamente diferentes entre sí. Para efecto significativo del factor crecimiento no hay indicaciones, dado que está implícita la diferencia entre ambos grupos.

No se observó una diferencia significativa en el éxito de metamorfosis entre ambos grupos ($P=0.164$) (Fig. 21D), sin embargo se observó mayor rendimiento en el grupo de alto crecimiento (media global: 54.3 ± 5.5) con respecto al de bajo

crecimiento (media global: 43.8 ± 6.9). Por otro lado, se observaron valores significativamente mayores del éxito de metamorfosis en mayo (65.1 ± 5.9) comparado con junio (43.5 ± 8.2) y agosto (38.6 ± 4.7) ($P=0.019$). Aunque la interacción no fue significativa, la diferencia entre grupos puede apreciarse para el mes de junio (56.2 ± 8.5 y 30.8 ± 9.9 para el alto y bajo crecimiento respectivamente).

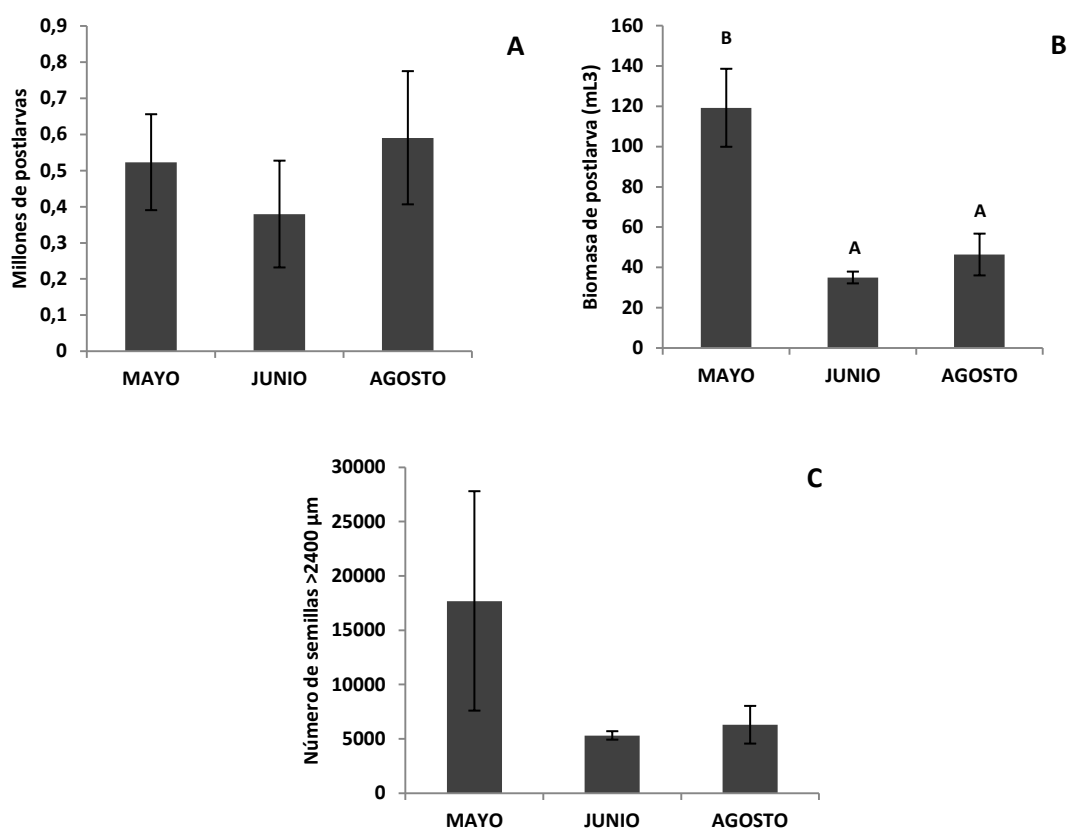


Figura 22. Parámetros zootécnicos en preengorda. A) Número de postlarvas al inicio de la pre-engorda, B) Biomasa acumulada (ml^3) en las primeras semanas: mayo (al día 14), junio (al día 11) y agosto (al día 11), (Ver detalles de crecimiento en anexo tabla XXI) y C) Número de semillas $>2400 \mu\text{m}$. Datos reportados como media \pm error estándar ($n=3$). Los datos fueron analizados usando la época como variable independiente en un ANOVA unifactorial ($P<0.05$).

La postlarva obtenida al día 2 post-fijación de los grupos de crecimiento fue mezclada entre las épocas y no se encontraron diferencias significativas en el número de individuos cosechados (Fig. 22A). A las dos semanas de crecimiento en esta etapa se obtuvieron diferencias significativas en el volumen de biomasa (Fig. 22B) siendo mayor en mayo (119 mL) respecto a junio (34.9 mL) y agosto (46.0 mL). Esta tendencia se mantuvo hasta el final de la pre-engorda (Fig. 22C) dado que el rendimiento final de la semilla talla >2400 μm enviada al campo tuvo variaciones importantes entre épocas pero no fueron significativas dada la dispersión de los datos en Mayo. Así el número de semillas obtenidas en Mayo fue $17,683 \pm 10,100$, mientras que en junio y agosto fueron $5,301 \pm 388$ y $6,282 \pm 1,734$, respectivamente.

7.2.2 Composición bioquímica general de larva pediveliger y postlarva

En la composición bioquímica de larva pediveliger (Fig. 23) se obtuvieron diferencias significativas entre grupos, con niveles significativamente mayores para el grupo de alto crecimiento con respecto al de bajo crecimiento en peso seco (medias globales: 7071.9 ± 276.0 vs 5928.7 ± 381.2), en materia orgánica (2427.2 ± 75.4 vs 2017.6 ± 136.8), proteína (1232 ± 68.8 vs 969.9 ± 59.5) y lípidos (398.9 ± 72.9 vs 348.2 ± 62.3). En lípidos se obtuvo además una interacción significativa sobresaliendo el valor significativamente mayor en agosto para el grupo de alto crecimiento.

Para los niveles de triacilglicéridos, se observó una interacción significativa con valores mayores en mayo y agosto con respecto a junio únicamente para el grupo de alto crecimiento, mientras que no se observaron diferencias significativas entre épocas para el grupo de bajo crecimiento.

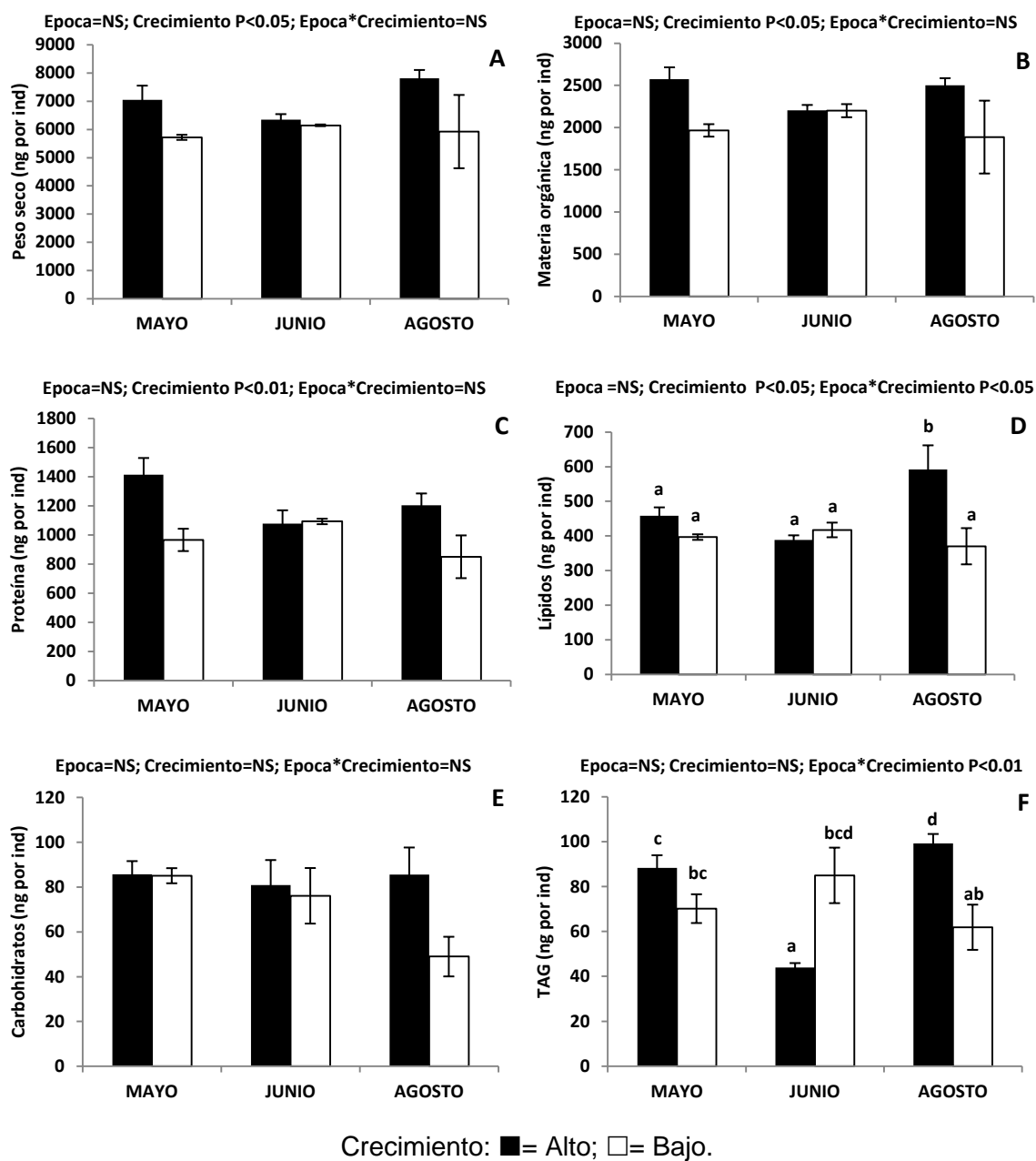


Figura 23. Composición bioquímica en ng por individuo de peso seco, materia orgánica, proteína, lípidos, carbohidratos y triacilglicéridos en larva pediveliger. Datos reportados como media \pm error estándar. Los datos fueron analizados como se reporta en la figura 21.

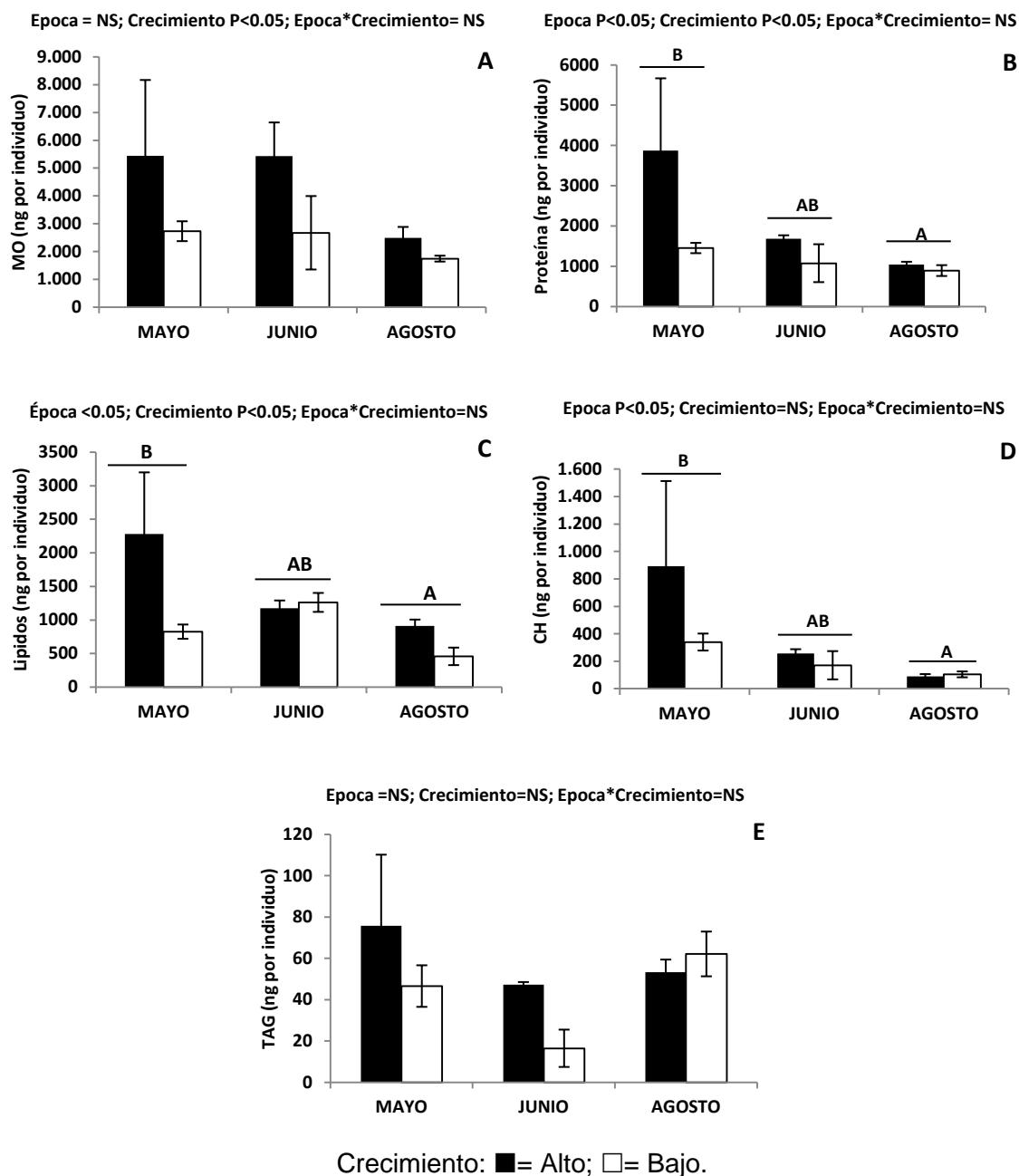


Figura 24. Composición total en ng por individuo de materia orgánica, proteína, lípidos, carbohidratos y triacilglicéridos en postlarva. Datos reportados como media \pm error estándar (n=3). Los datos fueron analizados como se reporta en la figura 21.

Para la composición bioquímica de postlarva en ng por individuo (Fig. 24), se obtuvieron diferencias significativas entre grupos de crecimiento con medias globales significativamente mayores para el grupo de alto crecimiento con respecto al de bajo crecimiento en cuanto materia orgánica ($4,331 \pm 853$ vs $2,383 \pm 427$), proteína ($1,992 \pm 543$ vs $1,141 \pm 168$) y lípidos ($1,175 \pm 168$ vs 952 ± 240). Aunque no se observó una interacción significativa entre época y grupos de crecimiento, las diferencias entre los grupos de alto y bajo crecimiento se observaron principalmente en mayo. De hecho, entre épocas, se tuvieron diferencias significativas en proteína, lípidos y carbohidratos con los niveles más altos en mayo, seguido de junio y los más bajos en agosto.

Tabla IX. Cambios en tamaño y componentes bioquímicos (ng individuo⁻¹) durante la metamorfosis. PD= pediveliger; PL= postlarva; Δ = postlarva – pediveliger.

COMPONENTE	ALTO CRECIMIENTO			BAJO CRECIMIENTO			
	Mayo	Junio	Agosto	Mayo	Junio	Agosto	
TAMAÑO (μ m)	PD	318.8 \pm 3.6	312.3 \pm 1.7	328.5 \pm 2.7	297.3 \pm 6.7	313.5 \pm 3.0	313.0 \pm 2.3
	PL	381.4 \pm 16.4*	351.9 \pm 3.9*	380.5 \pm 12.8*	385.1 \pm 17.1*	356.5 \pm 11.5*	386.2 \pm 13.2*
	Δ	62.6	39.6	52.0	87.8	43.0	73.2
MO	PD	2,573 \pm 140	2,206 \pm 61	2,502 \pm 83	1,966 \pm 74	2,200 \pm 78	1,887 \pm 432
	PL	5,443 \pm 2,722	5,432 \pm 1,206	2,489 \pm 395	2,730 \pm 357	2,673 \pm 1,320	1,745 \pm 106
	Δ	2,870	3,226	-13	764	473	-142
PROTEINA	PD	1,414 \pm 114	1,078 \pm 91	1,204 \pm 81	966 \pm 77	1,093 \pm 19	850 \pm 147
	PL	3,870 \pm 1,795	1,686 \pm 83*	1,045 \pm 67	1,453 \pm 128*	1,077 \pm 470	893 \pm 135
	Δ	2,456	608	-159	487	-16	43
LIPIDOS	PD	439 \pm 45	170 \pm 65	587 \pm 112	343 \pm 21	181 \pm 25	521 \pm 129
	PL	850 \pm 314	1,119 \pm 173*	1,447 \pm 356	518 \pm 248*	1,428 \pm 630*	908 \pm 165
	Δ	411	949	860	175	1,247	388
CH	PD	86 \pm 6	81 \pm 11	86 \pm 12	85 \pm 3	76 \pm 12	49 \pm 9
	PL	893 \pm 619	257 \pm 30*	89 \pm 16	339 \pm 62*	170 \pm 103	104 \pm 21*
	Δ	808	176	4	254	94	55
TAG	PD	88 \pm 6	44 \pm 2	99 \pm 4	70 \pm 6	85 \pm 12	62 \pm 10
	PL	76 \pm 34	47 \pm 1	53 \pm 6*	47 \pm 10	16 \pm 9*	62 \pm 11
	Δ	-13	3	-46	-24	-69	0

*= Diferencia significativa entre los niveles de pediveliger y postlarva

En la tabla IX se observan aumentos y disminuciones de materia orgánica al pasar la metamorfosis en postlarva al día 2 post-fijación. Las ganancias se vieron en mayor medida en la materia orgánica del alto crecimiento, lo cual se ve reflejado en la ganancia de proteína en mayo y junio, mientras que las larvas de agosto experimentaron pérdidas de estos componentes. Para el caso de los lípidos, se encontraron ganancias en todos los casos, mayores en el desove de junio en ambos grupos de crecimiento y un aumento menor en mayo en ambos grupos de crecimiento. De igual manera, se mostraron ganancias en carbohidratos, mayores en mayo. Respecto a triglicéridos, se encontraron pérdidas en casi todos los casos.

7.3.3 Composición de ácidos grasos de larva pediveliger y postlarva

Respecto a lípidos neutros de larva pediveliger (Tabla X) en el factor época se encontraron diferencias significativas, para la mayoría de los ácidos grasos: todos los ácidos MUFA, y la mayoría de los PUFA, saturados y NMI's. Por otro lado, entre grupos de crecimiento se encontraron diferencias significativas en mayor medida para los PUFA, en menor grado para los MUFA y ninguna diferencia en saturados o NMI's. También se apreciaron algunas interacciones significativas que se describen más a detalle para los ácidos grasos más relevantes (Fig. 25).

En ácidos grasos de la fracción polar de larva pediveliger (Tabla XI) se encontraron diferencias significativas del factor época para todos los PUFA y saturados, así como para la mayoría de los MUFA y NMI's. Para el factor grupo de crecimiento, al igual que para las interacciones entre ambos factores, las diferencias significativas se observaron principalmente para distintos PUFA.

Tabla X. Ácidos grasos (%) en lípidos neutros de larva pediveliger de alto y bajo crecimiento en las tres épocas de producción. Datos reportados como media \pm error estándar (n=3). Los datos fueron analizados usando la época y el grupo de crecimiento como variables independientes en un ANOVA bifactorial ($P<0.05$). Cuando la interacción fue significativa ($P<0.05$), medias individuales con letras diferentes son significativamente diferentes

AG	Crecimiento	MAYO	JUNIO	AGOSTO	E	GC	E*GC
14:0	Alto	5.8 \pm 0.1	2.9 \pm 0.6	4.8 \pm 0.1	**	NS	NS
	Bajo	6.2 \pm 0.4	4.3 \pm 0.9	4.8 \pm 0.2			
16:0	Alto	12.2 \pm 0.2	7.9 \pm 0.8	8.7 \pm 0.1	**	NS	NS
	Bajo	12.6 \pm 0.8	7.4 \pm 0.2	10.2 \pm 1.7			
18:0	Alto	2.9 \pm 0.0	3.3 \pm 0.1	2.6 \pm 0.1	NS	NS	NS
	Bajo	3.9 \pm 0.1	2.3 \pm 0.0	5.8 \pm 2.7			
Σ SAT	Alto	22.2 \pm 0.1	15.9 \pm 1.6	17.3 \pm 0.1	**	NS	NS
	Bajo	24.2 \pm 1.2	15.6 \pm 1.3	22.5 \pm 4.5			
20:2i NMI	Alto	0.4 \pm 0.0	0.4 \pm 0.0	0.5 \pm 0.0	NS	NS	NS
	Bajo	0.5 \pm 0.0	0.5 \pm 0.0	0.5 \pm 0.0			
20:2j NMI	Alto	0.1 \pm 0.0	0.4 \pm 0.0	0.2 \pm 0.0	**	NS	NS
	Bajo	0.2 \pm 0.0	0.5 \pm 0.0	0.2 \pm 0.0			
22:2i NMI	Alto	0.7 \pm 0.0 ^{ab}	1.0 \pm 0.1 ^b	0.7 \pm 0.1 ^{ab}	NS	NS	*
	Bajo	0.9 \pm 0.1 ^b	0.6 \pm 0.0 ^a	0.7 \pm 0.2 ^{ab}			
22:2j NMI	Alto	2.6 \pm 0.0	6.5 \pm 0.7	4.0 \pm 0.3	**	NS	NS
	Bajo	3.5 \pm 0.3	5.2 \pm 0.3	4.1 \pm 0.8			
Σ NMI	Alto	3.9 \pm 0.0	8.3 \pm 0.8	5.5 \pm 0.4	**	NS	NS
	Bajo	5.1 \pm 0.5	6.7 \pm 0.4	5.6 \pm 1.0			
15:1n-8	Alto	0.4 \pm 0.1	1.9 \pm 0.4	0.8 \pm 0.1	**	NS	NS
	Bajo	0.6 \pm 0.1	1.5 \pm 0.3	0.7 \pm 0.2			
16:1n-9	Alto	1.0 \pm 0.2 ^{ab}	2.4 \pm 0.5 ^c	1.8 \pm 0.4 ^{bc}	**	NS	**
	Bajo	1.8 \pm 0.2 ^{bc}	1.9 \pm 0.3 ^{bc}	0.4 \pm 0.1 ^a			
16:1n-7	Alto	6.9 \pm 0.2 ^{ab}	6.1 \pm 0.5 ^a	8.4 \pm 0.3 ^{bc}	**	**	**
	Bajo	8.1 \pm 0.4 ^{bc}	13.5 \pm 0.8 ^d	9.0 \pm 0.8 ^c			
18:1n-9	Alto	6.8 \pm 0.2	4.0 \pm 0.1	5.4 \pm 0.1	**	*	NS
	Bajo	6.7 \pm 0.3	1.6 \pm 0.0	4.6 \pm 1.3			
18:1n-7	Alto	6.5 \pm 0.3 ^a	7.3 \pm 0.4 ^b	8.2 \pm 0.2 ^c	**	**	**
	Bajo	7.0 \pm 0.2 ^{ab}	12.9 \pm 0.2 ^d	8.6 \pm 0.2 ^c			
20:1n-11	Alto	1.0 \pm 0.0	1.8 \pm 0.1	1.1 \pm 0.1	**	NS	NS
	Bajo	1.3 \pm 0.1	1.2 \pm 0.1	0.5 \pm 0.5			
20:1n-7	Alto	2.6 \pm 0.1	3.7 \pm 0.0	3.1 \pm 0.1	**	NS	NS
	Bajo	3.0 \pm 0.2	3.6 \pm 0.2	3.5 \pm 0.3			
Σ MUFA	Alto	25.0 \pm 0.2 ^a	28.3 \pm 1.2 ^{ab}	29.5 \pm 0.2 ^b	**	**	**
	Bajo	29.3 \pm 0.7 ^b	37.0 \pm 1.1 ^c	29.1 \pm 0.4 ^b			
18:2n-6	Alto	4.3 \pm 0.1 ^d	3.0 \pm 0.1 ^b	6.3 \pm 0.1 ^e	**	**	**
	Bajo	2.9 \pm 0.1 ^b	1.5 \pm 0.1 ^a	3.7 \pm 0.2 ^c			
18:3n-3	Alto	3.5 \pm 0.1 ^d	2.2 \pm 0.1 ^b	4.2 \pm 0.0 ^e	**	**	**
	Bajo	2.7 \pm 0.1 ^c	1.0 \pm 0.1 ^a	2.3 \pm 0.2 ^b			
18:4n-3	Alto	9.3 \pm 0.4	3.0 \pm 0.1	5.1 \pm 0.1	**	**	NS
	Bajo	6.9 \pm 0.3	1.0 \pm 0.1	2.6 \pm 0.2			
20:4n-6	Alto	2.2 \pm 0.1	4.2 \pm 0.5	2.7 \pm 0.1	**	**	NS
	Bajo	2.9 \pm 0.1	4.8 \pm 0.0	3.8 \pm 0.2			
20:5n-3	Alto	9.1 \pm 0.5 ^a	12.2 \pm 0.1 ^b	13.0 \pm 0.4 ^b	**	**	**
	Bajo	9.8 \pm 0.3 ^a	18.3 \pm 0.5 ^c	16.9 \pm 1.5 ^c			

22:5n-3	Alto	1.5±0.0	0.9±0.7	1.2±0.0	NS	NS	NS
	Bajo	1.3±0.1	0.5±0.2	1.0±0.2			
22:6n-3	Alto	16.1±0.1 ^b	20.7±1.3 ^c	13.6±0.4 ^{ab}	**	**	*
	Bajo	13.4±0.8 ^{ab}	12.1±1.4 ^a	10.6±1.8 ^a			
ΣPUFA	Alto	47.9±0.0	47.5±1.9	47.7±0.2	NS	**	NS
	Bajo	41.4±1.6	40.7±1.0	42.8±3.9			
ΣHUFA	Alto	38.4±0.1	41.6±2.2	35.9±0.0	NS	NS	NS
	Bajo	34.8±1.6	37.5±1.6	35.9±3.6			
Σ(n-6)	Alto	8.2±0.0	8.3±0.3	10.3±0.1	**	**	NS
	Bajo	7.7±0.2	7.4±0.2	9.2±0.3			
Σ(n-3)	Alto	39.7±0.1	39.3±0.9	37.4±0.1	NS	**	NS
	Bajo	34.2±1.6	33.3±2.1	33.6±3.7			
(n-3)/(n-6)	Alto	4.9±0.0	4.7±0.0	3.6±0.0	**	NS	NS
	Bajo	4.7±0.3	4.5±0.4	3.6±0.4			
22:6/20:5	Alto	1.8±0.1 ^d	1.7±0.1 ^d	1.1±0.1 ^b	**	**	**
	Bajo	1.4±0.1 ^c	0.7±0.1 ^a	0.6±0.1 ^a			
Sat index	Alto	245.1±0.6	263.0±9.3	242.4±0.3	NS	*	NS
	Bajo	222.0±7.7	238.0±9.7	228.0±19.8			
20:4/20:5	Alto	0.2±0.0 ^{ab}	0.3±0.0 ^c	0.2±0.0 ^a	**	NS	**
	Bajo	0.3±0.0 ^{bc}	0.3±0.0 ^{ab}	0.2±0.0 ^a			
Total AG ng larva ⁻¹	Alto	14.3±2.46	5.2±0.82	11.6±1.5	*	NS	NS
	Bajo	8.3±0.39	6.4±0.75	9.6±2.52			

Ver tabla VI para nomenclatura. Los resultados del ANOVA bifactorial: NS = No Significativo, * = $P \leq 0,05$, ** = $P \leq 0.01$.

Tabla XI. Ácidos grasos (%) en lípidos polares en larva pediveliger de alto y bajo crecimiento en las tres épocas de producción. Datos reportados como media ± error estándar (n=3). Los datos fueron analizados como se reporta en la tabla X.

