

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ciencias de la Vida

Descripción del estadio temprano embrionario y larvaria de la ostra de mangle

Crassostrea cf. corteziensis.

Proyecto integrador

Previo a la obtención del título de:

Biólogo

Presentado por:

Gabriel Andres Baquerizo Orrala

Marco Jonathan Mantilla Naranjo

Guayaquil – Ecuador

Año: 2023

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi madre y a mi hermana, quienes han brindado un apoyo constante e incondicional en cada logro alcanzado a lo largo mi formación académica. Este logro es también suyo, y les agradezco por ser mi fuente constante de motivación.

Gabriel Baquerizo

Dedico esta tesis a mis padres quienes me brindaron la vida junto con su amor incondicional, a mi familia sobre todo mi hermana por su apoyo constante, a mis amigos por las alegrías y a mis maestros por sus enseñanzas. Sin ustedes no sería quien soy hoy en día, este logro también es suyo.

Marco Mantilla

AGRADECIMIENTO

Expresamos nuestro profundo agradecimiento al Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marina por su apoyo y acceso a recursos clave que fueron fundamentales para llevar a cabo este proyecto. A los miembros del proyecto DIPSIMAR por su colaboración inestimable, y a nuestros tutores Julia Nieto y Franklin Jara por su orientación experta y valiosos consejos a lo largo de este proceso.

DECLARACIÓN EXPRESA

“Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; Baquerizo Gabriel y Mantilla Marco damos nuestro consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta y uso público de la propiedad intelectual”.



Gabriel Baquerizo



Marco Mantilla

EVALUADORES

Diego Arturo Gallardo, Msc.

PROFESOR DE LA MATERIA

Julia Nieto Wigby, PhD.

PROFESOR TUTOR

RESUMEN

Los manglares representan ecosistemas de suma importancia en las costas ecuatorianas, no obstante, estas enfrentan grandes amenazas como la extracción excesiva de recursos. Para avanzar hacia un modelo de aprovechamiento sostenible, es esencial contar con información detallada sobre especies clave, como la ostra de manglar *Crassostrea cf corteziensis*, que carece de un protocolo de cultivo establecido. Para mitigar la falta de información la presente investigación se enfocó en la descripción de los estadios tempranos embrionarios y larvarios de esta especie, siendo una etapa importante en la producción de semillas de esta. Para esto, se comenzó desde la obtención de reproductores, inducción al desove, fecundación y crianza de las larvas en condiciones controladas, se monitoreo su desarrollo, supervivencia y se proporcionó la alimentación adecuada durante las diferentes etapas. El estudio proporcionó una documentación detallada de los estadios tempranos embrionarios y larvarios de *C. cf corteziensis*, incluyendo características morfológicas, tiempos de desarrollo, tamaños alcanzados y se identificaron factores ambientales y de manejo que influyen en la supervivencia. Este aporte representa el primer informe de investigación sobre la especie y establece la base para futuros protocolos de cultivo.

Palabras claves: Manglares, Ostra de mangle, Estadios temprano, Desarrollo larvario.

ABSTRACT

Mangroves represent ecosystems of critical importance on the Ecuadorian coast; however, they face major threats such as excessive resource extraction. To move towards a sustainable harvest model, it is essential to have detailed information on key species, such as *Crassostrea cf corteziensis*, which lacks an established cultivation protocol. To mitigate the lack of information, the present research focused on the description of the early embryonic and larval stages of this species, which is an important stage in seed production. The methodology began with the obtaining of breeders, induction to egg spawning, fertilization, and breeding of the larvae in controlled conditions, monitoring of their development, survival and providing adequate feeding during the different stages. The study provided detailed documentation of the early embryonic and larval stages of *C. cf corteziensis*, including morphological characteristics, development times, reached sizes, and environmental and management factors influencing survival were identified. This contribution represents the first research report on the species and sets the basis for future cultivation protocols.

Keywords: Mangroves, Mangrove oysters, Early stages, Larval development.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
ÍNDICE GENERAL.....	3
ABREVIATURAS	5
SIMBOLOGÍA	6
ÍNDICE DE FIGURAS.....	7
ÍNDICE DE TABLA	8
CAPÍTULO 1	9
1 INTRODUCCIÓN.....	10
1.1 Descripción del problema.....	11
1.2 Justificación del problema.....	11
1.3 Objetivos.....	12
1.3.1 Objetivo general.....	12
1.3.2 Objetivos específicos	12
1.4 Marco teórico	13
1.4.1 Acuicultura panorama mundial, su relación con los ODS y el cambio climático ...	13
1.4.2 Desarrollo de la industria acuícola en el país y el interés en el cultivo de ostras..	14
1.4.3 El manglar, importancia y relación con la ostricultura.....	15
1.4.4 Distribución y hábitat de <i>C. cf corteziensis</i>	16
1.4.5 Desarrollo temprano en bivalvos: especies del género <i>Crassostrea</i>	16
1.4.6 Perfil nutricional para el cultivo experimental	17
1.4.7 Sustratos para la fijación durante la metamorfosis	17
CAPÍTULO 2.....	19
2 METODOLOGÍA	20
2.1 Reproductores de ostras de mangle	20

2.2	Obtención de gametos y fecundación	20
2.3	Descripción embrionaria	21
2.4	Descripción larvaria	21
2.5	Condiciones de alimentación durante etapa larvaria	21
2.6	Análisis de datos.....	22
CAPÍTULO 3.....		23
3	RESULTADOS Y ANÁLISIS	24
3.1	Obtención y fertilización de gametos <i>C. cf corteziensis</i>	24
3.2	Descripción embrionaria de la <i>C. cf corteziensis</i>	24
3.3	Descripción larvaria de la <i>C. cf corteziensis</i>	30
CAPÍTULO 4.....		35
4	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	36
4.1	Conclusiones	36
4.2	Recomendaciones	36
5	BIBLIOGRAFÍA.....	38
6	APÉNDICE	42

ABREVIATURAS

ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
CENAIM	Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas
DIPSIMAR	Desarrollo e Implementación Piloto de Sistemas de Maricultura que Generen Incentivos a la Conservación del Manglar
ODS	Objetivos de Desarrollo Sostenible
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
MAGAP	Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca
REDD+	Reducir las Emisiones Derivadas de la Deforestación y la Degradación Forestal

SIMBOLOGÍA

ppt	Partes Por Trillón
UV	Ultravioleta
h	Hora
min	Minutos
°C	Grado Celsius
L	Litro
mg/l	Miligramo por Litro
MP	Megapíxel
Células/ml	Células por mililitro
µm	Micrómetro
DE	Desviación Estándar

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Desarrollo embrionario de la <i>C. cf corteziensis</i> (imágenes agrandadas no a escala, con el fin de apreciar los cambios morfológicos.....	25
Figura 2 Tiempo (horas) transcurrido en cada etapa del desarrollo embrionario de <i>C. cf corteziensis</i>	29
Figura 3 Malformación en el estadio embrionario. Figuras de malformaciones ocurridas en el estadio embrionario lo que las convierte en inviables para su desarrollo	30
Figura 4 Desarrollo larvario de la <i>C. cf corteziensis</i> , escala modificada con el fin de apreciar las variaciones morfológicas.....	31
Figura 5 Porcentaje de supervivencia de larvas de la ostra de mangle <i>C.cf corteziensis</i>	33
Figura 6 Crecimiento longitudinal de <i>C. cf corteziensis</i> en 23 días de larvicultura	34
Figura 7 Densidad poblacional de larvas en el cultivo experimental	34

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1 Tiempo (minutos) transcurrido y talla (micrómetros) desde la fertilización hasta el estadio larva D temprana, cada dato corresponde al valor promedio de tres replicas	27
---	----

CAPÍTULO 1

1 INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas de manglar son hábitats costeros interconectado, ubicados en las desembocaduras de ríos y áreas de transición estuarina. Estos ecosistemas están poblados por árboles leñosos llamados mangle, que albergan una diversidad de especies adaptadas a condiciones cambiantes, característicos de estos ecosistemas (Whelan & Prats, 2022). Ofrecen servicios ecosistémicos que incluye la provisión de alimentos marinos, calidad de aire y agua, protección costera, captura de carbono, sustentan biodiversidad, entre otros beneficios (Carvajal & Santillán, 2019). En Ecuador, la cobertura de manglar y áreas estuarinas abarcan una extensión de aproximadamente 70.000 hectáreas (Ministerio del Ambiente Agua y Transición Ecológica, 2022). Sin embargo, estos ecosistemas enfrentan una notable disminución debido a diversas amenazas. La urbanización costera, la expansión agrícola y la acuicultura insostenible son factores clave en su deterioro. Además, la sobreexplotación de recursos, en particular la ostra de mangle representa una amenaza significativa a esta problemática. La extracción sin gestión sostenible podría resultar en un desequilibrio tanto ecológico como en el socioeconómico.

La importancia del manglar se refleja en su función crítica para alrededor de 7 mil familias, cuyos ingresos económicos dependen directamente de este entorno. La extracción de ostras de mangle *Crassostrea cf corteziensis* desempeña un papel fundamental en sus actividades económicas. Sin embargo, la reducción o desaparición de esta especie plantea desafíos considerables en cuanto a calidad del agua, la biodiversidad, ciclo de nutrientes y estabilidad ecosistémica. Por lo tanto, resulta crucial conservar y proteger las poblaciones de esta ostra para mantener la integridad del ecosistema de manglar.

