

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA  
ESCUELA DE BIOLOGÍA.



DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA DE ADHESIÓN EN CUATRO TIPOS DE COLECTORES  
UTILIZADOS EN LA PRODUCCIÓN ARTIFICIAL DE LARVAS DE *Anadara grandis* "CASCO DE  
BURRO" EN LABORATORIO HÚMEDO LA PIRRAYITA EN LA BAHÍA DE JIQUILISCO, USULUTÁN.

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

CASTILLO HENRÍQUEZ, ORLANDO LEONEL

CORNEJO HERNÁNDEZ, NADIA ELIZABETH

RODRÍGUEZ FERNANDEZ, CLAUDIA JOANA.

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADO/A EN BIOLOGÍA.

CIUDAD UNIVERSITARIA, AGOSTO DE 2007.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA  
ESCUELA DE BIOLOGÍA



DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA DE ADHESIÓN EN CUATRO TIPOS DE COLECTORES  
UTILIZADOS EN LA PRODUCCIÓN ARTIFICIAL DE LARVAS DE *Anadara grandis* "CASCO DE  
BURRO" EN LABORATORIO HÚMEDO LA PIRRAYITA EN LA BAHÍA DE JIQUILISCO, USULUTÁN.

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

CASTILLO HENRÍQUEZ, ORLANDO LEONEL

CORNEJO HERNÁNDEZ, NADIA ELIZABETH

RODRÍGUEZ FERNANDEZ, CLAUDIA JOANA

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADO/A EN BIOLOGÍA.

ASESORA: \_\_\_\_\_

M.Sc. ANA MARTHA ZETINO

ASESORA: \_\_\_\_\_

Licda. ANA MARLENE GALDAMEZ

ASESOR: \_\_\_\_\_

MES. OSMIN POCASANGRE

CIUDAD UNIVERSITARIA, AGOSTO DE 2007.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA  
ESCUELA DE BIOLOGÍA



DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA DE ADHESIÓN EN CUATRO TIPOS DE COLECTORES  
UTILIZADOS EN LA PRODUCCIÓN ARTIFICIAL DE LARVAS DE *Anadara grandis* "CASCO DE  
BURRO" EN LABORATORIO HÚMEDO LA PIRRAYITA EN LA BAHÍA DE JIQUILISCO, USULUTÁN.

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:  
CASTILLO HENRÍQUEZ, ORLANDO LEONEL  
CORNEJO HERNÁNDEZ, NADIA ELIZABETH  
RODRÍGUEZ FERNANDEZ, CLAUDIA JOANA.

PARA OPTAR AL GRADO DE:  
LICENCIADO/A EN BIOLOGÍA.

JURADO EVALUADOR: \_\_\_\_\_  
Licda. ANA DELFINA HERRERA DE BENITEZ

JURADO EVALUADOR: \_\_\_\_\_  
Lic. JOSÉ ISRAEL CHAVEZ.

CIUDAD UNIVERSITARIA, AGOSTO DE 2007.

**AUTORIDADES UNIVERSITARIAS**

**RECTORA**

**Dra. MARIA ISABEL RODRIGUEZ**

**SECRETARIA GENERAL**

**Licda. MARGARITA RIVAS DE RECINOS**

**FISCAL**

**Lic. PEDRO ROSALIO ESCOBAR CASTANEDA**

**DECANO DE LA FACULTAD**

**M.Sc. JOSÉ HECTOR ELIAS DIAZ**

**DIRECTORA DE LA ESCUELA**

**M.Sc. ANA MARTHA ZETINO CALDERON**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, AGOSTO DE 2007.**

TRIBUNAL EXAMINADOR

ASESORA

M.Sc. ANA MARTHA ZETINO CALDERON

ASESORA

Licda. ANA MARLENE GALDAMEZ

ASESOR

MES. OSMIN POCASANGRE

JURADO

Licda. DELFINA DE BENITEZ

JURADO

Lic. JOSÉ ISRAEL CHAVEZ

CIUDAD UNIVERSITARIA, AGOSTO DE 2007.

DEDICATORIA.

La misión de cada individuo es tarea inacabada, es un proyecto de vida reorientado a dejar más que una huella, es decir, modificar el ambiente en pro de la concordia, el desarrollo y la equidad.

En principio una fuerza divina orienta nuestro andar, siendo esta entidad a la que dedicamos este trabajo, con el objetivo de decirle: " Nos distes el libre albedrío, lo estamos aplicando de acuerdo a tus principios ".

La realización de esta investigación no pretende cambiar al mundo, sino mas bien, generar un aporte científico con base biológica, como un acto de amor a nuestros padres y familiares, quienes nos demandaron dejar este mundo mejor de los que lo encontramos, a lo anterior, aplicar en la realidad lo aprendido en las aulas universitarias y enseñado tan eficientemente por nuestros docentes, con el fin de agradecer y demostrarles que lo enseñado se plasma en un trabajo critico y orientado a modificar el medio, como tarea académica y trascendencia de los mismos.

Es necesario dirigirnos a nuestros padres, hermanos, compañeros y amigos, a quienes les debemos la respuesta efectiva que ellos han esperado como producto inicial de una carrera académica que se funde en la ciencia, el amor, el compromiso y la fe; todo dirigido al cumplimiento de los ideales de unos estudiantes, ahora profesionales.-

Nadia Elizabeth Cornejo  
Claudia Joana Rodríguez  
Orlando Leonel Castillo.

## AGRADECIMIENTOS.

Agradecemos a Dios todopoderoso por prestarnos vida y darnos la oportunidad y capacidad de poder culminar con esta investigación e iluminarnos y fortalecido en todas las dificultades presentadas en su elaboración.

A nuestros padres por su apoyo moral y ayuda económica, y nuestros hermanos/as por brindarnos su apoyo incondicional.

A nuestros asesores por que sin ellos no hubiera sido posible en el entusiasmo y acertado asesoramiento de la Licda. Ana Marlene Galdámez técnico contraparte de proyecto moluscos JICA&CENDEPESCA, MSc. Ana Martha Zetino Directora de la Escuela de Biología y MES. Osmín Pocasangre catedrático de la Escuela de Biología de la Universidad de El Salvador, al jurado evaluador Licda. Ana Delfina Herrera de Benítez, Lic. José Israel Chávez. Al licenciado Jorge Sayes, Lic. Carlos Augusto Salazar y Licda. Yanira López por su valiosa colaboración. Al técnico del Centro de Computo de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, a Edwin Miranda por su colaboración.

A licenciado Jorge López por el apoyo que nos brindo desde el inicio de la investigación, así como también Ing. Fermín Manuel Oliva Director de CENDEPESCA y Licda. Rheyne Pacheco de D'aubuisson Coordinadora de Proyecto moluscos de CENDEPESCA.

A los señores expertos de JICA Takashi Saito administrador del proyecto JICA, Ing. Sohei Kino Técnico en cultivo de moluscos, Dr. Toyo Takami experto en cultivo de moluscos, a todos ellos por su apoyo incondicional en nuestra estancia en el laboratorio.

Al personal de CENDEPESCA Puerto El Triunfo principalmente al licenciado Franklin López por habernos apoyado y brindarnos alojamiento en las instalaciones de CENDEPESCA en la realización de la investigación.

Nadia Elizabeth Cornejo  
Claudia Joana Rodríguez  
Orlando Leonel Castillo.

### III

#### AGRADECIMIENTOS ESPECIALES.



## INDICE DE CONTENIDOS.

<b>CONTENIDO</b>	<b>Pagina</b>
ÍNDICE DE CUADROS	VII
ÍNDICE DE TABLAS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
ÍNDICE DE ANEXOS	X
RESUMEN	XI
I INTRODUCCIÓN	I
II OBJETIVOS	20
III REVISION DE LITERATURA	21
3.1 ASPECTOS BIOLÓGICOS	21
3.1.1 PHYLLUM MOLLUSCA	21
3.1.2 CLASE BIVALVA	22
3.1.3 DESCRIPCIÓN DE <i>Anadara grandis</i>	24
3.1.3.1 Clasificación taxonómica de <i>Anadara grandis</i>	24
3.1.3.2 Anatomía externa	24
3.1.3.3 Anatomía interna	26
3.1.3.4 Hábitos alimenticios	26
3.1.3.4 Hábitat	27
3.1.3.5 Distribución	27
3.1.4 REPRODUCCION DE VIDA DE <i>Anadara grandis</i>	28
3.1.4.1 Características biológica	28
3.1.4.2 Desarrollo embrionario	28
3.1.5 CONDICIONES FÍSICO-QUÍMICAS EN LABORATORIO	29
3.1.5.1 Temperatura del agua	29
3.1.5.2 Salinidad	29

3.1.6 CULTIVO DE <i>Anadara grandis</i> EN LABORATORIO	30
3.1.6.1 Producción larvaria	30
3.1.6.2 Cultivo de microalgas	30
3.1.6.3 Aclimatación de reproductores	31
3.1.6.4 Inducción al desove	31
3.1.6.5 Cría de larvas	33
3.1.6.6 Adhesión	34
IV METODOLOGÍA	36
4.1 Ubicación y Distribución del Área de Estudio	36
4.2 Procedencia de los reproductores	38
4.3 PRIMERA ETAPA: Inducción al Desove por la Técnica de Shock Térmico	38
4.3.1 Aclimatación de los reproductores	38
4.3.2 Inducción al desove	39
4.4 SEGUNDA ETAPA: Desarrollo Larvario	41
4.4.1 Fertilización de óvulos	41
4.5 TERCERA ETAPA: Cría de Larvas	42
4.5.1 Elaboración de colectores para la adhesión	44
4.6 CUARTA ETAPA: Eficacia de los Colectores	45
4.6.1 Adhesión	45
V ANALISIS ESTADÍSTICO	47
VI RESULTADOS	48
6.1 PRIMERA ETAPA: Inducción al Desove por la Técnica de Shock Térmico	48
6.1.1 Procedencia de los reproductores	48
6.2 SEGUNDA ETAPA: Desarrollo Larvario	49
6.2.1 Fertilización de óvulos	49

6.3 TERCERA ETAPA: Cría de Larvas	55
6.4 CUARTA ETAPA: Eficacia de los Colectores	57
6.4.1 Adhesión	57
6.4.2 Comparación estadística	60
6.4.3 Tasa de adhesión	62
VII DISCUSIÓN	64
VIII CONCLUSIONES	67
IX RECOMENDACIONES	69
X REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	
ANEXOS	

## ÍNDICE DE CUADROS.

	Página
1. Resumen de las experiencias observadas en los grupos de reproductores de <i>Anadara grandis</i> en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután.	48
2. Cantidades de las células sexuales de macho y hembra de <i>Anadara grandis</i> obtenidos en el desove de 08/02/2007 en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita de CENDEPESCA, Usulután.	50
3. Cantidad de óvulos existentes en cada uno de los lavados de huevos, en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita, CENDEPESCA, Usulután.	52
4. Estadíos de desarrollo y Biometría de larvas de <i>Anadara grandis</i> según días de cultivo, en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután.	55
5. Promedios de los parámetros físicos – químicos registrados para cada tanque de cultivo de <i>Anadara grandis</i> , en el periodo de cultivo de 08/02/2007 al 14/03/2007, en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután.	57
6. Número de semillas de <i>Anadara grandis</i> adheridas a los cuatro tipos de colectores por tanque de cultivo el día 13 y 14 de marzo de 2007 en el Laboratorio Húmedo la Pirrayita CENDEPESCA. Usulután.	58
7. Análisis de varianza de una vía. GL: Grados de Libertad, SC: Suma de Cuadrados, MC: medias de Cuadráticas, F: Valor calculado, P: Probabilidad de error, FV: Mínimo valor para considerar que no hay diferencia significativas.	61
8. Análisis de varianza de una vía para los cuatro tipos de colectores utilizados. GL: grados de libertad, SC: Suma de Cuadrados, MC: Medias Cuadráticas, F: Valor calculado y P: Probabilidad de error.	61
9. Tasa de adhesión de semillas de <i>Anadara grandis</i> en los cuatro tipos de colectores para los tanques de cultivo obtenidos en el Laboratorio Húmedo la Pirrayita CENDEPESCA. Usulután.	62
10. Porcentajes de sobrevivencia y mortalidad de semillas de <i>Anadara grandis</i> para los tres tanques de cultivo obtenidas en el Laboratorio Húmedo la Pirrayita CENDEPESCA. Usulután.	63

## VIII

### ÍNDICE DE TABLAS.

	Página
1. Alimentación planeada de microalgas para <i>Anadara grandis</i> (CENDEPESCA & JICA, 2004).	43

## ÍNDICE DE FIGURAS.

	Página
1. Características externas e internas de un bivalvo.	23
2. Anatomía externa de la concha de <i>Anadara grandis</i> .	25
3. Ubicación Geográfica del Laboratorio Húmedo de CENDEPESCA La Pirrayita en la Bahía de Jiquilisco Departamento de Usulután (Fuente SNET & MARN 2007).	37
4. Limpieza de los reproductores de <i>Anadara grandis</i> en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután.	39
5. Toma de temperatura en la inducción al desove de <i>Anadara grandis</i> en el tanque de desove del Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA.	40
6. Observación de los reproductores de <i>Anadara grandis</i> en el proceso de inducción al desove en los tanques del Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután.	40
7. Observación de hembra y macho de <i>A. grandis</i> desovando el 08/02/2007, en el Laboratorio Húmedo de La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután. (a). Hembra desovando, nótese la coloración naranja de los óvulos (b). Macho desovando, nótese la coloración blanquecina de los espermatozoides.	49
8. Primeras etapas del óvulo de <i>Anadara grandis</i> recién fecundado observada a 20x al microscopio, el 08/02/2007, en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután (a) Huevo fecundado, (b) Presencia de cuerpo polar, (c) Inicio a la división, nótese el surco en el centro de la célula.	51
9. División mitótica de huevo de <i>A. grandis</i> , observada a 10x, el 08/02/2007, en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután.	51
10. Observación de Larva trocófora 1º estadio larvario de <i>Anadara grandis</i> , el 08/02/2007, en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután. Nótese en la parte superior de la larva la presencia del cilio apical.	52
11. Desarrollo Embrionario de larva D de <i>Anadara grandis</i> , observado el 09/02/2007, en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután.	53
12. Representación de las primeras etapas de desarrollo embrionario de <i>Anadara grandis</i> en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután.	54
13. Etapas larvarias de <i>Anadara grandis</i> observadas desde el 11/02/2007 al 13/03/2007, en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután.	56

14.	Larva con "ojo" o mancha ocular oscura situada en el centro de la concha.	57
15.	Segregación de bisas que se observan a la izquierda de la larva, al igual que el "ojo" marcan los indicios de la metamorfosis de la larva.	58
16.	Representación de los porcentajes del número total de semillas adheridas de <i>Anadara grandis</i> contabilizadas a los cuatro tipos de colectores en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA. Usulután.	59
17.	Larvas de <i>A. grandis</i> adheridas a los colectores de PVC.	59
18.	Larvas de <i>A. grandis</i> adheridas al colector de valvas de concha.	59
19.	Larvas de <i>A. grandis</i> adheridas al colector de listón.	60
20.	Larvas de <i>A. grandis</i> adheridas a las partículas de arena, vista al estereoscopio a 4x.	60

## ÍNDICE DE ANEXOS.

1. Fotografía del Laboratorio Húmedo la Pirrayita del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) CENDEPESCA. Lugar donde se realizó la investigación.
2. Medición de los reproductores de tamaño de 70mm a 100mm.
3. Matriz de biometría de reproductores de *Anadara grandis*.
4. Matriz de desove de reproductores de *Anadara grandis*
5. Matriz de datos de huevos de *Anadara grandis*
6. Matriz de etapas larvianas de *Anadara grandis*
7. Fotografía del cultivo de los tres tipos de microalgas utilizadas para alimentación
8. División de larvas tipo D en los tres tanques de policarbonato.
9. Matriz de datos de alimentación de larvas de *Anadara grandis*.
10. Matriz de control de larvas de *Anadara grandis*
11. Fotografías de la elaboración de los colectores.
12. Matriz control de asentamiento e larvas de *Anadara grandis*
13. Fotografías de la conducta que presentaron los reproductores al segundo y tercer día de inducción formando bisas tipo telaraña y para el sexto día de inducción los reproductores mostraron una conducta muy diferente no teniendo actividad observando sus valvas entre abiertas.
14. Fotografía de una muestra de larvas en estadio "D".
15. Fotografías de la medición diaria de los parámetros físicos químicos y observación diaria de larvas y toma de biometría.
16. Parámetros físicos químicos de los tanques de cultivo de *Anadara grandis*.
17. Fotografías del apareamiento de "ojo" una especie de punto negro que se puede notar en la concha y segregación de bisas que al igual que el "ojo" marcan los indicios de la metamorfosis de la larva lo que lleva a la colocación de los colectores.
18. Fotografías de la adherencia de larvas de *Anadara grandis* a los cuatro tipos de colectores.