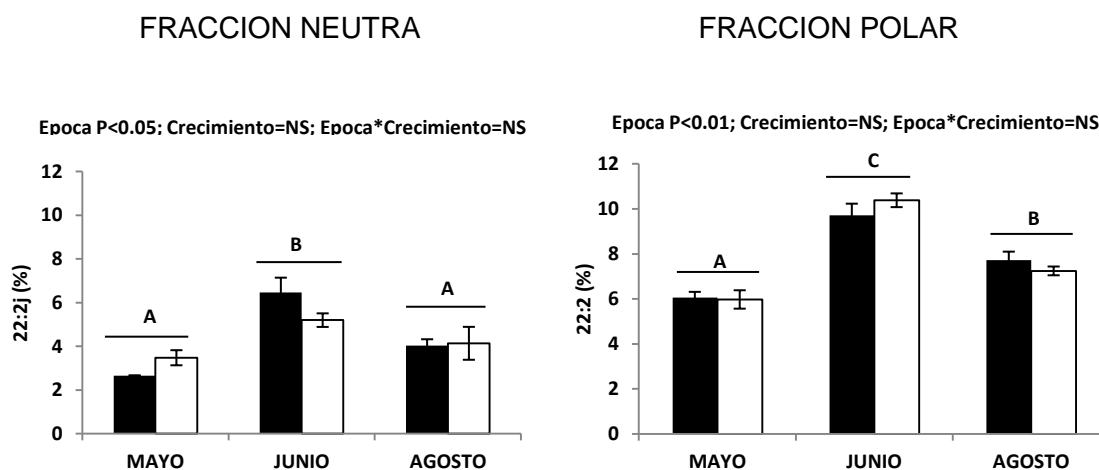
AG	Crecimiento	MAYO	JUNIO	AGOSTO	E	GC	E*GC
14:0	Alto	1.8±0.1	1.0±0.2	1.9±0.1	**	NS	*
	Bajo	2.3±0.2	0.9±0.0	1.7±0.1			
16:0	Alto	14.3±0.9	10.0±0.4	12.5±0.3	**	NS	NS
	Bajo	15.2±0.5	9.9±0.3	13.5±0.2			
18:0	Alto	3.9±0.1	3.7±0.1	4.5±0.3	*	NS	NS
	Bajo	4.6±0.4	3.4±0.0	5.3±0.9			
ΣSAT	Alto	21.8±1.3	16.56±0.7	21.0±0.7	**	*	NS
	Bajo	24.9±0.5	16.5±0.3	22.7±0.7			
20:2i NMI	Alto	0.3±0.0	0.2±0.1	0.4±0.0	NS	NS	NS
	Bajo	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0			
20:2j NMI	Alto	0.2±0.0	0.4±0.0	0.3±0.2	**	NS	NS
	Bajo	0.2±0.0	0.6±0.0	0.3±0.0			
22:2i NMI	Alto	1.7±0.2	1.6±0.1	1.4±0.1	NS	**	NS
	Bajo	1.4±0.1	1.2±0.1	1.2±0.0			
22:2j NMI	Alto	6.1±0.3	9.7±0.5	7.7±0.4	**	NS	NS
	Bajo	6.0±0.4	10.4±0.3	7.2±0.2			
ΣNMI	Alto	8.3±0.5	11.9±0.6	9.8±0.6	**	NS	NS
	Bajo	7.8±0.5	12.5±0.4	9.0±0.3			
15:1n-8	Alto	1.8±0.4	2.4±0.3	1.6±0.2	**	NS	NS
	Bajo	1.3±0.1	2.4±0.1	1.4±0.0			
16:1n-9	Alto	2.5±1.0	3.1±0.1	2.4±0.5	NS	NS	NS

	Bajo	1.6±0.2	3.1±0.2	1.8±0.2			
16:1n-7	Alto	1.5±0.1 ^{ab}	1.5±0.1 ^a	2.1±0.1 ^{cd}	**	**	**
	Bajo	2.0±0.3 ^{bc}	3.1±0.1 ^e	2.6±0.2 ^{de}			
18:1n-9	Alto	3.4±0.1 ^c	2.0±0.1 ^b	3.2±0.3 ^c	**	**	*
	Bajo	3.6±0.3 ^c	1.1±0.1 ^a	2.2±0.2 ^b			
18:1n-7	Alto	7.9±0.5	8.1±0.4	10.6±0.3	**	**	NS
	Bajo	9.8±0.8	11.1±0.5	11.3±0.6			
20:1n-11	Alto	3.6±0.1	3.8±0.0	3.6±0.1	NS	NS	NS
	Bajo	3.7±0.3	3.4±0.3	3.1±0.1			
20:1n-7	Alto	3.6±0.1 ^b	3.7±0.1 ^b	3.7±0.2 ^b	**	NS	**
	Bajo	3.2±0.0 ^a	4.2±0.1 ^c	3.7±0.1 ^b			
ΣMUFA	Alto	25.6±0.5 ^a	25.4±0.5 ^a	28.4±0.8 ^{bc}	**	*	**
	Bajo	26.1±0.8 ^a	29.4±0.5 ^c	27.3±0.8 ^{ab}			
18:2n-6	Alto	3.5±0.2 ^c	2.6±0.2 ^b	5.4±0.2 ^d	**	**	*
	Bajo	2.8±0.3 ^b	1.8±0.1 ^a	3.5±0.1 ^c			
18:3n-3	Alto	2.0±0.1 ^d	1.4±0.1 ^b	2.8±0.0 ^e	**	**	**
	Bajo	1.9±0.1 ^{cd}	0.9±0.0 ^a	1.7±0.1 ^c			
18:4n-3	Alto	3.1±0.3 ^d	1.5±0.1 ^b	2.6±0.1 ^c	**	**	**
	Bajo	3.3±0.2 ^d	0.5±0.0 ^a	1.2±0.1 ^b			
20:4n-6	Alto	3.5±0.1 ^a	5.0±0.1 ^c	3.5±0.1 ^a	**	**	*
	Bajo	4.2±0.1 ^b	6.7±0.2 ^d	5.2±0.3 ^c			
20:5n-3	Alto	7.8±0.3 ^a	9.8±0.2 ^b	9.8±0.5 ^b	**	**	**
	Bajo	8.7±0.2 ^{ab}	16.2±0.7 ^d	13.6±0.6 ^c			
22:4n-6	Alto	2.1±0.1 ^c	3.0±0.1 ^d	1.2±0.1 ^a	**	**	**
	Bajo	1.7±0.1 ^b	1.4±0.1 ^a	1.2±0.0 ^a			
22:6n-3	Alto	18.5±1.1 ^c	21.7±0.4 ^d	11.8±0.8 ^a	**	**	**
	Bajo	14.8±1.2 ^b	12.6±0.4 ^{ab}	10.3±0.4 ^a			
ΣPUFA	Alto	44.4±1.0	46.2±0.6	40.9±1.6	**	**	*
	Bajo	41.1±0.5	41.6±0.6	40.7±0.4			
ΣHUFA	Alto	37.5±1.2 ^{bc}	41.4±0.5 ^d	31.5±1.9 ^a	**	NS	*
	Bajo	35.2±0.8 ^{bc}	38.1±0.6 ^c	34.7±0.5 ^{ab}			
Σ(n-6)	Alto	10.4±0.8	8.6±0.1	12.2±0.7	*	NS	NS
	Bajo	10.3±0.8	9.6±0.3	12.5±1.4			
Σ(n-3)	Alto	34.0±0.7	37.6±0.7	28.7±1.3	**	*	NS
	Bajo	30.8±1.3	32.0±0.7	28.4±1.1			
(n-3)/(n-6)	Alto	3.3±0.3	4.4±0.1	2.4±0.2	**	NS	NS
	Bajo	3.0±0.4	3.4±0.2	2.3±0.3			
22:6/20:5	Alto	2.4±0.2 ^d	2.2±0.0 ^d	1.2±0.0 ^b	**	**	**
	Bajo	1.7±0.2 ^c	0.8±0.0 ^a	0.8±0.0 ^a			
Sat index	Alto	237.6±6.1 ^c	255.9±2.8 ^c	210.7±7.9 ^a	**	**	**
	Bajo	220.9±3.7 ^{ab}	231.9±2.7 ^{bc}	216.1±0.7 ^a			
20:4/20:5	Alto	0.5±0.0 ^{bc}	0.5±0.0 ^d	0.4±0.0 ^a	*	NS	**
	Bajo	0.5±0.0 ^{cd}	0.4±0.0 ^{ab}	0.4±0.0 ^a			
Total AG ng larva ⁻¹	Alto	3.02±0.39 ^b	1.90±0.02 ^a	3.45±0.08 ^b	**	**	*
	Bajo	1.73±0.29 ^a	1.94±0.09 ^a	2.19±0.15 ^a			

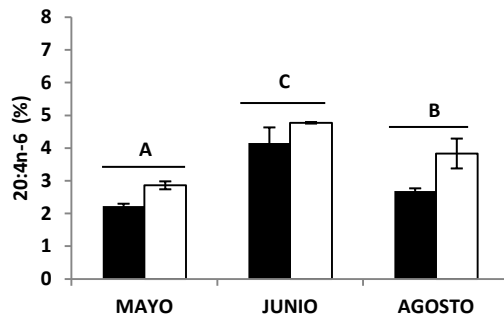
Ver tabla VI para nomenclatura. Los resultados del ANOVA bifactorial: NS = No Significativo, * = $P \leq 0,05$, ** = $P \leq 0,01$.

Los patrones de diferencias significativas para los ácidos grasos más relevantes de lípidos neutros y polares de larva pediveliger son muy similares (Fig. 25). Para el factor época se tuvo mayor porcentaje de 22:2j y ARA en junio en ambas

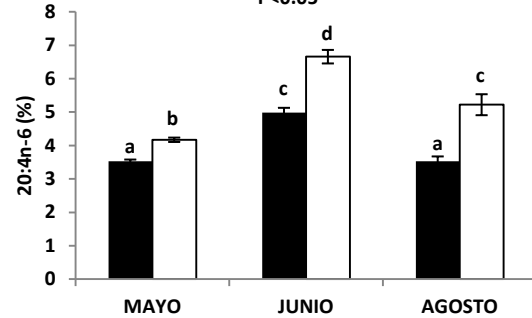
fracciones (neutra y polar). Adicionalmente, se observaron proporciones mayores de ARA en el grupo de bajo crecimiento en ambas fracciones. Se obtuvo un efecto significativo tanto del factor época para el EPA, con niveles más altos en junio y agosto, como del factor crecimiento, con un valor mayor en el grupo de bajo crecimiento. Sin embargo, tal y como lo muestra la interacción significativa, las diferencias entre ambos grupos de crecimiento sólo se observó en junio y agosto. Por otro lado, los niveles de DHA fueron mayores en el grupo de alto crecimiento en el cual también se obtuvieron niveles mayores en junio seguido de mayo. Lo anterior también se traduce en una relación DHA/EPA mayor para el grupo de alto crecimiento y una interacción significativa, donde los valores mayores se observan para los meses de mayo y junio para el grupo de alto crecimiento, mientras que para el grupo de bajo crecimiento los mayores niveles solo se presentan en el mes de mayo.



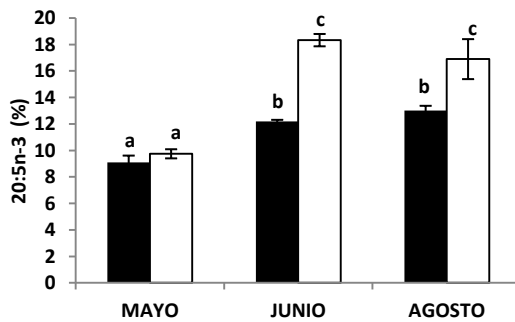
Epoca $P < 0.01$; Crecimiento $P < 0.05$; Epoca * Crecimiento = NS



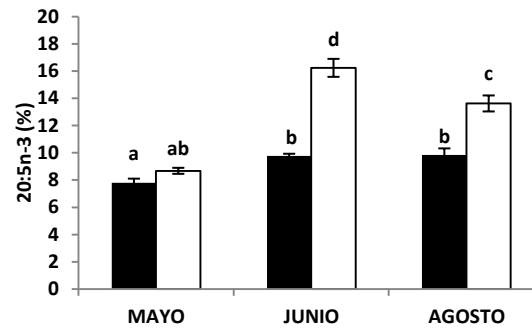
Epoca $P < 0.01$; Crecimiento $P < 0.01$; Epoca * Crecimiento $P < 0.05$



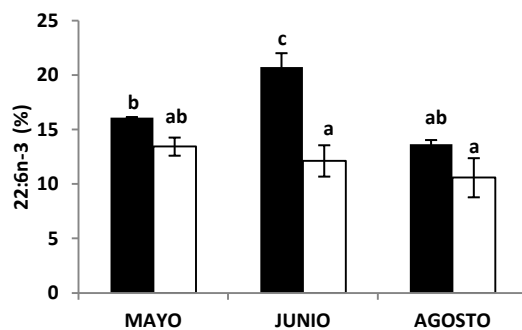
Epoca $P < 0.01$; Crecimiento $P < 0.01$; Epoca * Crecimiento $P < 0.01$



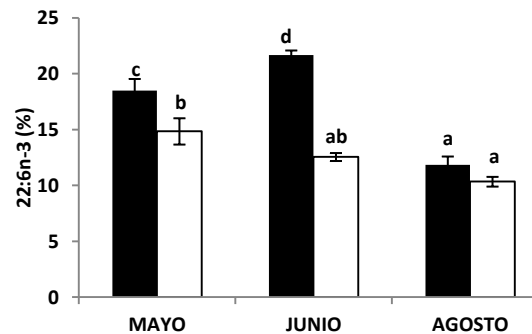
Epoca $P < 0.01$; Crecimiento $P < 0.01$; Epoca * Crecimiento $P < 0.01$



Epoca $P < 0.01$; Crecimiento $P < 0.01$; Epoca * Crecimiento $P < 0.05$



Epoca $P < 0.01$; Crecimiento $P < 0.01$; Epoca * Crecimiento $P < 0.01$



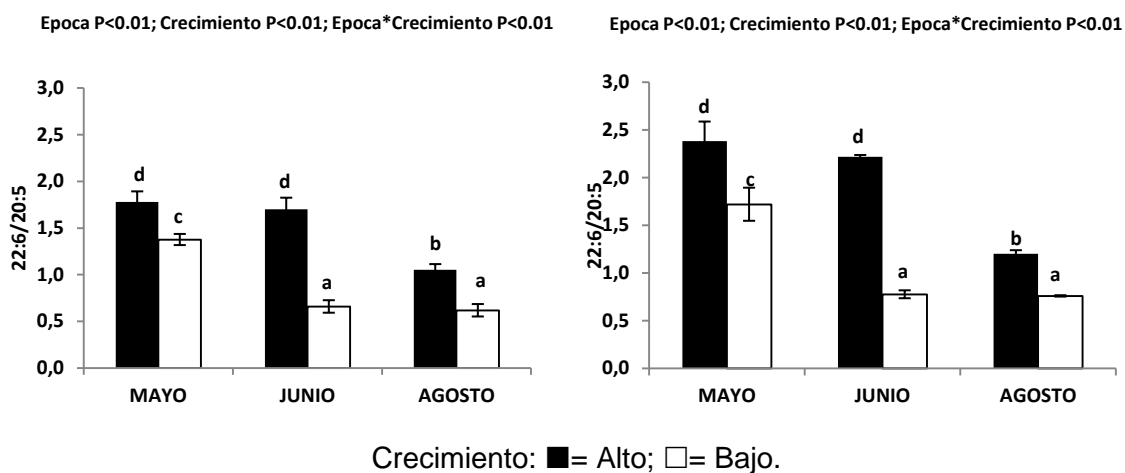


Figura 25. Porcentaje de ácidos grasos específicos de larva pediveliger de fracción neutra (columna izquierda) y fracción polar (columna derecha). Datos reportados como media \pm error estándar (n=3). Los datos fueron analizados como se reporta en la figura 21.

Respecto a lípidos neutros de postlarva (Tabla XII), se encontraron diferencias significativas entre épocas para todos los tipos de ácidos grasos (saturados, MUFA, PUFA y NMI's), mientras que entre grupos de crecimiento las diferencias significativas fueron menos marcadas, al igual que las interacciones. Respecto a lípidos polares (Tabla XIII), se encontraron pocas diferencias significativas en comparación a los lípidos polares de las larvas pediveligers a partir de las cuales fueron obtenidas. Así en el factor época solo se observó efecto significativo para los ácidos grasos menores: 14:0, 22:2i, 18:1n-7, 20:1n-11, 18:2n-6, 18:3n-3, 18:4n-3, EPA y en la relación 22:6/22:5. Por otro lado, para el factor grupo de crecimiento se tuvieron diferencias significativas en 16:1n-7, 18:2n-6, 18:3n-3, DHA y en la relación 22:6/22:5 donde se obtuvo la única interacción significativa. Se describen más a detalle las diferencias entre época y grupos de crecimiento para los ácidos grasos más relevantes (Fig. 26).

Tabla XII. Porcentaje de ácidos grasos en lípidos neutros de postlarva al día 2 post-fijación obtenida a partir de los grupos de larva pediveliger de alto y bajo crecimiento de las diferentes épocas de producción. Datos reportados como media \pm error estándar (n=3). Los datos fueron analizados como se reporta en la tabla X.

Acido graso	Crecimiento	MAYO	JUNIO	AGOSTO	E	GC	E*GC
14:0	Alto	4.2 \pm 0.2	0.9 \pm 0.0	3.7 \pm 0.2	**	NS	NS
	Bajo	4.7 \pm 0.9	1.3 \pm 0.0	4.2 \pm 0.2			
16:0	Alto	12.9 \pm 1.0	6.4 \pm 0.6	9.7 \pm 0.5	**	NS	NS
	Bajo	14.3 \pm 0.5	8.1 \pm 0.7	9.5 \pm 0.3			
18:0	Alto	5.0 \pm 0.1	4.9 \pm 0.7	4.0 \pm 0.1	NS	NS	NS
	Bajo	4.8 \pm 0.4	4.6 \pm 0.8	3.7 \pm 0.3			
Σ SAT	Alto	24.0 \pm 1.1	14.2 \pm 1.6	19.0 \pm 0.9	**	NS	NS
	Bajo	25.5 \pm 1.1	15.8 \pm 1.6	19.3 \pm 0.8			
20:2i NMI	Alto	0.6 \pm 0.1	0.6 \pm 0.0	0.7 \pm 0.0	NS	NS	NS
	Bajo	0.7 \pm 0.0	0.4 \pm 0.3	0.6 \pm 0.0			
20:2j NMI	Alto	0.2 \pm 0.0 ^a	0.4 \pm 0.0 ^c	0.3 \pm 0.0 ^b	**	**	**
	Bajo	0.2 \pm 0.0 ^a	0.7 \pm 0.0 ^d	0.3 \pm 0.0 ^b			
22:2i NMI	Alto	1.1 \pm 0.0	1.5 \pm 0.0	0.9 \pm 0.1	**	**	NS
	Bajo	0.8 \pm 0.1	0.9 \pm 0.0	0.6 \pm 0.0			
22:2j NMI	Alto	3.8 \pm 0.1	8.9 \pm 0.4	4.4 \pm 0.1	**	NS	NS
	Bajo	3.5 \pm 0.2	8.6 \pm 0.2	4.2 \pm 0.4			
Σ NMI	Alto	5.6 \pm 0.1	11.4 \pm 0.4	6.3 \pm 0.2	**	NS	NS
	Bajo	5.3 \pm 0.2	10.5 \pm 0.6	5.7 \pm 0.5			
15:1n-8	Alto	0.7 \pm 0.0	1.9 \pm 0.2	0.9 \pm 0.1	**	**	NS
	Bajo	0.5 \pm 0.0	1.3 \pm 0.1	0.6 \pm 0.1			
16:1n-9	Alto	1.8 \pm 0.2	2.0 \pm 0.1	1.7 \pm 0.3	NS	NS	NS
	Bajo	1.2 \pm 0.0	1.6 \pm 0.3	1.2 \pm 0.5			
16:1n-7	Alto	6.2 \pm 0.7 ^b	3.6 \pm 0.4 ^a	6.7 \pm 0.3 ^{bc}	**	**	**
	Bajo	7.7 \pm 0.3 ^{cd}	7.9 \pm 0.5 ^{cd}	8.5 \pm 0.3 ^d			
18:1n-9	Alto	6.5 \pm 0.2	2.3 \pm 0.1	6.1 \pm 1.0	**	NS	NS
	Bajo	7.0 \pm 0.7	1.9 \pm 0.4	3.9 \pm 0.0			
18:1n-7	Alto	6.8 \pm 0.7 ^{ab}	5.5 \pm 0.6 ^a	8.0 \pm 0.1 ^{bc}	**	**	**
	Bajo	7.5 \pm 0.1 ^b	8.5 \pm 0.6 ^d	9.2 \pm 0.2 ^{cd}			
20:1n-11	Alto	1.51 \pm 0.1	2.0 \pm 0.1	1.3 \pm 0.0	**	*	NS
	Bajo	1.4 \pm 0.0	1.9 \pm 0.0	1.2 \pm 0.1			
20:1n-7	Alto	3.3 \pm 0.2	4.7 \pm 0.1	3.8 \pm 0.1	**	NS	NS
	Bajo	3.4 \pm 0.0	4.6 \pm 0.1	4.2 \pm 0.1			
Σ MUFA	Alto	27.9 \pm 1.1	25.3 \pm 1.7	29.8 \pm 1.1	NS	NS	NS
	Bajo	29.6 \pm 0.8	30.4 \pm 1.1	29.7 \pm 0.8			
18:2n-6	Alto	3.4 \pm 0.0 ^b	1.7 \pm 0.1 ^a	5.6 \pm 0.2 ^d	**	**	**
	Bajo	3.1 \pm 0.2 ^b	1.4 \pm 0.1 ^a	4.2 \pm 0.0 ^c			
18:3n-3	Alto	2.4 \pm 0.2 ^c	1.2 \pm 0.1 ^b	3.2 \pm 0.1 ^d	**	**	*
	Bajo	2.2 \pm 0.1 ^c	0.9 \pm 0.1 ^a	2.4 \pm 0.1 ^c			
18:4n-3	Alto	5.3 \pm 0.3	1.7 \pm 0.1	3.3 \pm 0.1	**	**	NS

	Bajo	5.2±0.2	0.9±0.1	2.4±0.0			
20:4n-6	Alto	3.1±0.1	6.3±0.5	3.3±0.2	**	NS	NS
	Bajo	3.2±0.2	5.7±0.0	4.5±0.1			
20:5n-3	Alto	9.3±0.8 ^a	12.2±1.0 ^{bc}	12.7±0.8 ^c	**	**	*
	Bajo	10.2±0.5 ^{ab}	16.4±0.2 ^d	18.1±0.3 ^d			
22:5n-3	Alto	1.4±0.1	0.8±0.8	1.3±0.1	NS	NS	NS
	Bajo	1.3±0.1	0.7±0.6	1.1±0.1			
22:6n-3	Alto	14.5±1.1 ^b	21.8±0.7 ^c	13.2±0.8 ^{ab}	**	**	**
	Bajo	13.1±1.0 ^{ab}	14.1±0.1 ^b	10.9±0.3 ^a			
ΣPUFA	Alto	42.5±2.3	49.1±2.2	44.9±1.9	NS	NS	NS
	Bajo	39.6±1.8	43.3±0.1	45.4±0.4			
ΣHUFA	Alto	35.3±1.9	45.7±2.2	35.0±2.0	**	NS	NS
	Bajo	33.5±1.8	40.0±0.1	37.7±0.4			
Σ(n-6)	Alto	9.1±1.2	11.1±1.4	10.9±0.4	NS	NS	NS
	Bajo	7.4±0.2	9.2±0.2	10.3±0.4			
Σ(n-3)	Alto	33.4±1.0	38.0±2.5	34.0±1.6	NS	NS	NS
	Bajo	32.3±1.6	34.0±0.2	35.1±0.0			
(n-3)/(n-6)	Alto	3.7±0.4	3.6±0.5	3.1±0.1	NS	NS	NS
	Bajo	4.4±0.1	3.7±0.8	3.4±0.2			
22:6/20:5	Alto	1.6±0.3 ^{de}	1.8±0.1 ^e	1.0±0.0 ^{bc}	**	**	*
	Bajo	1.3±0.0 ^{cd}	0.9±0.0 ^{ab}	0.6±0.0 ^a			
Sat index	Alto	225.6±9.1	272.7±9.8	233.0±9.0	**	NS	NS
	Bajo	215.3±9.4	244.4±0.6	238.9±0.5			
20:4/20:5	Alto	0.3±0.0	0.5±0.1	0.3±0.0	**	NS	NS
	Bajo	0.3±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0			
Total AG ng larva ⁻¹	Alto	20.5±6.0 ^{cd}	3.8±0.68 ^a	15.4±5.15 ^{bc}	**	NS	**
	Bajo	9.4±1.20 ^{ab}	4.0±0.63 ^a	30.6±2.23 ^d			

Ver tabla VI para nomenclatura. Los resultados del ANOVA bifactorial: NS = No Significativo, * = $P \leq 0,05$, ** = $P \leq 0.01$.

Tabla XIII. Porcentaje de ácidos grasos en lípidos polares de postlarva al día 2 post-fijación obtenida a partir de los grupos de larva pediveliger de alto y bajo crecimiento de las diferentes épocas de desove. Datos reportados como media ± error estándar (n=3). Los datos fueron analizados como se muestra en la tabla X.