Frente a estas amenazas, se buscan alternativas para preservar los manglares y garantizar el sustento de las comunidades locales. Entre las soluciones viables incluyen prácticas de pesca y acuicultura sostenible, el fomento del turismo ecológico y educación ambiental. La restauración, mediante plantación de árboles y la rehabilitación de áreas degradadas,

desempeñan un papel fundamental en la preservación de la integridad de estos ecosistemas (Yáñez-Arancibia & Lara-Dominguez, 2014). En este sentido, es imperativo encontrar enfoques que reduzcan la presión sobre el recurso natural de la ostra de mangle y, al mismo tiempo, proporcionen medios de sustento a las comunidades vinculadas al manglar, con el fin de preservar la biodiversidad y el equilibrio del ecosistema.

1.1 Descripción del problema

Existe la necesidad de la transición de la extracción a la producción para reducir la presión sobre los recursos naturales. En la actualidad, en el Ecuador solo se ha cerrado el ciclo de producción del camarón y la tilapia en cautiverio, existiendo una falta de información sobre el cultivo de especies endémicas asociadas al manglar. La ausencia de investigaciones y protocolo limita las posibilidades de impulsar el desarrollo basado en la bioeconomía (Carvajal & Santillán, 2019).

Se propone impulsar la diversificación de la producción acuícola para preservar los ecosistemas naturales del manglar, reducir la presión sobre el recurso natural, proteger la biodiversidad, y ofrecer alternativas de ingreso a comunidades asociadas a los ecosistemas de manglar y la economía del país (Carvajal & Santillán, 2019).

La falta de información de especies endémicas limita la labor de proyectos como DIPSIMAR en lograr implementar una bioeconomía que impulse por medio de la ostricultura el cuidado de áreas como el manglar, por ende, es imperativo obtener datos relevantes de especies de interés comercial que cumplan con ser especies endémicas y relacionadas con ecosistemas de manglar, como puede ser el caso de la *Crassostrea cf. corteziensis*.

1.2 Justificación del problema

El incremento y diversificación de ingresos asociados a la producción acuícola sostenible está actualmente limitado por la falta de protocolos de producción de especies endémicas,

propias de nuestros ecosistemas y con potencial comercial nacional e internacional. El estudio de los procesos embrionarios y larvarios de especies autóctonas del Ecuador es un primer paso para el desarrollo de protocolos. Este enfoque permitirá implementar cultivos bajo condiciones controladas para procesos iniciales de repoblación, que buscan regenerar las poblaciones naturales, y posteriormente para el desarrollo de la actividad comercial productiva.

La descripción del estadio temprano embrionario y larvaria de la ostra de mangle *Crassostrea cf corteziensis*, representa un primer paso para proyectos futuros relacionados con la producción acuícola en el Ecuador. El CENAIM – ESPOL es un centro de investigación cuya misión se asocia al desarrollo sostenible de la acuicultura y biodiversidad marina. La información generada por esta investigación contribuirá a la ejecución de proyectos destinados a fomentar la acuicultura sostenible de especies nativas en el país, aportando a los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) 9 y 11, y la innovación de la industria acuícola en el país para impulsar la bioeconomía asociada al manglar.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

- Estudiar el desarrollo embrionario y larvario de la *Crassostrea cf corteziensis* mediante el cultivo experimental y seguimiento fotográfico de las fases de desarrollo para la inducción del cultivo de la especie, reduciendo la presión sobre el recurso natural.

1.3.2 Objetivos específicos

- Determinar el manejo de ejemplares maduros con fines reproductivo de *C. cf corteziensis* mediante diferentes técnicas de desove existentes en la literatura en otras especies, para la fecundación y obtención de larvas de la especie.
- Identificar los cambios morfológicos en la metamorfosis temprana y larvaria de *C. cf corteziensis* mediante la observación microscópica para la obtención de imágenes y descripciones detalladas de cada etapa.

- Diseñar una guía ilustrada del ciclo de vida temprana de *C. cf. corteziensis* mediante la descripción de las sucesivas etapas del desarrollo embrionario y larvario para la optimización de los procesos de producciones futuras.

1.4 Marco teórico

1.4.1 Acuicultura panorama mundial, su relación con los ODS y el cambio climático

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) en su informe del 2022 sobre el estado mundial de la pesca y acuicultura, estipula que se necesita incentivar la pesca sostenible con el fin de alcanzar los objetivos de desarrollo sostenible (ODS) en el especial el ODS 14 que engloba todo lo relacionado a la vida submarina. Por otra parte, amenazas como el cambio climático, sobreexplotación de recursos y la pérdida de la biodiversidad ponen presión en la economía, empleo y fuentes de alimentación global (FAO,2022). Esta situación se ha agravado por las repercusiones de la pandemia del COVID-19, resultando en 811 millones de personas sufriendo de hambre y 3 000 millones de personas incapaces de costearse una alimentación saludable (FAO, 2022)

En este escenario, la acuicultura juega un papel crucial, ya que los productos acuícolas son nutricionalmente valorados, debido a su contenido de proteínas, ácidos grasos como el omega-3, entre otros nutrientes. En el 2020, la producción pesquero y acuícola generó una ganancia aproximada de los 400 mil millones de dólares, siendo la acuicultura el principal impulsor de este éxito, pues se estima que la producción de animales acuáticos ha aumentado aproximadamente un 60% desde 1990, gracias a la acuicultura (FAO, 2022). No obstante, pese a los beneficios que está proveyendo la industria, es necesario diversificar el sector de pesca y acuicultura, con el fin de poder afrontar el desafío de proveer alimento a nivel global de una manera eficaz y sostenible, creando opciones que puedan contribuir a la restauración de hábitats acuáticos y la biodiversidad, siendo esto a su vez importante para mitigar problemáticas como el cambio climático.

La “transformación azul” hace referencia al plan actual de la ONU para abordar las necesidades modernas de la industria pesquera, dentro de este plan se proponen medidas que buscan apoyar los sistemas alimentarios acuáticos, garantizando un crecimiento efectivo de la pesca y acuicultura. Asimismo, se busca impulsar políticas que abarquen la producción de manera responsable y sostenible, teniendo en cuenta las comunidades que dependan de estos sectores, que puedan verse afectados por un panorama cambiante, consecuencia de la degradación ambiental, pérdida de biodiversidad y el cambio climático (FAO, 2022).

1.4.2 Desarrollo de la industria acuícola en el país y el interés en el cultivo de ostras

La industria de la acuicultura de camarón es una de las más importantes para el Ecuador, según informes del Banco Central solo en 2022 se reportó un crecimiento aproximado de 11,8% respecto al año anterior, posicionándola dentro de los 3 sectores de mayor crecimiento, contrario a actividades como la pesca que sufrió una caída del 9,9% (Info-RAS, 2023). Debido a la gran importancia de la acuicultura, en el 2020 la Asamblea Nacional aprobó la “ley orgánica para el desarrollo de la acuicultura y pesca”, con el objetivo de controlar todo el proceso relacionado a la producción desde sus fases de extracción, su cría, desarrollo y finalizando con su comercialización interna y externa, procurando que, en estos procesos, no se vea afectado los recursos hidrobiológicos del país y por el contrario se promulgue la conservación de estas zonas junto a su biodiversidad (Asamblea Nacional del Ecuador, 2020).

Los moluscos en especial las ostras son una de las especies que se encuentran en el foco del interés para el desarrollo de la acuicultura en el país según indica el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca (MAGAP), esto se debe a la baja inversión inicial que requiere su producción siendo primordial material de cultivo (mallas, líneas y pesos) y la compra periódica de semillas. Por otra parte, el cultivo de ostras es una opción de cultivo interesante debido a que no requiere atención diaria, a esto se agrega que las características

oceanográficas (temperatura) favorece al cultivo de especies de gran interés comercial como la *Crassostrea gigas* requiriendo para su crecimiento solo 8 meses a comparación de los 12 que demora en otros países latinoamericanos (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2014).

En el 2013 el MAGAP, llevo a cabo un cultivo marino de ostras del Pacifico (*C. gigas*), dicho cultivo se llevó a cabo en las provincias de Manabí y Santa Elena, generando más fuentes de empleo y alternativas para pescadores de la zona y futuras generación que aprenden e implementan estas técnicas como nuevas fuentes de ingreso (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2014).

1.4.3 El manglar, importancia y relación con la ostricultura

El ecosistema de manglar es un área pantanosa costera tropical o subtropical, la cual se compone principalmente por arboles de mangle de formación vegetal halófito arbórea o arbustiva. Estos ecosistemas poseen una gran producción primaria y alberga una gran biodiversidad con especies de interés comercial. Los manglares también proveen servicios ecosistémicos de soporte, protección de las costas al aguaje y ciclando nutrientes para otros ecosistemas. La protección y cuidado del manglar son prioritarios para el ser humano (Guerra-CANO et al., 2020).

Dado a su importancia el manglar forma parte de los ecosistemas en busca de protección por parte del plan de acción REDD+ Ecuador, el cual promueve acciones para combatir el cambio climático. Entre los subcomponentes del plan de implementación, se encuentra la “estrategia de Bioeconomía” ejecutada por la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL) por medio del programa de “Desarrollo e implementación piloto de sistemas de maricultura que generen incentivos a la conservación del manglar (DIPSIMAR)” llevado a cabo en el Centro Nacional de Acuicultura e Investigación Marina (CENAIM). Dentro del proyecto su primer componente es “Desarrollar e instalar un sistema policultivo que fomente la producción de moluscos y macroalgas nativas a través de un sistema integrado” con el fin

de reducir la presión de extracción del recurso natural (Ministerio del ambiente y agua, 2020), dentro del marco de este proyecto especies como la *C. cf corteziensis* al ser un espécimen endémico del manglar cumple las características para formar parte de las especies de interés del primer componente del proyecto DIPSIMAR.