## RESUMEN.

En el presente estudio se investigó sobre la determinación de la eficacia de adhesión en cuatro tipos de colectores utilizados en la producción artificial de larvas de *Anadara grandis* en el laboratorio húmedo La Pirrayita en la bahía de Jiquilisco, Usulután.

El estudio se realizó desde el mes de Septiembre de 2006 hasta el mes de Febrero de 2007, en condiciones controladas del laboratorio húmedo de CENDEPESCA, con las técnicas establecidas por los expertos japoneses de JICA<sup>1</sup> y técnicos de CENDEPESCA.

Para comprobar la eficacia de los colectores, fue necesario contar con las larvas de *Anadara grandis*; para este fin se inició con la técnica de inducción al desove con los reproductores, que fueron llevados al laboratorio. Se utilizaron 280 individuos procedentes del Golfo de La Unión y 54 individuos del cantón Cojoyón de Usulután; estos se aclimataron a 20°C por tres días.

Los reproductores utilizados reaccionaron al estímulo de inducción a una temperatura de 33°C, un pH de 7.7, salinidad de 32‰ y un DO de 6ppm, en un periodo de seis días y nueve horas con quince minutos, registrando un total de 39 machos y 2 hembras, obteniendo 2,998000 óvulos viables para fertilizar, de los que fue posible registrar las primeras divisiones celulares en un periodo de dos horas hasta el momento de observar el primer estadio larvario, disponiendo un total de 107,387 larvas trocóforas, que por 24 horas continuas se monitoreo todo el desarrollo embrionario desde huevo hasta larva D o veliger temprana, en un transcurso de 35 días se evidenciaron los estadios larvarios de larva umbonada (150 µm en 9 días); veliger tardío (230 µm, en 11 días); post-larva (750 µm, en 21 días); semilla (1,500 µm en 35 días), con lo que se pudo realizar un ciclo de las etapas larvarias. Las larvas que alcanzaron el estadio D fueron un total de 61,600, que representan un 57.36% de sobrevivencia.

---

<sup>1</sup> JICA. Agencia de Cooperación Internacional del Japón.

### XIII

En un periodo de 23 días, se contaba con un total de 24,055 semillas adheridas a los colectores con un porcentaje de sobrevivencia por tanque de: Tanque 1: 68.18%; Tanque 2: 56.68%; Tanque 3: 53.87%; con una tasa de adhesión para cada colector de: PVC 95.13%; VB 88.19%; LT 58.40%; Ar. 58.28%.

Los registros de los parámetros fisico-químicos tales como pH, salinidad, temperatura y oxígeno disuelto determinaron que las condiciones de cría de larvas en el Laboratorio oscilaron entre una temperatura promedio de 26 y 28 °C, un pH entre 7 y 8, con una salinidad entre 34 y 35‰ y con un D.O. entre 6 y 7ppm.

Se determinó en la presente investigación que el colector más eficaz fue el de PVC, teniendo el porcentaje más alto en la tasa de adhesión de semillas de *Anadara grandis* para los cuatro tipos de colectores, con un 58.54%, de semillas adheridas, aunque estadísticamente no exista diferencia significativa; se pudo notar la diferencia en cuanto al número de semillas adheridas contabilizadas (7,520 semillas adheridas a PVC), por lo que se recomienda en el uso de la acuicultura por la facilidad de adhesión de larvas, fácil manejo.

## I. INTRODUCCIÓN.

La acuicultura aplicada al cultivo de moluscos se ha desarrollado actualmente gracias a que los avances tecnológicos a nivel mundial han permitido una mayor difusión de las técnicas y métodos para el cultivo de bivalvos. El Salvador es uno de los países que actualmente muestra gran interés por implementar tecnologías aplicadas a la acuicultura para mejorar el cultivo de moluscos principalmente basado en el uso sostenible de los recursos costeros y su conservación en el medio ambiente de áreas marino costeras. La recolección de los bivalvos en el medio natural ha contribuido a la disminución de las especies de moluscos tal es el caso de *Anadara grandis* "casco de burro" que se encuentra en la categoría de manejo: peligro de extinción; siendo este uno de los problemas que ha venido a afectar las poblaciones de dicho molusco en nuestro país (CENDEPESCA & JICA, 2004).

Esta situación permite buscar técnicas alternativas de cultivo bajo condiciones controladas, apropiadas a la producción de larvas de *A. grandis* para tener una mayor producción de la especie, que posteriormente puedan ser utilizadas comercialmente y así también repoblar con esas semillas los bancos naturales de la Bahía o esteros con baja población.

Debido a los pocos estudios que se han realizado en El Salvador con respecto al cultivo de moluscos es necesario investigar sobre producción de larvas de *A. grandis*; por lo que el presente estudio tuvo como objetivo fundamental determinar cuál es el colector más eficiente en la adhesión de larvas de *A. grandis* "casco de burro" en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita en la bahía de Jiquilisco, Usulután.

El estudio pretende brindar información científica sobre cuál es el colector más eficaz en la adhesión de larvas de *A. grandis* por lo que se considera que servirá de soporte técnico a la acuicultura del país para tener una mejor producción artificial de moluscos en el laboratorio.

## II. OBJETIVOS

### General.

- Determinar de la eficacia de adhesión en cuatro tipos de colectores utilizados en la producción artificial de larvas de *Anadara grandis* "casco de burro" en laboratorio húmedo La Pirrayita en la Bahía de Jiquilisco, Usulután.

### Específicos.

- Realizar el método de inducción al desove por la técnica de shock térmico
- Definir las etapas del desarrollo larvario de *A. grandis*
- Identificar las condiciones de cría de larva de *A. grandis*
- Comparar el número de larvas de *A. grandis* adheridas en los cuatro tipos de colectores.

### III. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1 ASPECTOS BIOLÓGICOS

##### 3.1.1 PHYLLUM MOLLUSCA.

El Phylum Mollusca es uno de los más grandes del Reino Animal, los moluscos se caracterizan por tener cuerpos blandos compuestos de cabeza, un pie y una giba visceral, cubierta por un manto que secreta una concha. Respiran por branquias, excepto los caracoles terrestres, que la cavidad del manto ha sido modificada para la respiración aérea.

El Phylum comprende 128, 000 especies vivientes y cerca de 35,000 fósiles; es el segundo por su abundancia y volumen de especies después de los artrópodos. Incluye ostras, almejas, pulpos, caracoles, babosas, lapas, y el mayor de los invertebrados, el calamar gigante. De las cuales solamente dos clases son utilizadas en la acuicultura los Gasterópodos y los Bivalvos (Salcido *et .al*, 1994).

Así mismo el autor agrupa en el Phylum mollusca en siete clases:

- Gasterópoda o Gastrópoda
- Bivalva o Pelecypoda
- Aplacóphora
- Monoplacóphora
- Polyplacophora
- Cephalópoda
- Scaphópoda

Los moluscos son uno de los principales recursos existentes en la costa pacífica salvadoreña tanto en abundancia relativa como en demanda para consumo interno. A pesar que el país tiene una limitada extensión geográfica con una pequeña franja costera (aproximadamente 321 kilómetros de longitud), que se localiza entre 13° 09' y 14° 27' latitud norte y 87° 41' y 90° 07' de longitud oeste.

Se encuentra formando parte de una de las regiones más importantes en diversidad malacológica. En el litoral salvadoreño se han registrado 423 especies, más cuatro especies no determinadas, las cuales se ubican en 99 familias y 26 órdenes taxonómicos. También se ha investigado una especie de agua dulce dentro de la clase bivalva; tres especies de agua dulce y dos terrestres dentro de la clase Gasterópoda, todas distribuidas a menos de 500 msnm, registrándose en 43 sitios del país (Flores V.O. y A. Nadal. 2003).

### 3.1.2 CLASE BIVALVA.

En la clase Bivalva, también denominada pelecypoda o Lamellibranchia. Se agrupan aquellos moluscos cuya particularidad es la de poseer dos conchas o valvas, que generalmente cubren todo el cuerpo del animal, presentan dos músculos aductores; uno anterior y otro posterior, en algunos casos se puede apreciar una tendencia a la reducción del tamaño del extremo anterior, los que conduce a la reducción del músculo aductor anterior (anisomarios) o su pérdida total (monomarios). Otra característica de la clase, es que tienen un pie que hace que también se les denomine pelecípodos; el pie en los bivalvos es una estructura fundamental en el estadio larvario de pediveliger, una gran cantidad de especies al sufrir la metamorfosis lo pierden o lo retraen, en otras éste se desarrolla de manera que siempre está presente (Barnes, 1991). La cabeza no se distingue del resto del cuerpo esta muy poco desarrollada (Salcido *et. al.* 1994).

La cavidad paleal es la mas espaciosa de todas las clases de moluscos; generalmente las branquias son muy grandes y en la mayoría de las especies además de realizar el intercambio gaseoso, han asumido la función de la recolección del alimento (Barnes, 1991) (Figura 1).

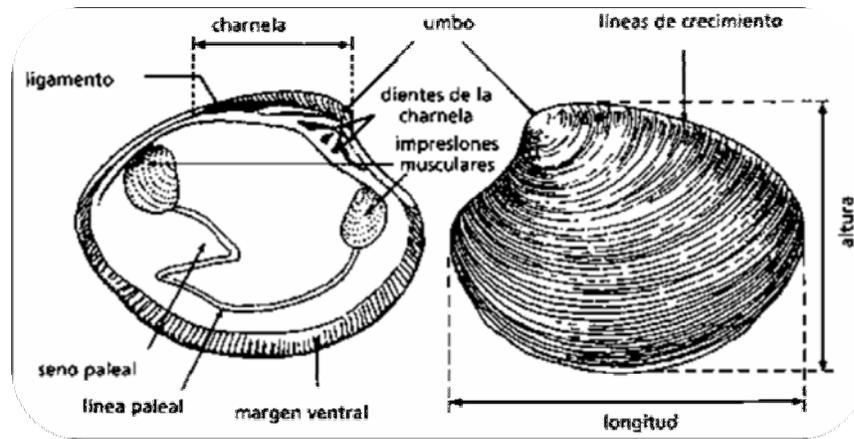


Figura 1. Características externas e internas de un bivalvo (<http://1.FAO>).

Los niveles de respiración y consumo de oxígeno, particularmente de las especies intermareales han sido estudiados por varios autores. Los moluscos son conocidos por tener un bajo requerimiento de oxígeno y en algunos casos, presentan capacidades anaerobias impresionantes (Ghiretti, 1966; Hochachaka & Somero, 1976). Algunas especies tienen un pigmento para la respiración con lo cual pueden sobrevivir en ambientes deficientes en oxígeno (Ghiretti, 1966; Newell, 1970; Newell & Branco, 1980), tal es el caso de las especies que viven en los manglares.

### 3.1.3 DESCRIPCIÓN DE *Anadara grandis*

#### 3.1.3.1 Clasificación Taxonómica de *A. grandis*.

Phylum	Mollusca
Clase	Bivalva o Pelecypoda
Sub-clase	Pteriomorphia
Orden	Arcoida
Super-familia	Arcidae
Genero	<i>Anadara</i>
Especie	<i>grandis</i> (Broderip & Sowerby, 1829)

**Sinonimia:** *Grandiarcia grandis* (Broderip & Sowerby, 1829), *Arca grandis* (Broderip & Sowerby, 1829), *Arca quadrilatera* (Sowerby, 1833), *Arca larkinii* (Nelson, 1870), *Scapharca grandis* (Maury, 1922) y *Acapharca grandis* (Cruz & Jiménez, 1994)

**Nombres comunes:** Chucheca (Costa Rica); casco de burro (El Salvador); barcazas, pata de burro, arcas; cocálica (Panamá); pata de burro (Guatemala).

#### 3.1.3.2 Anatomía Externa.

*A. grandis* es el más grande de la superfamilia Arcidae. Su concha es elevada, estriada y sólida de color blanco, posee un periostraco liso y de color negro. El margen interno de la concha es muy dentado. La zona de ligamento es mas ancha que en otros arcidos. Presenta umbos anchos, prominentes y centrales, 26 costillas radiales fuertes. Los dientes de la charnela son pequeños y en series continuas. (Cruz & Jiménez, 1994 (figura 2).



Figura 2. Anatomía externa de la concha de *Anadara grandis*.

La concha está estructurada en tres capas: a) la capa externa o periostraco constituida exclusivamente de conquiolina, cubre a las otras dos capas y las protege, evitando su descalcificación en los ambientes ácidos; b) la capa intermedia, formada por filas de pequeños cristales prismáticos de calcita, y c) la capa interna o capa de nácar, constituida por finísimas capas calcáreas dispuestas entre láminas de conquiolina y paralelas a la superficie de la concha (Planas & León 1997).

La concha se empieza a formar en el estado de larva veliger. Los dos repliegues del manto segregan la conquiolina para formar dos pequeñas valvas, unidas por un delgado ligamento. La sustancia que se va segregando se añade a los bordes de las valvas, produciendo una serie de anillos de crecimiento concéntricos (Meglitsch, 1978).

El ritmo de crecimiento y la esperanza de vida de los bivalvos son muy variables. El mejillón común de California (*Mytilus californianus*) puede alcanzar una longitud de 86 mm en un solo año. Por regla general, la mayoría de los bivalvos crecen más rápidamente durante los primeros años de su vida. Se sabe que edades de 20 o 30 años son bastante comunes entre los bivalvos y, ciertas especies, se han encontrado individuos de 150 años de edad (Barnes, 1991).

### 3.1.3.3 Anatomía Interna.

Poseen un celoma reducido y una pared del cuerpo gruesa y musculosa, la parte ventral del cuerpo se transforma en un pie musculoso locomotor, aunque en determinados casos sirve para otras funciones (pegarse a las rocas, excavar o nadar). En la región dorsal tienen una masa visceral más o menos voluminosa, donde se encuentra la mayoría de los órganos internos. Un repliegue la piel forma el manto que recubre al cuerpo total o parcialmente. Este manto limita una cavidad llamada paleal, donde se encuentran los órganos respiratorios, el ano y los poros urogenitales. El manto segrega una concha calcárea que los protege (Planas & León 1997).