AG	MAYO	JUNIO	AGOSTO	E	GC	E*GC
14:0	1.4±0.3	0.7±0.0	1.5±0.2	**	NS	NS
	2.0±0.2	0.9±0.1	1.4±0.1			
16:0	14.7±1.1	11.9±0.7	12.0±1.3	NS	NS	NS
	18.0±2.4	13.5±3.4	10.9±0.1			
18:0	6.1±0.0	7.3±2.0	6.5±1.3	NS	NS	NS
	7.6±1.3	7.5±2.6	5.2±0.3			
ΣSAT	25.2±1.7	24.9±3.28	22.4±2.7	NS	NS	NS
	30.4±4.2	25.4±5.9	20.0±1.1			
20:2i NMI	0.6±0.2	0.4±0.1	0.4±0.0	NS	NS	NS
	0.4±0.1	0.4±0.1	0.5±0.1			

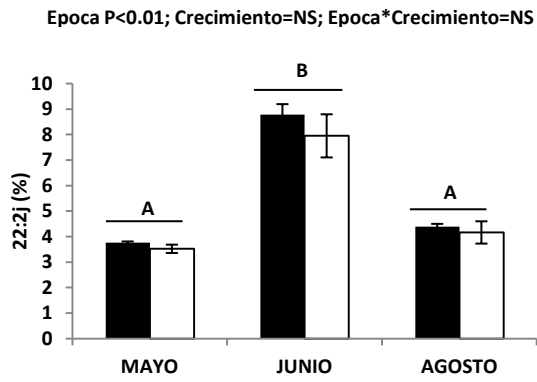
20:2j NMI	0.5±0.3	0.5±0.2	0.2±0.0	NS	NS	NS
	0.4±0.1	0.6±0.2	0.2±0.2			
22:2i NMI	1.7±0.0	1.0±0.3	1.4±0.2	*	NS	NS
	1.6±0.2	0.7±0.1	1.3±0.1			
22:2j NMI	6.2±0.8	6.5±1.2	7.4±0.6	NS	NS	NS
	4.8±0.6	6.3±0.1	8.0±0.5			
ΣNMI	9.0±0.4	8.4±1.3	9.4±0.8	NS	NS	NS
	7.2±0.4	8.1±0.3	10.0±1.0			
15:1n-8	1.5±0.2	1.6±0.1	1.5±0.0	NS	NS	NS
	1.4±0.7	2.5±1.1	1.2±0.2			
16:1n-9	0.9±0.6	1.7±0.2	1.7±0.1	NS	NS	NS
	3.2±0.5	2.8±1.6	1.5±0.2			
16:1n-7	1.9±0.0	1.1±0.1	1.5±0.2	NS	**	NS
	1.8±0.2	1.9±0.2	2.1±0.2			
18:1n-9	2.7±0.3	2.2±0.6	2.6±0.3	NS	NS	NS
	3.3±0.5	1.1±0.3	2.0±0.2			
18:1n-7	8.8±0.1	8.0±0.5	8.9±0.2	*	NS	NS
	9.0±0.6	8.5±0.3	10.5±0.5			
20:1n-11	4.0±0.2	2.9±0.5	3.2±0.1	*	NS	NS
	3.3±0.2	2.5±0.1	3.0±0.0			
20:1n-7	3.6±0.0	3.0±0.4	3.7±0.1	NS	NS	NS
	3.6±0.4	3.3±0.1	4.4±0.2			
ΣMUFA	25.4±1.8	24.2±0.8	24.9±0.8	NS	NS	NS
	28.1±0.5	25.5±2.0	26.2±0.7			
18:2n-6	2.4±0.2	1.8±0.1	4.0±0.1	**	**	NS
	2.1±0.3	0.9±0.0	2.9±0.1			
18:3n-3	1.0±0.1	1.2±0.3	1.8±0.1	**	*	NS
	0.9±0.2	0.4±0.0	1.5±0.2			
18:4n-3	1.5±0.1	0.7±0.0	1.6±0.1	**	NS	NS
	1.7±0.3	0.5±0.3	1.0±0.1			
20:4n-6	4.8±0.5	4.9±1.1	4.4±0.2	NS	NS	NS
	4.7±0.4	5.8±0.5	6.4±0.3			
20:5n-3	9.5±1.6	8.3±0.9	10.7±0.6	**	NS	NS
	7.8±1.2	10.6±0.3	14.0±0.9			
22:5n-3	1.1±0.7	1.5±0.5	1.6±0.2	NS	NS	NS
	1.1±0.2	0.8±0.5	1.4±0.2			
22:6n-3	15.5±2.5	17.8±2.3	16.2±2.2	NS	*	NS
	12.0±2.2	11.0±0.7	13.3±0.3			
ΣPUFA	40.4±3.2	42.6±3.2	43.3±2.7	NS	NS	NS
	34.5±3.8	41.1±7.6	43.9±1.3			
ΣHUFA	35.6±3.5	37.8±2.7	36.4±2.8	NS	NS	NS
	30.1±4.0	38.2±7.6	38.7±1.6			
Σ(n-6)	10.8±0.2	11.9±0.6	10.9±0.4	NS	NS	NS
	10.1±1.1	17.2±7.2	12.4±0.6			
Σ(n-3)	29.6±3.0	30.6±3.8	32.4±3.0	NS	NS	NS
	24.3±3.3	23.9±0.3	31.4±0.7			
(n-3)/(n-6)	2.7±0.2	2.6±0.4	3.0±0.3	NS	NS	NS
	2.4±0.3	1.7±0.7	2.5±0.0			

22:6/20:5	1.6±0.0 ^b	2.1±0.1 ^c	1.5±0.1 ^b	**	**	**
	1.5±0.1 ^b	1.0±0.1 ^a	0.9±0.0 ^a			
Sat index	220.7±17.9	232.6±17.3	230.3±15.3	NS	NS	NS
	191.7±20.7	226.0±34.4	234.4±7.4			
20:4/20:5	0.5±0.0	0.6±0.1	0.4±0.0	NS	NS	NS
	0.6±0.0	0.5±0.1	0.5±0.1			
Total AG ng larva ⁻¹	3.601±0.314	1.494±0.114	4.738±0.894	**	**	NS
	1.343±0.379	0.398±0.025	4.213±0.041			

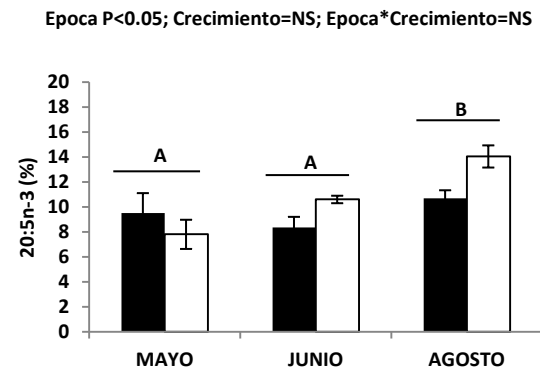
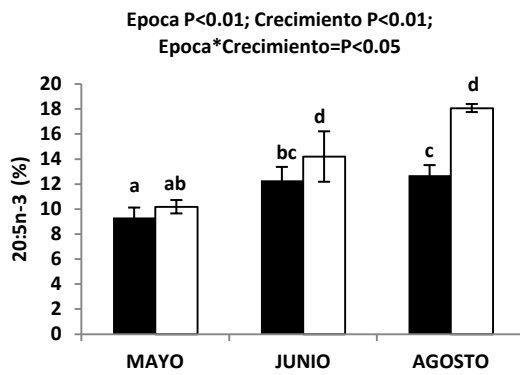
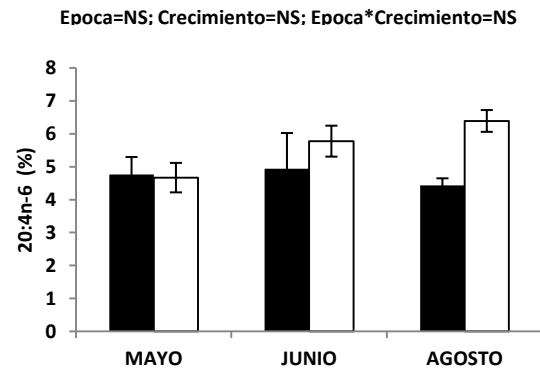
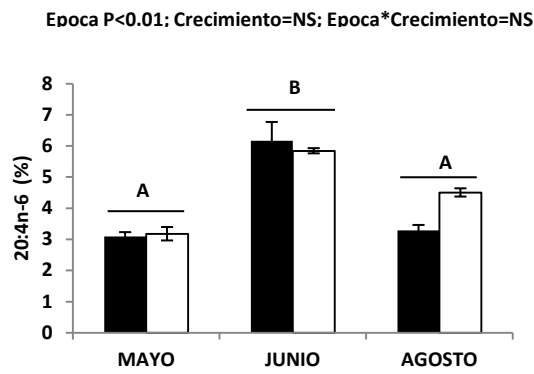
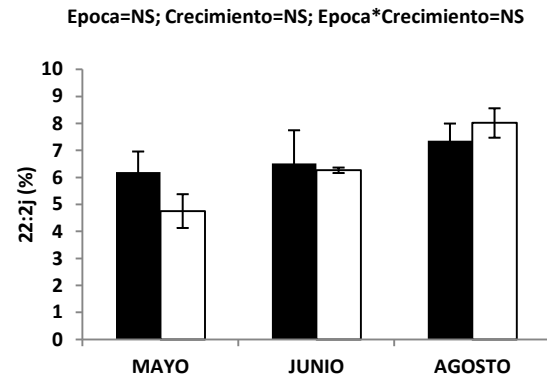
Ver tabla VI para nomenclatura. Los resultados del ANOVA bifactorial: NS = No Significativo, * = $P \leq 0,05$, ** = $P \leq 0.01$.

Para lípidos neutros de postlarva (Fig. 26) las diferencias significativas se presentaron principalmente entre épocas, con las proporciones más altas de 22:2j, ARA, DHA y 22:6/20:5 en junio. Para el EPA, se obtuvo una interacción significativa con niveles mayores para el grupo de bajo crecimiento, únicamente en junio y agosto. Asimismo, el efecto época fue diferencial dependiendo del grupo de crecimiento. En contraste, las proporciones de DHA fueron mayores en el grupo de alto crecimiento, únicamente en el mes de junio, mes en el cual además se observaron los niveles más altos, tal como lo indica la interacción significativa. La relación 22:6n-3/20:5n-3 resultante fue mayor en el grupo de alto crecimiento, excepto en el mes de mayo. Para lípidos polares se encontraron proporciones significativamente mayores de EPA en agosto. Lo anterior repercutió en una menor relación 22:6n-3/20:5n-3 en general para ese mes, aunque el efecto época fue diferencial dependiendo del grupo de crecimiento tal como lo indica la interacción significativa. Al igual que para lípidos neutros, esta relación fue mayor en el grupo de alto crecimiento, excepto en el mes de mayo.

FRACCION NEUTRA



FRACCION POLAR



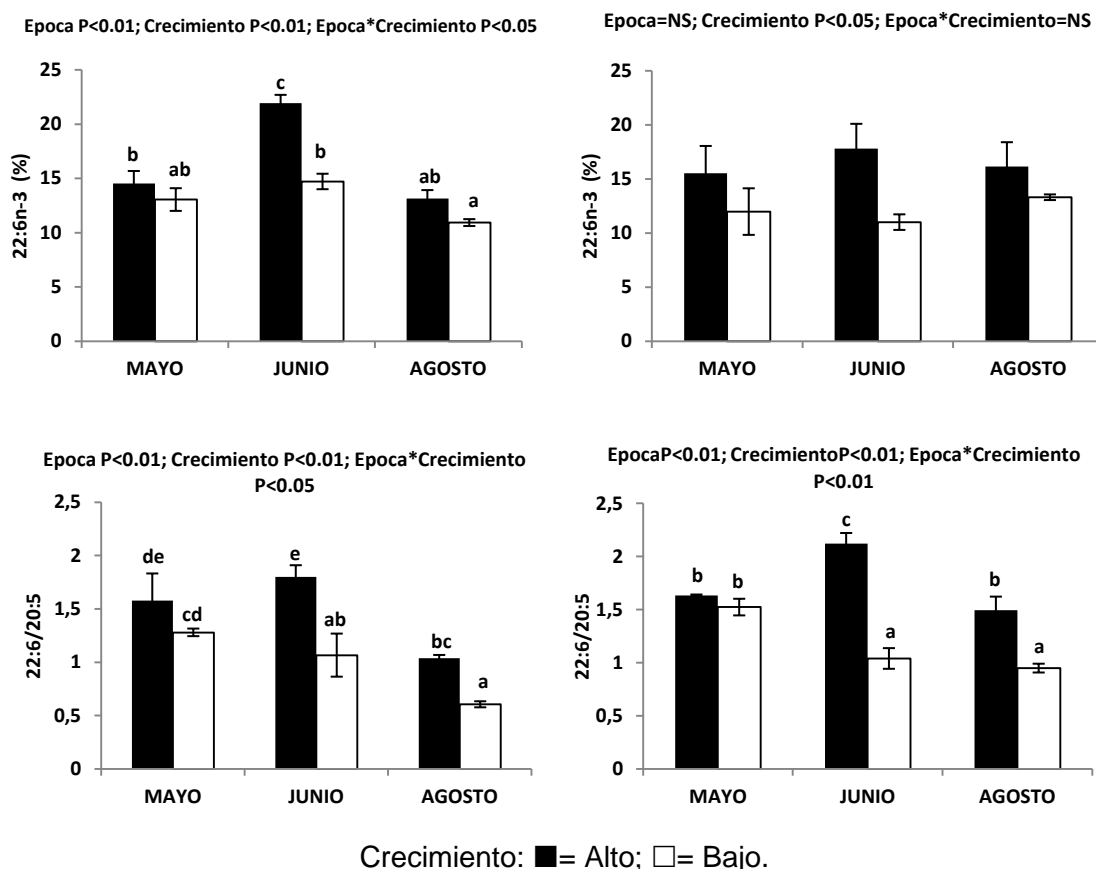


Figura 26. Porcentaje de ácidos grasos específicos de postlarva de fracción neutra (columna izquierda) y fracción polar (columna derecha). Datos reportados como media \pm error estándar (n=3). Los datos fueron analizados como se reporta en la figura 21.

En los cambios vistos en las proporciones de ácidos grasos de larva pediveliger a postlarva al día dos post-fijación, hubo una disminución del 14:0, 16:1n-7 y 18:1n-9 en lípidos neutros, y esta fue más acentuada en junio y en el grupo bajo crecimiento. Algo similar pasó con el 16:1n-7 y 18:1n-9 en lípidos polares. El 22:2j de lípidos neutros y polares aumentó y disminuyó, respectivamente, en mayor medida en junio y en el bajo crecimiento. Hubo mayor disminución del 18:4n-3 en lípidos neutros y polares de mayo en ambos grupos de crecimiento comparado con las otras épocas. En lípidos neutros el ARA aumentó en mayor medida en

junio. El DHA en lípidos neutros se acumuló en postlarva de junio y en mayor medida en el bajo crecimiento.

Respecto a los cambios en el total de saturados de lípidos neutros del alto crecimiento tienen relación con la VCPL debido a que hay solamente una disminución en junio, mientras que en lípidos polares por el contrario hubo mayores ganancias de saturados en junio en ambos grupos de crecimiento. Los MUFA de lípidos neutros disminuyeron en junio solamente. Los NMI's tanto de lípidos neutros y polares aumentaron y disminuyeron, respectivamente, en mayor medida en junio.

7.3 OBJETIVO III. CRITERIOS PREDICTIVOS Y DE EVALUACION DE LA CALIDAD LARVARIA

7.3.1 Parámetros zootécnicos

En la tabla XIV se muestran los coeficientes de correlaciones de una serie de variables que reflejan el desempeño en cultivo. El éxito de metamorfosis se correlacionó negativamente con el porcentaje de viabilidad de ovocitos. En contraste, la VCL Total estuvo correlacionada positivamente con el rendimiento de larva D. Por otro lado, la velocidad de crecimiento de la postlarva (VCPL) estuvo relacionada con la VCL Total y el tamaño de larva hasta ese punto.

Tabla XIV. Correlaciones significativas ($P < 0.05$) entre parámetros zootécnicos y variables morfométricas (ej. tamaños de ovocitos, larva D, pediveliger y postlarva).

Y	X	R ²	P
Tamaño larva D	% Viabilidad de ovocito	-0.48	0.037
% Metamorfosis	% Viabilidad de ovocito	-0.88	0.000
% Metamorfosis	Tamaño larva D	0.57	0.017
VCL total	% Larva D	0.71	0.004
Tamaño postlarva	% Larva D	0.46	0.043
Tamaño postlarva	VCL 1	0.62	0.010
Tamaño postlarva	VCL Total	0.58	0.016
VCPL	VCL Total	0.52	0.026
VCPL	Tamaño postlarva	0.85	0.000

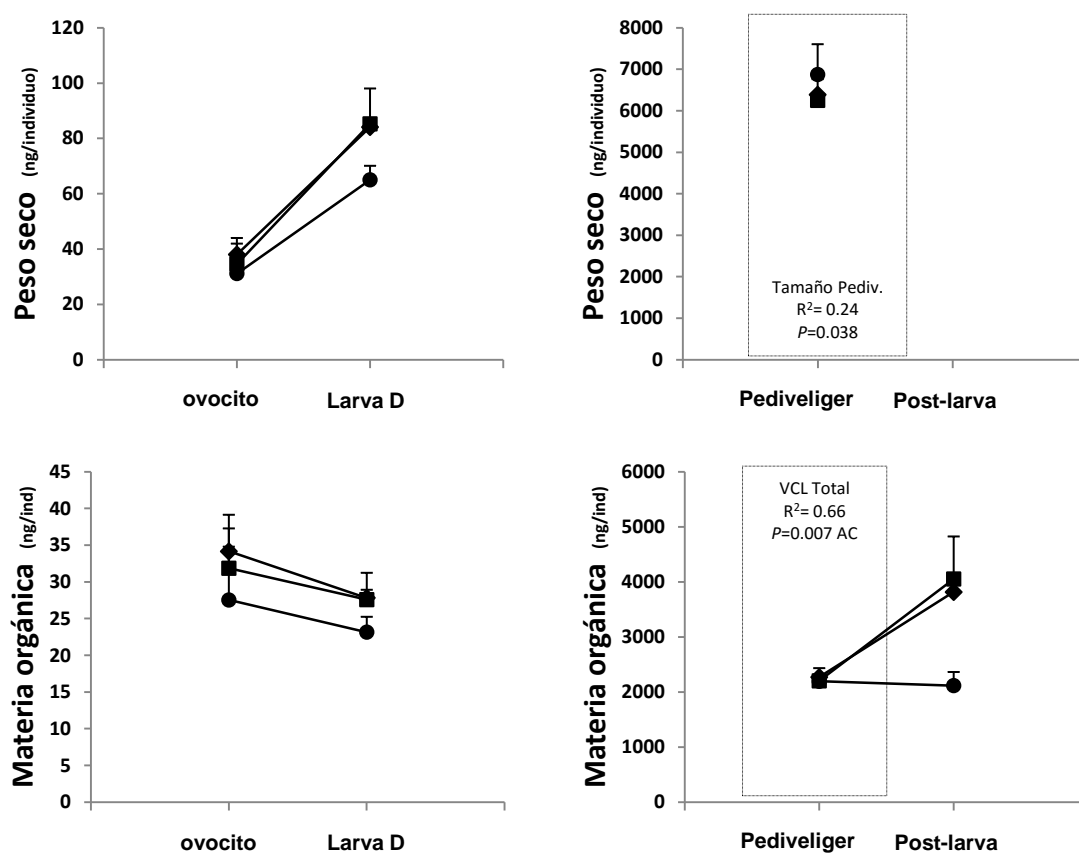
VCL 1= velocidad de crecimiento larvario de larva D al día 9. VCL total= velocidad de crecimiento larvario desde larva D a primera cosecha de larva pediveliger. VCPL= velocidad de crecimiento postlarvario al día 2 post-fijación.

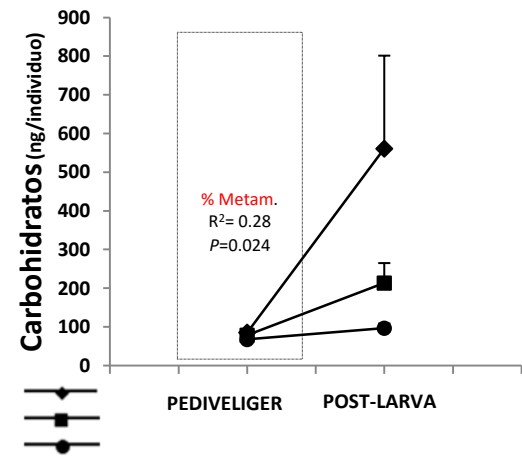
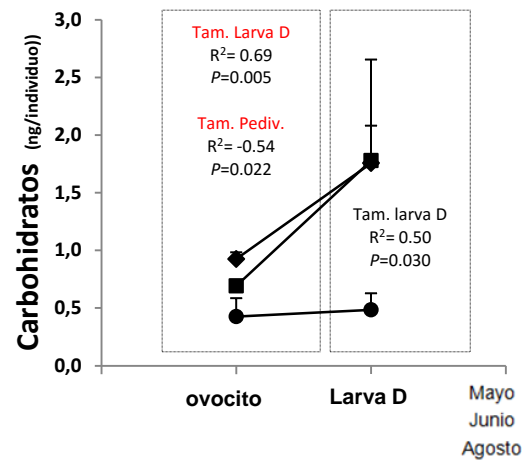
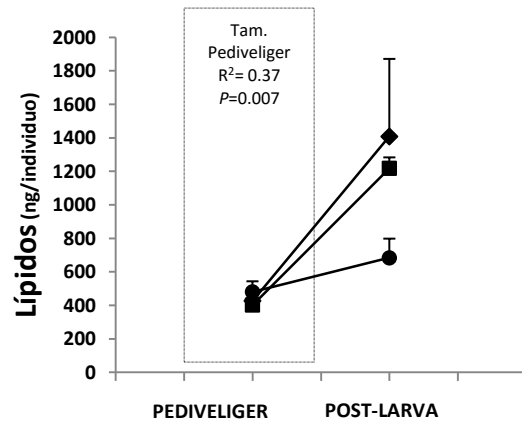
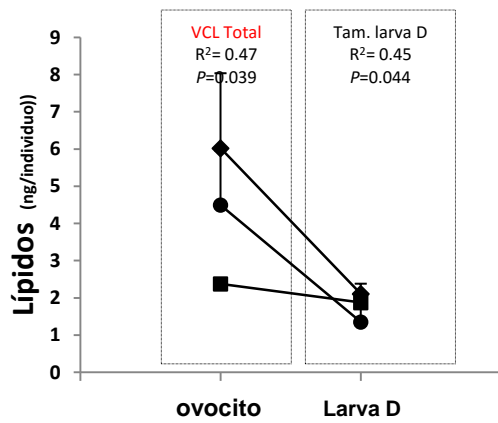
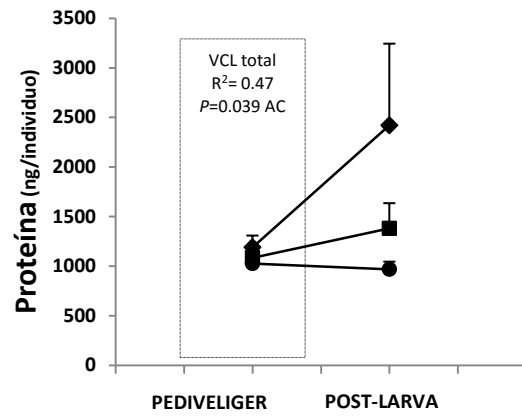
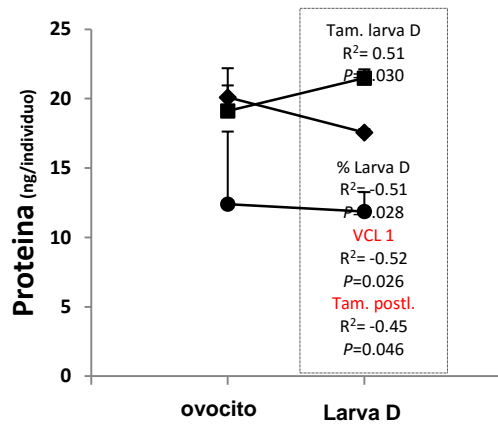
7.3.2 Parámetros bioquímicos

7.3.2.1 Bioquímica general

En la composición bioquímica en ng por individuo a través del desarrollo larvario (Fig. 27) se observa que el contenido de peso seco y de materia orgánica generalmente no correlacionaron significativamente al desempeño de los individuos, excepto el peso seco de la larva pediveliger con el tamaño de esta y la VCL Total con el contenido de materia orgánica en larva pediveliger. Por otro lado,

el rendimiento a larva D (% larva D) así como las velocidades de crecimiento al día 9 (VCL 1), larvario total (VCL total) y % metamorfosis se correlacionaron positivamente con el contenido proteico en larva D y pediveliger. La VCL Total, el tamaño de la larva D y el de larva pediveliger se correlacionaron con el contenido de lípidos en ovocito, larva D y pediveliger, respectivamente. El tamaño de la larva D y larva pediveliger se correlacionaron con el contenido de carbohidratos en ovocito, mientras que el % metamorfosis se correlacionó con los carbohidratos en larva pediveliger y los triglicéridos en larva D. El tamaño de larva D y de larva pediveliger se correlacionaron con los niveles de triacilglicéridos en larva D y la VCL Total con ese mismo componente en larva pediveliger, aunque diferencialmente para los grupos de alto y bajo crecimiento.





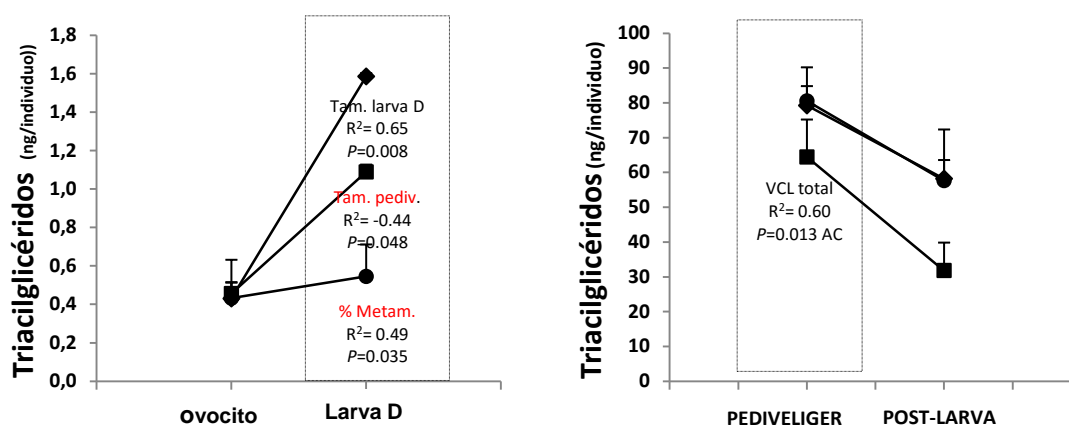
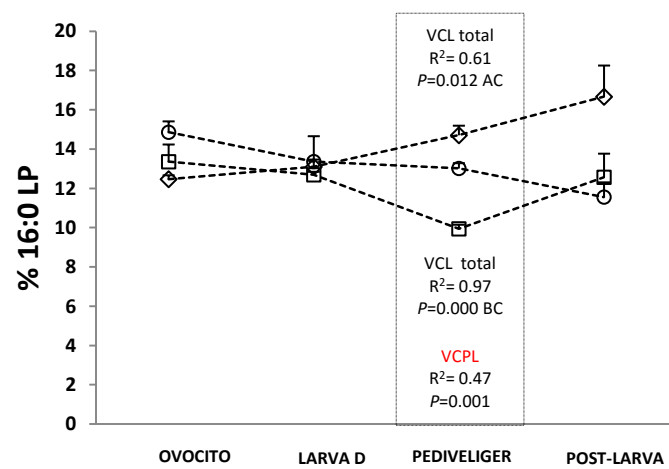
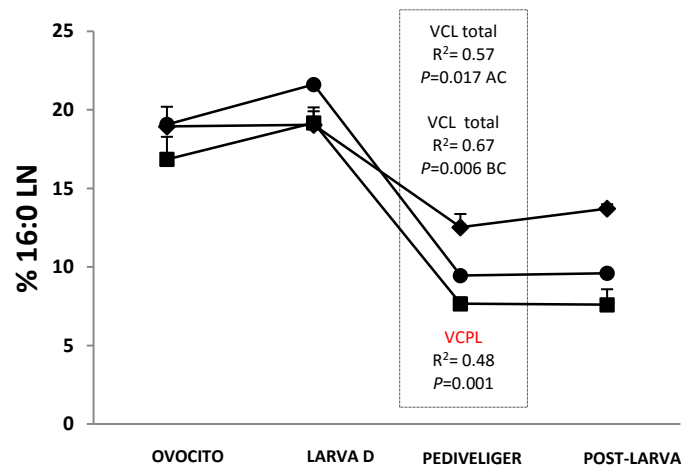
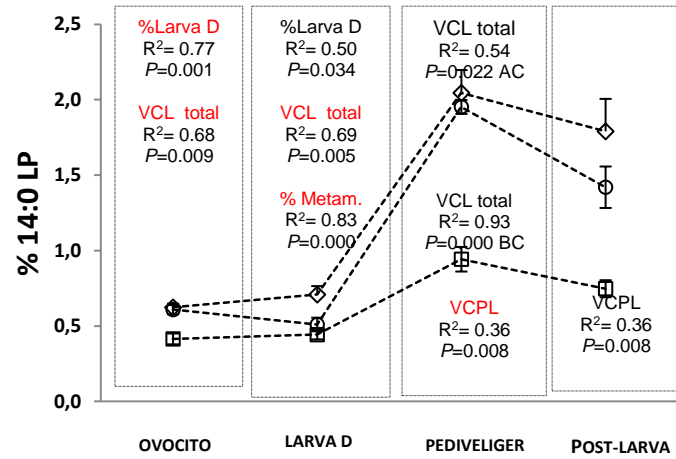
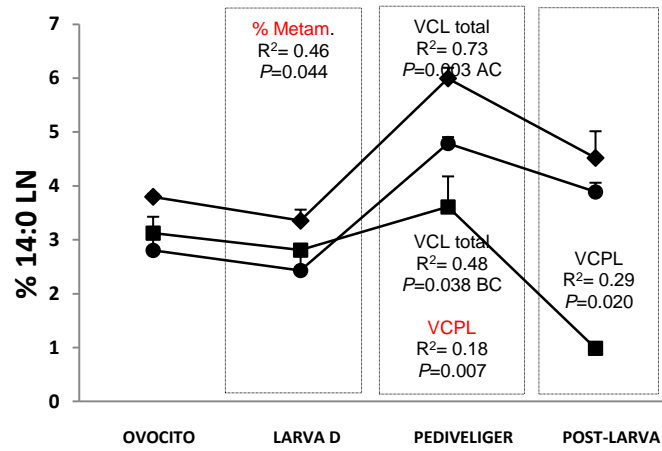