1.4.4 Distribución y hábitat de *C. cf corteziensis*

La *C. cf corteziensis* es una fuente de alimento y de sustento económico importante para los pescadores artesanales de las zonas cercanas al manglar. Esta especie de molusco bivalvo se distribuye a lo largo de la costa, desde el golfo de California hasta las costas de Perú. (Panta-Vélez et al., 2020). En su fase adulta, *C. cf corteziensis* se la puede encontrar adherida a las raíces de los árboles de mangle, protegidas de las corrientes fuertes y depredadores. Ha sido encontrada en la zona intermareal de la reserva ecológica Isla Corazón, provincia de Manabí, Ecuador (Panta-Vélez et al., 2020). Esta especie prospera en ambientes con influencia de la marea, temperaturas cálidas y salinidades que oscilan entre 19 ppt a 25 ppt. Los manglares ofrecen un hábitat propicio para una diversidad de organismos al proporcionar alimento y refugio a diferentes especies (Chi et al., 2019). Los ecosistemas estuarinos presentan condiciones específicas que son favorables para un óptimo crecimiento de la ostra de mangle.

1.4.5 Desarrollo temprano en bivalvos: especies del género *Crassostrea*

Los bivalvos, son organismos dioicos que liberan sus gametos al medio para la fertilización externa. Este género presenta diferentes periodos de reproducción a lo largo del año, que varía según la especie y condiciones ambientales. En Ecuador, se ha reportado que las ostras presentan mayor pico de reproducción en periodos de la estación seca, en octubre hasta mayo, tal como sucede con *C. corteziensis*, *C. gigas* (Góngora-Gómez et al., 2020; Rodríguez-Jaramillo et al., 2017). Durante su desarrollo larvario, estos organismos pasan por una fase larvaria plantónica, en el cual viven y se nutren de microalgas disponibles en el agua

circundante en los manglares. Posteriormente, se asientan en las raíces de los árboles de mangle para continuar su ciclo de vida (Góngora-Gómez et al., 2020).

1.4.6 Perfil nutricional para el cultivo experimental

Las microalgas desempeñan un papel vital como fuente de alimento para organismos filtradores, por su valor nutricional y su capacidad para sintetizar ácidos grasos esenciales para el desarrollo de las ostras. El tamaño de las microalgas es determinante, ya que influye en su captura eficiente por parte de los organismos filtradores. La inclusión de microalgas como alimento es fundamental para establecer protocolos de producción de semillas, por lo que es necesario realizar estudios para establecer fórmulas de dietas óptimas. Argüello-Guevara et al. (2013) y Rodríguez & Sonnenholzner, (2020) han evaluado el uso de tres tipos de microalgas en cultivos de *Striostrea prismática* en laboratorio: *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis maculata* y *Chaetoceros gracilis*, estas dietas han demostrado promover un equilibrio nutricional óptimo y un buen desarrollo de las larvas, lo que garantiza larvas de alta calidad para el proceso de fijación y posterior obtención de semillas.

1.4.7 Sustratos para la fijación durante la metamorfosis

Cuando las larvas de ostras alcanzan la etapa de pediveliger, esta busca una superficie adecuada para fijarse. Si las larvas tienen a su disposición sustratos idóneos para el asentamiento de la especie, experimentan cambios metamórficos irreversibles. Esto conlleva la pérdida definitiva del pie, el velo y la mancha ocular, y experimentan el desarrollo de las branquias y la formación de las valvas adultas, que marcan la transición metamórfica (Sedanza et al., 2022). Por lo antes indicado, resulta crucial llevar a cabo investigaciones y pruebas con diferentes sustratos que simulen el entorno natural de la especie. El uso del sustrato adecuado fomenta un mayor porcentaje de supervivencia, promoviendo la producción óptima de semilla para utilizar en restauración ecológica u producción masiva de

ostras, un enfoque para disminuir la presión sobre los bancos naturales de la ostra de mangle
C. cf corteziensis.

CAPÍTULO 2

2 METODOLOGÍA

2.1 Reproductores de ostras de mangle

En febrero del 2023, se obtuvieron veinte reproductores maduros de *C. cf corteziensis* (longitud = $85,63 \pm 2,5$ mm; grosor = $50,67 \pm 1,6$ mm) provenientes de la zona de manglares, en Bahía de Caráquez ($0^{\circ}38'31.9''S$ $80^{\circ}21'32.1''W$), provincia de Manabí, Ecuador. Las ostras recolectadas fueron transportadas en hieleras a las instalaciones del CENAIM – ESPOL ($1^{\circ}57'17.8''S$ $80^{\circ}43'45.1''W$), en San Pedro, provincia de Santa Elena, Ecuador. En el laboratorio, los organismos fueron cepillados y enjuagados con agua dulce para eliminar cualquier tipo de incrustación (Nowland et al., 2021), y posteriormente colocados en recipientes de 10L, en agua de mar (filtrada y esterilizada por UV – 35ppt por 4h), con aireación moderada, con el objetivo de depurarlos previo a la inducción al desove.

2.2 Obtención de gametos y fecundación

Para la obtención de gametos se utilizó el procedimiento de inducción al desove descrito por Argüello-Guevara et al. (2013), considerando adaptaciones propuestas por Lodeiros et al. (2017) y Rodríguez & Sonnenholzner (2020). En la inducción, se estimuló a los organismos por medio de disección durante 2h, seguido de un shock térmico cada 30 min durante 5 ocasiones, para lo cual se sumergió a las ostras en agua a diferentes temperaturas variando de $26^{\circ}C$ a $30^{\circ}C$ y viceversa. Luego, los animales fueron colocados individualmente en recipientes de 2L con agua a las mismas condiciones durante la estimulación (temperatura de $26^{\circ}C$ y salinidad de 35ppt), hasta la liberación de gametos. Se identificó los desoves de espermatozoides u ovocitos, los cuales fueron concentrados cada uno en recipientes cilíndricos de 30L.

Siguiendo el protocolo establecido, se procedió a la fecundación de ovocitos. Se estimó el número de gametos en cada recipiente donde se encontraban concentrados, y se realizó la mezcla de ovocitos con el esperma activo en una proporción 10:1 (espermatozoide:ovocito) en

un tanque de 1 tonelada, con agua filtrada y tratada con UV, a una temperatura de $28,75 \pm 1,26$ °C y oxígeno disuelto de $7,21 \pm 1,60$ mg/l.

2.3 Descripción embrionaria

Se prepararon 3 réplicas en recipientes de 1L con muestras procedentes de los tanques experimentales de fecundación, en proporción de 20 ovocitos/ml para determinar el tiempo de los distintos estadios embrionarios. Se extrajeron muestras sin fijar de 1ml a intervalos de 5, 10, 15 y 30 minutos durante las primeras 3h, posteriormente en periodos de 30 minutos durante las próximas 6h, y posteriormente cada 1h, hasta observar larvas trocóforas y larvas D. Se consideró que el inicio de cada estado embrionario había comenzado una vez que la población alcanzó más del 60% de organismos de una etapa específica (Lodeiros et al., 2017).

2.4 Descripción larvaria

Los cambios de estadios, tanto embrionarios como larvarios fueron reportados por medio de imágenes capturadas con una cámara digital (5MP), acoplada al microscopio óptico. Para este fin se tomó muestras aleatorias de tamaño $n=20$ para conseguir medida de longitud correspondiente al estado alcanzado durante el cultivo experimental en cada réplica. Alcanzadas las larvas trocóforas y larvas D, se recolectaron 3 muestras en triplicado cada 12h de los recipientes de cultivo, con el propósito de registrar el lapso de transición entre los diferentes estadios. Se registró el desarrollo en términos de crecimiento y supervivencia de las larvas.

2.5 Condiciones de alimentación durante etapa larvaria

Las larvas se alimentaron en los primeros estadios con *Isochrysis galbana*, y a partir del sexto día con una mezcla de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros gracilis*. Las microalgas fueron suministradas a una concentración inicial de 15.000 células/ml (aumentando progresivamente 2.000 células/ml por día) hasta 40.000 células/ml (en el día 15), esta última concentración se mantuvo constante hasta el proceso de fijación (Ver Apéndice 1). Se realizaron recambios de agua del 100% cada día (Lodeiros et al., 2017; Rodríguez & Sonnenholzner, 2020).

2.6 Análisis de datos

En las etapas embrionaria y larvaria del ciclo de la ostra de mangle, se tomaron en consideración las variables que abarcan la supervivencia, longitud y etapa de desarrollo. Para analizar las variables, se procedió a tabular los datos y calcular los promedios, incluyendo sus respectivas desviaciones estándar para la elaboración de gráficas. Estos gráficos fueron diseñados para representar las tendencias y los cambios temporales observados en las variables bajo estudio. El enfoque principal del análisis se centró en examinar la supervivencia de las larvas, tamaño alcanzado y el tiempo requerido para alcanzar diversas etapas de desarrollo a lo largo de los 23 días que abarcó el experimento de cultivo.

CAPÍTULO 3

3 RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 Obtención y fertilización de gametos *C. cf corteziensis*

En el día de inducción, a partir de las 8 am, el 75% de los organismos desovaron, siendo un 73% hembras y 27% machos. Se obtuvo con éxito una cantidad significativa de gametos masculinos y femeninos a partir de las ostras adultas. El promedio de ovocitos desovados por hembra fue de 4.5 millones. Los gametos masculinos presentaban una forma alargada con flagelos delgado, demostrando alta motilidad. Por su parte, los gametos femeninos, en un principio con una forma elipsoide u ovalada, experimentaron un cambio hacia una forma esférica tras 10 minutos de hidratación.