El mismo autor menciona que el sistema nervioso está formado por un anillo, unos cordones nerviosos y unos pares de ganglios, los cerebrales, pedios, pleurales y viscerales asociados entre sí. A causa de su vida sedentaria tienen el pie comprimido que es poco eficaz para la locomoción. La masa visceral está comprimida por los lados y protegida totalmente por un manto lobular, este aplastamiento se debe a su vida sedentaria y por vivir enterrados en los fondos arenosos. La cavidad paleal es muy amplia y ocupa toda la región ventral del animal. Está limitada por los dos grandes lóbulos del manto. En ella se alojan las branquias laminares muy desarrolladas.

### 3.1.3.4 Hábitos Alimenticios.

Los principales alimentos del bivalvo son generalmente diatomeas y flagelados, también sus alimentos son otros tipos de bacterias y detritus, los cuales entran por la corriente de agua ocasionada por los movimientos de cilios de palio, branquias, palpo labial, etc.

La mayoría de los lamelibranquios se alimentan de pequeños organismos planctónicos y de partículas en suspensión. Las partículas alimenticias, que en algunos casos miden menos de  $1\mu\text{m}$ , son filtradas de las corrientes de agua que pasan entre los filamentos.

En las familias Arcidae y Anomiidae, las partículas pesadas que son transportadas hacia el margen ventral de la branquia son llevadas hacia la región posterior y se expulsan hacia la cavidad paleal (Barnes, 1991).

En algún grupo de bivalvos protobranquios primitivos, apareció evolutivamente la alimentación por filtración, lo que dió lugar a una radiación adaptativa explosiva, y los bivalvos filtradores, conocidos como lamelibranquios, se convirtieron en los bivalvos dominantes. Las branquias y la corriente de ventilación de los protobranquios sufrieron una preadaptación para la alimentación por filtración. A medida que los lamelibranquios fueron evolucionando, las partículas en suspensión y los microorganismos presentes en la corriente de ventilación empezaron a ser empleados como fuente de alimento, las branquias se convirtieron en filtros, y los cilios de de las branquias, que originalmente servían para limpiarlas, se adaptaron para transportar las partículas retenidas en moco desde este filtro hasta los palpos labiales y la boca (Barnes, 1991).

#### 3.1.3.5 Hábitat.

*Anadara grandis* se encuentra en playones limo-arenosos en la zona estuarina de los manglares y no tolera descargas fuertes de agua dulce. (Cruz & Jiménez, 1994).

#### 3.1.3.6 Distribución.

*Anadara grandis* se distribuye desde el golfo de California, Bahía de Tumbes Perú, Costa Rica e Isla del Coco, (Cruz & Jiménez 1994).

En El Salvador se ha reportado en el Estero de Jaltepeque, Barra de Santiago, Estero el Tamarindo, Bahía de Jiquilisco, Bahía La Unión (Barraza, 2006).

### 3.1.4 REPRODUCCION DE *Anadara grandis*.

#### 3.1.4.1 Características Biológicas.

*A. grandis* su fecundación es externa y posee sexos separados con una proporción de sexos de un macho por dos hembras. Tienen una longitud de 104mm., diámetro de 85mm la relación longitud-altura es de 1,2. (Cruz & Jiménez, 1994).

#### 3.1.4.2 Desarrollo Embrionario.

El huevo pasa unas tres semanas en las etapas de: Trocófora, larva flotante en estado de "D", umbada y larva madura flotante (etapa de crecimiento máximo) antes de entrar a la etapa de fijación. El tamaño de concha varía cuando se sumergen en fondos fangosos dependiendo de las condiciones físicas como son: olas y corriente del hábitat (Takami, 1987).

El sexo de individuos sexualmente maduros en el genero *Anadara*, es fácil de determinar por el color de los productos sexuales. Estos en macho son de color blanquecino y de consistencia pegajosa; los de las hembras son de apariencia granular y de color anaranjado. La expulsión de los gametos posiblemente ocurre por contracción de la musculatura gonadal (Nagabhushanam & Dhamne, 1977).

El género *Anadara* tiene fecundación externa, los óvulos se fertilizan en el agua donde son penetrados por el espermatozoide y se desarrollaran rápidamente. Una vez completada la fertilización, comienza la división de mitosis celular presentando estados de dos, cuatro y ocho células, posteriormente aparece la blástula y la gástrula, mismas que son el proceso anterior al primer estadio larvario conocido como larva Trocófora, cuya talla puede variar entre 55 y 80µm, al entrar en este estadio adquiere la facilidad de desplazarse gracias a la aparición de cilios. (Salcido *et. al*, 1994).

Posteriormente esta larva empieza a producir su concha y da lugar a la comúnmente denominada Larva "D" o Veliger Temprana y mide entre 80 a 100  $\mu\text{m}$ . Este estadio se caracteriza por la aparición de la Prodisoconcha y una estructura visible denominada velo que le sirve para nadar y formar corrientes que atraen a las microalgas que utilizan como alimento. La característica de charnela recta de la larva "D" poco a poco se va redondeando hasta tomar una forma circular muy marcada que es el inicio de la aparición del umbo, por lo que a este estadio se le denomina Larva Umbada o Embonada, con dimensiones que van de 130 a 180  $\mu\text{m}$ . De aquí en adelante comienza un proceso muy interesante en los Bivalvos, el umbo se hace más marcado, el pie se empieza a notar y el velo llega a su máxima dimensión, a este estadio se le conoce como Veliger Tardío. Posteriormente el organismo sufre una metamorfosis que lo convierte en un molusco bivalvo con las características de adulto.

En los gasterópodos en el estado de larva veliger cuando se produce la torsión, la concha y la masa visceral se retuercen 180° en relación con la cabeza y el pie. La torsión puede ser rapidísima (solo dura 3 minutos en la lapa marina *Acmea*) o puede ser un proceso más gradual. A medida que la larva veliger se va desarrollando, llega un momento en el cual no sólo puede nadar gracias a su velo, sino que ya posee un pie lo suficientemente desarrollado como para permitirle reptar. Es entonces cuando se producen el establecimiento y la metamorfosis. Se pierde el velo y se desarrollan las características definitivas de un adulto y es cuando la larva comienza a adherirse (Salcido et. al, 1994).

### 3.1.5 CONDICIONES FÍSICO-QUÍMICAS EN LABORATORIO.

#### 3.1.5.1 Temperatura del Agua.

Las condiciones de la temperatura del agua adecuada para que las larvas se desarrollen son de 25 a 27°C. En cuanto a la acuicultura y liberación, se conoce que las conchas mayores de 2 años de edad son proclives a morir, especialmente en la época que la temperatura del agua es alta, o sea de verano a

otoño. En cuanto a la temperatura baja el centro experimental de pesca de Kagawa hizo un ensayo de hacer pasar un invierno individuos del genero *Anadara* a 10 cm de profundidad colocándolas en lodo en marea baja y no murieron, por lo tanto los investigadores creen que la *Anadara sp.* Es relativamente resistente a las bajas temperaturas (Takami, 1987).

#### 3.1.5.2 Salinidad.

Al observar el impacto de salinidad en *Anadara* a través de la aireación de consumo de oxígeno, se ve la disminución de su consumo al llegar al 80% de la salinidad normal del agua de mar a una temperatura de 23°C. (Takami, 1987).

### 3.1.6 CULTIVO DE *Anadara grandis* EN LABORATORIO.

#### 3.1.6.1 Producción Larvaria.

La producción de semillas de moluscos bivalvos, es proceso que comprende cuatro subsistemas: 1) Cultivo de microalgas, 2) aclimatación de reproductores, 3) inducción al desove y 4) cría de larvas.

La sistematización señalada no implica que se pueda separar en áreas, ya que cada uno de los subsistemas es complemento del otro, de tal manera que si uno de estos fallase el éxito de los demás no podría obtenerse (Salcido *et. Al.*, 1994).

#### 3.1.6.2 Cultivo de Microalgas.

Se deben producir microalgas de la mejor calidad posible y en gran cantidad, en concordancia con la dimensión y procedimientos de operación del laboratorio. El cultivo de microalgas de manera artificial se utiliza para alimentar reproductores, larvas y semillas de moluscos bivalvos.

Las exigencias en cuanto a calidad de alimento por parte de los diversos estadios larvarios de los moluscos y durante la etapa de fijación, son considerablemente mayores que para reproductores y semillas (Salcido *et. al.*, 1994).

### 3.1.6.3 Aclimatación de Reproductores.

El acondicionamiento es un proceso por el cual se pretende acelerar el mecanismo de maduración de la gónadas de los moluscos el fundamento biológico se basa en estimular el desarrollo de las gónadas de los organismos a través del cambio de temperatura, el ciclo se inicia colocando a los organismos a una temperatura superior de 2°C arriba de la temperatura que tenga el medio natural en el momento de obtener los reproductores, posteriormente se incrementa en 2°C por semana.

El procedimiento consiste en seleccionar un grupo de reproductores de *Anadara* del medio natural preferentemente en fase de gametogénesis, los cuales son colocados en agua de mar en circulación y sin filtrar durante cuatro semanas después se intenta el desove, si este no se presenta se prolonga el acondicionamiento una semana o dos en caso de que sea necesario. Si después de la seis semanas no ocurre el desove, se retiran los reproductores retornándolos al medio, se seleccionan otros reproductores (Salcido *et. Al.*, 1994).

### 3.1.6.4 Inducción al Desove.

La inducción al desove es una práctica bastante común y se puede realizar con organismos maduros obtenidos del medio natural o con aquellos que han sido acondicionados en un laboratorio, los métodos empleados en los bivalvos son rutinas mas o menos similares en las distintas especies, variando solo en casos como el mejillón o la almeja saltarina, para los que se da la referencia al respecto. Después de cuatro semanas de acondicionamiento se hace el primer intento de desove, a la que se le introduce un

flujo de agua rigurosamente filtrada a una temperatura de 20°C, durante 48 horas, esto con el fin de depurar a los reproductores. Una vez transcurrido este período se procede a la rutina de desove, que consiste en preparar 10 vasijas de vidrio o plástico con agua de mar filtrada a 30°C, mientras tanto en las charolas de desove se empieza a modificar la temperatura en grados Celsius cada media hora hasta alcanzar 25°C. Después de esto la temperatura se incrementa a 30°C, si en el término de 30min., no se presenta desove entonces los organismos se sacan del tanque y se colocan en un recipiente con agua filtrada a 25°C y se deja 30min más, para luego regresarlas al tanque donde el agua esta a 30°C (Salcido *et. Al.*, 1994).

La estimulación térmica es el método mas común para el desove de bivalvos y antes de probar con otros, debe probarse este. Generalmente inducirá al desove a los animales cuando las gónadas están completamente maduras. Varios métodos pueden ser utilizados para desovar bivalvos. Los dos más frecuentes para inducir los ostiones son el shock térmico y las inyecciones de serotonina en el músculo abductor. En el caso de ostra del pacífico *Crassostrea gigas* es una especie de rápido crecimiento y amplia tolerancia a factores ambientales. Esta puede ser inducida en ambiente controlado y obtener gametos viables en todo el año; se requieren temperaturas iguales o ligeramente superiores a los 24°C y condicionada a los 19°C. En el caso del ostión del norte *Argopecten purpuratus*, se deja de tres a cuatro semanas en acondicionamiento en ambiente natural ya que estas condiciones son favorables, período que coincide con el ciclo gametogénico del animal. El agua de inducción al desove debe estar de 10°C a 11°C. Otro caso es el de los abalones, *Haliotis sp.* Con requerimientos fisiológicos específicos tales como la temperatura del agua, salinidad y niveles de oxígeno disuelto que en ambientes controlados se deben mantener cuidadosamente. Para el acondicionamiento es necesario aumentar la temperatura del agua, se someten a un tratamiento de fotoperíodo (12 horas luz/12 horas oscuridad). La temperatura del agua tratada se debe mantener constante a 20°C en el tanque (<http://1>).

Para el caso de *Anadara grandis* su fecundidad es de: 4.8 millones, 10.7 millones y 27.4 millones de huevos en concha de 4 años, 5 años, 6 años, y 7 años de edad respectivamente. Sin embargo desde el punto de vista de la situación de desove mediante el estímulo térmico, la fecundidad es mucho mayor que la mencionada para cualquier concha de edad diferente. En la bahía de Kasato de la ciudad de Kudamatsu, Japón, hubo un caso en que una concha de 12 cm. de longitud de valva con el peso de 450g (concha de 4 a 5 años de edad) desovó unos 30 millones de huevos y otro caso en que 32 reproductores de 9 a 13 cm de longitud de valva con la edad, supuestamente de más de 3 años tuvieron un desove promedio de 30.6 millones de huevos (de 8.9 a 104.2 millones de huevos). La edad para que una concha del género *Anadara* sea reproductora es más de 2 años en el caso del macho y más de 3 en el caso de la hembra (Takami, 1987).

#### 3.1.6.5 Cría de Larvas.

Veinticuatro horas después de ser fertilizados los óvulos entran en estadio de larva veliger temprana o "larva D"; estas larvas, se hacen pasar por un tamiz, con el fin de separar las sanas y desarrolladas ya que estas pueden medir aproximadamente 80µm; aquellas que no se hayan desarrollado bien, se hacen pasar por un tamiz de 75µm, se desechan o se conservan para su posterior análisis.

Las larvas que se retienen en el tamiz generalmente se colocan en un recipiente con agua para hacer un conteo y determinar la cantidad de organismos. A partir de este momento tanto la densidad, larvas por mililitro, como alimento que se les dará, va a variar inversamente al crecimiento de las larvas (Salcido *et. Al.*, 1994).

### 3.1.6.6 Adhesión.

En los bivalvos, cuando han transcurrido aproximadamente 21 días, las larvas se hallan en un estadio pediveliger acercándose al momento de la metamorfosis, durante la cual pierden el velo para fijarse al sustrato (Salcido *et. al.*, 1994).

Durante la mayor parte de la fase larvaria, para las especies de ostras, vieiras, abalón, almejas, mejillones y conchas, las larvas nadan con libertad en la columna de agua, mas concretamente las larvas nadan hacia arriba, hacia la superficie y luego recogen el órgano natatorio y de alimentación (el velo), cierran sus valvas y se hunden hasta el fondo, para retomar la actividad natatoria. Conforme van creciendo y se acercan al final de la fase larvaria, la actividad de alimentación se ralentiza y las larvas pasan cada vez más tiempo en el fondo del tanque. Esto marca el comienzo de la metamorfosis, una etapa crítica de su desarrollo durante la cual se pueden dar grandes mortalidades y durante la que se producen considerables cambios anatómicos. Se desconocen los factores que desencadenan el proceso de metamorfosis, aunque el tipo de sustrato y los aspectos físicos, químicos y biológicos son importantes. En muchas especies, la aparición de un par de “manchas oculares” oscuras, una a cada lado entre la glándula digestiva y las valvas, es una indicación de que ha comenzado o va a comenzar la búsqueda de sustrato como preparación para la fijación (a veces también denominada adhesión o agarre) FAO (<http://4>). Un día o dos más tarde, se pueden ver a las larvas extendiendo un nuevo pie entre las valvas. Este pie posee cilios en los extremos con receptores sensibles y se emplea en la búsqueda de sustrato para un nicho adecuado de las larvas para fijarse y formar bisas o una sustancia cementante según la especie, en el lugar elegido.

En condiciones controladas el material empleado sobre el que se fijan las larvas pueden ser de varios tipos. Tienen que cumplir con las siguientes características: sólido y limpio, con micro rugosidades que ayuden a una buena fijación, de bajo costo y en lo posible, aprovechar materiales locales, livianos pero sumergibles, que permitan un buen flujo de agua, que presente el máximo de la superficie de fijación, que sea fácil desprender la semilla FAO (<http://4>).