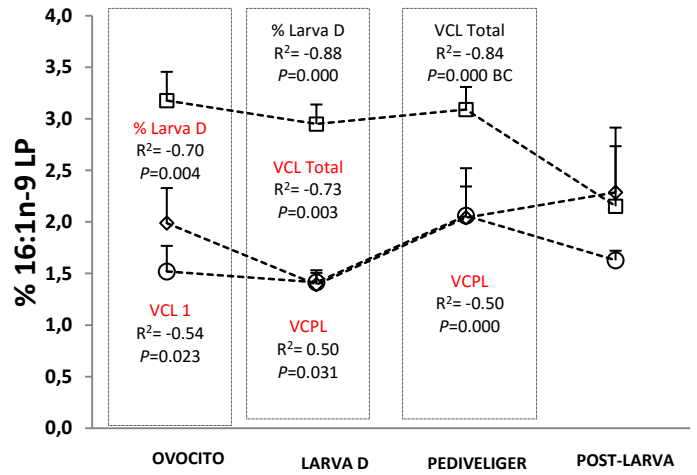
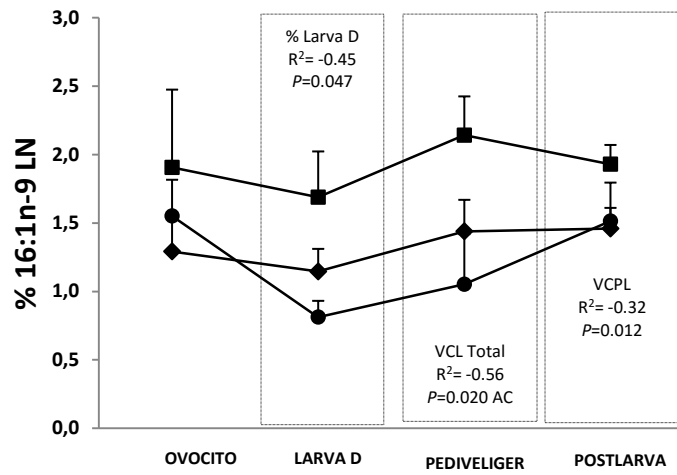
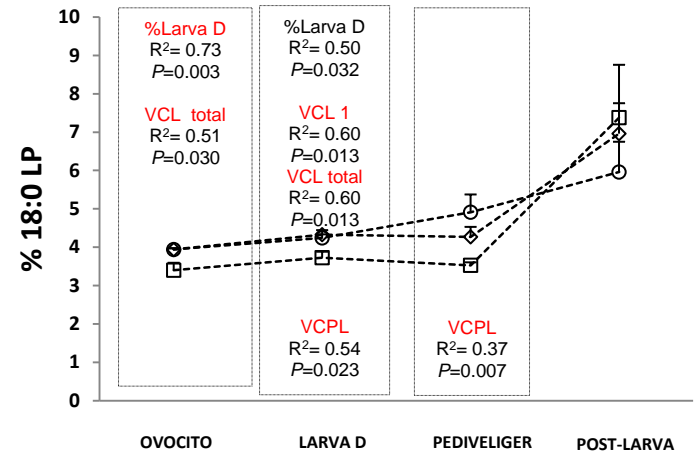
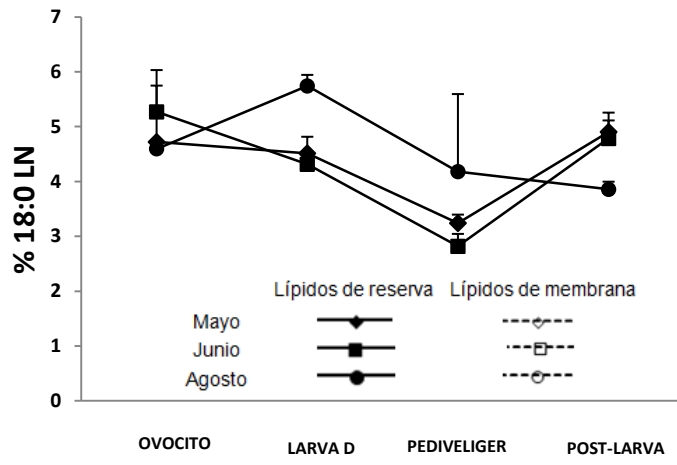
Figura 27. Correlaciones entre la composición bioquímica de la larva (ng individuo⁻¹) y los parámetros zootécnicos. Los datos de alto y bajo crecimiento se promediaron para graficar la composición bioquímica de larva pediveliger y postlarva. Las correlaciones en rojo pueden ser consideradas como criterios predictivos de calidad y en negro representan criterios de evaluación final (ver sección 6.6.1). VCL 1= velocidad de crecimiento larvario al día 9; VCL total= velocidad de crecimiento larvario hasta larva pediveliger; VCPL=Velocidad de crecimiento post-larval al día 2 post-fijación.

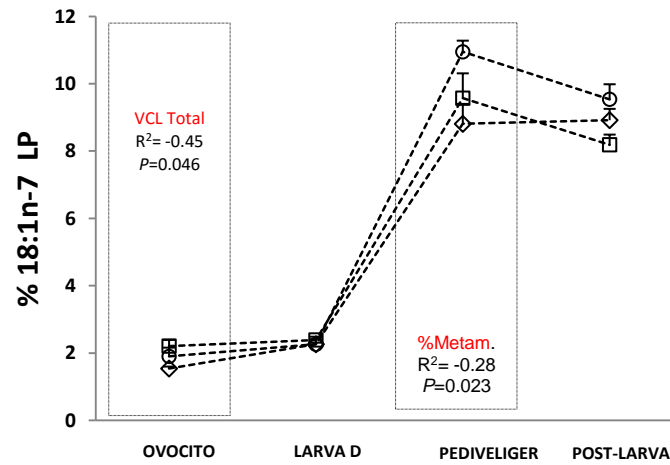
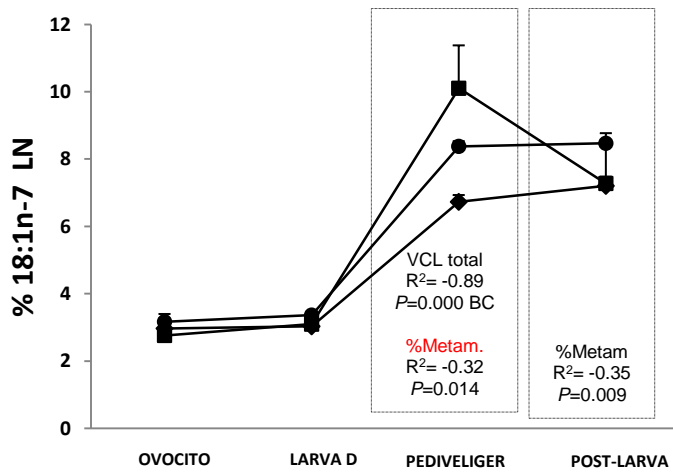
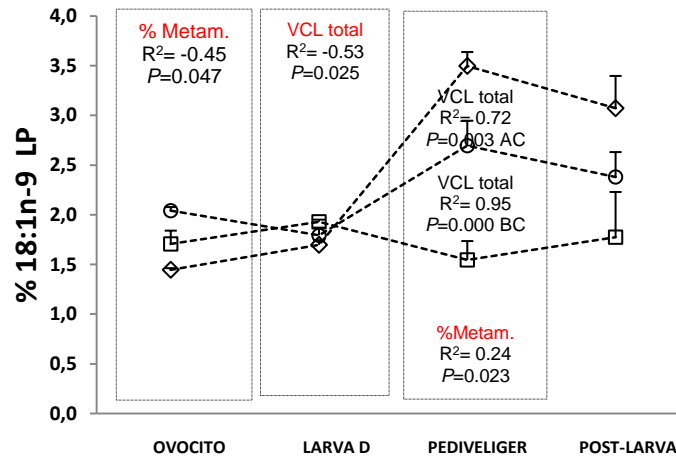
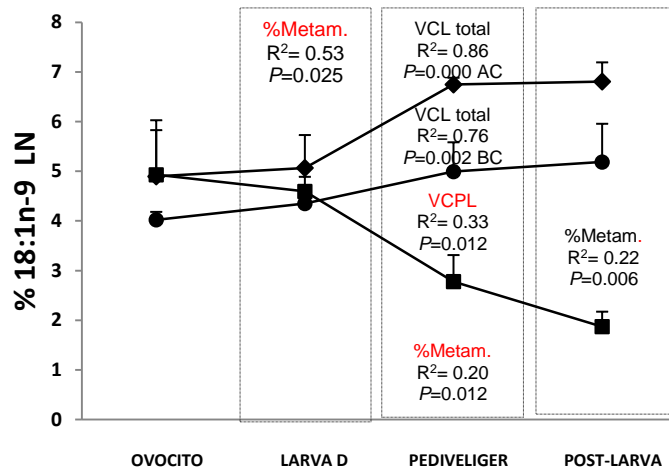
7.3.2.2 Ácidos grasos

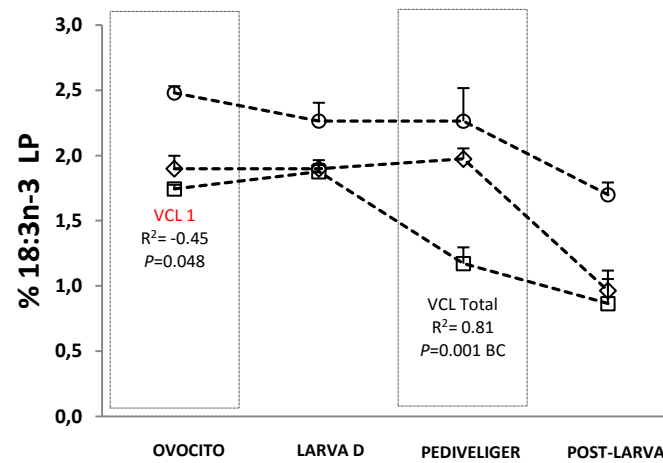
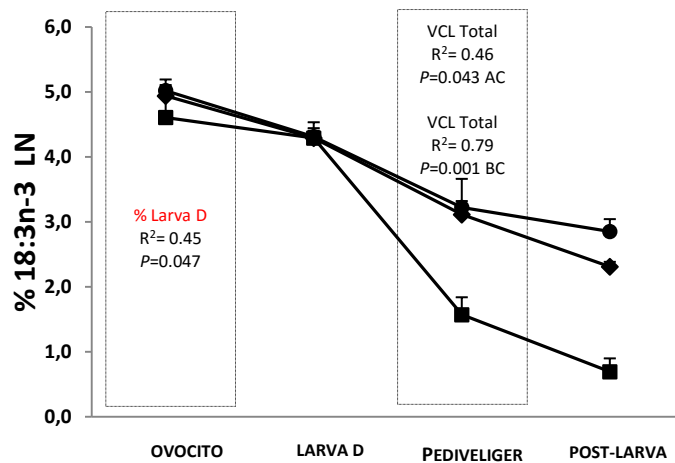
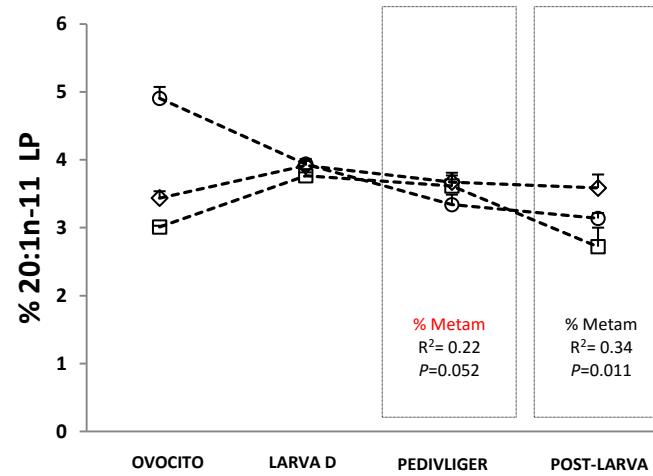
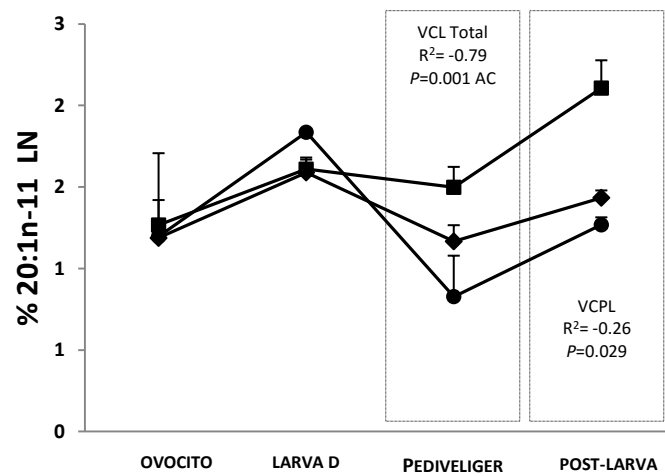
Se observa cómo fluctuaron las proporciones de algunos ácidos grasos seleccionados para realizar el análisis de correlación con parámetros productivos obtenidos (Fig. 28). El rendimiento a larva D estuvo correlacionado con la proporción de varios ácidos grasos en diferentes estadios como son el 14:0, 18:0, 16:1n-9 de lípidos polares en ovocito y larva D, el 16:1n-9 de lípidos neutros en larva D, el 18:3n-3 y el 22:5n-3 de lípidos neutros o el EPA de lípidos polares de ovocito. La velocidad de crecimiento larvario hasta la premetamorfosis (VCL Total) estuvo correlacionada de manera positiva con algunos ácidos grasos contenidos en lípidos polares tanto en ovocito como larva D como el 14:0, 18:0, el 18:1n-9 en larva D y el EPA en ovocitos. Negativamente se correlacionó con el contenido del 16:1n-9 en larva D, y el 18:1n-7 de ovocitos, ambos en lípidos polares. Por otro lado, la VCL Total estuvo mayormente correlacionada al contenido de larva pediveliger de algunos ácidos grasos contenidos tanto en lípidos polares como

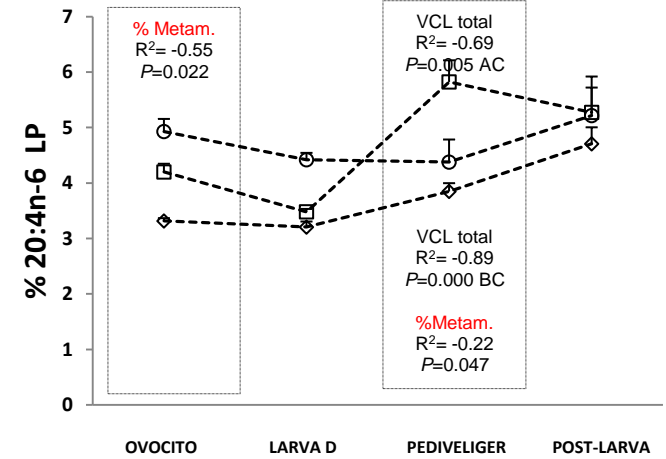
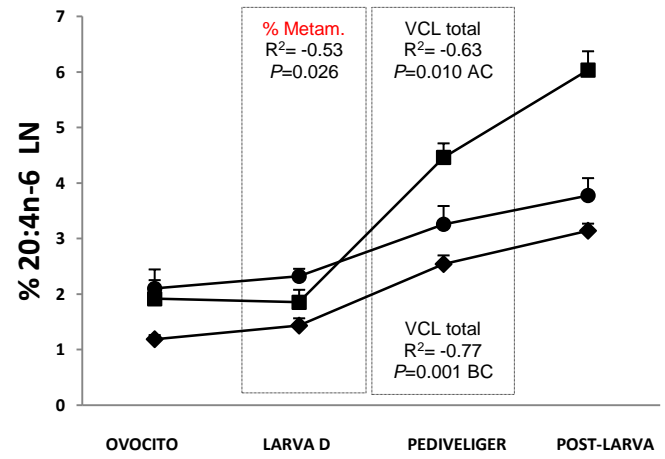
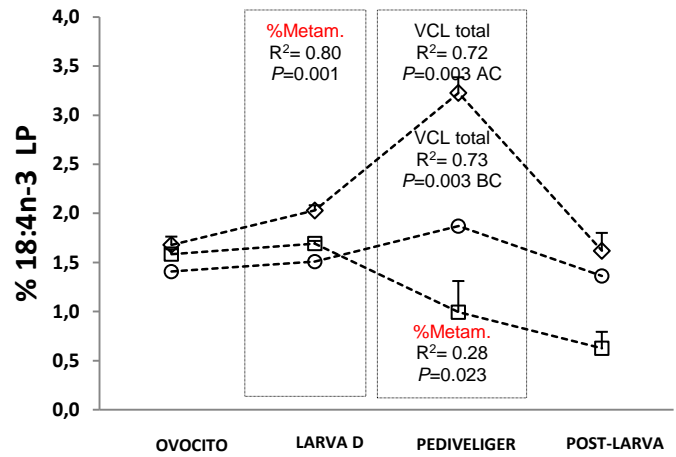
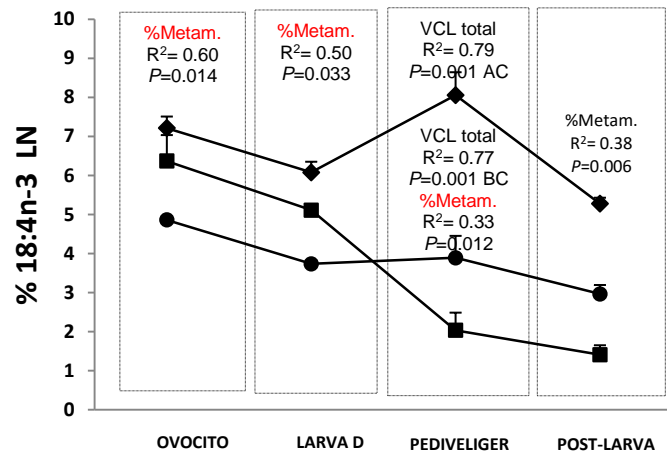
neutros, es el caso del 14:0, 16:0, 16:1n-9, 18:1n-9, 18:3n-3, 18:4n-3, ARA, EPA, y del 18:1n-7, 20:1n-11 y 22:5n-3 en lípidos neutros. La velocidad de crecimiento postlarval (VCPL) estuvo correlacionada al contenido en larva D del 18:0 en lípidos polares, sin embargo, estuvo mayormente correlacionada al contenido en larva pediveliger del 14:0 y 16:0 de lípidos neutros y polares, además con el 18:0 de lípidos polares y el 18:1n-9 de lípidos neutros. El % de metamorfosis estuvo correlacionado a la composición de la larva D en 14:0 de lípidos neutros y polares, al 18:1n-9 en larva D y ovocito (lípidos neutros y polares, respectivamente), 18:4n-3 de ovocito de lípidos polares y al de larva D en lípidos neutros y polares. Además al ARA en larva D y ovocito (lípidos neutros y polares, respectivamente). Por último, el % de metamorfosis estuvo mayormente asociado a la composición de la larva pediveliger en 18:1n-9, 18:1n-7, 18:4n-3, EPA y DHA en lípidos neutros y polares, así como al 20:1n-11 y ARA en lípidos polares.

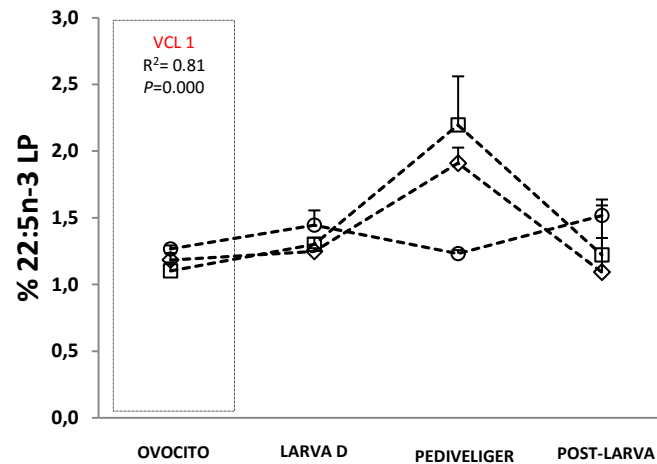
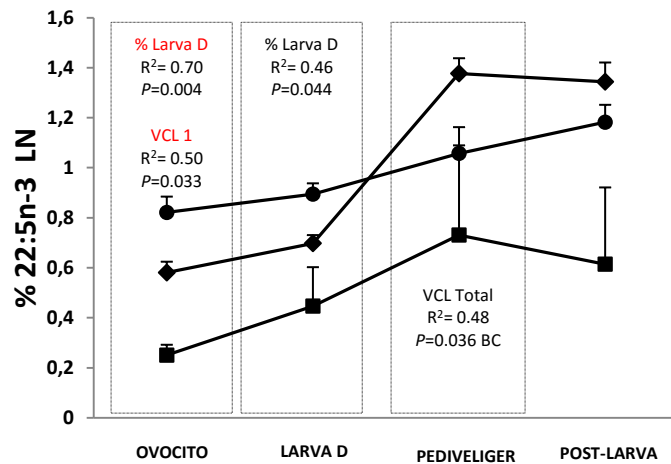
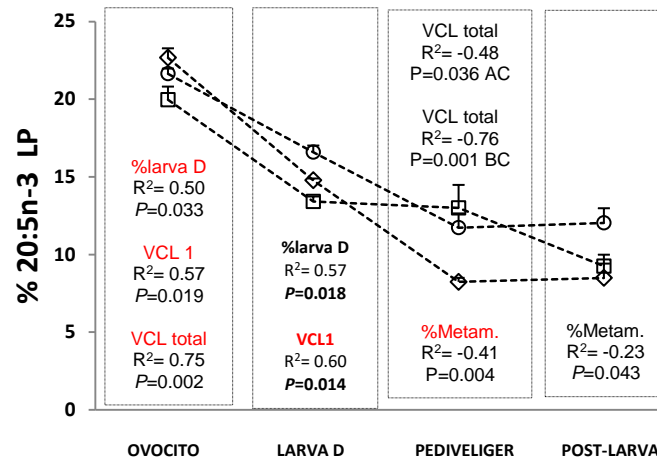
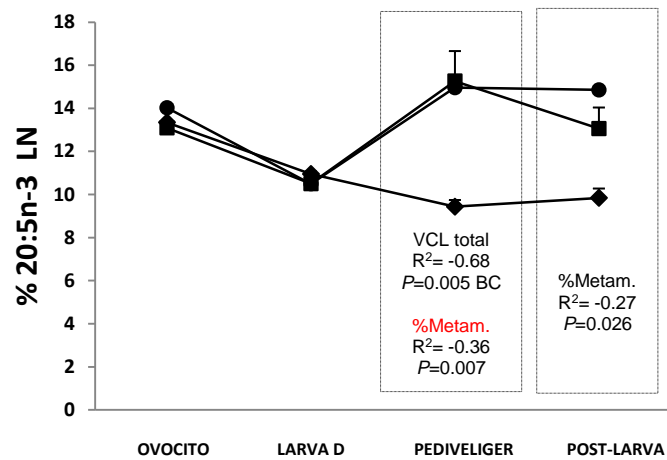