En la fertilización, los gametos se combinaron en un solo recipiente, manteniendo una proporción de 1 ovocito por cada 10 espermatozoides. Se alcanzó la fertilización de 3,6 millones de huevos, lo que equivale a un porcentaje de fertilización del 5%. Cabe mencionar que este porcentaje puede atribuirse a la complejidad en la estimación de la concentración de espermatozoides debido a su motilidad. Sin embargo, se evitó exponerse a problemas de poliespermia siendo coherente con los objetivos investigativos del estudio. Este enfoque de inducción y estimulación de los organismos permitió la observación y manipulación de los organismos, así como la recolección y concentración necesaria para las etapas subsiguientes de la descripción embrionaria y larvaria de *C. cf corteziensis*, contribuyendo al cumplimiento general del estudio.

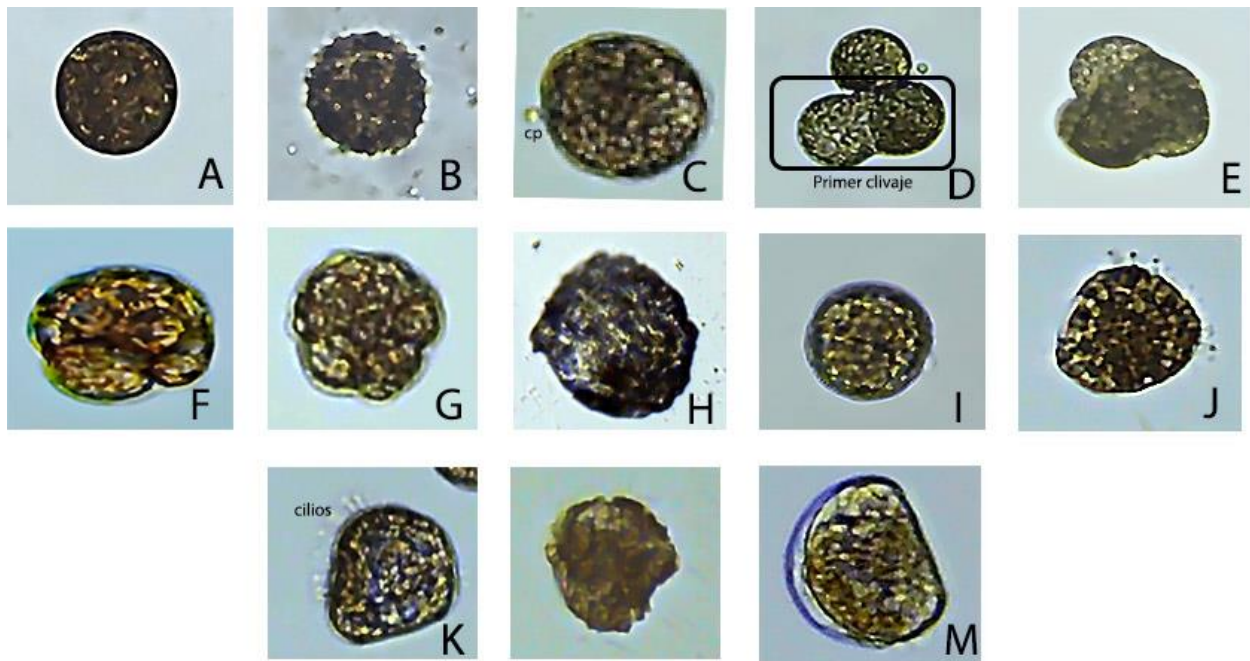
3.2 Descripción embrionaria de la *C. cf corteziensis*

En la figura 1 se puede observar el desarrollo embriológico de *C. cf corteziensis* desde la fecundación, identificada por la aparición del primer cuerpo polar (Fig.1C), hasta la observación de larvas trocóforas tardías (Fig.1L) y la etapa temprana de Larva D, también conocida como prodisococoncha 1 (Fig.1M). Inicialmente, los ovocitos presentaron una forma alargada y ovalada, pero después de unos minutos de hidratación adoptan una forma esférica (Fig.1A). Las

dimensiones de estos ovocitos variaron en un rango de 39,0 μm a 52,3 μm , con un promedio de $45,3 \pm 2,7 \mu\text{m}$. Esta dimensión promedio fue similar a las observadas en otras especies dentro del género *Crassostrea* como la *C. iridescens* que exhibe tamaños alrededor de $46,9 \pm 1,5 \mu\text{m}$, según indica Loor, (2012).

Figura 1

Desarrollo embrionario de la *C. cf. corteziensis* (imágenes agrandadas no a escala, con el fin de apreciar los cambios morfológicos)



Nota: La imagen muestra el desarrollo embrionario en orden cronológico de la *C. cf. corteziensis* hasta obtención de larva D, (A) ovocito no fertilizado, (B) ovocito rodeado de espermatozoides, (C) fecundación realizada observable por medio de la formación del cuerpo polar (CP), (D) primera división celular, (E) segunda segmentación celular, (F) tercera división celular (G) cuarto clivaje, (H) formación de la mórula, (I) blástula, (J) gástrula, (K) trocófora temprana con visualización de cilios (L) trocófora tardía, (M) larva D.

Durante la unión de gametos para la fertilización, los espermatozoides rodearon los ovocitos presentes en la muestra (Figura.1B), incluyendo a los ovocitos que habían adquirido la forma esférica característica, como a aquellos que aun mantenían su forma alargada u ovalada. Es importante tener en cuenta que los ovocitos que no adoptaron la forma esférica son no viables y están destinados a degenerar al poco tiempo, sin avanzar hacia las siguientes etapas de desarrollo. Se consideró que la fecundación ha tenido éxito cuando se visualiza el primer cuerpo polar (Fig.1C) el cual se lo puede identificar como una pequeña estructura esférica o bulbo que aparece cerca del ovulo fecundado, siendo indicativo que se encuentra finalizada la división meiótica y el cigoto resultante continuará con su proceso de división celular. El primer clivaje o segmentación (fig1.D) ocurre aproximadamente 15 minutos después de la aparición del cuerpo polar visualizado.

En la Tabla 1. se muestran los tiempos y dimensiones alcanzadas después de la fertilización. En esta, se puede apreciar que las dimensiones disminuyen durante el proceso de clivaje hasta la formación de la mórula, siendo lo esperado en un proceso de desarrollo embrionario temprano, debido a la velocidad de división requerida, la cual no permite que se completa la fase de crecimiento de la célula previo a la siguiente división. En la (Fig.1D) se aprecia la disminución de tamaño de $48,8 \pm 0,5 \mu\text{m}$ a $44,1 \pm 1,7 \mu\text{m}$ al alcanzar el estadio de mórula (Fig.1H).

Tabla 1

Tiempo (minutos) transcurrido y talla (micrómetros) desde la fertilización hasta el estadio larva D temprana, cada dato corresponde al valor promedio de tres replicas

Estadio embrionario	Tiempo post-fertilización (min.)	Talla (μm) \pm DE
Ovocito no fertilizado (A)	-	45,3 \pm 2,7
Primer cuerpo polar (C)	0	42,3 \pm 5,9
Primera división celular (D)	15	48,8 \pm 0,5
Segunda división celular (E)	45	46,4 \pm 2,1
Tercera división celular (F)	105	46,1 \pm 0,7
Cuarta división celular (G)	135	45,4 \pm 2,8
Mórula (H)	201	44,1 \pm 1,7
Blástula (I)	255	44,4 \pm 2,3
Gástrula (J)	315	46,4 \pm 3,1
Trocófora temprana (K)	465	49,7 \pm 4,0
Trocófora tardía (L)	525	53,1 \pm 7,7
Larva D temprana (M)	705	55,2 \pm 3,1

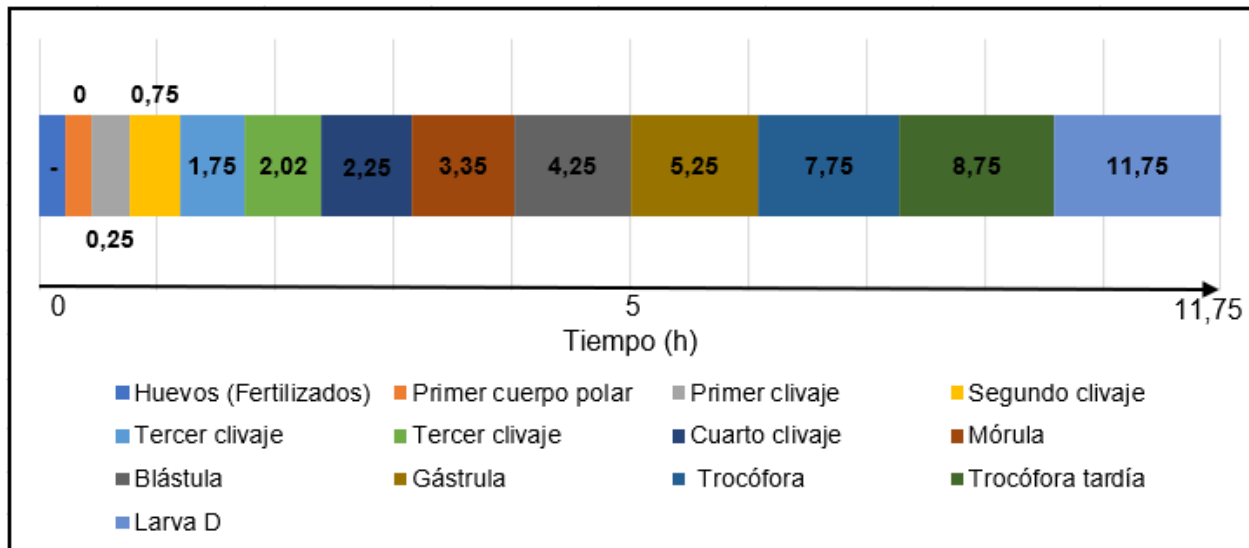
Durante el primer clivaje, se puede observar la formación de dos blastómeros, cuya línea de separación se encuentra cercana al Ecuador de la célula. Esta etapa se destacó por su alargamiento longitudinal de las divisiones celulares, luego de 45 minutos se puede apreciar la segunda división celular (Fig.1E) en esta fase se registra una talla promedio de 46,4 \pm 2,1 μm y las divisiones en la célula asemejaron a una forma de “Y”, formando 3 blastómeros grandes (macromeros) y uno de menor tamaño (micrómetros). Luego de 105 minutos se puede evidenciar que el 60% de las células se encuentra en la tercera fase de división embrionaria (Fig.1F), presentando un macromero rodeado de entre 6 a 7 blastómeros de tamaño variable. A los 135 minutos, se suscita el cuarto clivaje (Fig.1G), donde la forma de los blastómeros se vuelve más homogénea, dando una apariencia circular al conjunto de células. A este punto es difícil determinar el número de blastómeros entre las imágenes observadas en el microscopio, pero se estima que existen entre 14 a 16 blastómeros.