## IV. METODOLOGÍA.

### 4.1 Ubicación y Descripción del Área de Estudio.

La Bahía de Jiquilisco es el ecosistema estuarino de El Salvador que presenta mayor extensión con un espejo de agua de 121.2 Km<sup>2</sup>, reviste gran importancia por el potencial florístico y faunístico. En la fauna, se encuentran los moluscos, dentro de los cuales la clase Bivalva constituye un potencial económico y alimenticio. En la diversidad biológica de los bivalvos se encuentra el género *Anadara*, representado por tres especies comerciales de las nueve reportadas en nuestro país, siendo las de mayor importancia *Anadara tuberculosa*, *Anadara similis* y *Anadara grandis*. (Noyola, 2001).

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio Húmedo La Pirraya de CENDEPESCA, que se encuentra ubicado en la Bahía de Jiquilisco en el caserío de la Isla San Sebastián con una Latitud Norte 13° 11'55" y 88° 26'41" Longitud Oeste, con una elevación de 9.3 msnm, perteneciente al municipio de San Dionisio del departamento de Usulután (Figura 3) (anexo 1).

El microclima lo establecen sus características geofísicas, con una temperatura promedio de 29 grados y con máximas de 38 grados. Normalmente soplan vientos de 7km/h, con una humedad relativa del 68% y una evaporación de 1,944 centímetros cúbicos. La zona sufre de frecuentes inundaciones y con un régimen de lluvias que produce 2,019 milímetros al año en promedio (CENDEPESCA & JICA, 2004).

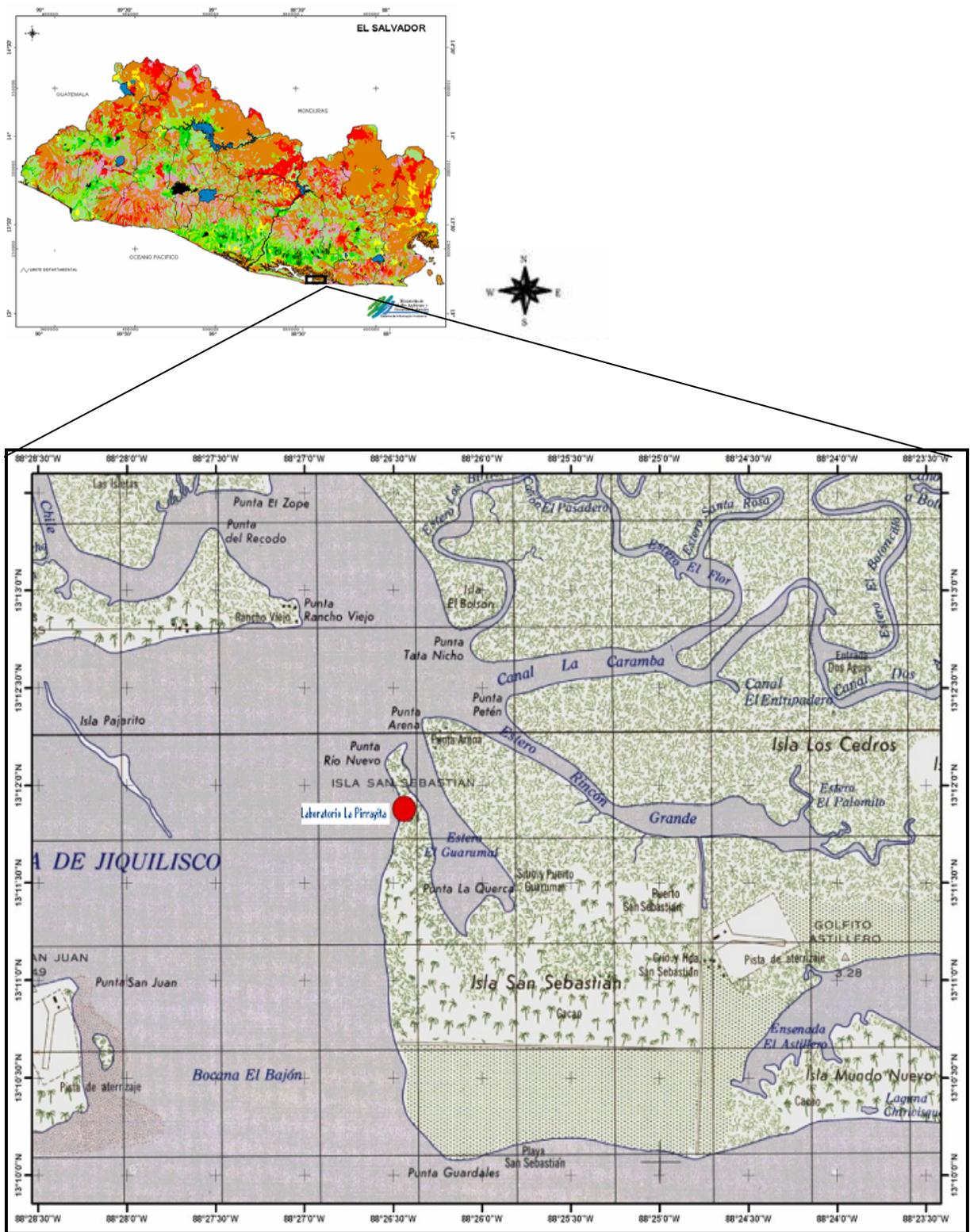


Figura 3. Ubicación Geográfica del Laboratorio Húmedo de CENDEPESCA La Pirrayita en la Bahía de Jiquilisco Departamento de Usulután (Fuente SNET & MARN 2007).

#### 4.2 Procedencia de los Reproductores.

Se trabajó con reproductores de *Anadara grandis* de la comunidad el Tular en la Bahía de Jiquilisco desde septiembre a octubre de 2006; sin embargo por no encontrar individuos con una madurez sexual alta, y la resistencia de los reproductores no era eficaz no obteniendo desove, se optó por comprar ejemplares del Golfo de La Unión con los que se trabajó desde noviembre 2006 hasta febrero 2007, se obtuvo la cantidad de 280 ejemplares y un grupo de 54 individuos en febrero 2007 provenientes del Caserío Cojoyón, que luego se trasladaron a las instalaciones del Laboratorio Húmedo de CENDEPESCA en La Pirrayita, los cuales se llevaron en un recipiente cubiertos con papel periódico húmedo para evitar las altas temperaturas del ambiente.

En el laboratorio se seleccionaron los reproductores con un tamaño entre 70 mm a 100 mm para ser utilizados para la inducción al desove (Anexo 2).

Los datos de biometría de los reproductores se registraron en la hoja de datos 1 (Anexo 3).

#### 4.3. PRIMERA ETAPA: Inducción al Desove por la Técnica de Shock Térmico.

##### 4.3.1. Aclimatación de los Reproductores.

Los reproductores se limpiaron con cepillo de cerdas plásticas para quitar la suciedad de la valva antes de ser colocados al tanque de aclimatación como se puede observar en la figura 4.

Para los dos primeros grupos que se compraron en La Unión se procedió a colocar los reproductores en tanques con capacidad de 30lt con agua de mar filtrada para luego mantenerlos durante tres días con una temperatura de 20°C. El tercer grupo del Golfo de La Unión se realizó un proceso diferente de aclimatación el cual consistió en dejarlos por las noches en agua salada en tanques de 30lt con aireación con una temperatura que oscilaba entre los 20°C que al siguiente día se colocaron en el tanque de inducción. Para el cuarto grupo de reproductores del Golfo de La Unión y del Cojoyon se

colocaron en lodo húmedo por 3 días a una temperatura de 20 °C, rociándoles agua salada para evitar desecación.



Figura 4. Limpieza de los reproductores de *Anadara grandis* en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután.

#### 4.3.2. Inducción al Desove

Los reproductores de *A. grandis* se separaron en dos grupos, colocando 48 individuos en cada tanque de inducción al desove, con dimensiones de 130 x 60 x 40 cm cada uno; se les agregó agua de mar filtrada a una temperatura de 33°C a través de una manguera, hasta cubrir totalmente los individuos en los tanques de desove.

Se llevó un registro de la temperatura cada quince minutos para evitar variaciones y saber la temperatura a la cual desovaron. Después de dos horas, se vaciaron los tanques quedando los reproductores sin agua; para simular las mareas y estimular a los reproductores, inmediatamente después de vaciados se procedió a agregar nuevamente agua con la misma temperatura sumando un total de cuatro horas. Estas sesiones se repitieron tres veces diariamente hasta que los reproductores desovaron (Figura 5).



Figura 5. Toma de temperatura en la inducción al desove de *Anadara grandis* en el tanque de desove del Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA.

Con respecto a los primeros tres grupos que se obtuvieron del Golfo de La Unión, se probó con variaciones en la temperatura del agua de mar filtrada que es suministrada por medio de una manguera a cada tanque de desove. En uno de los tanques se agregó agua entre los 33°C a 40°C por un lapso de cuatro horas, mientras en el otro tanque se agregó agua a temperaturas entre los 20°C a 25°C por el mismo lapso de cuatro horas por dos semanas. Para el cuarto grupo de La Unión y del Cojoyón se les agregó agua a una temperatura de 33°C por 12 horas diarias proceso primeramente descrito (Figura 6).



Figura 6. Observación de los reproductores de *Anadara grandis* en el proceso de inducción al desove en los tanques del Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután.

Al observar indicios de desove por parte de algún reproductor, se transfirió individualmente a un beaker de 1000 ml con agua de mar filtrada a una temperatura de 33° C y se dejó allí hasta completar el proceso de desove.

Posteriormente se procedió a la identificación de óvulos y espermatozoides, observando a simple vista la coloración característica y diferencial entre óvulos y espermatozoides, se tomó una muestra de 1 ml. de cada uno para contabilizarlos, los óvulos se colocaron en una lamina de serología de 10 hoyos y los espermatozoides se colocaron en el hematocitometro para poder contabilizarlos.

En este proceso se llevó un registro de temperatura en los días de inducción al desove, así como el tiempo que duró un reproductor en desovar, los datos obtenidos en esta etapa se registraron en una hoja de datos (Anexo 4).

#### 4.4. SEGUNDA ETAPA: Desarrollo Larvario.

Consistió en definir el desarrollo larvario de *Anadara grandis*, teniendo en cuenta que se partió desde el momento que se fertilizaron los óvulos y se llevo un registro de: cantidad de espermatozoides y óvulos por muestra, estadio de las larvas, tamaño (longitud  $\mu\text{m}$ , altura  $\mu\text{m}$ ), hasta que la larva alcanzó el desarrollo completo.

##### 4.4.1. Fertilización de los Óvulos.

Ya obtenido el esperma y los óvulos en los beakers, se procedió a la identificación de óvulos y espermatozoides, observando a simple vista la coloración de los óvulos y espermatozoides, y tomando una muestra de ellos para ser observados al microscopio.

Los espermatozoides y óvulos se colocaron en un tanque de cultivo con capacidad de 30lt a un nivel de 15lt. de agua de mar filtrada, mediante dos filtros de carbono activado, dos filtros de sedimentación y uno de luz ultravioleta; donde se llevó a cabo la fertilización; ubicando el tanque en un lugar con poca incidencia de luz. Sesenta minutos después de la fertilización, se desecharon los óvulos no fecundados o mal formados a través de un tamiz de 35 $\mu$ m para realizar el lavado de huevos, y se obtuvo los huevos fecundados. De los huevos que no pasaron por el tamiz se trasladaron a un tanque de policarbonato con capacidad de 30lt a un nivel 20lt de agua mar filtrada a una temperatura ambiente, se tomó una muestra de un mililitro, para proceder a la observación al microscopio y así se determinó la densidad de huevos y tamaño (Anexo 5).

Se realizaron observaciones cada 15 minutos desde el momento que estos fueron fecundados hasta que llegaron a la etapa de larva tipo D, después se observaron diariamente para observar las etapas del desarrollo larvario de *Anadara grandis*, llegando hasta el punto que puedan adherirse, haciendo uso diariamente de una hoja de datos (Anexo 6).

Los lavados de huevos se realizaron hasta que alcanzaron la etapa de larva trocófora.

#### 4.5. TERCERA ETAPA: Cría de Larvas.

En esta etapa se proporcionó a las larvas alimento de tres tipos de microalga: *Nannochloropsis sp.*, *Chaetoceros gracilis* e *Isochrysis galbana*, con el fin de que tuviesen un buen crecimiento (Anexo 7).

Se llevaron registros de: T°, pH, Salinidad y Oxígeno disuelto, para un control en la etapa de crianza de larvas.

Cuando las larvas alcanzaron el estadio tipo D, se pasaron por un tamiz de 35  $\mu$ m, para desechar las larvas que no alcanzaron a cambiar, y se colocaron en un tanque de policarbonato con capacidad de 30lt, se tomó una muestra de 1 ml para estimar la densidad larvaria la cual fue de 1 larva por ml, el total

de larvas se dividieron en tres cantidades iguales de 10lt, siendo colocadas en tres tanques de policarbonato con capacidad de 30lt; para evitar el maltrato de las larvas previamente se agregó un volumen de 10lt de agua de mar filtrada a temperatura ambiente, teniendo el tanque un nivel de 20lt colocándole un sistema de aireación en cada tanque (Anexo 8).

Los tanques de policarbonato fueron colocados en un lugar con poca incidencia de luz y se taparon con un plástico. Se realizaron recambios de agua a un cincuenta por ciento diarios utilizando tamiz de 35µm, para evitar la contaminación.

A partir de este momento se alimentaron las larvas con las microalgas: *Nannochloropsis sp.*, *Chaetoceros gracilis* e *Isochrysis galbana* según la tabla de alimentación indicada para cada género de microalga.

Tabla 1. Alimentación planeada de microalgas para larvas de *Anadara grandis* (CENDEPESCA & JICA, 2004).

Micro algas	1 – 4días	5– 7días	8– 10días	11-13días	14–17días	+días
<i>Isochrysis galbana</i>	1,000cel/ml	2,000cel/ml	4,000cel/ml	7,000cel/ml	10,000cel/ml	13,000cel/ml
<i>Nannochloropsis sp.</i>	8,000cel/ml	16,000cel/ml	32,000cel/ml	56,000cel/ml	80,000cel/ml	104,000cel/ml
<i>Chaetoceros gracilis</i>	4,000cel/ml	8,000cel/ml	16,000cel/ml	28,000cel/ml	40,000cel/ml	52,000cel/ml

Las larvas se alimentaron de acuerdo al número de días de vida y el número de cel/ml de microalgas, considerando que se alimento a partir de larva tipo D, el primer día únicamente se proporcionó *Nannochloropsis sp.* para esta relación se utilizo la siguiente formula:

$$\text{Alimento} = \frac{Ap \times ml}{N}$$

Donde:

A p: Alimento planeado,

ml: ml de tanque

N: Número de cel/ml (densidad)

Para registrar el alimento proporcionado se hizo uso de la hoja de registro de alimentación diaria (Anexo 9).

Para cada tanque de cría se tomaron medidas de parámetros físico-químicos como: Temperatura, pH, Salinidad, Oxígeno disuelto. Se tomó también diariamente la biometría a las larvas desde larva trocófora hasta post-larva (longitud y altura), observando los cambios morfológicos de la larva de *A. grandis*, al mismo tiempo se realizaron recambios de agua diariamente con un tamiz de 75 $\mu$ m para depurar alimento no consumido. Los datos se registraron utilizando una hoja de datos (Anexo 10).