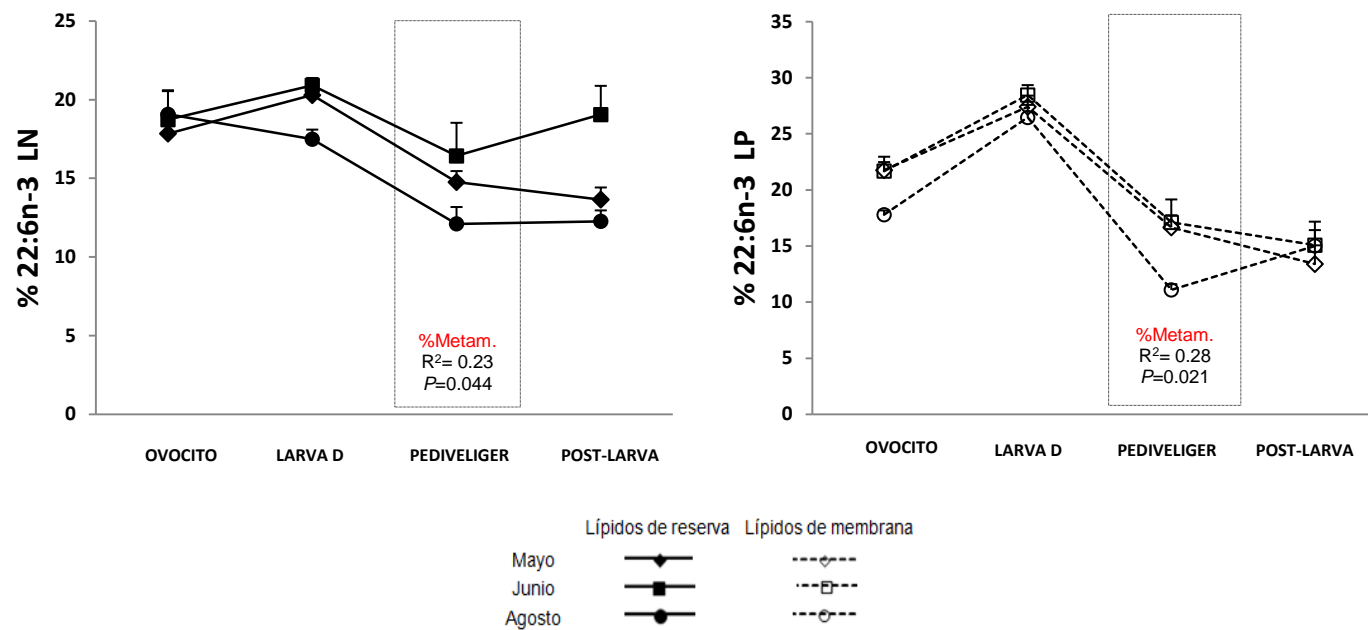
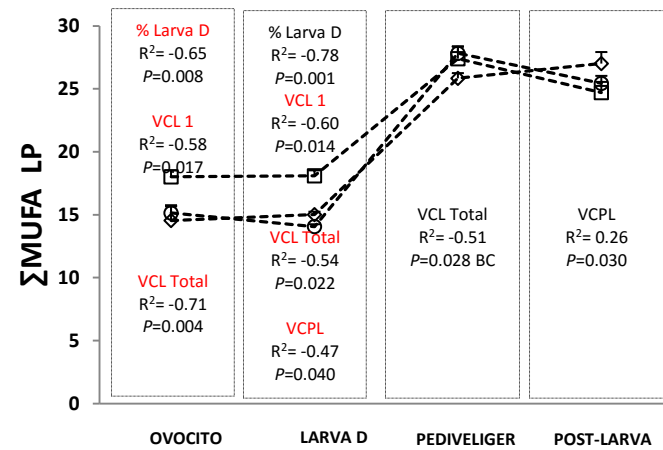
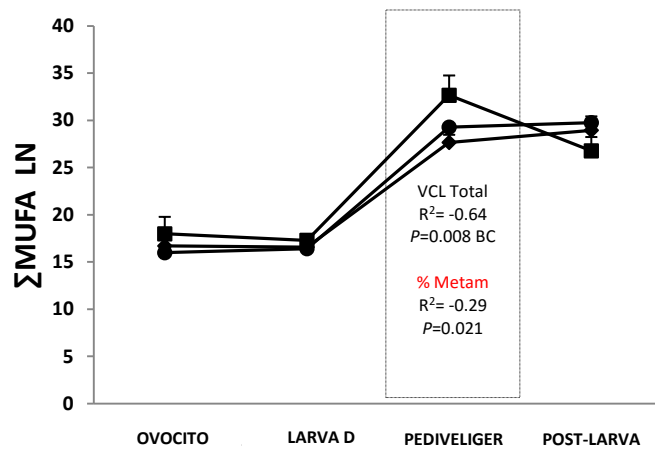
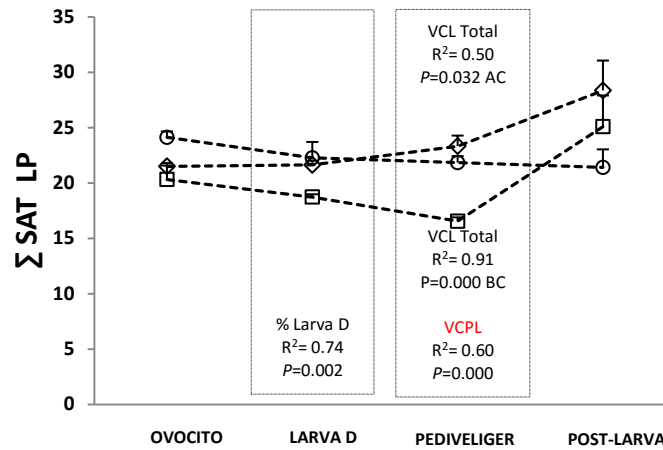
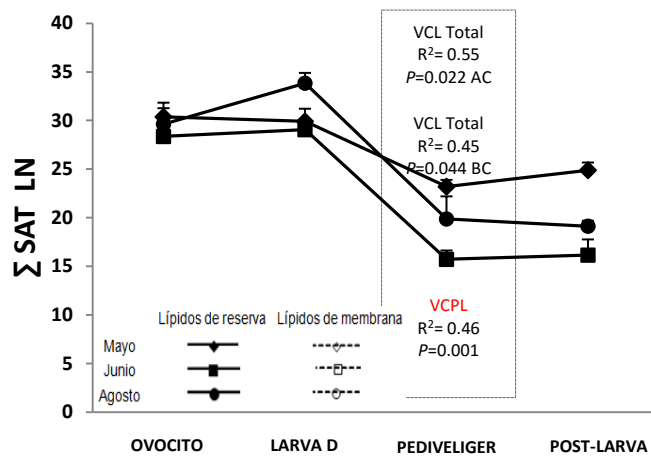
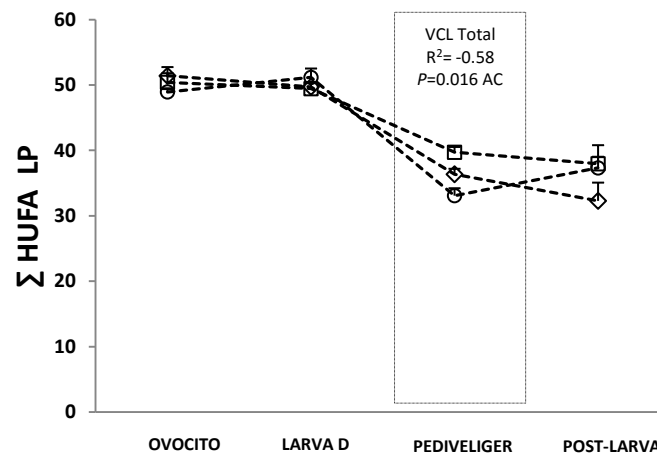
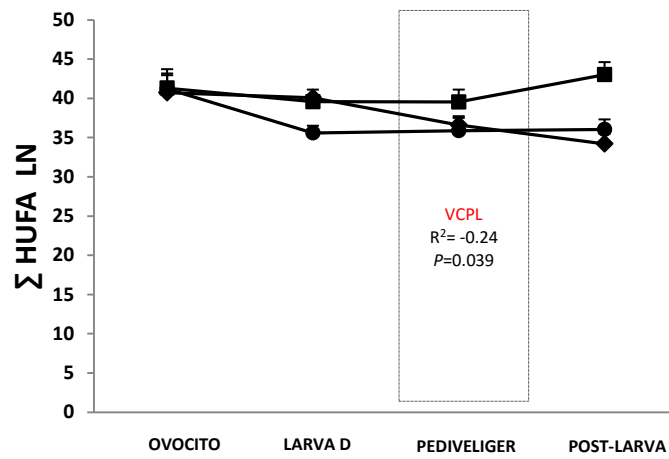
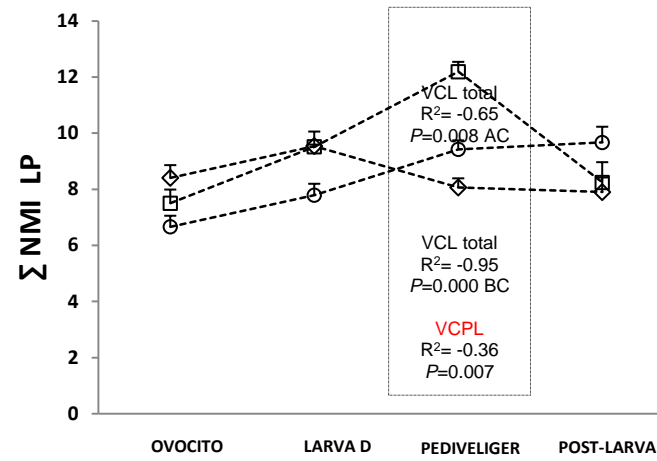
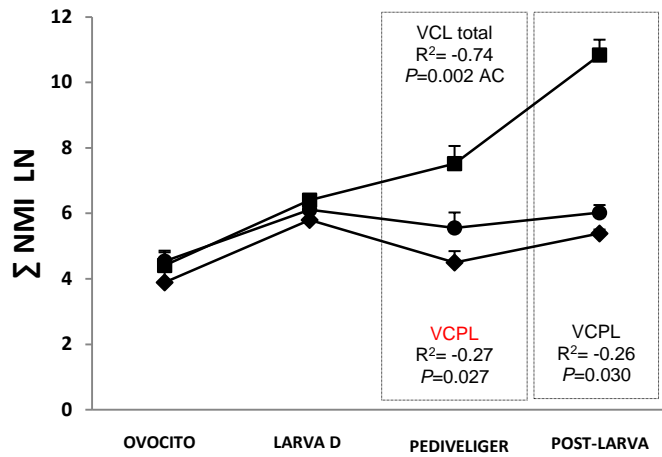


Figura 28. Correlaciones significativas ($P<0.05$) entre parámetros zootécnicos y la composición en porcentaje de algunos ácidos grasos desde fracción neutra (columna izquierda) y fracción polar (columna derecha). Las correlaciones se analizaron como lo descrito en la figura 27.





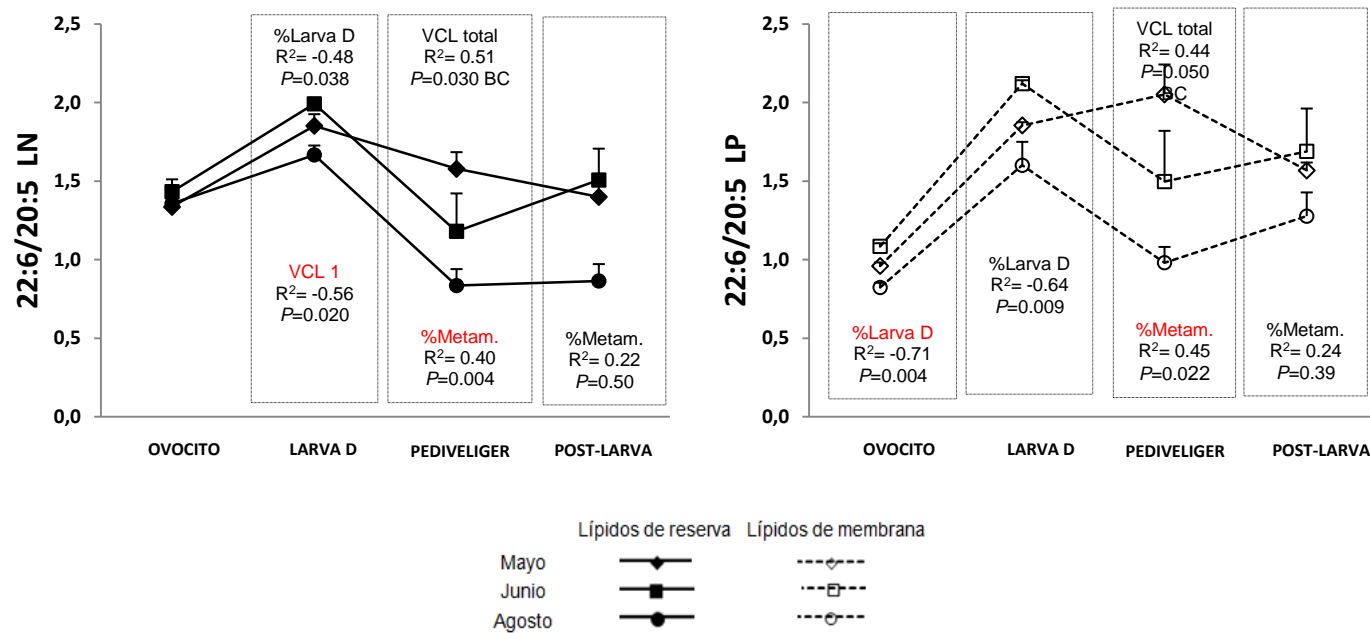


Figura 29. Correlaciones significativas ($P < 0.05$) entre parámetros zootécnicos y la composición en porcentaje de ácidos grasos: Σ SAT, Σ MONO, Σ NMI, Σ HUFA y 22:6/20:5 de fracción neutra (columna izquierda) y fracción polar (columna derecha). Las correlaciones se analizaron como lo descrito en la figura 27.

El porcentaje de larva D se relacionó al contenido del total de saturados (Σ SAT) de lípidos polares en larva D, así como al contenido de Σ MUFA de lípidos polares en ovocito y larva D, además a la relación 22:6/20:5 desde lípidos neutros (en ovocito) y lípidos polares (en ovocito y larva D). La VCL Total se correlacionó a la composición de Σ MUFA de lípidos polares en ovocito y larva D, sin embargo, este parámetro siguió mayormente correlacionado con la composición de la larva pediveliger en Σ SAT, Σ MUFA, Σ NMI, y la relación 22:6/20:5 tanto en lípidos neutros y polares y a la Σ HUFA de lípidos polares. Por otro lado, la VCPL se relaciono desde la larva temprana únicamente al contenido de Σ MUFA de lípidos polares en larva D, mientras que principalmente se vio relacionada a la composición de Σ SAT, Σ NMI (lípidos neutros y polares) y Σ HUFA (lípidos neutros) en la larva pediveliger. Por último el % metamorfosis se relacionó únicamente a la composición de la larva pediveliger en Σ MUFA (lípidos neutros) y 22:6/20:5 de lípidos neutros y polares (Fig. 29).

8. DISCUSION

8.1 VALORES OBTENIDOS EN EL PRESENTE TRABAJO

Antes de analizar los efectos particulares de la época reproductiva sobre la calidad larvaria así como la pertinencia de seleccionar las larvas de mayor crecimiento, es necesario comparar los valores de desempeño en cultivo así como de la composición bioquímica en distintos estadios con lo reportado en la bibliografía con el fin de validar los datos obtenidos. Las tallas alcanzadas de larva D a las 24 h post-fertilización (69 a 76 μm) y las velocidades de crecimiento larvario en la primera semana (VCL1: 6 a 9.5 $\mu\text{m d}^{-1}$) fueron similares (69 μm y 8.8 a 9.6 $\mu\text{m d}^{-1}$) a las reportadas en la misma especie por Caers *et al.* (2002). Después del inicio de la alimentación (día 7-9), el crecimiento se incrementó y la velocidad de crecimiento hasta larva pediveliger alcanzada en este trabajo fue de 11.3 a 16.4 $\mu\text{m d}^{-1}$ que puede considerarse como adecuada y refleja condiciones estándar de cultivo larvario en las cuales se reportan 15 a 16 $\mu\text{m d}^{-1}$ (Bartlett, 1979; Ben-Kedher *et al.*, 2010).

La composición bioquímica de ovocitos y larvas puede reportarse en términos de concentración absoluta por individuo o relativa en relación al peso húmedo, seco total o libre de cenizas (“ash free dry weight”) que vendría siendo equivalente a la materia orgánica. En el presente trabajo, se reportan los resultados en concentración absoluta (ng individuo⁻¹) que implicó estimar el peso individual a partir de un alícuota en la cual se registraba el peso y se hacía el conteo de larvas, lo cual permite estimar ganancias o pérdidas de determinados componentes en fases críticas. En ovocitos, la cantidad de materia orgánica así como la composición absoluta por ovocito es similar a la reportada por Massapina *et al.* (1999) en *C. gigas*, que reporta valores de 15 a 30 ng de materia orgánica por ovocito, de los cuales los componentes mayoritarios corresponden a 10 a 15 ng de proteínas y 5 a 10 ng de lípidos, similar a lo reportado en este trabajo. Por otro lado y gracias a la estimación de cenizas, en el Anexo se reporta la concentración

relativa con respecto a la materia orgánica, que también es una forma común de reportar composición bioquímica en larvas de moluscos cuyo contenido de cenizas aumenta considerablemente a lo largo del desarrollo debido a la formación de concha (Whyte *et al.*, 1990). En este sentido, la concentración de proteínas (50% de la materia orgánica) fue similar a la reportada por Whyte *et al.*, (1990; 1992) pero la concentración de lípidos fue considerablemente mayor tanto en ovocito (34 a 53% de la materia orgánica), como en larva D (33 a 43% de la materia orgánica) comparado con los valores reportados por Whyte *et al.* (1990, 1992) con valores de 22 a 27% en ovocito y de 12 a 21% en larva D. Finalmente, los carbohidratos representan claramente un componente minoritario con 2.7 a 5.6 % de la materia orgánica de ovocitos y larva D, respectivamente, similar a lo reportado por otros autores (Whyte *et al.*, 1990, 1992)

En cuanto a la composición de ácidos grasos, son pocos los trabajos publicados respecto a los cambios en que se dan durante esta etapa del desarrollo temprano de la larva de *C. gigas*. Para ovocitos, la composición es similar a lo reportado por Caers *et al.* (2002) y Da Costa *et al.* (2015). Con respecto a la variación de ácidos grasos desde ovocito a larva D, los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y polinsaturados fueron muy constantes durante la embriogénesis tanto en lípidos neutros como polares, similar a lo observado por Marty *et al.* (1992) con larvas de *Pecten maximus*.

Las disminuciones significativas en las proporciones de ácidos grasos de ovocito a larva D se observan casi exclusivamente en los PUFA's de la serie n-3 (excepto en el DHA). El 18:3n-3 disminuye principalmente en lípidos neutros de 4.9 a 4.3%, al igual que el 18:4n-3 de 6.14 a 4.2%. Por otro lado, el EPA en lípidos neutros disminuye de 13.5 a 10.6% y en lípidos polares de 21.4 a 14.0%. Lo anterior coincide con cierta función energética del EPA, en contraste con el DHA, tal como se ha observado para larvas de *Crassadoma gigantea* (Whyte *et al.*, 1990), *Ostrea edulis* (Helm *et al.*, 1991) y *Pecten maximus* (Marty *et al.*, 1992). Por el contrario, el aumento en la proporción del DHA (de 20.4 a 27.4% de ovocito a larva D) indica

cierta retención particular de este ácido graso que concuerda con su rol principal en la función estructural y funcional de membranas celulares involucradas en la formación de la larva D (Soudant *et al.*, 1995).

8.2 CALIDAD LARVARIA TEMPRANA DE *C. gigas* EN RELACION A LA TEMPORADA REPRODUCTIVA EN CAMPO.

8.2.1 Condición de los reproductores obtenidos en la temporada de desoves.

La temporada de desoves de *C. gigas* en el sitio de cultivo se considera del mes de mayo a septiembre, entre temperaturas que van de los 19 a 25°C (Danigo, com. pers.). Para el caso de la zona de cultivo donde se colectaron los reproductores, la temperatura media anual oscila entre 18 y 22°C (Programa Maestro Ostión Baja California Sur, 2011). Anteriormente ya han sido reportados los periodos reproductivos de esta especie en la región bahía de San Quintín, Baja California de mayo a septiembre, con temperatura anual de 20-25 °C (Cáceres-Martínez *et al.*, 2004).

El análisis de la actividad reproductiva es más preciso cuando se usa un análisis cuantitativo, dado que así se obtienen datos continuos que permiten hacer comparaciones estadísticas. El área ocupada por las gónadas con respecto al tejido somático o área de cobertura de las gónadas (ACG) es muy común para determinar el grado de desarrollo gonádico, particularmente en una especie como el ostión con gónada difusa (Enríquez-Díaz *et al.*, 2009).

En la zona de estudio de la Laguna de San Ignacio B.C.S, el ACG para *C. gigas* registró un alto grado de desarrollo gonádico en mayo y junio (ACG mayor de 65.5 % y 71% respectivamente) para posteriormente disminuir en agosto (26.4% en hembras), mes que se consideró como el final de la temporada de desoves. Haciendo una comparación con los resultados de Rodríguez-Jaramillo, (2014) en Bahía de Ceuta, Sinaloa, para la misma especie se obtuvo un ACG máxima de 54% en el pico de madurez en abril para luego disminuir en junio (33.6%) y llegar

a 10.5% al final de la temporada de desoves en octubre. De esta manera al parecer los ostiones cultivados en el estero El Cardón en B.C.S. tienen mejores condiciones para la reproducción que aquellos cultivados en Bahía de Ceuta en Sinaloa, en donde la temperatura máxima en verano alcanza los 32°C. En contraste, el periodo reproductivo de *C. gigas* de poblaciones cultivadas en zonas templadas de Francia (Bahía de Veys) es más corto con índice máximo de madurez en agosto donde se alcanzan valores de ACG de 75% y disminuyen poco después a 25% en septiembre con el desove (Enríquez-Díaz *et al.*, 2009). Por otro lado, en regiones cercanas a Japón de donde es nativa esta especie, por ejemplo en Bahía Gosung Corea donde la temperatura alcanza los 30°C, la temporada de desoves es larga, de mayo a agosto, y la fecundidad llega a ser muy alta (hasta 100 millones de ovocitos hembra⁻¹) (Ngo *et al.*, 2006). Así, otras condiciones además de la temperatura pudieran estar afectando el proceso reproductivo de *C. gigas* en la región, incluso en ocasiones no se presentan desoves y los ovocitos son reabsorbidos en el otoño, similar a lo observado en poblaciones cultivadas en Sonora (Chávez-Villalba *et al.*, 2007).

El ACG puede ser un buen indicador de hembras completamente maduras; sin embargo, las diferencias en una gónada que está madurando o en desove no es tan evidente. La histología puede identificar periodos específicos de cuando se produce el desove (Rodríguez-Jaramillo, 2014). En los resultados de ACG, si bien se observa un ligero aumento en junio, lo que podría suponer que hasta entonces los ostiones alcanzaron la máxima madurez, los resultados de histología muestran que en mayo las hembras ya iniciaron los desoves en un 60% de los organismos e incluso que el restante estaban desovados. Posteriormente, en junio el análisis histológico sugiere que pudo estar ocurriendo un segundo periodo reproductivo con un 30% de los organismos en diversos grados de desarrollo gonádico, un 50% iniciando el desove y un 20% ya desovados. Finalmente, para agosto el 60% de las hembras estaban desovadas y un 40% en estadio postdesove lo que concuerda con la temporada de desoves establecida en la región para esta especie y el

índice de ACG que disminuyó drásticamente en agosto hasta 26.4%, similar a lo observado en esta época en ostiones cultivados en Bahía de Ceuta, Sinaloa (Rodríguez-Jaramillo *et al.*, 2008). En machos, el patrón fue muy similar con inicio de los desoves en mayo, un posible periodo de segunda madurez con continuidad de desoves en junio y un final de la temporada reproductiva en agosto. Las épocas de muestreo definidas en el presente trabajo se definieron en base a datos principalmente anecdóticos y del ciclo en otros sitios cercanos, tal como ya se mencionó. En este sentido, se esperaba que mayo fuese el inicio de la época reproductiva con organismos en grados relativamente avanzados de madurez, Junio la etapa de desoves y agosto la etapa final de desoves. Podemos considerar entonces que la temporada reproductiva se adelantó con respecto a lo esperado y el único mes que si coincidió fue agosto. Lo anterior se puede deber simplemente a que no se tenía bien caracterizada la época reproductiva en la Laguna San Ignacio o bien por la incidencia del fenómeno del Niño que se presentó en ese año (CIIFEN, 2014), que pudo haber acelerado el desarrollo gonádico desde el proceso de almacenaje de energía y vitelogenesis en los organismos por condiciones de temperatura y productividad primaria en la zona de cultivo. Repercusiones similares de este fenómeno ya han sido observadas en cultivo de la almeja catrina *Argopecten ventricosus* en Rancho Bueno, B.C.S. (Ruiz-Verdugo *et al.*, 2001). De manera similar, el fenómeno del niño alargó la época reproductiva e incrementó la frecuencia de desoves en la ostra perlera *Pinctada mazatlanica* (García-Cuellar *et al.*, 2004). Sin embargo, dicho fenómeno climático también pudo haber afectado de manera negativa en el pico reproductivo en Junio dado que el efecto de un incremento en la temperatura durante el evento de El Niño puede disminuir la productividad primaria (Lluch-Cota *et al.*, 1999) y por ende la acumulación de reservas en la gónada, que se analiza a continuación.

En primer lugar, las gónadas de hembras tuvieron un contenido mayor de proteínas y lípidos que las gónadas de los machos lo cual se atribuyó a que la vitelina es una glicolipoproteína que se acumula durante la maduración de los

ovocitos (Li *et al.*, 2000). En cambio, el contenido de proteína en la gónada de machos disminuye durante el proceso reproductivo para la formación del esperma, posiblemente porque la proteína provee una fuente de nutrientes y energía para la espermatogénesis (Li *et al.*, 2000). Por otro lado, los patrones observados de cambios en la composición bioquímica entre las épocas consideradas en el presente trabajo no son directamente comparables a lo reportado en otros trabajos donde analizan el ciclo reproductivo completo y los cambios más pronunciados son entre estadios hasta cierto punto extremos. Entre estos, podemos considerar un aumento de proteínas en los cinco meses de la temporada reproductiva en *C. gigas* en Nueva Zelanda, acompañado de una disminución de lípidos y carbohidratos previo a la temporada reproductiva cuya acumulación correspondió al periodo de invierno con mayor abundancia de alimento (Ren *et al.*, 2003). Por otro lado, la misma especie en Tunisia presentó un patrón más común, con una acumulación de proteínas, lípidos y glucógeno durante la madurez gonádica en primavera seguido de una disminución durante los desoves en verano (Dridi *et al.*, 2007). Un patrón hasta cierto punto contrario fue el observado en la costa del Atlántico en Francia con un incremento en lípidos y carbohidratos ya en los meses de agosto y septiembre correspondientes al desove, aunque los niveles de proteína sí se acumularon durante la madurez gonádica de abril a julio y disminuyeron con la ocurrencia de desoves (Bethelin *et al.*, 2000). En este trabajo, en las tres épocas hubo una alta proporción de organismos en distintos grados de desove y las diferencias se observaron en los niveles de lípidos totales, triglicéridos y carbohidratos con mayores niveles en agosto, seguido de junio y los menores niveles en mayo en el caso de hembras. Lo anterior sugiere que la proporción de 60% de hembras en desove observadas en agosto contaba aun con cierta cantidad de ovocitos postvitelogenicos listos para ser desovados, a pesar de que un 40% de los organismos ya estaban completamente desovados (estadio post-desove). En cualquier caso, los aumentos observados en aquellos componentes debieran ser el resultado del contenido en el tejido conjuntivo (principal tejido de reserva del ostión) que se suma al de la gónada. En este

sentido, podría sugerirse que las reservas, principalmente de carbohidratos en el tejido conjuntivo (Rodríguez-Jaramillo et al., 2008; Hurtado et al., 2012), no se utilizaron en su totalidad debido al fenómeno de desoves parciales y la aparición de organismos en desarrollo en el mes de junio, o que incluso este tejido acumuló reservas durante la temporada de desoves para un segundo pico reproductivo del cual hay evidencias que sucede en septiembre-octubre en la zona de cultivo (José L. Ramírez, com. pers.).

8.2.2 Calidad larvaria temprana

El porcentaje de viabilidad de ovocitos fue mayor en junio y agosto (67.5 y 71.0%, respectivamente) comparado con mayo (44.4%); esta diferencia probablemente se debió a que en esa época había mayor proporción de ovocitos previtelogénicos (con forma pedunculada) que en junio y agosto. Sin embargo, estos resultados contrastan con otros criterios de desempeño temprano como el rendimiento a larva D y la velocidad de crecimiento. En el primer caso, según Helm *et al.* (2006) en el cultivo a gran escala es normal recuperar entre 30% y el 85% de larva D respecto de la densidad de carga inicial de embriones. En este estudio el rendimiento de larvas D fue tomado respecto a la cantidad de larva trocófora en el cultivo a las 24 h, lo que podría explicar valores tan altos como 95-96% en mayo y agosto. El menor rendimiento de larva D en junio (75%) no coincide por lo tanto con la viabilidad de los ovocitos pero sí con el crecimiento larvario, dado que durante los primeros 9 días, junio mostró la velocidad de crecimiento más baja de $6 \mu\text{m dia}^{-1}$ con respecto a mayo y agosto con 8.5 y $9.5 \mu\text{m dia}^{-1}$, respectivamente. El menor desempeño de los desoves obtenidos en junio se podría relacionar con la posible remaduración evidenciada por cierta proporción de hembras y en mayor grado de machos con gónadas en desarrollo de los cuales probablemente no se obtuvieron gametos viables por rasgado.

Cabe señalar que las reservas endógenas del ovocito son utilizadas y agotadas por la larva aproximadamente al día 6-7 (Ben-Kheder *et al.*, 2010b), por lo cual las diferencias registradas en este trabajo en cuanto a la velocidad de crecimiento

dependió en primera instancia de las reservas del ovocito y en segunda instancia del alimento suministrado y de la capacidad de la larva para asimilarlo (del día 6-7 al 9 hasta la larva pre-metamórfica). Por lo anterior, es importante señalar aquí que mayo se caracterizó por una mayor longitud de larva D inicial y un mayor crecimiento durante todo el periodo de 9 días; junio por una larva D con longitud intermedia y un baja tasa de crecimiento a partir del día 5; agosto por una menor longitud de larva D y un crecimiento similar a mayo hasta el día 7 con un repunte importante entre los días 7 y 9. Sin embargo, a nivel de reservas en términos de las variables medidas en éste trabajo en ovocitos, las diferencias son mínimas entre las tres épocas y se limitan al contenido de carbohidratos. En el primer caso, se trata de un componente minoritario poco relevante como reserva energética comparado con proteínas y lípidos (Whyte *et al.*, 1990, 1992). En este sentido, se ha reportado un consumo de proteínas durante la embriogénesis y el desarrollo larvario temprano a larva D mientras que los lípidos neutros y polares así como carbohidratos (poli y monosacáridos) aumentaron (Bartlett, 1979). Algo similar fue encontrado en el presente estudio en los desoves de mayo y agosto en los cuales las cantidades absolutas (ng ind^{-1}) de proteína disminuyeron de ovocito a la larva D aunque no significativamente, mientras que en el desove de junio, que mostró el desempeño menor, se obtuvo un aumento de proteína no significativo. Cabe señalar que los únicos cambios significativos de composición por la embriogénesis que se observaron fueron una disminución de lípidos y un aumento de triacilgliceridos en mayo, lo cual aparentemente no parece relacionarse con el desempeño ligado a la época reproductiva.