Posterior a los 201 minutos, las células alcanzaron una estructura homogénea catalogada como mórula inmóvil (Fig.1H). Esta fase se caracteriza por ser esférica irregular, compacta y sólida, compuesta por micromeros, sin que sean observables los macromeros. A los 255 minutos, se forma la blástula (Fig.1I). En la imagen, puede apreciar un blastocele repleto de blastómeros lo que califica como una esteruroblástula. 315 minutos posteriores a la fertilización, ocurre el proceso de recubrimiento y la consecuente formación de la gástrula (Fig.1J), donde los blastoporos actúan como límites de avance para los micromeros, y desaparecen al terminarse la epibolia.

Aunque se observó motilidad en el estadio de gástrula, este se hizo más enérgica a los 465 minutos post fecundación, coincidiendo con la aparición de la etapa trocófora temprana (Fig.1K), las larvas comienzan a girar sobre su propio eje. No se logró identificar visualmente cilios o algún mecanismo de motilidad, al incrementar el contraste digitalmente, se pudo apreciar ciertos movimientos parecidos a los provocados por cilios. Alcanzado los 525 minutos post-fertilización, se transforma en una trocófora tardía (Fig.1L), la cual presentaba una charnela más recta, siendo esta la antesala para la formación de la prosidoconcha 1 o larva D (Fig.1M). Una vez alcanzado este estadio, a los 705 minutos, es decir, casi 12 horas después de la visualización del primer cuerpo polar, la talla promedio registrada para la larva D fue de $55,2 \pm 3,1 \mu\text{m}$, marcando la dimensión más grande registrada durante todo el proceso embrionario, y marcando el inicio de la fase larvaria.

Figura 2

Tiempo (horas) transcurrido en cada etapa del desarrollo embrionario de C. cf corteziensis

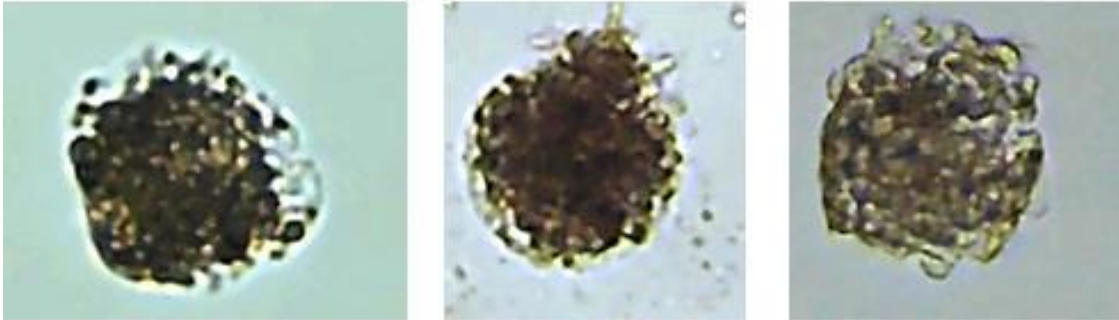


En la figura 2, se observa la duración de tiempo (en horas) para la aparición de cada etapa de desarrollo embrionario. Los cambios más rápidos ocurren al inicio, desde el primer cuerpo polar hasta el segundo clivaje. Posteriormente, el tiempo de metamorfosis de cada estado va en aumento, siendo el estadio de trocófora a Larva D donde se registra el periodo de mayor diferencia, tardando tres horas entre un estadio y otro.

El 5% de fertilidad observado luego de 24 horas, puede atribuirse a la presencia de numerosos factores que restringieron la viabilidad de los estados embrionarios. Las malformaciones, tanto en ovocitos como en los estadios embrionarios (Fig.3), desempeñaron un papel significativo en estas limitaciones. Información recopilada dentro del presente trabajo respecto a los temas de cultivo no eran la meta de este trabajo, pero se considera relevante para el desarrollo de futuras investigaciones.

Figura 3

Malformación en el estadio embrionario. Figuras de malformaciones ocurridas en el estadio embrionario lo que las convierte en inviables para su desarrollo

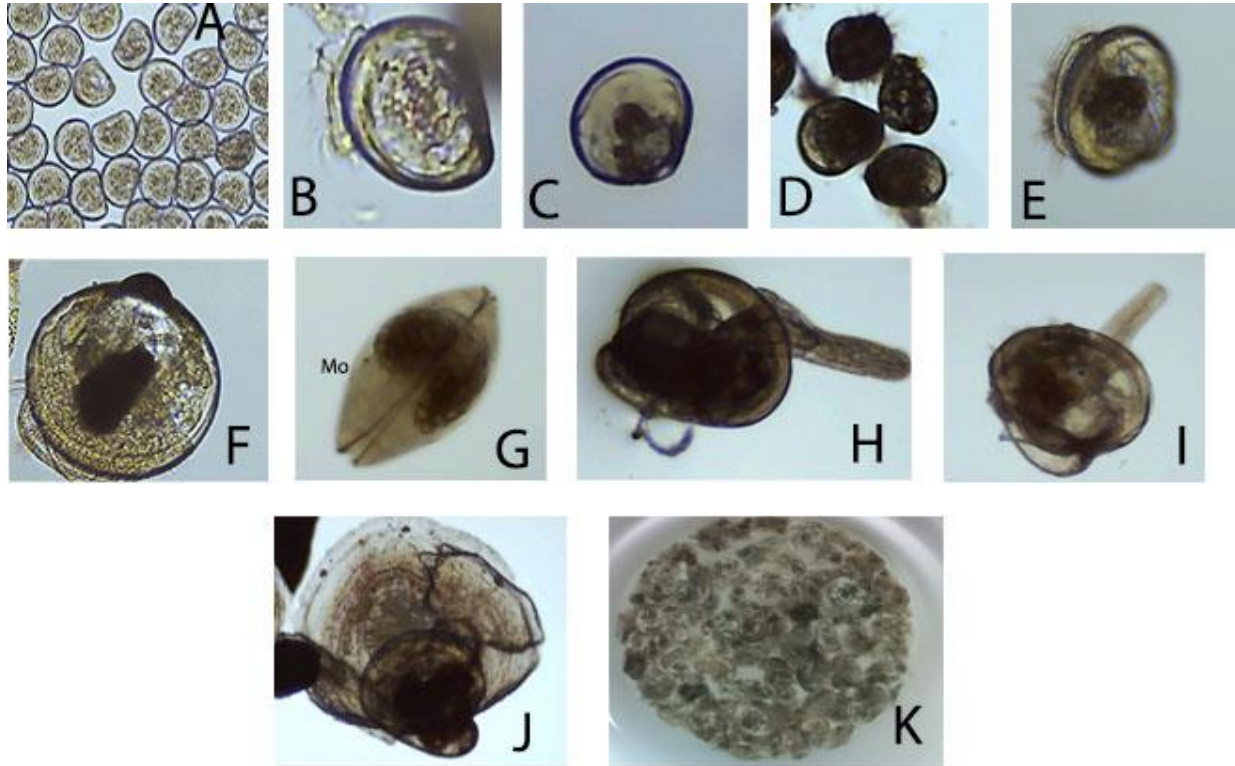


3.3 Descripción larvaria de la *C. cf corteziensis*

El proceso de desarrollo larvario se considera formalmente iniciada a partir de la visualización de la larva D con prodisoconcha II (Fig.4A), denominada como día 1. Pudiéndose observar luego de 24 horas post fecundación. Su tamaño promedio es de $53,3 \pm 5,2 \mu\text{m}$ llegando a los $74,2 \pm 3,2 \mu\text{m}$ en el día tres. En el quinto día, se aprecia la formación del velum, con la formación de la larva veliger (Fig.4B), con un tamaño de $77,6 \pm 7,6 \mu\text{m}$. Para el día 9, las larvas presentan umbo, confirmando el inicio de la fase de umbonación temprana (Fig.4C), con un tamaño de $112,5 \pm 11,3 \mu\text{m}$. Al comparar nuestros resultados con especies perteneciente al mismo género, se puede observar que se alcanzó un día después de lo registrado por Loor (2012), para la especie *Crassostrea iridescens*, cuyo tamaño fue de $94,9 \pm 12,1 \mu\text{m}$. Igualmente, en *C. cf corteziensis* se presentó una mancha de color amarillo distal, evidente en la (Fig.4D), la cual aumento de tamaño hasta el día 15, como se puede apreciar en la (Fig.4E).