#### 4.5.1 Elaboración de Colectores Utilizados para la Adhesión.

Se elaboraron los colectores: de PVC, Valvas de *A. grandis*, Listón y Arena que se utilizaron para la adhesión de larvas con tres meses de anticipación, luego se colocaron en un tanque con agua de mar filtrada con aireación en donde se dejaron una semana antes de colocarlos a los tanques de cultivo para que se formará una biopelícula y facilitar la adhesión de las larvas.

Los colectores utilizados son de dos tipos:

Naturales Valvas de casco de burro (VB), sustrato de Arena de mar (Ar) y artificiales listón Softtape 9 m/mx400m (LT) y de tubo cloruro de polivinilo (PVC) (Anexo 11).

- Colector de valvas de casco de burro (VB): se utilizaron 4 valvas de casco de burro para cada colector, se perforaron las valvas con un taladro para poder sujetarlas con nylon, se utilizaron 3 separadores de poliducto de 2cm de alto. Se utilizó un colector dentro de cada tanque de policarbonato.

- Colector de listón Softtape 9 m/mx400m (LT): se cortaron 100 cm del listón Softtape 9 m/mx400m, para elaborar cada chonga, que se introdujeron con una aguja el hilo, para hacer una hilera de 5 chongas. Al finalizar cada hilera se colocó una pieza de cerámica conocido como “muerto”, en el extremo como una pesa para que no flote y se mantenga dentro del tanque de policarbonato. Se utilizó un colector por tanque de policarbonato
- Colector de tubo de cloruro de polivinilo (PVC): se cortó el tubo PVC en piezas de 6cm, cada pieza se cortó longitudinalmente, y cada mitad se superpuso una sobre otra sujetándola con hilo nylon colocando cuatro mitades para cada colector. Se utilizó un colector en cada tanque de policarbonato.
- Colector de sustrato de arena (Ar): se utilizó 400g de arena de mar aproximadamente, de tamaño de 150 a 200 $\mu$ m y se esterilizó para evitar contaminación.

#### 4.6 CUARTA ETAPA: Eficacia de los Colectores

Para determinar la eficacia de los diferentes tipos de colectores utilizados en la investigación, se comparó el número de post-larvas adheridas por colector.

##### 4.6.1 Adhesión.

Al momento de indicios de la metamorfosis se colocaron en los tanques de policarbonato los diferentes tipos de colectores realizando un conteo previo con el fin de estimar el número total de larvas de *Anadara grandis*, con el propósito de cumplir uno de nuestros objetivos, la adhesión a los diferentes tipos de colectores de PVC., valvas de casco de burro, listón y sustrato de arena de mar.

Se estimó la tasa de adherencia contando el número de post-larvas adheridas al colector y estas divididas por el número total de la población en el tanque y multiplicándolas por cien para obtener un porcentaje de adherencia por colector. Utilizando la siguiente fórmula.

$$\text{Tasa de adhesión \%} = \frac{\text{Número de post-larvas adheridas al colector}}{\text{Número total estimado de larvas en cada tanque}} \times 100$$

Así mismo se estimó la sobrevivencia de post-larvas de *Anadara grandis* por medio de la siguiente fórmula, tomando en cuenta el número total de larvas estimadas en cada tanque y el número de post-larvas vivas en cada tanque.

$$\% \text{ de sobrevivencia} = \frac{\text{Número post-larvas vivas en cada tanque}}{\text{Número total de larvas estimadas en cada tanque}} \times 100$$

Se realizó todo esto con el propósito determinar la eficacia de los cuatro tipos de colectores en la adhesión de post-larvas de *Anadara grandis*. Los registros se llevaron utilizando una hoja de datos de asentamiento de post-larvas de *A. grandis* (Anexo 12).

## V. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Para determinar el significado estadístico de los datos se agruparon y presentaron mediante medidas de tendencia central y de dispersión de la estadística descriptiva para facilitar el análisis estadístico (Bonilla, 1996).

Mediante el programa estadístico SIGMA STAT Versión 2.03 (2007) se determinó la homogeneidad de las varianzas de los datos. Una vez comprobada dicha homogeneidad, se procedió a comparar el número total de larvas de *Anadara grandis* adheridas a los diferentes tipos de colectores mediante análisis de la varianza (ANOVA) de una vía o unidireccional (one way) (Mosaheb *et,al* ,2001) (Sampieri,1998).

## VI. RESULTADOS.

### 6.1 PRIMERA ETAPA: Inducción al desove por la técnica de Shock Térmico.

#### 6.1.1. Procedencia de los Reproductores.

Debido a que los reproductores de *Anadara grandis* del Tular en el periodo de septiembre a octubre de 2006 no desovaron, se trabajo con 280 reproductores de *A. grandis* provenientes del Golfo de La Unión de noviembre a febrero de 2007 y grupo de 54 individuos provenientes del caserío Cojoyón de la Isla San Sebastián, Usulután en febrero de 2007, aplicándoles diferentes técnicas de aclimatación e inducción, que se detallan en el siguiente cuadro.

Cuadro 1. Resumen de las experiencias observadas en los grupos de reproductores de *Anadara grandis* en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután.

# de grupo	Procedencia de reproductores	# de Reproductores	Aclimatación	Tipo de Inducción	Resultado
1	Golfo de la Unión	70	Tres días con agua de mar a una temperatura de 20 °C	Shock térmico de 4 horas diarias por 2 semanas	En el periodo de aclimatación hubo individuos muertos. No se obtuvo desove
2	Golfo de la Unión	70	Tres días con agua de mar a una temperatura de 20 °C	Shock térmico de 8 horas diarias por 2 semanas	En el periodo de aclimatación hubo individuos muertos. No se obtuvo desove
3	Golfo de la Unión	70	Se dejaron por las noches en agua de mar por 3 días a una temperatura de 20 °C.	Shock térmico de 12 horas diarias por 3 semanas	En el periodo de aclimatación no hubo individuos muertos. Desove de 9 machos y ninguna hembra, por lo que no se pudo realizar fertilización
4	Golfo de la Unión	70	Se colocaron en lodo húmedo por 3 días a una temperatura de 20 °C, rociándoles agua salada para evitar desecación.	Shock térmico de 12 horas diarias por 6 días	En el periodo de aclimatación no hubo individuos muertos. Al sexto día se obtuvo desove de 20 machos y 2 hembras.
5	El Cojoyón	54	Se colocaron en lodo húmedo por 3 días a una temperatura de 20 °C, rociándoles agua salada para evitar desecación.	Shock térmico de 12 horas diarias por 6 días	En el periodo de aclimatación no hubo individuos muertos. Al sexto día se obtuvo desove de 19 machos y ninguna hembra.

El 8 de febrero de 2007 desovaron 39 machos y 2 hembras del cuarto y quinto grupo de reproductores a las 5:15 PM al sexto día, después de nueve horas con quince minutos de inducción, identificando las hembras por la coloración naranja de los óvulos al momento de la expulsión y los espermatozoides del macho por el color blanquecino; registrando parámetros físico-químicos al momento del desove que fueron: pH de 7.7, salinidad de 32‰, DO de 6.0ppm y una temperatura de 33°C en promedio. Se observó que el primer y segundo día los reproductores hicieron bisas viscosas que son una especie de hilos transparentes pegajosos; el tercer, cuarto y quinto día de inducción no se observó gran actividad en los individuos solo permanecieron abiertos durante las doce horas de inducción (Anexo 13 A y 13 B),

## 6.2 SEGUNDA ETAPA: Desarrollo Larvario.

### 6.2.1 Fertilización de los Óvulos.

De los 39 machos que desovaron solo se utilizó un macho para fertilizar a dos hembras debido a que el espermatozoide del macho presentaba una coloración, movilidad y una densidad aceptable para la fertilización como se puede ver en la figura 7.



Figura 7. Observación de hembra y macho de *A. grandis* desovando el 08/02/2007, en el Laboratorio Húmedo de La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután. (a). Hembra desovando, nótese la coloración naranja de los óvulos (b). Macho desovando, nótese la coloración blanquecina de los espermatozoides.

Se contabilizaron los óvulos disponibles de las dos hembras que desovaron y los espermatozoides de un macho, cuyas cantidades de las células sexuales se detallan en el siguiente cuadro.

Cuadro 2. Número de las células sexuales de macho y hembra de *Anadara grandis* obtenidos en el desove de 08/02/2007 en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita de CENDEPESCA, Usulután.

Muestra	Número Estimado de Gametos
Cantidad de muestras de espermatozoides de un macho en 1 ml de agua de mar tomada de la solución de 500 ml.	500 ml → 1 ml = 220,892 espermatozoides
Número total de espermatozoides en 500 ml de la solución.	110,446,000 espermatozoides
Observaciones	Espermatozoides de rápido movimiento.
Cantidad de muestra de óvulos de la primera hembra en 1 ml de agua de mar tomada de la solución de 500 ml.	500 ml → 1 ml = 5,612 óvulos
Cantidad de muestra de óvulos de la segunda hembra en 1 ml de agua de mar tomada de la solución de 500 ml.	500 ml → 1 ml = 384 óvulos
Número total de óvulos de la primera hembra en 500 ml.	2,806,000 óvulos
Número total de óvulos de la segunda hembra en 500 ml.	192,000 óvulos
Observaciones	Hembras con óvulos redondos y transparentes con un promedio de 60µm.

Después de haber contabilizados los gametos, se realizó la fertilización a las 6:15 PM aproximadamente 15 minutos después de la fertilización se observó que los óvulos ya estaban fecundados por el espermatozoide presentando cuerpo polar como se presenta en la figura 8.

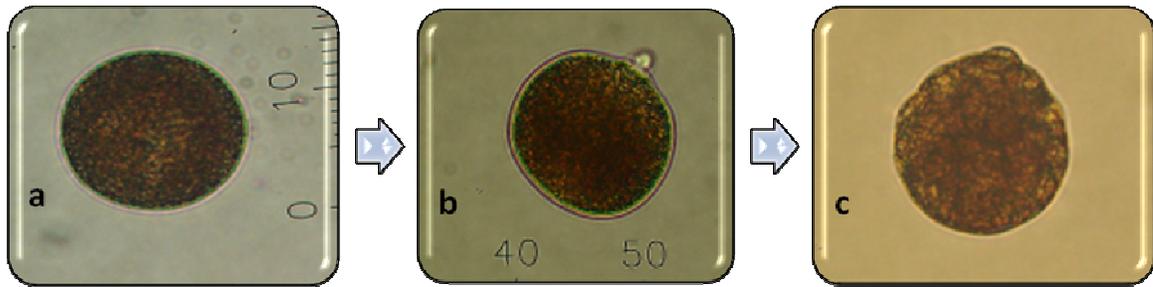


Figura 8. Primeras etapas del óvulo de *Anadara grandis* recién fecundado observada a 20x al microscopio el 08/02/2007, en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután (a) Huevo fecundado, (b) Presencia de cuerpo polar, (c) Inicio a la división, nótese el surco en el centro de la célula.

La división celular inició transcurridos 15 minutos después de la fecundación del óvulo, observando división mitótica (división de 2 células, 4 células, y 8 células), este proceso duró 30 minutos, la división celular se observa en la figura 9.



Figura 9. División mitótica de huevo de *A. grandis*, observada a 20x, el 08/02/2007, en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután.

Se estimó que la cantidad total de óvulos disponibles fue de 2, 998,000. Sesenta minutos después de la fertilización se realizó el primer lavado de huevos, repitiéndose cada media hora, se contabilizó los huevos por medio de la siguiente formula.

$$\text{Cantidad de huevos} = \text{lt de agua del tanque} \frac{\# \text{ de huevos de la muestra}}{\text{ml de la muestra}}$$

La cantidad total de óvulos de cada uno de los lavados se detalla en el cuadro 3.

Cuadro 3. Cantidad de Huevos existentes en cada uno de los lavados de huevos observados el 8/02/07, en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita, CENDEPESCA, Usulután.

Hora	# de lavado	Cantidad	Estadio
7:30 PM	Lavado 1	2,088,667	Huevos
8:00 PM	Lavado 2	1,098,167	Huevos
8:30 PM	Lavado 3	107,387	Huevos

La cantidad de 107,387 de larvas trocófora que cambiaron y presentaron una longitud promedio de 69µm. Luego de dos horas con quince minutos se pudo observar el primer estadio larvario conocido como Larva trocófora cuya característica es la de presentar cuerpo en forma de cono y aparición de cilios que le permiten desplazarse, iniciando con desplazamientos lentos y luego circulares de un lado al otro incrementándolos cada quince minutos, manteniendo el mismo comportamiento durante cinco horas aproximadamente (Figura 10).



Figura 10. Observación de Larva trocófora 1º estadio larvario de *Anadara grandis*, el 08/02/2007, en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután. Nótese en la parte superior de la larva la presencia del cilio apical.

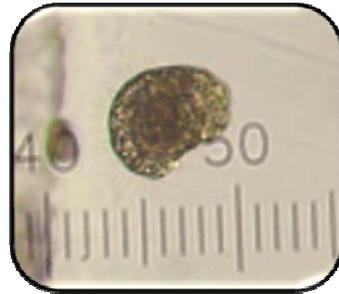
Transcurridas cinco horas con quince minutos se observó el inicio al cambio a larva tipo D, realizando movimientos circulatorios lentos, y creando pequeñas ondulaciones y pulsaciones e inflándose tomando forma acorazonada y dando vueltas permaneciendo a si durante seis horas hasta que se pudo observar la primera larva tipo D a las 14 horas después de la fertilización, momento en el cual se

alimento únicamente con *Nannochloropsis sp.*, según la tabla de alimentación indicada para el género de microalga.

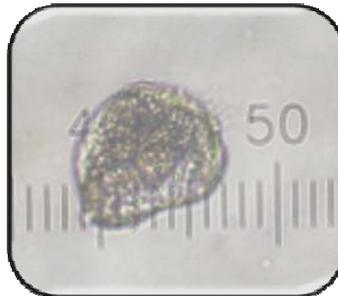
Transcurridas 24 horas después de la fertilización se pudo observar que se encontraban en mayor número de larvas tipo D con una longitud promedio de 110  $\mu\text{m}$ , todos estos cambios se muestran en la figura 11 (Anexo 14).



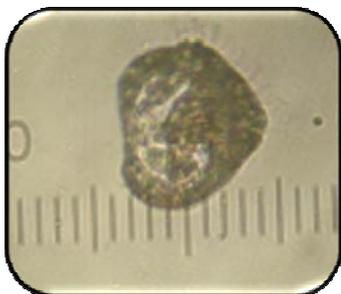
(a) 2 :00 AM.  
8 Horas despues de  
la fertilización.



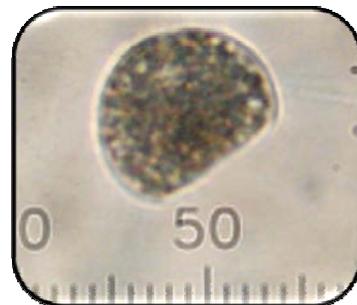
(b) 3:45 AM  
9 Horas despues de  
la fertilización.



(c) 7:30 AM  
13 Horas despues de  
la fertilización.



(d) 8:15 AM  
14 Horas después de la fertilización



(e) 8:30 AM  
14 Horas después de la fertilización.  
Primera larva tipo D

Figura 11. Desarrollo Embrionario de larva D de *Anadara grandis*, observado el 09/02/2007, en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután.

De los registros que se tomaron, se logró conformar un ciclo donde se muestran las distintas etapas que sufre el organismo a partir de su fecundación hasta alcanzar el estadio tipo D como se puede ver en la figura 12.