Durante la embriogénesis y el desarrollo larvario temprano, no hay alimentación exógena, por lo que los cambios en la composición de ácidos grasos se deben a dos procesos que ocurren de manera selectiva para los distintos tipos de ácidos grasos: por un lado, la oxidación para fines de obtención de energía limitada principalmente a ácidos grasos saturados y monoinsaturados y por otro lado la incorporación a membranas, proceso para el cual son esenciales de manera

particular los HUFA (Whyte *et al.*, 1990). En este sentido, muchos de los trabajos de nutrición durante el acondicionamiento gonádico se han enfocado a los requerimientos mínimos de estos HUFA que repercuten directamente en un buen desarrollo larvario (Caers *et al.*, 2002; Da Costa *et al.*, 2015). La implicación directa para el presente trabajo es que el alimento natural pudo ser variable en cuanto al contenido de estos HUFA dependiendo de la época del año, y por ende también su almacenamiento en ovocitos. Así, la composición de ácidos grasos en gónada puede representar un factor que determine la calidad larvaria posterior. Sin embargo, los mayores contenidos de DHA en lípidos polares de ovocito y en lípidos neutros de larva D, y por ende la mayor relación DHA/EPA en mayo y junio, no se puede asociar con un mejor desempeño en términos de rendimiento de larva D o velocidad de crecimiento en la primera semana dado que junio presenta el peor desempeño en esos términos. La única variable medida aquí que pudiese asociarse con el nivel de DHA, es la longitud de larva D que sí fue menor en agosto al igual que la proporción de DHA y la relación DHA/EPA tanto en ovocitos como en larva D.

8.3 CALIDAD LARVARIA TARDIA DE *C. gigas* EN RELACION A LA VELOCIDAD DE CRECIMIENTO

8.3.1 Crecimiento larvario

La metamorfosis en bivalvos representa la transición de las larvas a juveniles y constituye la segunda etapa de desarrollo que depende de reservas almacenadas previamente (lecitotrofia secundaria). Así la supervivencia en ésta etapa o éxito de la metamorfosis depende de una serie de factores, entre ellos, la disponibilidad de reservas energéticas acumuladas durante la fase larvaria (Helm *et al.*, 2006) que a su vez depende del valor nutricional de las microalgas suministrados a las larvas en desarrollo (Whyte *et al.*, 1989, 1990). Tal como ya se mencionó, el desarrollo larvario antes de la metamorfosis corresponde a una transición entre la fase mixotrófica durante el cual las larvas obtienen la mayor parte de su energía de sus reservas endógenas (ovocitos) y, en menor medida, a partir de partículas

planctónicas exógenas, y la fase exotrófica, en donde las microalgas vienen a jugar un papel vital en el desarrollo de las larvas. Como consecuencia, a pesar de que las larvas de *C. gigas* tienen una cierta tolerancia a la privación limitada de alimentos y rápida capacidad de recuperación fisiológica, la insuficiencia o falta de alimento tiene repercusiones para el crecimiento de las larvas que se acentúa y es más crítica a partir de la segunda semana (Ben Kheder *et al.*, 2010). En el presente trabajo, las diferencias en las tasas de crecimiento observadas a partir de la segunda semana después de la fertilización, con el valor más bajo encontrado en junio y el más alto en mayo, podrían ser el resultado de la falta de alimento para las larvas producidas en junio. A nivel de reservas almacenadas, esto se confirma por el hecho de que las larvas de alto crecimiento tuvieron más altos niveles de triacilglicéridos en mayo y agosto respecto a junio, lo que fue relacionado al más bajo crecimiento larvario (VCL total) de esa época ($R^2=0.60$, $P=0.013$). De manera similar, las larvas de *C. gigas* que crecieron más rápido y obtuvieron mayor porcentaje de competencia son las que acumularon mayores niveles de triacilglicéridos, según los resultados de Ben-Kheder *et al.* (2010). Por otro lado, y aunque los niveles de proteínas en larvas pediveliger no fueron diferentes entre épocas, la velocidad de crecimiento larvario se correlacionó también con los contenidos de proteína ($R^2=0.47$, $P=0.039$), indicando que un mejor crecimiento está acompañado de una mayor acumulación de proteínas. Finalmente y dado que valores altos de ácidos grasos NMI se han relacionado al agotamiento de reservas energéticas en respuesta a inanición en larvas de *C. gigas* (Da Costa *et al.*, 2015b), los altos niveles de ácidos grasos NMI en lípidos neutros y polares obtenidas en larvas pediveligers en Junio refuerzan la hipótesis de que una limitación del alimento pudo haber ocurrido en las larvas obtenidas producidas en junio.

De manera similar, es lógico suponer que las larvas de mayor crecimiento en un mismo lote (grupo alto crecimiento) tendrán una mejor asimilación de reservas a partir del alimento. Para peso seco y materia orgánica no se encontraron

diferencias entre las larvas cultivadas en mayo, junio y agosto para el mismo grupo de crecimiento. Por el contrario, especialmente en mayo y agosto, las larvas del grupo de alto crecimiento tuvieron mayor peso seco y niveles de materia orgánica en comparación con larvas de bajo crecimiento. Igualmente, las larvas pediveligers de alto crecimiento no sólo alcanzaron antes la talla adecuada para su cosecha ($>230 \mu\text{m}$), sino que presentaron una talla mayor al momento de su cosecha ($319.8 \mu\text{m}$ el día 15 a 19, según la época) en comparación con las de bajo crecimiento ($308 \mu\text{m}$ el día 23 a 27, según la época). Sin embargo, esto no fue caso en Junio, donde el tamaño fue similar para ambos grupos reforzando la deficiencia en crecimiento en las larvas en este mes, enmascarando parcialmente la superioridad de las larvas de alto crecimiento.

La composición bioquímica mostró la misma tendencia, sin diferencias entre los meses para el mismo grupo de crecimiento, pero con niveles de proteínas y lípidos más bajos en larvas de bajo crecimiento. Resultados similares fueron encontrados en larva pediveliger de *Crassadoma gigantea* (Whyte *et al.*, 1992) en donde los individuos que crecieron más rápido y alcanzaron primero esta etapa (al día 22) presentaron mayores niveles de proteína y lípidos que las larvas que llegaron al final (día 29), con lo que concluyeron que las de alto crecimiento tienen mejor condición o mayor competencia energética para la metamorfosis que las del bajo crecimiento. Nuevamente, en junio, cuando las larvas probablemente experimentaron una limitación de alimento, no se encontraron diferencias para los lípidos y las proteínas entre larvas de bajo y alto crecimiento. Por el contrario, mientras que los contenidos de triacilglicéridos fueron mayores en larvas pre-metamórficas de alto crecimiento, el contenido de triacilglicéridos en junio fue mayor en larvas de bajo crecimiento.

Por otro lado, los niveles de NMI fueron similares entre larvas pre-metamórficas de alto y bajo crecimiento para los tres períodos de la producción, indicando que la superioridad de las larvas de alto crecimiento no parece deberse a una menor ingestión de alimento, por lo cual la diferencia entre las larvas de alto y bajo

crecimiento podría explicarse más bien por diferencias en la eficiencia de asimilación del alimento. Los resultados del presente estudio, al igual que en trabajos anteriores indican entonces que durante este período de mixotrofia, la tasa de crecimiento más alta se acompaña de las mayores tasas de aumento de la energía y acumulación de triacilglicéridos (Labarta *et al.*, 1999; Ben-Kheder *et al.*, 2010). Como sugiere Ben-Kedher *et al.* (2010), el papel de las enzimas específicas implicadas en la asimilación y la digestión tendrían que ser analizadas para apoyar esta hipótesis.

La composición de ácidos grasos de la fracción de lípidos neutros de las larvas pre-metamórficas podría dar una respuesta parcial, específicamente para la asimilación de los lípidos. Las principales diferencias observadas para el DHA, el EPA, el 18:4n-3 y los ácidos grasos monoinsaturados podrían sugerir diferencias en las capacidades de regulación y de asimilación de ácidos grasos entre larvas de alto y bajo crecimiento cuando se alcanza el estado de larvas pre-metamórficas. En un estudio en *Crassadoma gigantea* (nombre común en inglés: rock scallop), se compararon los perfiles de ácidos grasos de larvas pre-metamórficas de crecimiento lento y rápido (Whyte *et al.*, 1992). Esta dependencia del contenido de PUFA y las larvas de grupos de distinto crecimiento también fue observada en el presente trabajo. Así, el 18:4n-3 es mayor tanto en lípidos neutros como en polares de larvas de alto crecimiento de acuerdo a la hipótesis de un mayor asimilación del alimento, dado que es considerado como un indicador cuantitativo del alimento dependiendo del tipo de microalga (Kelly y Scheibling, 2012), y cuyo papel fisiológico es menos relevante que otros PUFA. Para otros ácidos grasos, los niveles están sujetos tanto al aporte nutricional como al metabolismo/retención selectiva particular de cada ácido graso. Así, el nivel mayor de DHA en larvas de alto crecimiento puede relacionarse con mayor asimilación de nutrientes pero también a una mayor capacidad retención de este ácido graso que, dado su importante papel fisiológico, también puede asociarse con mayor crecimiento. En contraste, el nivel de ARA y EPA fue menor en larvas de alto

crecimiento, lo cual podría ser hasta cierto punto sorprendente y es posible que se deba a asociación entre un mayor metabolismo/menor retención de estos ácidos grasos y un mejor crecimiento. El EPA tiene cierta función energética por lo cual es pertinente asociar un mayor metabolismo energético con una mayor velocidad de crecimiento (Thompson *et al.*, 1993). Así, se ha estimado que un desempeño larvario óptimo de *C. gigas* es obtenido cuando la larva pediveliger contiene entre 7% y 17% de EPA en el total de ácidos grasos de lípidos neutros (Rico-Villa *et al.*, 2006). Al analizar el crecimiento diferencial no sólo entre grupos de alto y bajo crecimiento sino también entre épocas, lo anterior sugeriría que la proporción adecuada de EPA se encuentra cercana al 9% obtenido en mayo, asociado al mayor crecimiento en general y concomitante menor tiempo para alcanzar la talla de cosecha. En lo que concierne al ARA, nuestros resultados son contrarios a lo encontrado en otras clases de bivalvos como vieiras (Pernet *et al.*, 2005; Gagné *et al.*, 2010) y almejas (Aranda-Burgos *et al.*, 2014) donde su acumulación ha favorecido el crecimiento larvario. La importancia del ARA es atribuible al rol en la producción de eicosanoides y a la respuesta de estrés (Howard y Stanley, 1999). Sin embargo, altos niveles de ARA en la larva, relativos al EPA y al DHA, pueden generar producción de más eicosanoides pro-inflamatorios que pueden resultar perjudiciales dañinos en las etapas tempranas del desarrollo de la larva (Sargent *et al.*, 1999). Por otro lado, la composición de varios ácidos grasos tanto en lípidos neutros como polares en la larva pediveliger se correlacionaron con la velocidad de crecimiento hasta ese estadio (VCL total), tal como se analizará en la siguiente sección.

8.3.2 Fijación y metamorfosis

Las larvas de maduración más tardía ya sea en términos de crecimiento más lento o de bajo éxito de metamorfosis generalmente también tienen una baja capacidad de fijación y por ende un bajo porcentaje de supervivencia post-metamórfica (Whyte *et al.*, 1992; Collet *et al.*, 1999). Así, se han propuesto velocidades de crecimiento larvario $> 16 \mu\text{m d}^{-1}$ para poder tener éxitos de metamorfosis

superiores a 60% en *C. gigas* (Ben Kheder *et al.*, 2010; Da Costa *et al.*, 2015a). Por otro lado, Laing *et al.* (1998) obtuvieron éxitos de metamorfosis parecidos entre tres grupos de crecimiento de larvas (47.9, 40.0 y 43.16% para las larvas de alto, medio y bajo crecimiento). En el presente estudio, la selección de larvas pediveligers de alto y de bajo crecimiento en cada época no afectó de manera significativa el éxito de metamorfosis ni la velocidad de crecimiento postlarval al día 2. Sólo en junio, las larvas de bajo crecimiento presentaron un éxito de metamorfosis menor a las de alto crecimiento (31 vs 56%). Se ha propuesto que la mortalidad variable observada durante la metamorfosis es el resultado de un déficit energético incurrido durante los procesos fisiológicos que caracterizan la metamorfosis (Haws, 1993; Labarta *et al.*, 1999), lo que permite entonces sugerir que incluso las larvas pre-metamórficas de bajo crecimiento en mayo y agosto tenían energía suficiente para la metamorfosis. El contenido de lípidos, y específicamente de triacilglicéridos, se ha propuesto como sustrato de energía crítica para la metamorfosis de los bivalvos marinos, mientras que otros estudios demostraron que la metamorfosis de los bivalvos se sustentaba tanto en la utilización de proteínas como de lípidos (Bartlett, 1979; Whyte *et al.*, 1992; Farias *et al.*, 1998). García-Esquivel *et al.* (2001) sugieren que un contenido insuficiente de lípidos, particularmente cuando su contribución energética es menor a la de proteínas, se asocia con una alta mortalidad de postlarvas, proponiendo un nivel umbral mínimo necesario en larvas pre-metamórficas de $0.19 \mu\text{g}\cdot\text{ind}^{-1}$. En el presente estudio, los niveles de lípidos nunca alcanzaron valores inferiores a $0.37 \mu\text{g}\cdot\text{ind}^{-1}$ (ej. larvas de bajo crecimiento de agosto), por lo cual se puede asumir que no es el nivel de lípidos ni el de proteínas lo que podría explicar el menor éxito en la metamorfosis en larvas obtenidas en el mes de Agosto. Tampoco hubo una diferencia en los niveles de carbohidratos entre épocas que pudiese explicar la disminución gradual del éxito de metamorfosis de mayo a agosto, aunque este componente en larva pre-metamórfica fue la única variable bioquímica correlacionada al éxito de metamorfosis ($R^2=0.28$, $P=0.024$), similar a lo observado por Haws (1993). Sin embargo, es poco probable que la importancia de

los carbohidratos sea energética, dado por los bajos niveles comparados con lípidos y proteínas, por lo cual su papel estaría más relacionado con los procesos anabólicos como fuente de NADPH y ribosa a través del ciclo de las pentosas o bien como sustrato para síntesis de aminoácidos no esenciales (Haws, 1993).

Diferentes estudios han confirmado que la metamorfosis exitosa no debe atribuirse únicamente a la acumulación de reservas suficientes para satisfacer las demandas de energía. De hecho, la supervivencia puede depender de la capacidad de movilizar varios tipos de sustrato con el fin de satisfacer las diversas necesidades anabólicas y catabólicas del organismo durante la metamorfosis (Bartlett, 1979; Haws, 1993; García-Esquivel *et al.*, 2001). En el presente estudio, la diferencia en los distintos componentes bioquímicos que reflejan ganancias y pérdidas de éstos entre las larvas pre-metamórficas y post-metamórficas mostraron patrones diferenciales de acuerdo al grupo de crecimiento y las épocas de producción. Así, se registraron ganancias para proteínas, lípidos y carbohidratos y pérdidas únicamente para triacilglicéridos. Estas ganancias se obtuvieron desde las 48 horas después de haber colocado las larvas pre-metamórficas a los sistemas de fijación, lo cual sugiere que las larvas post-metamórficas ya habían comenzado a ingerir y asimilar microalgas. De hecho, durante la metamorfosis el velo se degenera mientras que las branquias no son todavía funcionales y en consecuencia la capacidad de filtración se reduce (Baker y Mann, 1994). En *C. gigas* y *C. virginica* se ha reportado que el periodo más crítico de punto de vista energético es después de la inducción a fijación que corresponde a un proceso complejo de organogénesis en el cual proporciones significativas de las reservas se utilizan (Haws, 1993). Otros estudios sugirieron que, a excepción de un período corto de unas pocas horas durante la fase de fijación, la alimentación era posible durante la metamorfosis (Baker y Mann, 1994). La ingestión de alimento por las larvas post-metamórficas implica la captura de las partículas de alimentos suspendidas por las branquias y su transporte hasta el estómago, donde las enzimas facilitan la asimilación (Beninger *et al.*, 1991). La ineficiencia en alguna o

todas de estas funciones explicaría la asimilación inadecuada de energía de los alimentos y podría ser uno de los aspectos que podría explicar las diferencias en el éxito de metamorfosis encontradas entre larvas pre y post-metamórficas de alto y bajo crecimiento como entre épocas de producción.

En el caso de la composición y modificación de ácidos grasos durante la metamorfosis, prácticamente no se observaron diferencias en el perfil de ácidos grasos de lípidos polares de postlarvas entre los dos grupos de crecimiento o entre las tres épocas de producción y las diferencias originales exhibidas por las larvas pre-metamórficas se perdieron. Por el contrario, las diferencias de composición de ácidos grasos en lípidos neutros fueron más evidentes, conservando muchas de las diferencias observadas en larvas pre-metamórficas entre los grupos de crecimiento y épocas de producción. Los perfiles de ácidos grasos muy similares que se encontraron en los lípidos polares en postlarvas independientemente de las diferencias existentes en larvas pediveligers sugieren que los reordenamientos anatómicos durante la metamorfosis inducen una importante regulación y nivelación de la composición de ácidos grasos probablemente relacionado con las nuevas funciones específicas de membranas desarrolladas durante esta transición de larva a juvenil. Lo anterior sugiere que la movilización y/o asimilación es común a ambos grupos de larvas y no depende de los niveles iniciales de larvas pre-metamórficas. En este sentido es interesante ver que el porcentaje de metamorfosis fue correlacionado a la proporción de ácidos grasos mayoritarios como el 18:1n-9, 18:1n-7, 18:4n-3, EPA y DHA de larva pediveliger tanto en lípidos neutros como polares. Esto podría deberse a que niveles iniciales de estos ácidos grasos en larvas pre-metamórficas pueden afectar su utilización y movilización durante los procesos de fijación y metamorfosis.

8.4 CRITERIOS PREDICTIVOS DE CALIDAD LARVARIA

La calidad larvaria se refiere a la condición fisiológica y a la capacidad de la larva para crecer y sobrevivir bajo diversas condiciones ambientales durante su ciclo de vida (Racotta *et al.*, 2003). La naturaleza predictiva de determinados criterios radica en la capacidad de inferir el desempeño posterior a partir de una característica particular en cierto estadio, lo cual se puede poner de manifiesto con distintos enfoques experimentales estadísticos como la comparación de lotes con buen y mal desempeño así como por análisis de correlación entre la variable potencialmente predictiva y la variable que refleje el desempeño posterior (Racotta *et al.*, 2004). Hasta el momento, se han sugerido algunos índices de condición adecuados para larvas de bivalvos que permitan predecir el crecimiento larvario y/o metamorfosis, como es el caso de la relación triglicéridos/esterol (Fraser, 1989; Ben-Kheder *et al.*, 2010). La utilidad práctica de tales índices es innegable: estos pueden revelar perturbaciones antes de que sean mostradas por una interrupción en el crecimiento y/o muerte de los organismos (Ben-Kheder *et al.*, 2010). Por lo anterior, es necesario estudiar posibles criterios predictivos del desempeño que permitan tener mejores rendimientos en cultivo, lo cual se analizó en el presente trabajo con base en las correlaciones observadas entre criterios zootécnicos, morfométricos y bioquímicos. Algunas de estas correlaciones se obtienen entre características en los mismos estadios o en estadios muy contiguos donde el significado parece muy claro, por ejemplo entre el rendimiento a larva D o la velocidad de crecimiento a la primera semana y alguna característica de los ovocitos, o bien entre el éxito de la metamorfosis y alguna característica de larva pediveliger. Por otro lado, hay correlaciones entre estadios muy distantes (ej. ovocito o larva D vs. postlarva o semilla) cuyo significado tal vez sea menos claro pero cuya aplicación sería altamente relevante en términos predictivos por poderse inferir en una etapa temprana del cultivo larvario. En este sentido, los estudios de calidad de gametos solo evalúan el desempeño temprano de la larva relacionados a la obtención de la larva D (Bayne, 1972; Massapina *et al.*, 1999;

Boulais *et al.*, 2015) o el crecimiento en los primeros días (Bayne, 1975; Caers *et al.*, 2002), pero no hay estudios que analicen la relación a niveles más avanzados como la metamorfosis.

Se reconoce que la velocidad de crecimiento en la primer semana determina el crecimiento general hasta larva pediveliger de *C. gigas* (Rico-Villa *et al.*, 2006). Lo anterior fue parcialmente sustentado en este trabajo por la correlación, marginalmente significativa ($R^2=0.43$, $P=0.052$), entre la velocidad de crecimiento total hasta larva pediveliger (VCL total) y la velocidad de crecimiento en la primera semana (VCL1). Por otro lado, el rendimiento a larva D y la velocidad de crecimiento en la primera semana estuvieron correlacionados con el contenido de proteína en larva D, mientras que el rendimiento a larva D estuvo correlacionado con el contenido de carbohidratos en larva D. La importancia de la proteína de punto de vista energético y estructural (Barlett, 1979; Whyte *et al.*, 1990; Lu *et al.*, 1999) explica estas correlaciones, de manera similar a la correlación obtenida entre viabilidad de larva D y contenido de proteína en ovocito (Massapina *et al.*, 1999). Para el caso de carbohidratos, como componente minoritario es más difícil la explicación aunque podría tener que ver con el papel de los carbohidratos en la vía de las pentosas ya sea para síntesis de ribosa como componente de ácidos nucleicos cuya síntesis es acentuada en estas etapas (Whyte *et al.*, 1990, 1991) o bien para la producción de NADPH requerido en la síntesis de lípidos, tal como se explicó en la sección anterior para el caso de la metamorfosis. Por otro lado, la correlación significativa entre crecimiento total y rendimiento a larva D ($R^2=0.71$, $P<0.004$) podría tener cierta relevancia aplicada que sin embargo tendría que repercutir en el desempeño posterior (ej. metamorfosis) lo cual no es el caso, en cierta medida porque la relación entre metamorfosis y crecimiento pre-metamórfico no fue del todo clara.

Para la segunda etapa del cultivo larvario, la velocidad de crecimiento postlarval estuvo correlacionada con el crecimiento larvario total ($R^2= 0.52$, $P=0.026$); una relación similar se observó entre el éxito de metamorfosis y crecimiento, aunque

no alcanzó la significancia estadística. Lo anterior complementa los resultados obtenidos entre los grupos de alto y bajo crecimiento en cuanto a que el crecimiento en la etapa pre-metamórfica no necesariamente determina el éxito de metamorfosis y fijación, es decir que no es válido igualar este crecimiento con la competencia de la larva y usarlo como criterio de descarte/reemplazo ("culling and replacing"), a menos que los sistemas de fijación estén limitados en cuanto a la capacidad de recibir larvas pre-metamórficas. Por otro lado, hubo una serie de correlaciones interesantes entre criterios de desempeño en estadios relativamente alejados, entre los cuales hay que destacar la correlación negativa entre éxito de metamorfosis y viabilidad de los ovocitos ($R^2=-0.88$, $P<0.001$) que se debe en buena medida al mayor éxito de metamorfosis en los desoves obtenidos en mayo, a pesar de tener los valores más bajos de viabilidad de ovocitos. La superioridad de los desoves de mayo, a pesar de su aparente baja viabilidad de ovocitos, ya fue discutida anteriormente y se requieren más datos para confirmar una relación que no tiene mucho sustento de punto de vista biológico: desoves con mayor proporción de ovocitos inmaduros tendrán mayor éxito de metamorfosis. En contraste, la metamorfosis estuvo relacionada con otros criterios tempranos como el tamaño de larva D que habrá que analizar más a fondo en estudios posteriores dado que representaría un indicador muy práctico por la sencillez de su medición. Finalmente, en cuanto a correlaciones relevantes con algún componente bioquímico, podemos mencionar las que hubo entre éxito de metamorfosis y contenido de triglicéridos en larva D así como con el contenido de carbohidratos en larva pediveliger. En el primer caso, se podría sugerir que la importancia del contenido de lípidos en el ovocito desde su acumulación en gónada va más allá del desarrollo larvario temprano (Pernet *et al.*, 2003) y se extiende hasta la metamorfosis. En el segundo caso para la composición de larva pediveliger, se ha reconocido claramente la importancia de acumulación de lípidos y proteínas en la fase de alimentación larvaria para un buen éxito de metamorfosis (García-Esquivel *et al.*, 2001), por lo cual se hubiese esperado también una correlación con estos componentes que sólo estuvo al borde de la significancia estadística en caso de

proteínas ($R^2=0.18$, $P=0.073$). Para el caso de carbohidratos y tal como ya se mencionó su papel está probablemente más relacionado con la producción de NADPH y ribosa.

La correlación entre parámetros productivos y la composición de ácidos grasos de ovocito radica en múltiples estudios, principalmente nutricionales, que enfatizan la importancia de ciertos tipos de ácidos grasos, particularmente los HUFA n-3, en el desempeño larvario y postlarvario de moluscos (Marty *et al.*, 1992; Soudant *et al.*, 1996; Caers *et al.*, 1999, 2002; Nevejan *et al.*, 2003; Ehteshami *et al.*, 2011; Adams *et al.*, 2013; Aranda-Burgos *et al.*, 2014; Da Costa *et al.*, 2015a). En el presente trabajo, se obtuvieron varias correlaciones y no sólo con los HUFA n-3, por lo cual es importante destacar las más relevantes en términos de la magnitud del coeficiente de correlación (y su significancia estadística). Así, podemos considerar la correlación entre rendimiento a larva D y varios PUFA en ovocitos tanto en la fracción de lípidos neutros (18:2n-6, 18:3n-3 y 22:5n-3) como polares (EPA), lo cual sugiere un papel importante de éstos PUFA en los procesos de fertilización, embriogénesis y eclosión que está bien documentado, particularmente para el caso del EPA (Hendriks *et al.*, 2003). La velocidad de crecimiento en la primera semana también se correlacionó con el contenido de algunos de estos ácidos grasos en ovocito como el 22:5n-3 de lípidos neutros y el EPA, indicando que la calidad larvaria inicial estaría repercutiendo en estadios posteriores. Sin embargo, no se encontró ninguna correlación con el DHA, lo cual contrasta con el importante papel de este ácido graso en estas fases tempranas del desarrollo comúnmente reportado para larvas de moluscos (Caers *et al.*, 2002; Hendriks *et al.*, 2003). Es importante señalar, sin embargo, que si bien un nivel muy bajo en DHA en la dieta de reproductores afecta considerablemente el rendimiento a larva D en *C. gigas*, se ha sugerido que a partir de cierto nivel umbral mínimo de DHA, ya no se observan mejoras en el desarrollo embrionario (Caers *et al.*, 2002). De hecho, los niveles de DHA encontrados en el presente trabajo en ovocitos fueron mayores a los reportados por Caers *et al.* (2002) por lo

cual es probable que se ha pasado dicho umbral y el requerimiento de DHA fue ampliamente cubierto. Por el contrario, el EPA si pareció ser más limitante y la correlación negativa para DHA/EPA se deba más a la contribución de EPA como denominador de esta relación. El rendimiento a larva D y velocidad de crecimiento total en la primera semana también estuvieron correlacionados con los niveles de dos ácidos grasos saturados (14:0 y 18:0) de lípidos polares en ovocito, lo cual es hasta cierto punto sorprendente dado que se ha señalado la importancia del 14:0 por representar fuente de energía como componente de los triacilglicéridos (Thompson *et al.*, 1993). Es probable que la variación de estos ácidos grasos se deba a que están unidos a las mismas moléculas de fosfolípidos (ej. DHA), por lo cual varían por asociación, no por importancia propia.