Figura 4

Desarrollo larvario de la C. cf. corteziensis, escala modificada con el fin de apreciar las variaciones morfológicas



Nota: (A) Larva D con prodisoconcha II (B) Larva veliger (C) Larva veliger umbonada temprana (D) Larva umbonada con mancha distal amarillenta, (E) Mancha distal amarillenta más pronunciada (F) Umbonada tardía (G) Umbonada tardía con presencia de mancha ocular, (H, I) Larvas pediveliger, (J) Post larva temprana (2 días post-fijación) (K) Semillas producidas.

Al día 19 se alcanzó la fase umbonada tardía (Fig.4F), con un tamaño promedio de $297,7 \pm 24,3 \mu\text{m}$. Dos días después, aparece la mancha ocular (Fig.4G), con un tamaño de $329,0 \pm 25,0 \mu\text{m}$. Al día 23, se observó el pie de fijación, confirmando el estadio de larva pediveliger (Fig.1H, I). Con el desarrollo del pie de fijación de las larvas, la fase natatoria concluyó, y al fijarse en el sustrato previamente preparado con las condiciones idóneas para la especie, se inició el proceso de metamorfosis que marcaría el inicio a su vida bentónica. Dos días después, la (Fig.4J) muestra

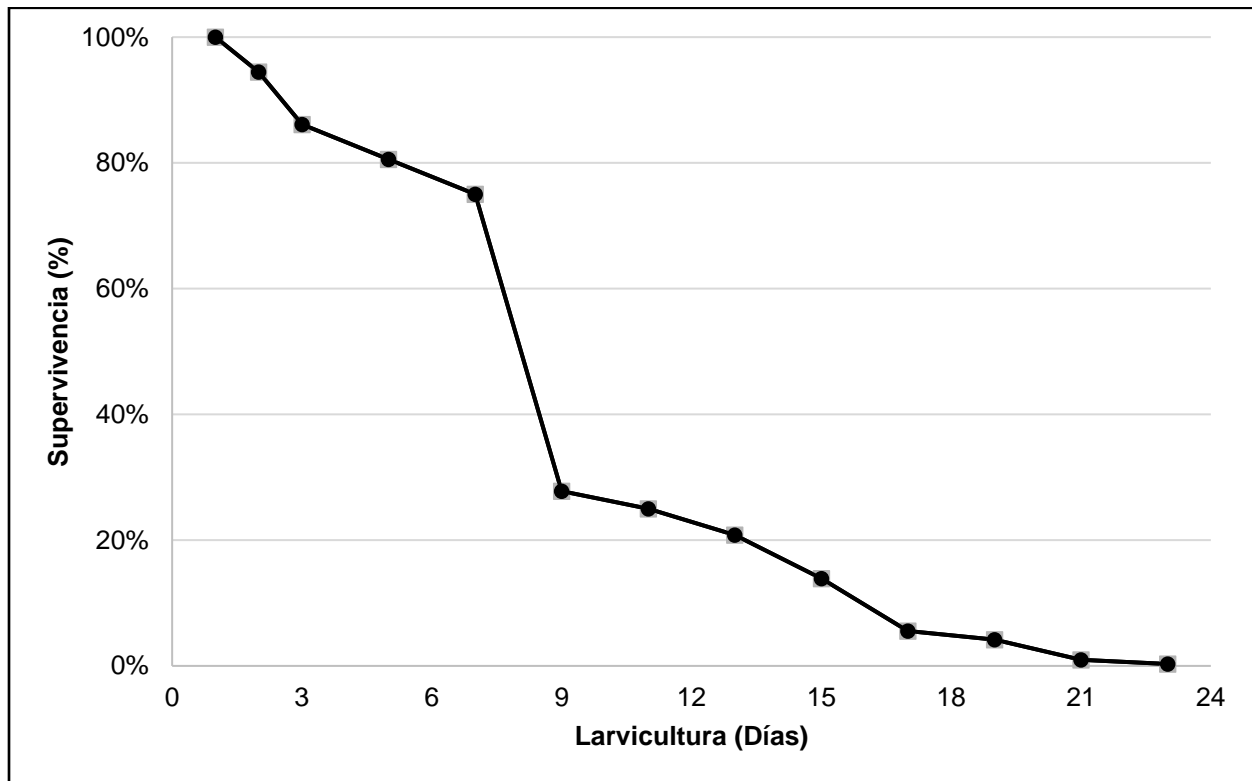
las primeras post larvas con la formación de disoconchas, las cuales alcanzaron a medir un tamaño de $446,0 \pm 37,0 \mu\text{m}$. Transcurrido 40 días desde la fijación, se observó como las semillas (Fig.4K), han experimentado un crecimiento de manera longitudinal y han adquirido una mayor maniobrabilidad, lo que las hace aptas para ser trasferidas al sistema de engorde o utilizadas para restauración ecológica.

En el transcurso del cultivo, se efectuó un monitoreo de supervivencia de las larvas, se registraron datos durante los primeros tres días seguidos, posteriormente se recolectó información en intervalos de un día para estimar la población en cada etapa de larvicultura. La fig. 5 muestra los porcentajes de supervivencia registradas hasta el día 23, evidenciando un descenso progresivo en la población, alcanzando un 0,3% de larvas vivas previo a proceso de fijación.

Se observaron patrones de mortalidad significativos en momentos claves del cultivo. Entre los días 7 y 9, se registró un marcado descenso en la supervivencia, alcanzando una tasa de mortalidad del 47%. Entre los días 15 y 17, hubo mortalidad del 8%. Este último episodio se atribuye al proceso de depuración, donde se eliminaron larvas con tamaño inferiores a $100\mu\text{m}$ mediante tamizado. Resulta importante indicar que durante el trascurso de este estudio se pudo identificar oportunidades de mejora en el manejo y cuidado de las larvas. A través de observaciones microscópicas (40X), se identificó la presencia de larvas de gasterópodos, protozoarios, y microalgas distintas a las utilizadas como alimento para las larvas de ostra. Resulta importante el manejo y cuidado para evitar la contaminación cruzada para reducir factores que pueden afectar la supervivencia.

Figura 5

Porcentaje de supervivencia de larvas de la ostra de mangle C.cf corteziensis



La tasa de crecimiento estimada a partir de la longitud de la concha del día 1 al 23 de larvicultura que muestra la fig. 6. Hubo un crecimiento constante hasta el día 9, a partir del cual se empezó a tener mayor dispersión de tamaño, momento en el cual, se registra mayor crecimiento. Esta situación puede estar relacionada con la disminución de la densidad de la población (fig.7) del tanque, pues al ver menor población en determinado volumen de agua (1 tonelada) las ostras tienden a aprovechar y asimilar eficientemente los nutrientes disponibles. Finalmente, el crecimiento de las ostras revela un patrón de desarrollo gradual con momentos claves de aceleración del crecimiento longitudinal de la ostra de mangle.

Figura 6

Crecimiento longitudinal de C. cf. corteziensis en 23 días de larvicultura

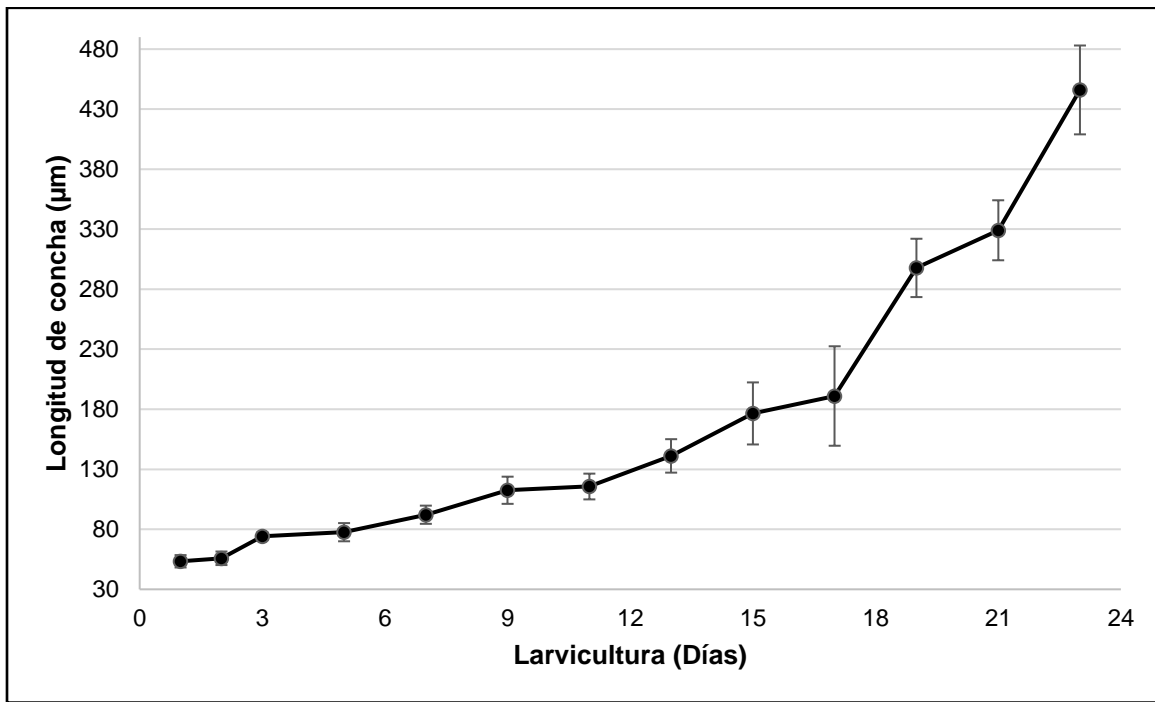
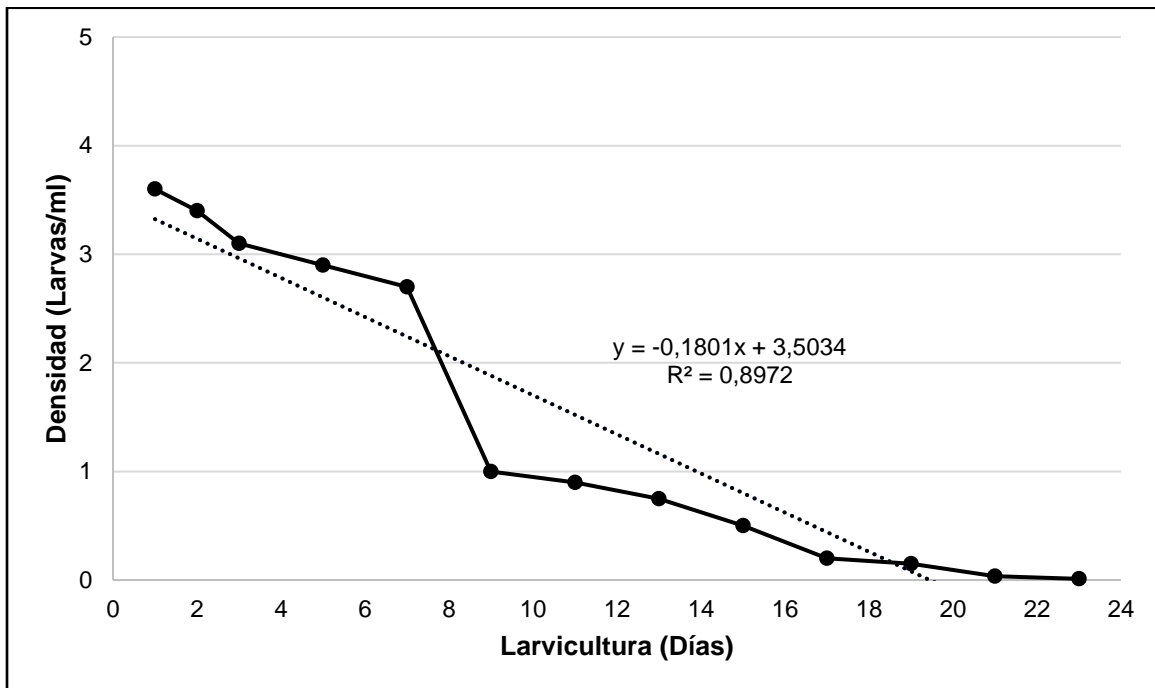