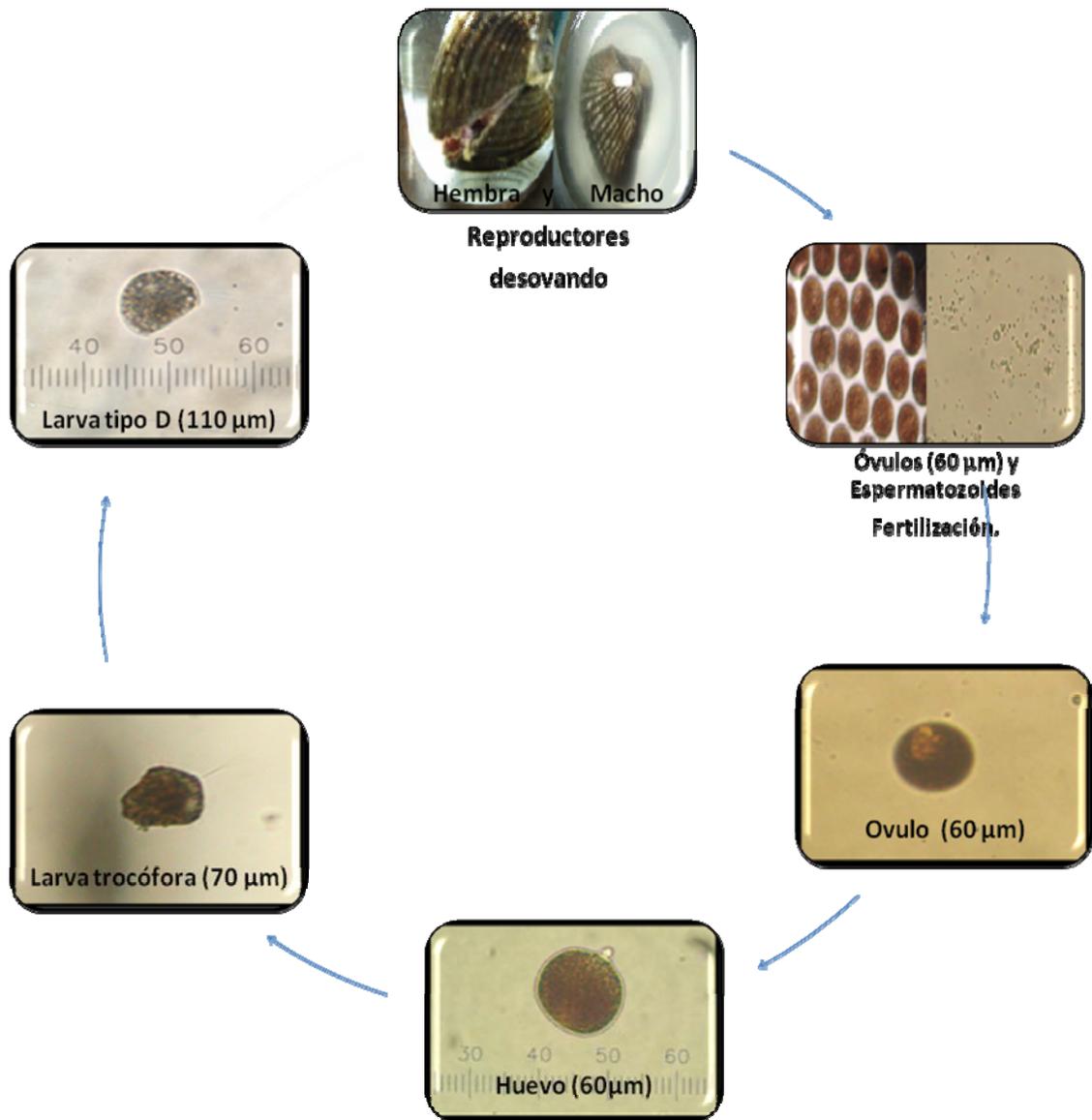


Figura 12. Representación de las primeras etapas de desarrollo embrionario de *Anadara grandis* observadas del 8/02/07 a 9/02/07 en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután.

### 6.3 TERCERA ETAPA: Cría de Larvas.

De 107,387 larvas trocófora, se obtuvieron 61,600 larvas tipo D que representan un 57.36% del total, cultivando una larva por 1 ml aproximadamente en 20lt de agua de mar en cada uno de los tanques de cultivo.

En el cuadro 4 se muestra la biometría en promedio de las larvas con respecto a sus días de desarrollo y estadio que se registraron en los días de cultivo, a partir de larva tipo D presentando una longitud de 110 $\mu$ m incrementando la longitud en cada una de las etapas larvarias hasta llegar a post-larva con una longitud de 1,500 $\mu$ m.

Cuadro 4. Estadios de desarrollo y Biometría de larvas de *Anadara grandis* según días de cultivo, en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután.

Fecha	Día de cultivo	Estadio	Longitud promedio ( $\mu$ m)	Desviación estandar
8 de febrero	1	Larva Trocófora	70 $\mu$ m	$\pm$ 8.5
10 de febrero	3	Larva D	110 $\mu$ m	$\pm$ 11.1
16 de febrero	9	Larva umbonada	150 $\mu$ m	$\pm$ 13.5
18 de febrero	11	Veliger tardío	230 $\mu$ m	$\pm$ 5.7
19 de febrero	12	Proceso de Metamorfosis	250 $\mu$ m	$\pm$ 19.2
28 de febrero	21	Post-larva	750 $\mu$ m	$\pm$ 77.0
14 de marzo	35	Post-larva	1,500 $\mu$ m	$\pm$ 135.0

La figura 13 muestra el desarrollo de las etapas larvarias de *A. grandis* según las observaciones que se realizaron en los 35 días de cultivo, empezando desde el estadio D hasta que alcanzaron el estadio de post-larva.

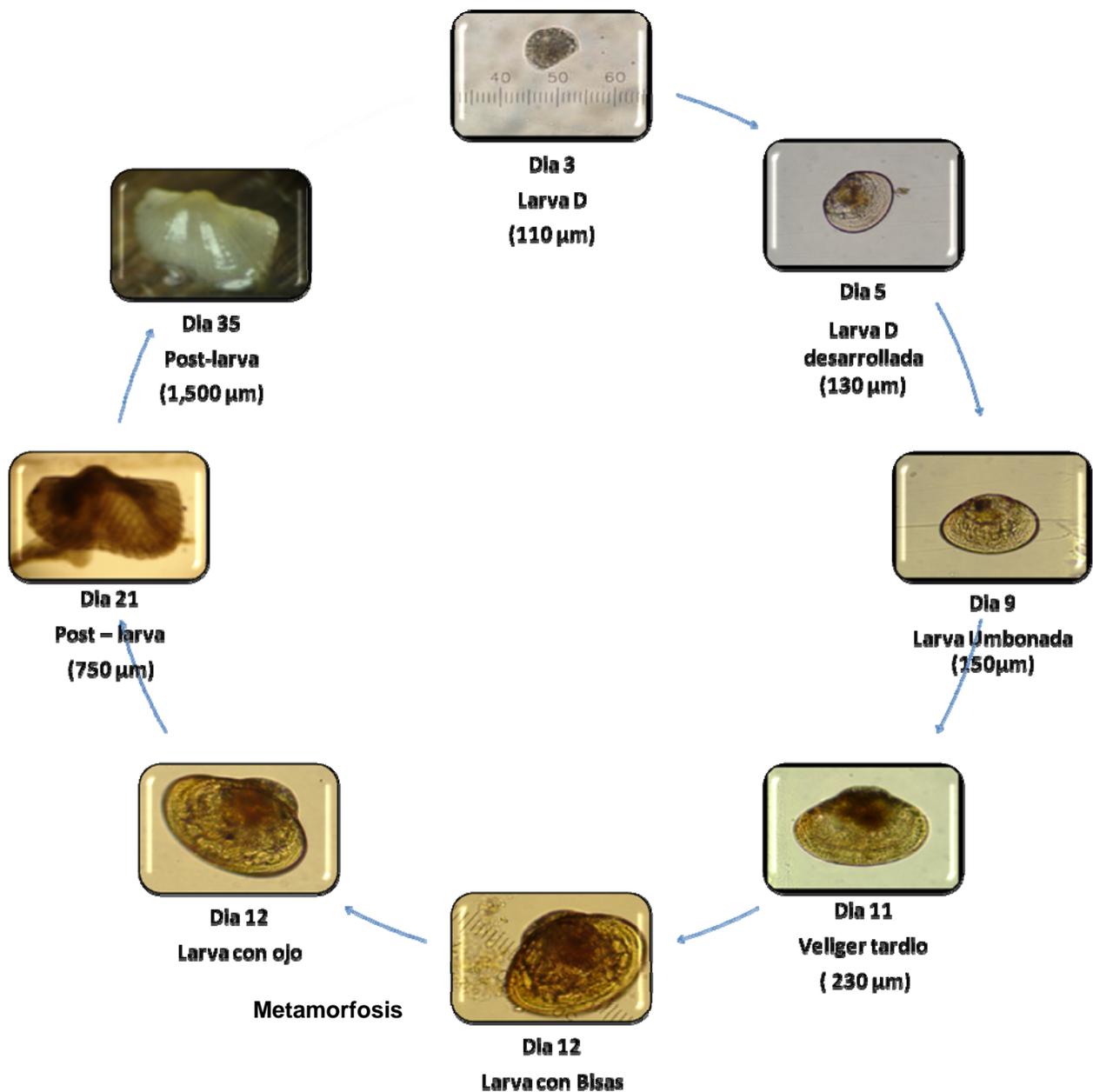


Figura 13. Etapas larvianas de *Anadara grandis* observadas desde el 11/02/2007 al 13/03/2007, en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután.

En todas estas etapas larvianas se registraron los parámetros físico-químicos pH, salinidad, oxígeno disuelto y temperatura diariamente a cada tanque de cultivo, obteniendo los siguientes promedios

presentados en el siguiente cuadro, donde no se observaron variaciones significativas entre los tres tanques (Anexo 15 y 16).

Cuadro 5. Promedios de los parámetros físicos – químicos registrados para cada tanque de cultivo de *Anadara grandis*, en el periodo de cultivo de 08/02/2007 al 14/03/2007, en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA, Usulután (T.1 número de tanque, D.S desviación estándar).

Parámetros físicos- químicos	T.1	D.S	T.2	D.S	T.3	D.S
Temperatura °C	26.98	±1.1	26.90	±0.9	27.11	±1.1
pH	7.53	±0.3	7.62	±0.3	7.72	±0.3
Salinidad ‰.	34.11	±2.4	33.90	±2.2	34.14	±2.4
Oxígeno disuelto ppm	6.18	±0.4	6.29	±0.4	6.48	±0.3

#### 6.4 CUARTA ETAPA: Eficacia de los Colectores

##### 6.4.1 Adhesión.

Al doceavo día después del desove se tuvieron los primeros indicios de metamorfosis en las larvas que consistió en el apareamiento de bisas y “ojo” (una especie de punto negro en la concha) (figura 14 y 15).



Figura 14. Larva con "ojo" o mancha ocular oscura situada en el centro de la concha.

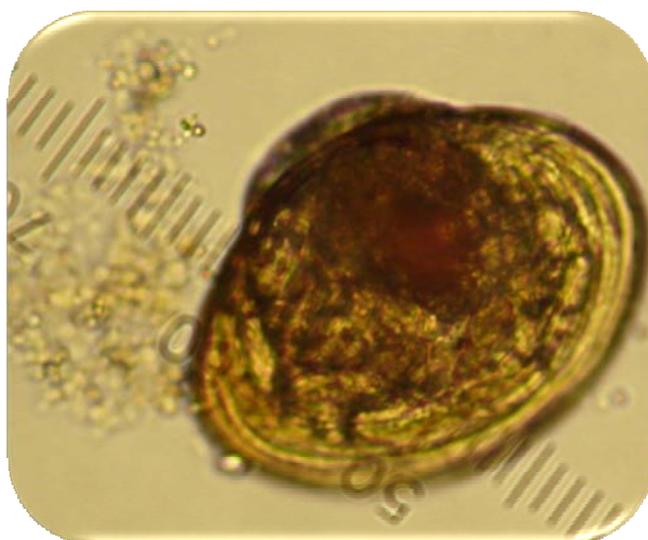


Figura 15. Segregación de bisas que se observan a la izquierda de la larva, al igual que el "ojo" marcan los indicios de la metamorfosis de la larva.

Al treceavo día se colocaron los cuatro tipos de colectores de PVC, valvas, listón y arena en cada tanque, se realizó el conteo de larvas encontrando un total de larvas en el tanque 1 de: 11,000; en el tanque 2 de 14,000; en el tanque 3 de 16,000.

A los 21 días de haber sido colocado los colectores, se contabilizaron las post-larvas del tanque 1 y 2; las post-larvas del tanque 3 fueron contadas al siguiente día, para conocer el número de post-larvas vivas en los tres tanques, se obtuvo los siguientes datos que se muestran en el siguiente cuadro (figuras 17 a 20) (Anexo 17).

Cuadro 6. Número de post-larvas de *Anadara grandis* adheridas a los cuatro tipos de colectores por tanque de cultivo el día 13 y 14 de marzo de 2007 en el Laboratorio Húmedo la Pirrayita CENDEPESCA. Usulután.

Tanque Colector	Tanque 1	Tanque 2	Tanque 3	Total
.PVC	3,476	1,874	2,170	7,520
BALVAS (VB)	2,376	2,127	2,560	7,063
LISTON (LT)	696	2,380	1,648	4,724
ARENA (Ar)	952	1,554	2,242	4,748
Total de post-larvas adheridas	7,500	7,935	8,620	24,055

El siguiente gráfico muestra el porcentaje de las post-larvas adheridas de cada colector para los tres tanques en donde el cálculo se realizó, dividiendo el total de post-larvas adheridas de cada colector entre el número total de larvas estimadas para los tres tanques.

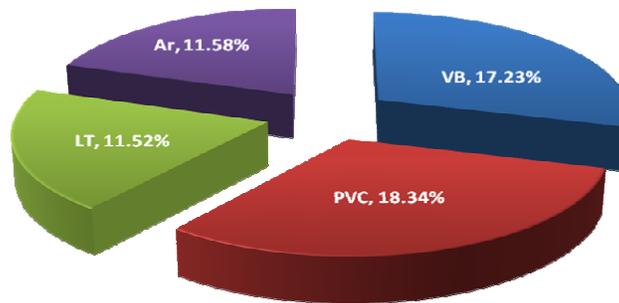


Figura 16. Representación de los porcentajes del número total de post-larvas adheridas de *Anadara grandis* contabilizadas a los cuatro tipos de colectores en el Laboratorio Húmedo La Pirrayita CENDEPESCA. Usulután.

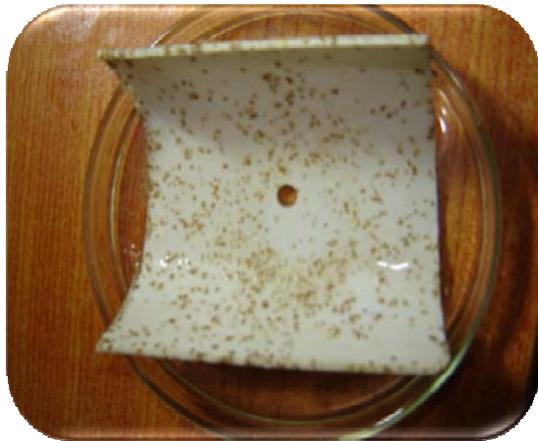


Figura 17. Post-larvas de *A. grandis* adheridas al Colector de PVC.



Figura 18. Post-larvas de *A. grandis* adheridas al colector de valvas de concha.



Figura 19. Post-larvas de *A. grandis* adheridas al colector de listón.