En la segunda etapa del cultivo larvario, el proceso limitante es el porcentaje de fijación o éxito de la metamorfosis en los términos del presente trabajo que estuvo correlacionado con algunos ácidos grasos tal como se analiza a continuación. En primer lugar, se observó una correlación muy alta entre este parámetro y el nivel de 14:0 en lípidos polares de larva D ($R^2=0.83$, $P<0.001$) y en menor grado en lípidos neutros ($R^2=0.46$, $P=0.04$). Mientras que su variación en lípidos polares puede deberse a la asociación en los fosfolípidos como se menciona anteriormente. La explicación resulta complicada en lípidos neutros dado que se trata de un ácido graso minoritario con una función más ligada al aspecto energético, en concordancia con su contenido, que fue 6 a 8 veces mayor que en lípidos polares. De manera similar, es difícil explicar otro tipo de correlaciones entre el éxito de la metamorfosis y el contenido de ácidos grasos monoinsaturados mayoritarios como el 18:1n-9 y el 18:1n-7 en varios estadios, desde ovocito hasta larva pediveliger. Tanto en la fracción neutra como polar, y tanto en larva pediveliger como postlarva es interesante ver que la correlación fue positiva con el 18:1n-9 y negativa con el 18:1n-7, lo cual si sugiere la diferencia funcional entre ambos tipos de ácidos grasos, considerando además el importante incremento del 18:1n-7 entre larva D y larva pediveliger. En estado natural, el

incremento en los ácidos grasos n-7 se asocia al incremento en los niveles de diatomeas en el mar (Kelly y Scheibling, 2012).

Otra correlación negativa encontrada se observó entre la metamorfosis y el EPA en ambas fracciones de larva pediveliger y postlarva, mientras que con el DHA, y por ende con la relación DHA/EPA, estas correlaciones fueron positivas (únicamente en la larva pediveliger en este caso). Son muy pocos los trabajos que analizan el papel particular de distintos tipos de ácidos grasos durante la metamorfosis de moluscos bivalvos. A partir de comparaciones entre *C. virginica* y *C. gigas* se ha sugerido un papel igual de importante para ácidos grasos de 20 y 22 carbonos como determinantes del éxito de metamorfosis. Las correlaciones aquí obtenidas así como la diferencia entre EPA y DHA entre grupos de alto y bajo crecimiento claramente apuntan a un papel diferencial crítico entre estos dos ácidos grasos en la competencia de las larvas previo y durante la metamorfosis. A diferencia del desarrollo temprano donde el EPA tenía un papel más crítico, en este caso el DHA tiene mayor importancia alrededor del proceso de metamorfosis indicando que su aporte durante la primera alimentación larvaria podría ser más crítico que durante el acondicionamiento de reproductores.

Una de las preguntas del presente estudio fue evaluar si larvas pediveligers o pre-metamórficas de alto y bajo crecimiento presentaban capacidades de fijación y metamorfosis diferente. Si bien no se obtuvo una correlación entre los dos criterios, es interesante resaltar que las correlaciones entre velocidades de crecimiento larvaria total (VCL Total) y la composición de ácidos grasos fueron muy variables entre épocas de producción. El 14:0 y 16:0 fueron los ácidos grasos saturados que tuvieron correlaciones positivas más significativas con la velocidad larvaria total. En trabajos anteriores se ha mencionado la participación importante de estos ácidos grasos en el crecimiento larvario como componentes principales de los triacilglicéridos para la obtención más eficiente de energía (Thompson *et al.*, 1993). Varios ácidos grasos monoinsaturados han sido sugeridos para participar en la misma función (Jonsson *et al.*, 1999; Costa *et al.*, 2015a). El 18:1n-9 se

comportó de manera muy similar a los del grupo de los saturados, aunque el 18:1n-7 en lípidos neutros presentó una correlación negativa con la velocidad de crecimiento. Al igual que para la relación con el éxito de metamorfosis, la diferencia funcional entre ambos tipos de ácidos grasos tan sólo por la posición del doble enlace es crucial para la velocidad de crecimiento larvario. Los niveles de 18:3n-3 y 18:4n-3 en larva pediveliger también fueron altamente correlacionados con la velocidad de crecimiento de las larvas y puede ser relacionado a la calidad de la microalga que posiblemente cambió entre mayo, junio y agosto impactando la velocidad de crecimiento como fue observado. La acumulación de ARA en las larvas pediveligers fue correlacionado negativamente con la VCL Total lo que ha sido reportado en Da Costa *et al.* (2015a) donde el aumento de este ácido graso perjudica tanto el crecimiento como la sobrevivencia larvaria. En el presente estudio, la VCL total se correlacionó de manera negativa a las proporciones de EPA de lípidos neutros y polares en larva pediveliger. Correlaciones negativas con este ácido graso y el crecimiento larvario de *C. gigas* han sido reportadas anteriormente (Thompson *et al.*, 1993). De la misma manera que por el proceso de metamorfosis, el DHA y el EPA deben de tener un papel diferencial durante el crecimiento larvario dado que el contenido de DHA en la larva pediveliger no tuvo correlación con la velocidad larvaria.

9. CONCLUSIONES

- La calidad larvaria temprana (velocidad de crecimiento) y tardía (éxito de metamorfosis) fue mayor con los desoves obtenidos al inicio de la época reproductiva en el mes de mayo, lo cual pudo deberse a la primera madurez en el año, en contraste con junio y agosto donde los reproductores estaban re-madurando o desovados
- La velocidad de crecimiento larvaria no tuvo una fuerte relación con el éxito de metamorfosis como se esperaba, lo cual no justifica el descarte de larvas de bajo crecimiento, a menos que los sistemas de fijación estén limitados en capacidad de recibir larvas pre-metamórficas.
- Algunos parámetros productivos como la velocidad de crecimiento larvario y el éxito de metamorfosis estuvieron correlacionados con los niveles de lípidos en ovocito, lo cual sugiere que la importancia de los lípidos energéticos acumulados en el ovocito a partir del proceso de desarrollo gonádico va más allá del desarrollo larvario temprano y se extiende hasta la metamorfosis.
- Las larvas de alto crecimiento tuvieron mayores niveles de triacilglicéridos y por otro lado, un mejor crecimiento estuvo acompañado de una mayor acumulación de proteínas lo cual sugiere que las larvas de mayor crecimiento en un mismo lote (grupo alto crecimiento) tendrán una mejor asimilación de reservas a partir del alimento.
- Los niveles de lípidos y de proteínas en larvas pre-metamórficas no estuvieron correlacionados con los diferentes éxitos de metamorfosis observados entre épocas de producción y/o grupos de crecimiento, lo cual sugiere que larvas pediveligers siempre tenían niveles mínimos suficientes para el costo energético asociado a la metamorfosis.

- Los niveles de carbohidratos en algunos estadios están relacionados con algunas características de calidad larvario y éxito de metamorfosis que podrían relacionarse con el papel anabólico del ciclo de las pentosas.
- Con respecto a ácidos grasos esenciales, el EPA parece tener un papel más importante en el desarrollo larvario temprano y pre-metamórfico que el DHA, dado que, los niveles altos de este último en ovocitos y en larvas pre-metamórficas al parecer cubrían ampliamente su requerimiento en estas etapas. Por el contrario, el papel del DHA fue de mayor importancia alrededor del proceso de metamorfosis contrario al EPA, en cuyo caso niveles altos se asociaron con menor crecimiento y éxito de metamorfosis.
- Perfiles de ácidos grasos muy similares se encontraron en los lípidos polares en postlarvas independientemente de las importantes diferencias existentes en larvas pediveliger, pero el éxito de metamorfosis fue correlacionado a la proporción de ácidos grasos mayoritarios como el 18:1n-9, 18:1n-7, 18:4n-3, EPA y DHA de larva pediveliger. Eso sugiere que los niveles iniciales en larvas pre-metamórficas afectan su utilización y movilización durante los procesos de fijación y metamorfosis.

10. LITERATURA CITADA

- Adams, S.L., L. Salinas-Flores, M.H. Lim. 2013. Diet condition of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, broodstock to improve oocyte cryopreservation success. *J. of Shellfish Research*. 32(2):391-399.
- Aldana-Aranda, D., M. Enríquez Díaz, F. Lango Reynoso, T. Brulé, J. Montero, E. Baqueiro Cárdenas. 2014. Reproductive strategies of the Eastern Oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin 1791) in Tropical Lagoons of the Mexican Gulf of Mexico. *Journal of Shellfish Research*. 33:145-152.
- Aranda-Burgos, J. A., F. Costa, S. Nóvoa, J. Ojea, D. Martínez-Patiño. 2014. Effects of microalgal diet on growth, survival, biochemical and fatty acid composition of *Ruditapes decussatus* larvae. *Aquac.* 420-421: 38-48.
- Atilano Ramírez, O. 2012. Evaluación del crecimiento de líneas de ostión japonés *Crassostrea gigas* originarias de Chile y EUA, y sus cruces en el estero el Cardón, Laguna de San Ignacio B. C. S. UABCS. La Paz BCS.
- Baker, S.M., R. Mann. 1994. Feeding ability during settlement and metamorphosis in the oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791), and the effects of hipoxia on post-settlement ingestión rates. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 181, 239-253.
- Baqueiro, C. E., D. Aldana-Aranda, M. L. Sevilla, P. F. Rodríguez-Espinosa. 2007. Variations of gametogenic and spawning patterns of the oyster *Crassostrea virginica* from Pueblo Viejo Lagoon, Veracruz, Mexico. *Transitional Waters Bulletin. Bivalvia* (on-line), *AnimalDiversityWeb*. <http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Bivalvia.html>
- Barber, B.J., N.J. Blake. 1985. Intra-organ biochemical transformations associated with oogenesis in the bay scallop, *Argopecten irradians concentricus*, as indicated by ¹⁴C incorporation. *Biol. Bull. (Woods Hole)* 168:39-49.
- Bartlett, B. R.1979. Biochemical changes in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1795), during larval development and metamorphosis. Doctoral dissertation. Oregon State University.
- Bayne, B. L.1972. Some effects of stress in the adult on the larval development of *Mytilus edulis*. 237: 459.
- Bayne, B. L., P.A. Gabbott, J. Widdows. 1975. Some effects of stress in the adult on the eggs and larvae of *Mytilus edulis* L. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 55, 675-689.

- Ben-Kheder, R., C. Quéré, J. Moal, R. Robert. 2010. Effect of nutrition on *Crassostrea gigas* larval development and the evolution of physiological indices. Part A: Quantitative and qualitative diet effects. *Aquac.* 305: 165-173
- Berthelin, C., K. Kellner, M. Mathieu. 2000. Histological characterization and glucose incorporation into glycogen of the Pacific Oyster *Crassostrea gigas* storage cells. *Mar. Biotechnol.* 2, 136-145.
- Boulais, M., C. Corporeau, A. Huvet, I. Bernard, C. Quere, V. Quillien, C. Fabioux, M. Suquet. 2015. Assesment of oocyte and trochophore quality in Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture.* 437: 201-207.
- Bourne, N., C. A. Hodgson, J.N.C. Whyte. 1989. A manual for scallop cultura in British Columbia. Canadian Tech. Rep. Fish and Aquatic Sciences, No. 1694: 215 pp.
- Buroker, N. E. 1983. Sexuality with respect to the Shell length and group size in the Japanese oyster *Crassostrea gigas*. *Malacologia* 23, 271-279.
- Cáceres-Martínez, J., G.S.C. Ramirez, R. Vasquez-Yeomans, M. de O.P. Macías. 2004. Reproductive cycle and mortality of the japanese oyster *Crassostrea gigas* cultures in Bahía Falsa, Baja California, México. *Jour. Shell. Researh.* 23 (3): 795-801.
- Cáceres-Martínez, J., R. Vásquez-Yeomans, G. Padilla-Lardizábal, M.A. del Río Portilla. 2008. *Perkinsus marinus* in pleasure oyster *Crassostrea corteziensis* from Nayarit, Pacific coast of México. *Journal of Invertebrate Pathology* 99 66-73
- Caers, M., P. Coutteau, K. Cure, V. Morales, G. Gajardo, P. Sorgeloos. 1999. The Chilan scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). II. Manipulation of the fatty acid composition and lipid content of the eggs via lipid supplementation of the broodstock diet. *Comp. Biochem Physiol. B* 123:97-103.
- Caers, M., S.D. Utting, P. Coutteau, P.F. Millican. 2002. Impact of the supplementation of a docosahexanoic acid-rich emulsion n the reproductive output of oyster broodstock, *Crassostrea gigas*. *Marine Biology* 140, 1157-1166.
- Cannuel, R., P.G. Beninger. 2005. Is oyster broodstock feeding always necessary? A study using oocyte quality predictors and validators in *Crassostrea gigas*. *Aquat. Living Resour.* 18, 35-43.
- Chávez-Villalba, J., J. Cochard, M. Le Pennec, J. Barret, M. Enriquez-Díaz, C. Caceres-Martinez. 2003. Effects of temperatura and feeding regimes on

- gametogénesis and larval production in the oyster *Crassostrea gigas*. J. Shellfish Res. 22 (3), 721-731.
- Chávez-Villalba, J., M. R. Lopez-Tapia, J.M. Mazón-Suástegui, M. Robles-Mungaray. 2005. Growth of the oyster *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951) in Sonora, Mexico. Aquaculture, Mexico. Aquaculture Research 36:1337-1344.
- Chávez-Villalba, J., R. Villelas-Avila, C. Cáceres-Martínez. 2007. Reproduction, condition and mortality of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) in Sonora, México. Aquac. Research 38, 268-278
- Chávez-Villalba, J. 2014. Cultivo de ostión *Crassostrea gigas*: Análisis de 40 años de actividades en México. Hidrobiológica 24 (3): 175-190.
- Chu, F.L.E., J. Graves. 1991. Metabolism of palmitic, linoleic and linolenic in adult oysters, *Crassostrea virginica*. Marine Biology. 110, 229-236.
- CIIFEN. 2014. El Niño/La Niña update. CIIFEN Statemnt-August 21st 2014. El Niño second pulse i son development.
- Cognie, B., J. Haure, L. Barillé. 2006. Spatial distribution in a températe coastal ecosystem of the wild stock of the farmed oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). Aquaculture. 259:249-259.
- Collet, B., P. Boudry, A. Thebault, S. Heurtebise, B. Morand, A. Gérard. 1999. Relationship between pre- and post-metamorphic growth in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) Aquac. 175: 215-226
- Coon, S. L., W.K. Fitt, D. B. Bona. 1990. Competence and delay of metamorphosis in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Mar. Bio. 106: 379-387.
- Costil, K., J. Royer, M. Ropert, P. Soletchnik, M. Mathieu. 2005. Spatio-temporal variations in biological performances and summer mortality of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in Normandy (France). Helgoland Marine Research. 59: 286-300.
- Da Costa, F., B. Petton, C. Mingant, G. Bougaran, C. Rouxel, C. Quéré, G.H. Wikfors, P. Soudant, R. Robert. 2015a. Influence of one selected *Tisochrysis lutea* strain rich in lipids on *Crassostrea gigas* larval development and biochemical composition. Aquac Nutr. Doi: 10.1111/anu.12301.
- Da Costa, F., R. Robert, C. Quéré, G.H. Wikfors. 2015b. Essential fatty acid assimilation and synthesis in larvae of the bivalve *Crassostrea gigas*. Lipids. 50:503-511.

- Dorange, G., M. Le Pennec. 1989. Ultrastructural study of oogenesis and oocytic degeneration in *Pecten maximus* from the Bay of St. Brieuc. *Marine Biology* 103: 339-348.
- 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.
- Eckelbarger, K. J., C.V. Davis. 1996. Ultrastructure of the gonad and gametogenesis in the Eastern oyster, *Crassostrea virginica*. I. Ovary and oogenesis. *Marine Biology*. 127:79-87.
- Ehteshami, F., A. Christianus, H. Rameshi, Harmin S.A., Saad C.R. 2011. Proximate and fatty acid composition of the gonads of wild versus hatchery-conditioned *Pinctada margaritifera* broodstock. *Aquaculture nutrition*. 17:675-682.
- Enrique-Díaz, M., S. Pouvreau, J. Chavez-Villalba, M. Le Pennec. 2009. Gametogenesis, reproductive investment, and spawning behavior of the Pacific giant oyster *Crassostrea gigas*: evidence of an environment-dependent strategy. *Aquac. Intern.* (7) 5. 491-506.
- Epp, J., V. M. Bricelij, R.E. Malouf. 1988. Seasonal partitioning and utilization of energy reserves in two age classes of the bay scallop *Argopecten irradians irradians* (Lamarck). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 121: 113-136.
- Ewart, J.W., G.D. Pruder. 1981. Comparative growth of *Isochrysis galbana* Parke and *Isochrysis aff. galbana*, clone T-iso at four temperatures and three light intensities. *J. World Maric. Soc.*, 12, 333-339.
- FAO .2005. Programa de información de especies acuáticas. Texto de Helm, M.M. In: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Roma.
- http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Crassostrea_gigas/es
- FAO. 2016. Estadísticas de pesca y acuicultura. Producción mundial por origen de producción 1950-2014 (FishstatJ). In: FAO Departamento de Pesca y Acuicultura. Roma. Publicación 2016.
- <http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/en>
- Fariás, A., I. Uriarte, J.C. Castilla. 1998. A biochemical study of the larval and postlarval stages of the Chilean scallop. *Aquaculture*. 166: 37-47.

- Fernández-Reiriz, M. J., A. Pérez-Camacho, L.G. Peteiro, U. Labarta. 2011 Growth and kinetics of lipids and fatty acids of the clam *Venerupis pullastra* during larval development and postlarvae. *Aquac. Nut.* 17: 13-23.
- FranceAgrimer. 2011. Commerce extérieur des produits de la pêche et de l'aquaculture. Données statistiques 2010.
http://www.franceagrimer.fr/content/download/3099/16787/file/bilan_CE_2010.pdf
- Fraser, A. M. 1989. Triacylglycerol content as a condition index for fish, bivalve, and crustacean larvae. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46:1868-1873.
- Gabbott, P. A. 1975. Storage cycles in marine bivalve mollusks: a hypothesis concerning the relationship between glycogen metabolism and gametogenesis. In: H. Barnes (Ed). Ninth European Marine Biology Symposium. Aberdeen University Press, Aberdeen, Scotland. Pp. 191-211.
- Gagné, R., R. Tremblay, F. Pernet, P. Miner, J.F. Samain, F. Olivier. 2010. Lipid requirements of the scallop *Pecten maximus* (L.) during larval and postlarval development in relation to addition of *Rhodomonas salina* in diet. *Aquac.* 309, 212-221.
- García-Cuellar, J.A., F. García-Domínguez, D. Lluch-Belda, S. Hernández-Vázquez. 2004. El Niño and La Niña effects on reproductive cycle of the pearl oyster *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) (Pteriidae) at isla Espíritu Santo in the Gulf of California. *Journal of Shellfish Research* 23(1):113-120.
- García-Esquivel, Z. 2000. Energy metabolism during early postlarval development in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. Doctoral dissertation. State University of New York.
- García-Esquivel, Z., V.M. Bricelj, M.A. González-Gómez. 2001. Physiological basis for energy demands and early postlarval mortality in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 263: 77-103
- Gómez-Robles, E., J.M. Mazón-Suástegui, H. Acosta-Salmón, M. Hawkyns-Martínez, P.E. Saucedo. 2013. Internal nutrient management associated with gonad quality and successful reproduction in the winged pearl oyster *Pteria sterna*. *Aquaculture*. 412-413: 45-51.
- Gouletquer, P. 1997. Natural reproductive cycle of *Crassostrea gigas*. Proceedings: The natural and controlled reproduction of cultivated bivalves in France: Symposium report, Ifremer, 7-19.
- Grant, A., P.A. Tyler. 1983. The analysis of data in studies of invertebrate reproduction. II. The analysis of oocyte size/frequency data, and comparison of different types of data. *Int. J. Invert. Reprod.* 6:271-283.

- Haws, M. C. 1993. Survival and biochemical changes during metamorphosis of the American oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin) and the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). Doctoral dissertation. Texas A&M University. E.U.
- Hendricks, I. E., L.A. Duren, P.M.J. Herman. 2003. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on reproductive output and larval growth of bivalves. *J. of Exp. Mar. Biol. And Ecol.* 296: 199-213.
- Howard, R. W., D. W. Stanley. (1999) The tie that binds: eicosanoids in invertebrate biology. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 92, 880-890.
- Helm, M. M., D.L. Holland, S.D. Utting, J. East. 1991. Fatty acid composition of early non-feeding larvae of the European flat oyster, *Ostrea edulis*. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 71: 691-705.
- Helm, M. M., N. Bourne, A. Lovatelli. 2006. FAO.Cultivo de bivalvos en criadero. Manual práctico. Documento técnico de pesca 471.
- Henry, G. T. 2014. Induction of metamorphosis and seed attachment in hatchery production of King scallop *Pecten maximus* (L.) and the blue mussel *Mytilus edulis* (L.). Dissertation. University of Wales Bangor, Gwynedd, Wales, UK.
- His, E., D. Maurer. 1988. Shell growth and gross biochemical composition of oyster larvae (*Crassostrea gigas*) in the field. *Aquaculture*, 69, 185-194.
- Holland, D. L., B.E. Spencer. 1973. Biochemical changes in fed and starved oysters, *Ostrea edulis* L. during larval development, metamorphosis and early spat growth. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 53, 287-298.
- Invasive species compendium. 2014. *Crassostrea gigas* (Pacific oyster)
<http://www.cabi.org/isc/datasheet/87296#>
- Jonsson, P. R., K.M. Berntsson, C. André, S.A. Wangberg. 1999. Larval growth and settlement of the European oyster (*Ostrea edulis*) as a function of food quality measured as fatty acid composition. *Marine Biology* 134: 559-570.
- Kang, C. K., M.S. Park, P.Y. Lee, W.J. Choi, W.C. Lee. 2000. Seasonal variation in condition, reproductive activity, and biochemical composition of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg) in suspended culture in two coastal bays of Korea. *Journal of Shellfish Research*. 19 (2):771-778.
- Kelly, J.R, R.E. Scheibling. 2012. Fatty as dietary tracers in benthic food webs. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 446:1-22.
- Kraffe, E., P. Soudant, Y. Marty. 2004. FA composition of serine, ethanolamine, and choline plasmalogens in some marine bivalves. *Lipids* 39 (1)

- Labarta, U., M.J. Fernandez-Reiriz, A. Pérez-Camacho. 1999. Energy, biochemical substrates and growth in the larval development, metamorphosis and postlarvae of *Ostrea edulis* (L.). Jour. of Exp. Mar. Biol. And Ecol. 238, 225-242.
- Laing, I., R. Anthony, A. Child, A. Janke. 1990. Nutritional value of dried algae diets for larvae of manila clam (*Tapes philippinarum*). J. mar. Biol. Ass. U. K. 70, 1-12.
- Laing, I., N.H. Earl. 1998. The lipid content, spatfall and subsequent growth of early and late settling hatchery-reared Pacific oyster, *Crassostrea gigas* Thunberg, larvae. Aquac. Research. 29, 19-25
- Li, Q., M. Osada, K. Mori. 2000. Seasonal biochemical variations in Pacific oyster gonadal tissue during sexual maturation. Fisheries science. 66, 502-508.
- Lipovsky, V. 1984. Oyster egg development as related to larval production in a commercial hatchery. Aquaculture. 39:229-235.
- Lluch-Cota, D.B., D. Lluch-Belda, S.E. Lluch-Cota, J.R. Lara-Lara, M.G. Hammann, Y.J. Morales, J. López-Martínez, M.O. Nevarez-Martínez, G. Ponce-Díaz, C.A. Salinas-Zavala, A. Vega-Velázquez. 1999. Las pesquerías y El Niño. In: Magaña, R. V. O. (Ed.), Los Impactos de El Niño en México. SG-UNAM-IAISEP/CONACyT, México, D.F., pp. 137-179.
- Lossanoff, V.L., H.C. Davis. 1963. Rearing of bivalve mollusks. U.S Bureau of commercial fisheries biological laboratory, Milford, Connecticut.
- Lu, Y.T., Blake N.J., J.J. Torres. 1999. Biochemical utilization during embryogenesis and metamorphosis in the bay scallop, *Argopecten irradians concentricus* (Say). J. Shellfish Research. 8(2): 425-429.
- Lucas, A., L. Chebab-Chabali, P. Beninger. 1986. Variation of relative organic matter in *Mytilus edulis* L. larvae and postlarvae. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 95:99-103.
- Nehring, S. 2011. NOBANIS-Invasive Alien Species Fact Sheet- *Crassostrea gigas*.-From: Database of the European Network on Invasive Alien Species-NOBANIS. <https://www.nobanis.org/globalassets/speciesinfo/c/crassostrea-gigas/crassostrea-gigas.pdf>
- Nevejan, N., I. Saez, G. Gajardo, P. Sorgeloos. 2003. Supplementation of EPA and DHA emulsions to a *Dunaliella tertiolecta* diet: effect on growth and lipid composition of scallop larvae, *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). Aquac. 217, 613-632.

- Ngo, T. T. T., S.G. Kang, D.H. Kang, P. Sorgeloos, K.S. Choi. 2006. Effect of culture depth on the proximate composition and reproduction of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* from Gosung Bay, Korea. *Aquac.* 253. 712:720.
- Mann, R. 1979. Some biochemical and physiological aspects of growth and gametogenesis in *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis* grown at sustained elevated temperatures. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom.* 59. 95-110.
- Marshall, R., S. McKinley, C.M. Pearce. 2010. Effects of nutrition on larval growth and survival in bivalves. *Rev. In Aquac.* 2. 33-55.
- Marty, Y., F. Delaunay, J. Moal, J.F. Samain. 1992. Changes in the fatty acid composition of *Pecten maximus* (L.) during larval development. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 163, 221-234.
- Massapina, C., S. Joaquim, D. Matias, N. Devauchelle. 1999. Oocyte and embryo quality in *Crassostrea gigas* (Portuguese strain) during a spawning period in Algarve, South Portugal. *Aquat. Living Resource.* 12 (5), 327-333.
- Matias, D., R. Ben-Hamadou, S. Joaquim, M. M. Matias, P. Sobral, A. Leitao. 2014. The influence of different microalgal diets on European clam (*Ruditapes decussatus*, Linnaeus, 1758) larvae cultura performances. *Aqua. Resear.* 1-17.
- Palacios, E., I.S. Racotta, Y. Marty, E. Kraffe, J. Moal, U.M.M Azeiteiro, F.M. Morgado. 2003. Histochemistry and histology in planctonic ecophysiological processes determination in a temperate estuary (Mondego River estuary, Portugal). *ActaOecologica* 24:S235-S243.
- Palacios, E., I.S. Racotta, A.M. Ibarra, J.L. Ramírez, A. Millan, S. Avila. 2004. Comparison of biochemical composition and muscle hypertrophy associated with the reproductive cycle of diploid and triploid *Argopecten ventricosus* scallops. *Journal of Shellfish Research.* 23:483-489.
- Palacios, E., I.S. Racotta, Y. Marty, E. Kraffe, J. Moal, J.F. Samain. 2005. Lipid composition of the Pacific lion-paw scallop, *Nodipecten (Lyropecten) subnodosus*, in relation to gametogenesis. I. Fatty acids. *Aquaculture* 250, 270-282.
- Palacios-Fest, M. R., J.M. Mazon-Suastegui, S. García-Sandoval, M. Diego-Peralta, J.C. Estrada-Ortega, A.A. Altamirano-Saucedo, J. Pérez-Flores. 1988. *Manual Técnico para la Operación de los Centros Acuícolas Productores de Ostión.* SEPESCA. Dir. Gral. Comunicación Social. México. 324 p.