Figura 7

Densidad poblacional de larvas en el cultivo experimental



CAPÍTULO 4

4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- Se cuenta con un registro fotográfico de los estadios tempranos embrionario y larvario de la *C. cf corteziensis*, siendo el primer reporte de estudio de la especie. Se describieron las características morfológicas para cada estadio, con tiempos estimados de producción, los tamaños alcanzados. Este trabajo realizado provee la base para futuros protocolos de cultivo de la especie.
- Se evidencia el efecto de las variables ambientales y condiciones de manejo para la supervivencia de las larvas. La presencia de componentes adicionales en el medio de cultivo se ha identificado como un factor crítico que pueden afectar la supervivencia de las larvas. Los resultados brindan una base de información pertinente para la formulación y orientación de futuras estrategias de mejora en la producción de larvas de la *C. cf corteziensis*.
- Se identificaron patrones de mortalidad en momentos específicos del cultivo, como el marcado descenso entre los días del 7 al 9, señala etapas críticas en el ciclo de vida de las larvas, precisamente en la transición del estadio larva veliger al estadio larva veliger umbonada temprana. Esta información es valiosa para enfocar atención en estas etapas y comprender los factores que pueden estar contribuyendo a la mortalidad.

4.2 Recomendaciones

- Comprobar otros métodos para el desove de la especie diferentes al choque térmico con la finalidad de evaluar la mejor opción para obtener el desove de la especie.
- De realizarse futuros estudios dentro del estadio embrionario de la especie, es recomendable tomar en cuenta los tiempos señalados en la presente investigación con el fin de obtener un registro fotográfico o de visualización precisó dado los tiempos de espera corto entre cada estadio en especial antes del tercer clivaje.

- Emplear el uso de herramientas como bolsos filtro para los recambios de agua, ayudara a evitar presencia de organismos no deseados en los tanques de cultivo, lo que evitara la contaminación de la muestra.

5 BIBLIOGRAFÍA

- Alfredo Gabriel Loor Mera. (2012). *Desarrollo de protocolos de manejo para la inducción al desove y larvicultura de la ostra nativa Crassostrea iridescens (Hanley, 1854)*.
- Argüello-Guevara, W., Loor, A., & Sonnenholzner, S. (2013). Broodstock conditioning, spawning induction, and early larval development of the tropical rock oyster *Striostrea prismatica* (Gray 1825). *Journal of Shellfish Research*, 32(3).
<https://doi.org/10.2983/035.032.0306>
- Asamblea Nacional del Ecuador. (2020, June 21). *Ley Orgánica para el Desarrollo de la Acuicultura y Pesca*.
- Carvajal, R., & Santillán, X. (2019). Plan de Acción Nacional para la Conservación de los Manglares del Ecuador Continental. In *Ministerio del Ambiente de Ecuador Conservación Internacional Ecuador Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO) Comisión Permanente del Pacífico Sur (CPPS)*.
- Chi, Y., Zhang, Z., Gao, J., Xie, Z., Zhao, M., & Wang, E. (2019). Evaluating landscape ecological sensitivity of an estuarine island based on landscape pattern across temporal and spatial scales. *Ecological Indicators*, 101.
<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.01.012>
- FAO. (2022, August 19). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022*. El Estado Mundial de La Pesca y La Acuicultura 2022; FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461es>
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2022, August 19). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022*. El Estado Mundial de La Pesca y La Acuicultura 2022; FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461es>

Góngora-Gómez, A. M., Sepúlveda, C. H., Verdugo Escobar, H. A., Astorga Castro, O., Rodríguez-González, H., Domínguez-Orozco, A. L., Hernández-Sepúlveda, J. A., & García-Ulloa, M. (2020). Gonadal maturity of *crassostrea corteziensis* cultivated in the Gulf of California. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 48(3). <https://doi.org/10.3856/vol48-issue3-fulltext-2422>

Guerra-CANO, L., Guerra-Martinez, F., & Urrea-Mariño, U. (2020). *¿Cuál es el valor económico del manglar ante el cambio climático?* https://www.researchgate.net/profile/Francisco-Guerra-Martinez/publication/348445045_Cual_es_el_valor_economico_del_manglar_ante_el_cambio_climatico/links/5fffa5b6299bf1408893d6ed/Cual-es-el-valor-economico-del-manglar-ante-el-cambio-climatico.pdf

Info-RAS. (2023, April 4). *Acuicultura en Ecuador creció 11,8% el 2022*. <https://Info-Ras.Cl/Acuicultura-En-Ecuador-Crece/>.

Lodeiros, C., Marquez, A., Revilla, J., Rodríguez, D., & Sonnenholzner, S. (2017). Spat production of the rock oyster *striostrea prismatica* (Gray, 1825). *Journal of Shellfish Research*, 36(3). <https://doi.org/10.2983/035.036.0322>

Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2014a, April 14). *El cultivo de ostras da los primeros resultados en Santa Elena*. <https://Www.Agricultura.Gob.Ec/EI-Cultivo-de-Ostras-Da-Los-Primeros-Resultados-En-Santa-Elena/>.

Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2014b, November 10). *MAGAP cosecha ostras del Pacífico en la Comuna Palmar*. <https://Www.Agricultura.Gob.Ec/Magap-Cosecha-Ostras-Del-Pacifico-En-La-Comuna-Palmar/>.

Ministerio del Ambiente Agua y Transición Ecológica. (2022). *Ministerio fortalece el aprovechamiento y uso sostenible del manglar en El Oro*.

<https://www.ambiente.gob.ec/ministerio-fortalece-el-aprovechamiento-y-uso-sostenible-del-manglar-en-el-oro/#:~:text=Hasta%20el%202021%2C%20Ecuador%20cuenta,Esmeraldas%2C%20Manab%C3%AD%20y%20EI%20Oro.>

Ministerio del ambiente y agua. (2020). Términos de referencia para la contratación de un/a investigador/a de análisis químicos bajo la modalidad de prestación de servicios profesionales. In <https://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2020/08/TDR-UN-UNA-INVESTIGADOR-A-DE-ANALISIS-QUIMICO.pdf> (pp. 2–4). Programa redd+ early movers Ecuador.

Nowland, S. J., O'Connor, W. A., Elizur, A., & Southgate, P. C. (2021). Evaluating spawning induction methods for the tropical black-lip rock oyster, *Saccostrea echinata*. *Aquaculture Reports*, 20. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100676>

Panta-Vélez, P., Moncayo-Rodríguez, M., García-Bermúdez, A., Matos, Z., Mogro, L., Alvarado, R., Suarez, J., Torres, P., Bedón, C., Zambrano, V., Bernal-Zambrano, J., & Retamales-Gonzales, R. (2020). Dinámica poblacional del ostión *Crassostrea cf. corteziensis* en el estuario del Río Chone. *Foro Iberoam. Rec. Mar. Acui.*, 9, 434–443.