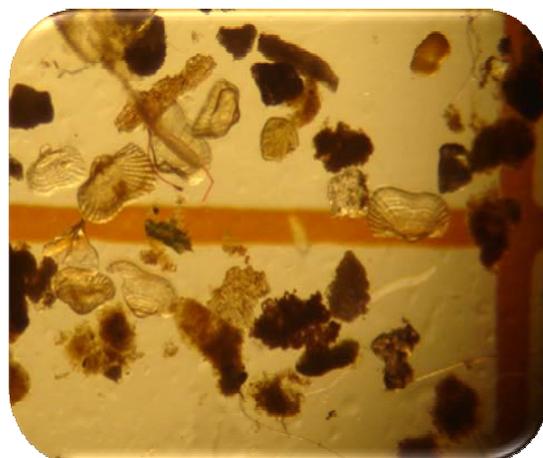


Figura 20. Post-larvas de *A. grandis* adheridas a las partículas de arena, vista al estereoscopio a 4 x.

#### 6.4.2 Comparación Estadística.

Los datos colectados cumplieron con los requisitos para realizar una prueba de ANOVA; ya que se determinó que las varianzas de los datos no presentan diferencias significativas al compararlas ( $p > 0.05$ ), por lo que son homogéneos, lo que permite aplicar el ANOVA de una vía para determinar diferencias significativas entre los datos de los diferentes tipos de colectores en estudio.

En el cuadro 7 se presentan las diferencias significativas entre los valores al comparar las semillas adheridas a los colectores de PVC – VB ( $F = 0.08996292$ ,  $p = 0.77916528$ ,  $gl = 1, 4$ ), PVC- LT ( $F = 1.81012777$ ,  $p = 0.24970124$ ,  $gl = 1, 4$ ), PVC-Ar ( $F = 2.24039056$ ,  $p = 0.20878956$ ,  $gl = 1, 4$ ), VB-LT ( $F = 2.3988271$ ,  $p = 0.19634889$ ,  $gl = 1, 4$ ), VB-Ar ( $F = 3.85113291$ ,  $p = 0.12121641$ ,  $gl = 1, 4$ ) LT-Ar ( $F = 0.00016997$ ,  $p = 0.99022252$ ,  $gl = 1, 4$ ).

Cuadro 7. Análisis de varianza de una vía. GL: Grados de Libertad, SC: Suma de Cuadrados, MC: medias de Cuadráticas, F: Valor calculado, P: Probabilidad de error, FV: Mínimo valor para considerar que no hay diferencia significativas.

PVC- VB						
VARIACIONES	GL	SC	MC	F	P	FV
Entre grupos	1	34808.1667	34808.1667	0.08996292	0.77916528	7.70864742
Dentro de los grupos	4	1547667.33	386916.833			
Total	5	1582475.5				
PVC- LT						
VARIACIONES	GL	SC	MC	F	P	FV
Entre grupos	1	1302936	1302936	1.81012777	0.24970124	7.70864742
Dentro de los grupos	4	2879213.33	719803.333			
Total	5	4182149.33				
PVC-Ar						
VARIACIONES	GL	SC	MC	F	P	FV
Entre grupos	1	1280664	1280664	2.24039056	0.20878956	7.70864742
Dentro de los grupos	4	2286501.33	571625.333			
Total	5	3567165.33				
VB-LT						
VARIACIONES	GL	SC	MC	F	P	FV
Entre grupos	1	911820.167	911820.167	2.3988271	0.19634889	7.70864742
Dentro de los grupos	4	1520443.33	380110.833			
Total	5	2432263.5				
VB-Ar						
VARIACIONES	GL	SC	MC	F	P	FV
Entre grupos	1	893204.167	893204.167	3.85113291	0.12121641	7.70864742
Dentro de los grupos	4	927731.333	231932.833			
Total	5	1820935.5				
LT-Ar						
VARIACIONES	GL	SC	MC	F	P	FV
Entre grupos	1	96	96	0.00016997	0.99022252	7.70864742
Dentro de los grupos	4	2259277.33	564819.333			
Total	5	2259373.33				

En el siguiente cuadro se presenta la diferencia significativa estadísticamente al comparar el número de post-larvas adheridas a los cuatro colectores (PVC, VB, LT, Ar).

Cuadro 8. Análisis de varianza de una vía para los cuatro tipos de colectores utilizados. GL: grados de libertad, SC: Suma de Cuadrados, MC: Medias Cuadráticas, F: Valor calculado y P: Probabilidad de error.

VARIACIONES	GL	SC	MC	F	P
Entre grupos	3	2211764.250	737254.750	1.549	0.275
Dentro de los grupos	8	3806944.667			
Total	11	6018708.917			

Lo anteriormente expuesto indica que para los cuatro tipos de colectores (PVC, VB, LT, Ar) en estudio no presentaron diferencias estadísticamente significativas, por lo que se acepta la hipótesis nula: No existe diferencia significativa con respecto a la adherencia de larvas de *Anadara grandis* para los colectores arena, valvas, PVC, listón. Debido a que las diferencias en los valores medios entre las larvas adheridas a los colectores no es suficientemente grande para excluir la posibilidad que la diferencia se deba a la variabilidad de las pruebas al azar.

#### 6.4.3 Tasa de Adhesión.

La tasa de adhesión para los cuatro tipos de colectores se calculó teniendo como un 100% el número total de larvas en cada tanque; contando el número de post-larvas adheridas al colector y estas divididas por el número total de la población en el tanque y multiplicándolas por cien para obtener un porcentaje de adherencia por colector, detallando los porcentajes en el siguiente cuadro.

Cuadro 9. Tasa de adhesión de post-larvas de *Anadara grandis* en los cuatro tipos de colectores para los tanques de cultivo obtenidos en el Laboratorio Húmedo la Pirrayita CENDEPESCA. Usulután.

Tipo de colector	T1	T2	T3	Totales
PVC	31.60%	13.38%	13.56%	58.54%
VB	21.60%	15.19%	16.00%	52.79%
LT	6.32%	17.00%	10.30%	33.62%
Ar	8.65%	11.10%	14.01%	35.76%
Totales	68.17%	56.67%	53.87%	178.71%

El porcentaje de sobrevivencia de post-larvas se calculó tomando el número total de larvas estimadas al momento de colocar los colectores en cada tanque y el número total de post-larvas vivas contabilizadas al momento de retirar los colectores. Los resultados se detallan en el cuadro 10.

Cuadro 10. Porcentajes de sobrevivencia y mortalidad de post-larvas de *Anadara grandis* para los tres tanques de cultivo obtenidas en el Laboratorio Húmedo la Pirrayita CENDEPESCA. Usulután.

Número de tanque	Número total de larvas estimadas/ tanque	Número de Post-larvas vivas contabilizadas	Porcentaje de sobrevivencia	Porcentaje de mortalidad
T1	11,000	7,500	68.18%	31.82%
T2	14,000	7,935	56.68%	43.32%
T3	16,000	8,620	53.87%	46.13%
Total	41,000	24,055	58.67%	41.33%

## VII. DISCUSIÓN.

### Técnica de inducción al Desove.

En la técnica de aclimatación utilizada en la investigación, los grupos que se estimularon fueron el cuarto grupo del Golfo de La Unión y el del Cojoyón, a una temperatura de 20°C por tres días. Takami en 2006, aclimató a individuos de *Anadara tuberculosa* por un período de tres días a 20°C lo que respalda la efectividad de esta técnica como un paso previo a la inducción al desove.

En los trabajos de Pathansali & Soong (1958); Nagabhushanam & Mane (1975), mencionan que la salinidad junto con la temperatura son los factores más importantes en el desove de los bivalvos. Los reproductores de *Anadara grandis* desovaron a una temperatura de 33°C y una salinidad de 32‰, lo que concuerda con lo observado por estos autores, ya que los valores fueron relativamente altos en contraste a los valores en el medio natural.

### Desarrollo Embrionario.

Según Salcido (1994), el primer estadio que presentan los bivalvos es la larva trocófora cuya talla varía entre 55 y 80µm. FAO menciona que la larva trocófora en bivalvos tiene una longitud promedio de 60 a 80 µm. En lo observado en la investigación, *A. grandis* presentó la larva trocófora como primer estadio, con una talla promedio de 69µm, valor que esta dentro de los promedios que mencionan estos autores.

La larva tipo D en *Anadara grandis* en la presente investigación se desarrolló en su totalidad en un período de 24 horas con una talla promedio de 110µm lo que afirma Salcido (1994), que los

bivalvos llegan a un estadio de larva tipo D en 24 horas después de la fertilización con una longitud de 80µm a 100µm.

#### Cría de Larvas.

Salcido (1994) y FAO mencionan que los bivalvos presentan una mancha oscura y circular, conocida como "larva con ojo", y aparición de bisas cuando están listas para adherirse. Yoloye (1975) menciona que la bisa aparece en el momento que la larva sufre metamorfosis y marca el final de la vida planctónica. Se afirma porque se observó que la larva presentó metamorfosis y la aparición de bisas y mancha ocular en la valva justo antes de la adhesión a los colectores.

FAO menciona que la mortalidad de los bivalvos en todas sus etapas de desarrollo, puede ser originada por una variedad de causas de origen biológico ambiental. En la presente investigación se tuvo un porcentaje de mortalidad total de 41.33%, este valor puede evidenciar la incidencia de estas causas en el cultivo de las larvas.

#### Eficacia de Colectores.

Todd & Keough (1994); Anderson & Underwood (1994) y Bourget *et al.* (1993). Mencionan que la eficacia de los colectores esta dada por la diversidad del micro hábitat y su naturaleza física y química, además, señalan que las superficies ásperas favorecen los mecanismos de adhesión de larvas. Esto coincide con la biopelícula formada en la superficie de los colectores que facilitó la adhesión para el caso de larvas de *Anadara grandis*, ya que hubo mayor adhesión de larvas en colectores ásperos y rugosos como el PVC y valvas de casco de burro.

Según los datos obtenidos aplicándoles el análisis de varianza (ANOVA) unidireccional (one way) para los datos obtenidos, no existe una diferencia estadísticamente significativa con respecto a la adherencia de larvas de *Anadara grandis* para los colectores arena, valvas de concha, PVC, listón. Debido a que las diferencias en los valores medios entre las larvas adheridas a los colectores no es suficientemente grande. Según la tasa de adhesión el colector más eficaz fue el de PVC con el 58.54% de larvas adherida; la textura de superficie en los colectores varió y en los materiales usados unos son más rugosos que otros, como el contraste entre el PVC con las valvas de concha; además se observó como la formación de la biopelícula en los colectores favoreció ya que los de superficie rugosa presentaban más microambientes, como lo observaron Bourget *et al.* (1994). Sucede un caso contrario en los materiales de superficie pulida como la del listón donde no hay mucha formación de esta biopelícula.

## VIII. CONCLUSIONES.

La aclimatación a 20 °C en un periodo de tres días, es un procedimiento propicio que estimula de cierta forma los gametos de los reproductores y facilita el desove de *Anadara grandis*.

El desove de *A. grandis*, en condiciones controladas se obtuvo con una salinidad de 32‰; un pH de 7.7; DO de 6.0 ppm y una temperatura de 33°C con una estimulación continua de nueve horas diarias por un periodo de seis días.

Se observaron 5 estadios larvarios en la especie *Anadara grandis* en un período de 35 días de cultivo en condiciones controladas iniciando en el estadio de larva trocófora; larva tipo D; larva umbonada; larva veliger tardío y post larva.

Las larvas de *Anadara grandis* observadas en el laboratorio alcanzaron el estadio pediveliger en un período de 12 días, con aparición de una mancha “ocular” y la presencia de bisas que marco el inicio de la metamorfosis; donde se colocaron los diferentes tipos de colectores en los tanques para su adhesión.

Las larvas se desarrollaron a una temperatura promedio de 27°C, con un pH en promedio de 7.6 con una salinidad promedio de 34 ‰ , y con un DO promedio de 6.3, con recambios de agua diarios 50%.

Al dejar reposando los colectores que se utilizaron en la investigación alrededor de tres meses, se facilitó la adhesión de larvas de *A. grandis*, debido a la formación de una biopelícula en la superficie de los colectores, que de gran manera atrajo a las larvas para la adhesión y permitió que las larvas se pegaran por medio de las bisas en las micro rugosidades de los materiales de los colectores.

El colector más eficaz para la adhesión de larvas de *A. grandis*, observado en el presente trabajo fue el colector de PVC, teniendo un porcentaje más alto en la tasa de adhesión para los cuatro tipos de colectores, obteniendo 58.54%, de post-larvas adheridas de *A. grandis*.

Las larvas de *A. grandis* en la etapa de metamorfosis, poseen un fototropismo negativo debido a que presentan preferencia de adherirse en las zonas donde hay poca incidencia de luz en los colectores, acumulándose el mayor número de estos en las partes interiores de los colectores y también de los tubos separadores.

## IX. RECOMENDACIONES.

Se recomienda utilizar para la producción artificial de larvas de *Anadara grandis* todos los tipos de colectores que se utilizaron en esta investigación por presentar adhesión de larvas y el fácil manejo en acuicultura.

Realizar estudios de comparación de las etapas larvarias de las especies *A. grandis*, *Crassostrea sp.*, *A. tuberculosa*, *A. similis*, para determinar diferencias larvarias de cada una, ya que son de interés comercial para el país.

Que se estudien otras técnicas para la inducción al desove en bivalvos para tener una técnica de estimulación rápida y eficaz en condiciones controladas.

A las instituciones como CENDEPESCA y la Escuela de Biología de la Universidad de El Salvador, que sigan apoyando investigaciones de esta índole para contribuir a la acuicultura del país.

Realizar estudios con diferentes dietas alimenticias en el cultivo de *Anadara grandis* para conocer la influencia en el proceso de desarrollo larvario.

Continuar con las investigaciones partiendo desde la etapa larvaria hasta la etapa de adultas en *A. grandis*, estudiando comportamiento, crecimiento y maduración sexual en condiciones controladas.

Incentivar a los estudiantes de la carrera de Licenciatura en Biología a seguir realizando investigaciones sobre el cultivo de bivalvos especialmente de *A. grandis*, para contribuir a la acuicultura del país.

Para futuras investigaciones se recomienda inducir al desove a los organismos por más de 9 horas continuas.

Para futuras investigaciones que los recambios de agua se realicen diarios a un 50%, ya que ayudan a evitar contaminación por protozoarios y disminuye la mortalidad en las larvas.

Seguir con las investigaciones partiendo desde la etapa larvaria hasta la etapa de adultas en *A. grandis*, estudiando comportamiento, crecimiento y maduración sexual en condiciones controladas dentro del laboratorio, como también, condiciones semi controladas en la bahía.

## X. Referencias Bibliográficas.

- Anderson, M. & A. Underwood. 1994. Effects of substratum on the recruitment and development of an intertidal estuarine fouling assemblage. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 184: 217-236.
- Barraza, J. E. 2006. Identificación de Moluscos Comestibles en El Salvador. Dirección de Patrimonio Natural. Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Bourget, E., J. De Guise & G. Daigle. 1994. Scales of substratum heterogeneity, structural complexity, and the early establishment of a marine epibenthic community. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 181: 31-51.
- Carpenter Kent, E. 2002. The living marine resources of western Central Atlantic, vol, 1, FAO, Virginia USA, 599 pp.
- Centro Nacional del Desarrollo de la Pesca & Agencia Internacional de Cooperación de Japón (CENDEPESCA & JICA), 2004, Informe final, proyecto de desarrollo de la acuicultura en los estuarios de El Salvador.
- Centro Nacional del Desarrollo de la Pesca & Agencia Internacional de Cooperación de Japón (CENDEPESCA & JICA), 2004, Manual de Cultivo de Microalgas en CENDEPESCA Puerto el Triunfo, 25 pp.
- Charles L. Angell, nov. 27/95- ene.05/96, Informe final consultaría sobre cultivo de conchas en El Salvador, PROMESA & USAID, 20 PP.