- Parral Gómez, A. 2013. Evaluación del crecimiento de líneas de ostión japonés *Crassostrea gigas* originarias de Chile y EUA, y sus cruizas en el Estero de Rancho Bueno B. C. S. UABCS. La Paz BCS.
- Pernet, F., R. Tremblay, E. Bourget. 2003. Biochemical indicator of sea scallop (*Placopecten magellanicus*) quality base on lipid composition. Part II: Larval growth, competency and settlement. J. of Shellfish Research. 22(2): 377-388.
- Pernet, F., V.M Bricelj, C.C. Parrish. 2005. Effect of varying dietary levels of w6 polyunsaturated fatty acids during the early ontogeny of the sea scallop, *Placopecten magellanicus*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 327: 115-133.
- Programa Maestro del Sistema de Producción de Ostión de Baja California .2008.
http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/pme_ostion_bc.2008.
- Programa Maestro del Sistema de Producción de Ostión de Baja California Sur 2011.
http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/pme_ostion_bcs.2011.
- Programa Maestro del Sistema de Producción de Ostión de Sonora. 2008.
http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/pme_ostion_SON.2008.
- Racotta, I. S., J.L. Ramírez, S. Avila, A.M. Ibarra. 1998. Biochemical composition of gonad and muscle in the Catarina scallop, *Argopecten ventricosus*, after reproductive conditioning under two feeding systems. Aquaculture, 163: 111-112.
- Racotta, I. S., E. Palacios, A.M. Ibarra. 2003. Shrimp larval quality in relation to broodstock condition. Aquaculture 227, 107-130.
- Racotta, I. S., E. Palacios, R. Hernandez-Herrera, A. Bonilla, C. I. Pérez-Rostro, J. L. Ramírez. 2004. Criteria for assessing larval and postlarval quality of Pacific White shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931). Aquaculture 233:181-195.
- Reinecke-Reyes, M. A. 1996. Madurez y desove de almeja mano de león *Lyropecten subnodosus* Sowerby, 1835 (Bivalvia: Pectinidae) en la laguna Ojo de Liebre, B.C.S. México. En: C. E. Castro-Aguirre (ed.), Boletín Pesquero SEMARNAT/INP-CRIP-La Paz, B. C. S., México. 3:17-20.
- Ren, J. S., I.D. Marsden, A.H. Ross, D.R. Schiel. 2010. Seasonal variation in the reproductive activity and biochemical composition of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) from the Marlborough Sounds, New Zealand. New Zealand J. Mar. Fresh. Res. 37: 171-182

- Rico-Villa, B., J.R. Le Coz, C. Mingant, R. Robert. 2006. Influence of phytoplankton diet mixtures on microalgae consumption, larval development and settlement of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquac.* 256: 377-388.
- Rico-Villa, B. 2009. Les besoins écophysiológicos des larves d'huitre creuse *Crassostrea gigas* en conditions controlées: effet de la température, de la nourriture et modélisation de la croissance. Disertacion doctoral. Universidad de Brest. Francia.
- Rodríguez J. M. D. C. 2014. Cambios fisiológicos durante la gametogénesis en respuesta a incremento de temperatura experimental y natural: comparación entre una especie de ostión templada (*Crassostrea gigas*) y una tropical (*C. corteziensis*). Disertación doctoral. CIBNOR. La Paz, B.C.S.
- Ruesink, J. L., H.S. Lenihan, A. C. Trimble, K.W. Heiman, F. Micheli, J.E. Byers, M.C. Kay. 2005. Introduction of non-native oysters: Ecosystem effects and restoration implications. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 36:643-89.
- Ruiz-Verdugo, C. A., I.S. Racotta, A.M. Ibarra. 2001. Comparative biochemical composition in gonad and adductor muscle of triploid and diploid Catarina scallop (*Argopecten ventricosus* Sowerby II, 1842). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 259, 155-170.
- SAGARPA. 2010. Plan Rector: sistema producto ostión. 37 p.
- SAGARPA. 2013. Registro y Estadística Pesquera y Acuícola-Consulta Específica por Especie. Disponible en línea en http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/consulta_especifica_por_produccion
- Sánchez-Lazo, C., I. Martínez-Pita. 2014. Effects of different mono, bi and trispecific microalgal diets on survival, growth, development, settlement and fatty acid composition of mussel *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) larvae. *Aquac.* 426-427: 138-147.
- Sargent, J., G. Bell, L. McEvoy, D. Tocher, A. Estevez. (1999) Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture*, 177, 1991-1999.
- Soundant, P., Y. Marty, J. Moal, J.F. Samain. 1996 Fatty acids and egg quality in great scallop. *Aquac. Intern.* 4: 191-200.
- Soudant, P., R.K. Van, Y. Marty, J. Moal, J.F. Samain, P. Sorgeloos. 1999. Comparison of the lipid class and fatty acid composition between a reproductive cycle in nature and a standard hatchery conditioning of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Comp. Bioch. Phys. Part B* 123, 209-222.

- Stanton, S. A. 2012. Structure and function of the external ciliation of larval bivalves with different life history strategies. Doctoral dissertation. University of Portsmouth.
- Steele, S., M.F. Mulcahy. 1999. Gametogenesis of the oyster *Crassostrea gigas* in southern Ireland. *Journal of the Marine Biological Association of United Kingdom* 79: 673-686.
- Sühnel, S., F. Lagreze, G. Zanette, A.R.M. Magalhaes, J.F. Ferreira. 2012. Effect of the fatty acid EPA and DHA in the conditioning of the scallop *Nodipecten nodosus* (Linné, 1758). *Aquaculture*. 330-333:167-171.
- Thompson, P. A., P. Harrison. 1992. Effects of monospecific algal diets of varying biochemical composition on the growth and survival of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) larvae. *Marine Biology*. 113: 645-654.
- Thompson, P. A., P. Harrison. 1993. The influence of irradiance on the biochemical composition of three phytoplankton species and their nutritional value for value of the Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*). *Marine Biology*. 117: 259-268.
- Utting, S. D., P.F. Millican. 1997. Techniques for the hatchery conditioning of bivalve broodstock and the subsequent effect on egg quality and larval viability. *Aquaculture*. 144 (1-4) 45-54.
- Whyte, J.N.C., N. Bourne, C.A. Hodgson. 1987. Assessment of biochemical composition and energy reserves in larvae of the scallop *Patinopecten yessoensis*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 113: 113-124.
- Whyte, J.N.C., N. Bourne, N.G. Ginther. 1990. Biochemical and energy changes during embryogenesis in the rock scallop, *Crassadoma gigantea* (Gray). *Mar. Biol.*, 106: 239-244.
- Whyte, J.N.C., N. Bourne, N.G. Ginther. 1991. Depletion of nutrient reserves during embryogenesis in the scallop *Patinopecten yessoensis* (Jay). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 149. 67-79
- Whyte, J. N. C., N. Bourne, N.G. Ginther, C.A. Hodgson. 1992. Compositional changes in the larva to juvenile development of the scallop *Crassadoma gigantea* (Gray). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 163: 13-29.
- Wilson, J. A., O.R. Chaparro, R.J. Thompson. 1996. The importance of broodstock nutrition on the viability of larvae and spat in the Chilean oyster *Ostrea chilensis*. *Aquaculture*. 139: 63-75.

11. ANEXO

Composición en μg por mg de materia orgánica

Tabla XV. Contenido de proteína, lípidos, carbohidratos y triacilglicéridos en ovocito (μg por mg de materia orgánica). Los datos fueron analizados usando la época como variable independiente en un ANOVA unifactorial ($P < 0.05$). Valor promedio \pm error estándar.

Componente bioquímico	MAYO	JUNIO	AGOSTO
Proteína	583.5 \pm 3.9 ^b	524.4 \pm 10.9 ^a	502.6 \pm 23.5 ^a
Lípidos	528.1 \pm 15.9	459.9 \pm 69.0	345.9 \pm 146.0
Carbohidratos	27.1 \pm 1.2 ^b	19.3 \pm 1.3 ^a	17.9 \pm 0.5 ^a
Triacilglicéridos	12.3 \pm 1.3	13.6 \pm 0.8	17.2 \pm 1.7

Tabla XVI. Contenido de proteína, lípidos, carbohidratos y triacilglicéridos en larva D (μg por mg de materia orgánica). Los datos fueron analizados usando la época como variable independiente en un ANOVA unifactorial ($P < 0.05$). Valor promedio \pm error estándar.

Componente bioquímico	MAYO	JUNIO	AGOSTO
Proteína	571.9 \pm 41.3 ^b	226.9 \pm 30.4 ^a	552.3 \pm 37.8 ^b
Lípidos	429.9 \pm 35.0	430.1 \pm 6.6	336.3 \pm 78.3
Carbohidratos	56.0 \pm 6.9 ^b	9.0 \pm 2.2 ^a	24.1 \pm 9.5 ^a
Triacilglicéridos	51.6 \pm 3.5	37.1 \pm 3.5	25.8 \pm 7.8

Tabla XVII. Contenido de proteína, lípidos, carbohidratos y triacilglicéridos en larva pediveliger (μg por mg de materia orgánica). Los datos fueron analizados usando la época y el grupo de crecimiento como variables independientes en un ANOVA bifactorial ($P < 0.05$). Valor promedio \pm error estándar.

COMPONENTE	CRECIMIENTO	MAYO	JUNIO	AGOSTO	E	C	E*C
Proteína	ALTO	540.7 \pm 24.9	522.9 \pm 42.6	554.0 \pm 32.1	NS	NS	NS
	BAJO	521.1 \pm 24.3	528.1 \pm 16.9	532.4 \pm 21.3			
Lípidos	ALTO	351.9 \pm 9.6	352.8 \pm 5.7	459.8 \pm 34.5	*	NS	*
	BAJO	424.5 \pm 15.4	379.2 \pm 9.4	413.6 \pm 29.6			
Carbohidratos	ALTO	32.8 \pm 1.0	39.2 \pm 5.5	38.6 \pm 4.2	NS	NS	*
	BAJO	46.5 \pm 2.0	36.5 \pm 5.3	29.8 \pm 1.1			
Triacilglicéridos	ALTO	39.3 \pm 1.6	21.1 \pm 0.9	41.8 \pm 0.7	**	NS	**
	BAJO	37.3 \pm 2.7	41.0 \pm 5.9	37.9 \pm 0.3			

Tabla XVIII. Contenido de proteína, lípidos, carbohidratos y triacilglicéridos en postlarva (μg por mg de materia orgánica). Los datos fueron analizados usando la época y el grupo de crecimiento como variables independientes en un ANOVA bifactorial ($P < 0.05$). Valor promedio \pm error estándar.

COMPONENTE	MAYO	JUNIO	AGOSTO	E	C	E*C
Proteína	678 \pm 28	370 \pm 85	472 \pm 43	NS	NS	NS
	565 \pm 44	526 \pm 103	497 \pm 66			
Lípidos	894.6 \pm 111.0	466.7 \pm 76.6	750.5 \pm 63.3	NS	NS	*
	610.7 \pm 70.5	703.0 \pm 35.2	508.9 \pm 95.9			
Carbohidratos	133 \pm 40	56 \pm 14	40 \pm 5	*	NS	NS
	130 \pm 17	93 \pm 35	57 \pm 10			
Triacilglicéridos	13 \pm 1	10 \pm 2	24 \pm 2	**	NS	NS
	19 \pm 5	7 \pm 2	34 \pm 5			

Tabla XIX. Ácidos grasos de lípidos neutros en larva pediveliger (PD) y postlarva (PL) que presentaron las más altas relaciones con los parámetros zootécnicos, y niveles en cada uno de los grupos de crecimiento y épocas. Datos reportados como media \pm error estándar. Los datos fueron analizados usando la época y el grupo de crecimiento como variables independientes en un ANOVA bifactorial ($P < 0.05$).

Acido graso	Estadio	GRUPO DE CRECIMIENTO		EPOCA			E*CG
		ALTO	BAJO	MAYO	JUNIO	AGOSTO	
14:0	PD	4.5 \pm 0.5	5.1 \pm 0.4	6.0 \pm 0.2 ^c	3.6 \pm 0.6 ^a	4.8 \pm 0.1 ^b	-
	PL	2.8 \pm 0.6	3.5 \pm 0.7	4.5 \pm 0.5 ^b	1.0 \pm 0.1 ^a	3.9 \pm 0.2 ^b	-
16:0	PD	9.6 \pm 0.7	10.2 \pm 1.0	12.5 \pm 0.4 ^b	7.7 \pm 0.4 ^a	9.5 \pm 0.9 ^a	-
	PL	9.3 \pm 1.0	11.5 \pm 1.1	13.7 \pm 0.5 ^c	7.6 \pm 1.0 ^a	9.6 \pm 0.3 ^b	-
20:2j	PD	0.26 \pm 0.0	0.30 \pm 0.0	0.17 \pm 0.0 ^a	0.43 \pm 0.0 ^b	0.24 \pm 0.0 ^a	-
	PL	0.34 \pm 0.0 ^a	0.40 \pm 0.1 ^b	0.20 \pm 0.0 ^a	0.59 \pm 0.1 ^c	0.32 \pm 0.0 ^b	*
22:2i	PD	0.82 \pm 0.1	0.74 \pm 0.1	0.81 \pm 0.1	0.80 \pm 0.1	0.74 \pm 0.1	*
	PL	1.09 \pm 0.1 ^b	0.78 \pm 0.1 ^a	0.91 \pm 0.1 ^a	1.2 \pm 0.1 ^b	0.7 \pm 0.1 ^a	-
22:2j	PD	4.4 \pm 0.6	4.3 \pm 0.4	3.1 \pm 0.2 ^a	5.8 \pm 0.4 ^b	4.1 \pm 0.4 ^a	-
	PL	5.8 \pm 0.9	5 \pm 0.8	3.6 \pm 0.1 ^a	8.5 \pm 0.4 ^b	4.3 \pm 0.2 ^a	-
18:1n-9	PD	5.4 \pm 0.4 ^b	4.3 \pm 0.8 ^a	6.7 \pm 0.1 ^c	2.8 \pm 0.5 ^a	5.0 \pm 0.6 ^b	-
	PL	4.8 \pm 0.8	4.5 \pm 1.0	6.8 \pm 0.4 ^c	1.9 \pm 0.3 ^a	5.2 \pm 0.8 ^b	-
16:1n-7	PD	7.2 \pm 0.4 ^a	10.2 \pm 0.9 ^b	7.5 \pm 0.3 ^a	9.8 \pm 1.7 ^b	8.7 \pm 0.4 ^b	**
	PL	5.4 \pm 0.6	7.3 \pm 0.8	7.1 \pm 0.5 ^b	4.3 \pm 1.1 ^a	7.4 \pm 0.5 ^b	**
18:1n-7	PD	7.3 \pm 0.3 ^a	9.5 \pm 0.9 ^b	6.7 \pm 0.2 ^a	10.1 \pm 1.3 ^c	8.4 \pm 0.2 ^b	**
	PL	6.8 \pm 0.5 ^a	8.7 \pm 0.4 ^b	7.2 \pm 0.3 ^a	7.3 \pm 1.1 ^a	8.5 \pm 0.3 ^b	**
18:4n-3	PD	5.8 \pm 0.9 ^b	3.5 \pm 0.9 ^a	8.1 \pm 0.6 ^c	2.0 \pm 0.4 ^a	3.9 \pm 0.6 ^b	-
	PL	3.2 \pm 0.5 ^b	3.1 \pm 0.8 ^a	5.3 \pm 0.2 ^c	1.4 \pm 0.2 ^a	3.0 \pm 0.2 ^b	-
20:4n-6	PD	3.0 \pm 0.3 ^a	3.8 \pm 0.3 ^b	2.5 \pm 0.2 ^a	4.5 \pm 0.3 ^c	3.3 \pm 0.3 ^b	-
	PL	4.3 \pm 0.6	4.3 \pm 0.5	3.1 \pm 0.1 ^a	6.0 \pm 0.3 ^b	3.8 \pm 0.3 ^a	-
20:5n-3	PD	11.4 \pm 0.6 ^a	15.0 \pm 1.4 ^b	9.4 \pm 0.3 ^a	15.3 \pm 1.4 ^b	15.0 \pm 1.1 ^b	**
	PL	11.7 \pm 0.7 ^a	13.6 \pm 1.4 ^b	9.8 \pm 0.4 ^a	13.1 \pm 1.0 ^b	14.9 \pm 1.4 ^b	*
22:6n-3	PD	16.8 \pm 1.1 ^b	12.0 \pm 0.8 ^a	14.8 \pm 0.7 ^b	16.4 \pm 2.1 ^b	12.1 \pm 1.1 ^a	*
	PL	16.8 \pm 1.6 ^b	12.9 \pm 0.7 ^a	13.7 \pm 0.8 ^a	19.0 \pm 1.8 ^b	12.3 \pm 0.7 ^a	**
Σ SAT	PD	18.5 \pm 1.1	20.7 \pm 1.9	23.2 \pm 0.7 ^b	15.7 \pm 0.9 ^a	19.9 \pm 2.3 ^{ab}	-
	PL	18.7 \pm 1.5	21.6 \pm 1.7	24.9 \pm 0.8 ^b	16.2 \pm 1.6 ^a	19.1 \pm 0.6 ^a	-
Σ MONO	PD	27.9 \pm 0.6 ^a	31.8 \pm 1.4 ^b	27.7 \pm 0.8 ^a	32.7 \pm 2.1 ^b	29.3 \pm 0.2 ^a	**
	PL	27.7 \pm 1.0	29.4 \pm 0.7	28.9 \pm 0.7	26.8 \pm 1.5	29.8 \pm 0.7	-
Σ POLY	PD	47.7 \pm 0.6 ^b	41.6 \pm 1.4 ^a	44.6 \pm 1.6	44.1 \pm 2.0	45.3 \pm 2.0	-
	PL	45.6 \pm 1.3	42.2 \pm 1.2	40.8 \pm 1.4	46.2 \pm 1.6	45.1 \pm 1.1	-
Σ HUFA	PD	38.6 \pm 1.0	36.1 \pm 1.3	36.6 \pm 1.1	39.5 \pm 1.6	35.9 \pm 1.6	-

	PL	38.9±2.0	36.5±1.3	34.2±1.3 ^a	43.0±1.6 ^b	36.0±1.3 ^a	-
ΣNMI	PD	5.9±0.7	5.8±0.4	4.5±0.3 ^a	7.5±0.5 ^b	5.6±0.5 ^a	-
	PL	8.0±1.0	6.8±0.9	5.4±0.1 ^a	10.8±0.5 ^b	6.0±0.2 ^a	-
Σn-3	PD	38.8±0.6 ^b	33.7±1.3 ^a	37.0±1.4	36.3±1.8	35.5±1.9	-
	PL	35.3±1.3	33.6±0.8	32.7±0.9	36.4±1.7	34.4±0.9	-
n-3/n-6	PD	4.4±0.2	4.3±0.2	4.8±0.1 ^b	4.6±0.2 ^b	3.6±0.2 ^a	-
	PL	3.4±0.2	3.9±0.2	4.1±0.2	3.6±0.3	3.2±0.1	-
22:6/20:5	PD	1.5±0.1 ^b	0.9±0.1 ^a	1.6±0.1 ^c	1.2±0.2 ^b	0.8±0.1 ^a	**
	PL	1.5±0.1 ^b	1.0±0.1 ^a	1.4±0.1 ^b	1.5±0.2 ^b	0.9±0.1 ^a	*
20:4/20:5	PD	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0 ^b	0.3±0.0 ^b	0.2±0.0 ^a	**
	PL	0.4±0.1	0.3±0.0	0.3±0.0 ^a	0.5±0.1 ^b	0.3±0.0 ^a	-

Tabla XX. Ácidos grasos de lípidos polares en larva pediveliger (PD) y postlarva (PL) que presentaron las más altas relaciones con los parámetros zootécnicos, y niveles en cada uno de los grupos de crecimiento y épocas. Datos reportados como media ± error estándar. Los datos fueron analizados usando la época y el grupo de crecimiento como variables independientes en un ANOVA bifactorial (P<0.05).

Acido graso	Estadio	GRUPO DE CRECIMIENTO		EPOCA			E*GC
		ALTO	BAJO	MAYO	JUNIO	AGOSTO	
14:00	PD	1.6±0.2	1.7±0.2	2.0±0.2 ^b	0.9±0.1 ^a	2.0±0.0 ^b	*
	PL	1.2±0.2	1.5±0.2	1.8±0.2 ^b	0.7±0.1 ^a	1.4±0.1 ^b	-
16:00	PD	12.3±0.7	12.9±0.8	14.7±0.5 ^c	9.9±0.2 ^a	13.0±0.3 ^b	-
	PL	12.7±0.7	14.7±1.7	16.7±1.6	12.6±1.2	11.6±0.8	-
20:2j	PD	0.31±0.01	0.38±0.1	0.21±0.0 ^a	0.51±0.01 ^b	0.32±0.1 ^a	-
	PL	0.40±0.1	0.42±0.1	0.46±0.1	0.55±0.1	0.22±0.1	-
22:2i	PD	1.6±0.1 ^b	1.3±0.1 ^a	1.6±0.1	1.4±0.1	1.3±0.1	-
	PL	1.3±0.2	1.3±0.2	1.6±0.1 ^c	0.9±0.2 ^a	1.4±0.1 ^{ab}	-
22:2j	PD	7.8±0.6	7.9±0.7	6.0±0.2 ^a	10.0±0.3 ^b	7.5±0.2 ^a	-
	PL	6.7±0.5	6.1±0.6	5.3±0.5	6.4±0.7	7.6±0.4	-
18:1n-9	PD	2.9±0.2 ^b	2.3±0.4 ^a	3.5±0.1 ^c	1.5±0.2 ^a	2.7±0.3 ^b	*
	PL	2.5±0.3	2.3±0.4	3.1±0.3	1.8±0.5	2.4±0.3	-
16:1n-7	PD	1.7±0.1 ^a	2.6±0.2 ^b	1.8±0.2 ^a	2.3±0.4 ^b	2.4±0.1 ^b	**
	PL	1.4±0.1 ^a	1.9±0.1 ^b	1.8±0.1	1.5±0.2	1.7±0.2	-
18:1n-7	PD	8.8±0.5 ^a	10.7±0.4 ^b	8.8±0.6 ^a	9.6±0.7 ^a	10.9±0.3 ^b	-
	PL	8.5±0.2	9.3±0.4	8.9±0.3 ^{ab}	8.2±0.3 ^a	9.5±0.4 ^b	-
18:4n-3	PD	2.4±0.3 ^b	1.7±0.4 ^a	3.2±0.2 ^c	1.0±0.2 ^a	1.9±0.3 ^b	**
	PL	1.3±0.2	1.1±0.2	1.6±0.2 ^b	0.6±0.1 ^a	1.4±0.2 ^b	-
20:4n-6	PD	4.0±0.3 ^a	5.4±0.4 ^b	3.8±0.1 ^a	5.8±0.4 ^c	4.4±0.4 ^b	**

	PL	4.7±0.4	5.5±0.4	4.7±0.3	5.3±0.6	5.2±0.5	-
20:5n-3	PD	9.1±0.4 ^a	12.8±1.1 ^b	8.2±0.3 ^a	13.0±1.5 ^c	11.7±0.9 ^b	**
	PL	9.5±0.6	10.4±1.2	8.5±0.9 ^a	9.2±0.7 ^a	12.0±0.9 ^b	-
22:6n-3	PD	17.3±1.5 ^b	12.6±0.8 ^a	16.7±1.1 ^b	17.1±2.1 ^b	11.1±0.5 ^a	**
	PL	16.6±1.2 ^b	12.1±0.9 ^a	13.4±1.7	15.1±2.1	15.0±1.4	-
ΣSAT	PD	19.8±0.9 ^a	21.4±1.3 ^b	23.3±0.9 ^b	16.5±0.3 ^a	21.8±0.6 ^b	-
	PL	24.0±1.6	26.0±2.7	28.4±2.7	25.1±2.8	21.4±1.6	-
ΣMONO	PD	26.4±0.6 ^a	27.6±0.6 ^b	25.8±0.4 ^a	27.4±0.9 ^b	27.8±0.6 ^b	**
	PL	24.8±0.6	26.8±0.7	27.0±0.9	24.7±0.8	25.4±0.6	-
ΣPOLY	PD	43.8±1.0 ^b	41.2±0.3 ^a	42.8±0.9 ^{ab}	43.9±1.1 ^b	40.9±0.7 ^a	*
	PL	42.3±1.6	39.0±2.8	36.8±2.7	42.0±3.0	43.5±1.5	-
ΣHUFA	PD	36.8±1.6	36.0±0.6	36.4±0.8 ^b	39.7±0.8 ^c	33.1±1.1 ^a	*
	PL	36.7±1.5	34.9±2.8	32.3±2.8	38.0±2.8	37.3±1.7	-
ΣNMI	PD	10.0±0.6	9.8±0.7	8.1±0.3 ^a	12.2±0.4 ^c	9.4±0.3 ^b	-
	PL	8.9±0.5	8.2±0.6	7.9±0.5	8.2±0.7	9.7±0.6	-
Σn-3	PD	33.5±0.7 ^b	30.4±0.7 ^a	32.4±1.0 ^b	34.8±1.3 ^c	28.6±0.7 ^a	-
	PL	31.0±1.7	26.2±1.8	26.4±2.4	27.9±2.7	32.0±1.7	-
n-3/n-6	PD	3.4±0.3	2.9±0.2	3.2±0.2 ^b	3.9±0.3 ^c	2.4±0.2 ^a	-
	PL	2.8±0.2	2.2±0.2	2.6±0.2	2.2±0.4	2.8±0.2	-
22:6/20:5	PD	1.9±0.2 ^b	1.1±0.1 ^a	2.1±0.2 ^c	1.5±0.3 ^b	1.0±0.1 ^a	**
	PL	1.8±0.1 ^b	1.2±0.1 ^a	1.6±0.1 ^b	1.7±0.3 ^b	1.3±0.2 ^a	**
20:4/20:5	PD	0.4±0.0	0.4±0.0	0.5±0.0 ^b	0.5±0.0 ^b	0.4±0.0 ^a	**
	PL	0.5±0.0	0.5±0.0	0.6±0.0	0.6±0.0	0.4±0.0	-

Tabla XXI. Resultados de crecimiento y sobrevivencia en la etapa de pre-engorda representados indirectamente por mililitros obtenidos de postlarva por talla de tamiz en A) mayo (14 días) B) junio (11 días) y C) agosto (11 días).

A)

Replica	Volumen (mL)/Talla		Total
	315 μm	450 μm	
1	116	21	137
2	111	29	140
3	21.5	59	80.5
		Promedio=	119.2

B)

Replica	Volumen (mL)/Talla		Total
	315 μm	450 μm	
1	30	10.2	40.2
2	22	8.1	30.1
3	18	16.5	34.5
		Promedio=	34.9

C)

Réplica	Volumen (mL)/Talla		Total
	315 μm	450 μm	
1	28	34.5	62.5
2	23	26.5	49.5
3	15	12	27
		Promedio=	46

Tabla XXII. Cantidad de semilla talla >2400 μm en envíos a campo. Promedio \pm S.E.

LOTE	Número de semillas enviadas	Día post-fertilización
MAYO AC	6,973 \pm 3,014	98
MAYO BC	10,710 \pm 7,056	110
JUNIO AC	3,774 \pm 131	71
JUNIO BC	1,527 \pm 379	71
AGOSTO AC	2,992 \pm 219	57
AGOSTO BC	4,935 \pm 1,708	57

* AC y BC: Alto y bajo crecimiento respectivamente. El alto y bajo crecimiento provienen de la penúltima y última cosecha, respectivamente, de semilla talla <2400 μm en las épocas de Mayo y Junio. El alto y bajo crecimiento de Agosto proviene de la primera y última cosecha, respectivamente, de larva pediveliger que se mantuvo hasta semilla talla <2400 μm .