Rodríguez, D. F., & Sonnenholzner, S. (2020). *Descripción del ciclo de vida temprano, evaluación de dietas monoalgales, bialgales y selección de sustratos para la fijación de la ostra de roca striostrea prismatica (gray, 1825)* [Escuela Superior Politécnica del Litoral]. <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/51495/1/T-76773.pdf>

Rodríguez-Jaramillo, C., Ibarra, A. M., Soudant, P., & Palacios, E. (2017). Comparison of quantitative gonad maturation scales in a temperate oyster (*Crassostrea gigas*) and a sub-tropical oyster (*Crassostrea corteziensis*). *Invertebrate Reproduction and Development*, 61(3). <https://doi.org/10.1080/07924259.2017.1315341>

- Sedanza, M. G., Alshaweesh, J., Gao, Y. L., Yoshida, A., Kim, H. J., Yamaguchi, K., & Satuito, C. G. (2022). Transcriptome Dynamics of an Oyster Larval Response to a Conspecific Cue-Mediated Settlement Induction in the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*. *Diversity*, 14(7). <https://doi.org/10.3390/d14070559>
- Whelan, K. R. T., & Prats, M. C. (2022). Mangrove Madness: What Are Mangroves and Why Do We Care About Them? *Frontiers for Young Minds*, 10. <https://doi.org/10.3389/frym.2022.716954>
- Yáñez-Arancibia, A., & Lara-Dominguez, A. L. (2014). Ecosistemas de Manglar en América Tropical. *Ecosistemas de Manglar En América Tropical*, 380.

6 APÉNDICE

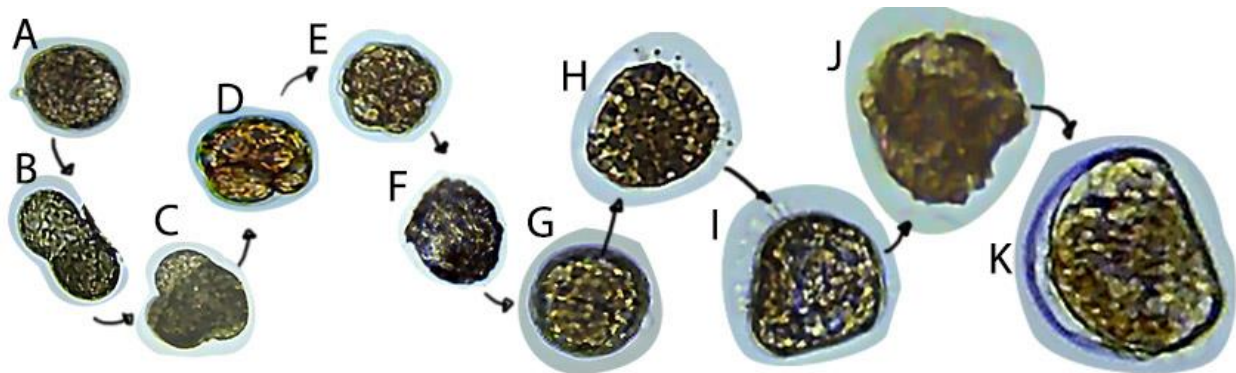
Apéndice 1

Cantidad de alimento suministrado en los 23 días de larvicultura

Día	Estadio	Alimento	Concentración (Célula/ml)	Ración (L)	Hora
1	Larva D	<i>I. galbana</i>	15000	2	09:00
				2	15:00
2	Larva D	<i>I. galbana</i>	17000	3	09:00
				2,2	15:00
3	Larva D	<i>I. galbana</i>	19000	3	09:00
				4	15:00
5	Larva veliger	<i>I. galbana</i>	22000	4	09:00
				4,5	15:00
7	Larva veliger	<i>I. galbana</i> y <i>C. gracilis</i>	24000	3 y 1	09:00
				3 y 1,3	15:00
9	Larva umbonada temprana	<i>I. galbana</i> y <i>C. gracilis</i>	28000	4 y 2	09:00
				3 y 3	15:00
11	Larva umbonada temprana	<i>I. galbana</i> y <i>C. gracilis</i>	32000	3 y 3	09:00
				4 y 4	15:00
13	Larva umbonada	<i>I. galbana</i> y <i>C. gracilis</i>	36000	4 y 4	09:00
				3,5 y 3,5	15:00
15	Larva umbonada	<i>I. galbana</i> y <i>C. gracilis</i>	40000	4 y 4	09:00
				4 y 4	15:00
17	Larva umbonada	<i>I. galbana</i> y <i>C. gracilis</i>	40000	4 y 4	09:00
				4 y 4	15:00
19	Larva umbonada tardía	<i>I. galbana</i> y <i>C. gracilis</i>	40000	4 y 4	09:00
				4 y 4	15:00
21	Larva umbonada tardía	<i>I. galbana</i> y <i>C. gracilis</i>	40000	4 y 4	09:00
				4 y 4	15:00
23	Larvas pediveliger	<i>I. galbana</i> y <i>C. gracilis</i>	40000	4 y 4	09:00
				4 y 4	15:00

Apéndice 2

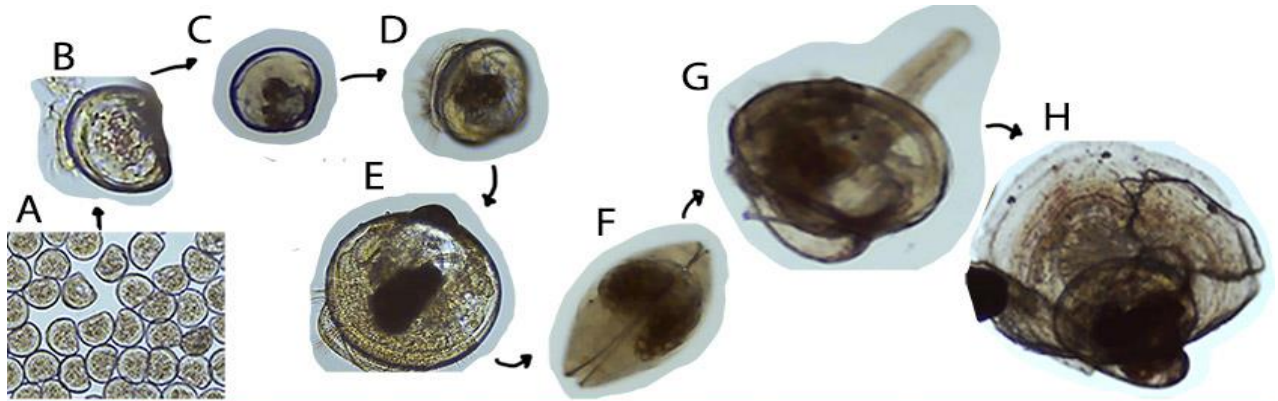
Guía de descripción morfológica para los estadios embrionarios



Estadio Embrionario	Primer cuerpo polar (A)	Primera división celular (B)	Segunda división celular (C)	Tercera división celular (D)	Cuarta división celular (E)	Mórula (F)	Blástula (G)	Gástrula (H)	Trocófora temprana (I)	Trocófora tardía (J)	Larva D temprana (K)
Tiempo posfecundación (min.)	0 (inicio)	15	45	105	135	201	255	315	465	525	705
Tallas (µm)	42,3 ± 5,9	48,8 ± 0,5	46,4 ± 2,1	46,1 ± 0,7	45,4 ± 2,8	44,1 ± 1,7	44,4 ± 2,3	46,4 ± 3,1	49,7 ± 4,0	53,1 ± 7,7	55,2 ± 3,1
Característica observable	-Se observa un bulbo diminuto cerca del ovulo fecundado. -Fecundación exitosa.	-División pronunciada en el cigoto. -Formación de dos blastómeros (estructuras circulares).	-Se observa una división en forma de Y. -Forman varios blastómeros (3 grandes, 1 pequeño).	-Varias divisiones. -se observa un Blastómero grande rodeado de 6 o 7 de talla variada.	-Entre 14 a 16 blastómeros. -Talla de blastómeros relativamente homogénea	-Estructura esférica irregular, compacta y sólida. -compuesta netamente de blastómeros pequeños.	-La estructura es más esférica, se observa rodeada por una circunferencia más sólida (oscura) y el interior más claro lleno de blastómeros	-Se observa movilidad -presencia perceptible de cilios. -Estructura no completamente circular más extendida de un lado.	-Movilidad más energética. -giran sobre su propio eje. -mayor aplanamiento de los lados	-Uno de los lados casi por completo recto. -se mantiene la motilidad	-Larva con forma de "D" -Relativamente grande comparado con los anteriores estadios -presenta movilidad

Apéndice 3

Guía de descripción morfológica para los estadios larvarios



Estadio Larvario	Larva D con prodisoconcha II (A)	Larva veliger (B)	Larva veliger umbonada temprana (C)	L.V.U con mancha Distal (D)	L.V.U tardía (E)	L.V umbonada tardía con Mancha ocular (F)	Larvas pediveliger (G)	Post Larva temprana (H)
Tiempo (Día)	1	5	9	13	15	19	21	25
Talla (µm)	53,34 ± 5,16	77,58 ± 7,58	112,51 ± 11,32	141,13 ± 13,93	176,52 ± 25,85	297,74 ± 24,30	329,09 ± 24,99	446,01 ± 37,01
Característica observable	-Larva con forma de D -24 horas después del estadio embrionario	-Se forma un velo alrededor del lado semicircular de la larva	-El lado recto de la larva pasa a formar una pronunciación en punta redonda semejando más a la forma de una concha	- Se observa una coloración amarillenta alrededor del área distal de la larva	- Prodisoconcha más redondeada, de mayor tamaño. -Umbo bien formado	-Se visualiza la mancha ocular que se identifica como un punto oscuro en la Prodisoconcha de la larva	-Se observa la formación del pie de la larva, la cual es un órgano con forma de lengua que le ayudará para su fijación. -Forma con mayor similitud a la de una concha -Interior poco visible	-Se observa fragmentos del sustrato de fijación pegados en la disoconcha