- Cheney *et, al* 1988, Acuicultura en El Salvador, estudio de factibilidad, informe final 298 pp.
- Cienfuentes J, Luís, Torres Pilar & Frias. M Marcela, 1997, El océano y sus recursos xl acuicultura, México 160 pp.
- Cruz, Soto Rafael Ángel, Jiménez Jorge Arturo.1994, Moluscos asociados a las áreas de manglar de la costa pacifica de América Central, editorial fundación UNA, Costa Rica. Guía 182 pp.
- Espino, G & Hernández, P & Carvajal, P.J.L. 2000, Organismos indicadores de la calidad del agua y de la contaminación (bioindicadores), México,633 pp.
- Flores V. O. & A Nadal S. 2003. Diagnóstico de la Diversidad Biológica de El Salvador, Red Mesoamericana de Recursos Bióticos. México 171pp.
- Ghiretti, F. 1996. Respiration, p. 175-232. *In* K. M. Wilbur and C.M. Yange, (eds.). Physiology of Mollusca, Vol. 2, Academic Press, New York. 645.
- Hochachka, P. W., & G. N. Somero. 1976. Enzyme and metabolic adaptations to low oxygen p. 279-314. *In* R.C. Newell (ed.). Adaptation to environment: Essays on the physiology of marine animals. Butterworths, London.
- Jacobi, C.M. & R. Lagevin. 1996. Habitat geometry of benthic subtrata: effects on arrival and settlement of mobile epifauna. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 206: 39-54.
- Loosanoff, V. L. & H. C. Davis, 1952. Temperature requirements for maturation of gonads of northern oysters. *Biol. Bull.*, 103: 80-86.

- Marshall, K. 1989. Growth of bacteria on surface-bound substrates: Significance in biofilm development. En: T. Hattari, Y. Yshida, Y. Moruyama, R. Morita & A. Uchida (eds.). Advances in microbial ecology. Proc. 5<sup>th</sup> International Symposium on Microbial Ecology, USA. pp. 146-150.
- Martínez C. 2004. Experiencias de Cultivo de Moluscos en Nicaragua, informe, 10pp.
- Meglitsch, Paul A. 1978. Zoología de Invertebrados, ediciones H. Blume España, 906 pp.
- Ministerio de Educación, (MINED). 1995. Historia Natural y Ecología de El Salvador. Tomo II ed. Offset, S. A. de C. V. 365 pp.
- Mosaheb, J. I. *et al.* 2001. Bioestadística Básica para Biólogos Marinos, Centro de Investigaciones Pesqueras de Albión AFRC & Agencia de Cooperación Internacional de Japón JICA. Islas Mauricio, 114 pp.
- Nagablashanam, R. & K. P. Dhamne. 1977. Seasonal gonadal changes and the clam *Paphia laterisulca*. Aqualculture, Rv. 10: 141-152.
- Nagabhushabam, R. & V. H. Mane. 1975. Reproduction and breeding of the clam *Katelysia opima*, on the west coast of India. Indian J. Mar. Sci. 4:86-92.
- Newell, R.C. 1970. Biology of intertidal animals. Paul Elek, Ltd. London. 555 p.
- Newell, R.C. & G. M. Branch. 1980. The influence of temperature on the maintenance of metabolic energy balance in marine invertebrates. Adv. Mar. Biol. 17:329-396.

- Noyola O. 2001. Estudio Biométrico del “casco de burro” *Anadara grandis* (Bivalvia:Arcidae) en la Ensenada El Astillero, Bahía de Jiquilisco Fundación Salvadoreña para la Reconstrucción y el Desarrollo (REDES), 28 pp.
- Pathansali, D. & M. Soong. 1958. Some aspects of cockle (*Anadara granosa*) culture and Malaya. Proc. Indo-pacific fish. Coun. 8:26-31.
- Planas M. & León T. 1997. Zoología, Moluscos – Equinodermos Vol. 29 FAPA ediciones, España 82 pp.
- Ruppert E, & Barnes R. 1991, Zoología de Invertebrados, sexta edición McGraw Hill Interamericana, México 1,014 pp.
- Salcido Arturo *et. al.* 1994, Acuicultura de Moluscos, México UECTM, 152 pp.
- Sampieri, R. H., Collado, C. F. & Lucio, P. B. 1998, Metodología de la Investigación, 2ª edición. The McGraw Hill Interamericana Editores S. A. de C. V. México D. F. pp. 388-393
- Todd, C.D. & M.J. Keough. 1994. Larval settlement in hard substratum epifaunal assemblages: a manipulative field study of the effects of substratum filming and the presence of incumbents. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 181: 159-187.
- Toyo Takami, 1987, Guía para la Maricultura, Departamento de Pesca de Yamaguchi Comisión Promotora de Población Pesquera de la Prefectura de Yamaguchi, 27 pp.

- Toyo Takami, 2006, Reporte de Proyecto para el Desarrollo de la Acuicultura de Moluscos en El Salvador. JICA & CENDEPESCA. 29 pp.
- Yoloye, V. 1975. The habits and functional anatomy of the best African bloody cockle, *Anadara senilis*. Proceedings of the malacological society of London, 41, p 277-298.

#### Referencias de Internet

- <http://1: Biología básica de los bivalvos: taxonomía, anatomía y ciclo vital.>  
<http://www.fao.org/docrep/009/y5720s/y5720s06.htm#bm06.2.2>
- <http://2: http://www.fao.org/docrep/009/y5720s/y5720s06.htm#bm09.1.2.2>
- <http://3: http://www.fao.org/docrep/009/y5720s/y5720s09.htm#bm10.1.1>
- <http://4: http://www.fao.org/docrep/009/y5720s/y5720s0a.htm#bm10.1.1>
- [http://5: http://www.marena.gob.ni/comap/estero\\_padre\\_ramos/intro.htm](http://5: http://www.marena.gob.ni/comap/estero_padre_ramos/intro.htm)
- <http://6: http://www.marn.gob>
- <http://7: www.mardelalinea.com/biologia-mejillon.pdf>
- <http://8: http://www.mispecies.com/estudios/2002/moluscos-fgg/moluscos-fgg.asp>

# ANEXOS

## ANEXO 1.

Laboratorio Húmedo la Pirrayita del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) CENDEPESCA  
Bahía de Jiquilisco, Usulután.



## ANEXO 2

Medición de los reproductores de *Anadara grandis* en el laboratorio húmedo la Pirrayita.



## ANEXO 3.

MATRIZ DE BIOMETRIA DE REPRODUCTORES DE *Anadara grandis*.

Hoja de datos: 1

# de Reproductor	Tallas de Reproductor (cm.)			Observaciones
	Longitud	Altura	Grosor	
1	70.2	70.8	52.2	
2	67.7	61.8	58.7	
3	79.3	63.7	67.7	
4	72.9	64.5	59.1	
5	85.4	63.7	64.6	
6	66.1	62.6	57.2	
7	68.6	29.3	51.4	
8	90.8	76.4	69.3	
9	73.3	60.7	55.8	
10	74.4	63.3	59.1	
11	73.1	60.5	53.4	
12	74.8	63.7	57.6	
13	74.4	62.2	57.8	Macho utilizado para fertilización
14	75.9	66.5	62.2	
15	63.3	56.5	50.9	
16	71.9	71.3	56.9	
17	69.2	59.8	54.9	
18	68.3	59.1	54.9	
19	75.8	63.6	57.4	
20	80.5	62.3	55.7	
21	69.4	69.8	62.9	
22	70.9	56.5	48.8	
23	80.4	70.9	61.9	
24	71.8	64.5	59.6	
25	63.2	55.6	51.7	
26	63.7	55.2	50.9	
27	66.6	58.3	51.6	
28	75.4	60.9	55.4	
29	70.7	58.3	51.6	
30	67.6	58.7	53.7	
31	68.9	59.3	54.2	
32	70.2	53.7	53.3	
33	57.6	55.9	49.2	
34	65.5	56.0	53.7	
35	72.2	63.7	54.8	
36	65.5	56.4	52.2	
37	72.4	62.2	54.1	
38	71.2	73.9	54.4	
39	70.2	70.8	52.2	
40	65.5	57.0	52.4	Hembra utilizada para fertilización
41	94.6	75.4	64.6	Hembra utilizada para fertilización

## ANEXO 4.

MATRIZ DE DESOVE DE RESPRODUCTORES DE *Anadara grandis*

Hoja de datos: 2

Fecha: 8/02/07Día de inducción: 6° díaT<sup>a</sup> de tanque Externo: 35°CT<sup>a</sup> de tanque interno: 33°C

# Reproductor	Temperatura del agua del tanque de desove	Hora de inicio de desove del reproductor	Hora de finalización de desove del reproductor	Observaciones
1	33° C	5:15 pm	5:20 pm	Desove continuo, poco esperma
2	33° C	5:20 pm	5:25 pm	Desove continuo, poco esperma
3	33° C	5:20 pm	5:22 pm	Desove continuo, poco esperma
4	33° C	5:22 pm	5:30 pm	Desove continuo, poco esperma
5	33° C	5:25 pm	5:30 pm	Desove continuo, abundante esperma
6	33° C	5:25 pm	5:35 pm	Desove continuo, abundante esperma
7	33° C	5:25 pm	5:28 pm	Desove continuo, poco esperma
8	33° C	5:25 pm	5:30 pm	Desove continuo, abundante esperma
9	33° C	5:25 pm	5:35 pm	Desove continuo, abundante esperma
10	33° C	5:25 pm	5:30 pm	Desove continuo, poco esperma
11	33° C	5:25 pm	5:30 pm	Desove continuo, poco esperma
12	33° C	5:30 pm	5:35 pm	Desove continuo, poco esperma
13	33° C	5:30 pm	5:45 pm	Macho utilizado para fertilizar, abundante esperma
14	33° C	5:30 pm	6:00 pm	Inicio a las 5:30 y paro a las 5:35 continuo a las 5:45 hasta las 6:00 pm
15	33° C	5:30 pm	6:00 pm	Inicio a las 5:30 y paro a las 5:45 continuo a las 5:55 hasta las 6:00 pm
16	33° C	5:30 pm	5:50 pm	Desove continuo, abundante esperma
17	33° C	5:30 pm	5:45 pm	Desove continuo, abundante esperma
18	33° C	5:30 pm	5:50 pm	Inicio a las 5:30 pm y paro a las 5:35, continuo a las 5:45 y finalizo a las 5:50 pm
19	33° C	5:30 pm	5:45 pm	Poco esperma
20	33° C	5:35 pm	5:50	Inicio a las 5:35 y paro a las 5:40, continuo a las 5:45 y finalizo a las 5:50 pm
21	33° C	5:35 pm	5:50 pm	Hembra utilizada para fertilizar abundante huevos Desove continuo
22	33° C	5:45 pm	5:50 pm	Hembra utilizada para fertilizar pocos huevos
23	33° C	5:45 pm	5:50 pm	Poco esperma
24	33° C	5:45 pm	5:48 pm	Poco esperma
25	33° C	5:45 pm	5:50 pm	Poco esperma
26	33° C	5:45 pm	6:00 pm	Desove continuo, abundante esperma
27	33° C	5:45 pm	5:55 pm	Paro a las 5:48 y continuo a las 5:50 pm
28	33° C	5:45 pm	5:50 pm	Desove continuo, poco esperma
29	33° C	5:45 pm	6:00 pm	Desove continuo, poco esperma
30	33° C	5:50 pm	6:00 pm	Desove continuo, abundante esperma
31	33° C	5:50 pm	6:05 pm	Desove continuo, abundante esperma
32	33° C	5:50 pm	6:00 pm	Desove continuo, abundante esperma
33	33° C	5:50 pm	5:58 pm	Muy poco esperma
34	33° C	5:50 pm	5:55 pm	Muy poco esperma
35	33° C	5:55 pm	6:00 pm	Muy poco esperma
36	33° C	5:55 pm	6:05 pm	Muy poco esperma
37	33° C	5:58 pm	6:00 pm	Desove continuo, poco esperma
38	33° C	6:00 pm	6:10 pm	Desove continuo durante 5 minuto luego paro y continuo.
39	33° C	6:00 pm	6:10 pm	Desove continuo
40	33° C	6:00 pm	6:10 pm	Desove continuo
41	33° C	6:10 pm	6:12 pm	Desove continuo

## ANEXO 5

### MATRIZ DE DATOS DE HUEVOS DE *Anadara grandis*

Hoja de datos: 3

Fecha: 08/02/07

Hora: 6:00 pm

Cantidad de muestra (ml): 1ml

Total de huevos: 2, 806,000

# de huevo	Tamaño (µm)	Forma	Observaciones
1	60	Redondo	Transparente
2	70	Redondo	Transparente
3	70	Redondo	Transparente
4	60	Redondo	Transparente
5	60	Redondo	Transparente
6	60	Redondo	Transparente
7	60	Redondo	Transparente
8	60	Redondo	Transparente
9	65	Redondo	Transparente
10	60	Redondo	Transparente
11	63	Redondo	Transparente
12	68	Redondo	Transparente
13	60	Redondo	Transparente
14	60	Redondo	Transparente
15	60	Redondo	Transparente
16	65	Redondo	Transparente
17	60	Redondo	Transparente
18	60	Redondo	Transparente
19	68	Redondo	Transparente
20	70	Redondo	Transparente
21	60	Redondo	Transparente
22	60	Redondo	Transparente
23	60	Redondo	Transparente
24	60	Redondo	Transparente
25	60	Redondo	Transparente
26	60	Redondo	Transparente
27	60	Redondo	Transparente
28	60	Redondo	Transparente
29	60	Redondo	Transparente
30	60	Redondo	Transparente



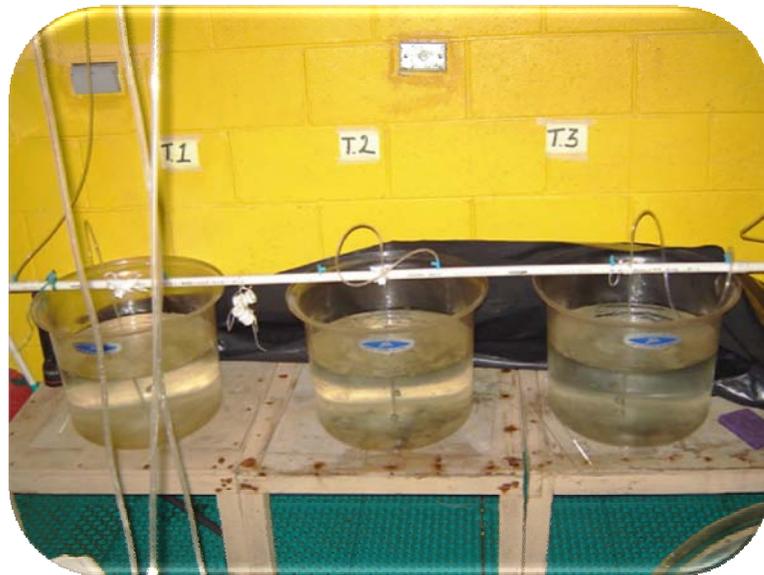
## ANEXO 7.

Cultivo de los tres tipos de microalgas utilizadas para alimentación de *Anadara grandis*.



## ANEXO 8.

Tanques de cultivo de larvas de *Anadara grandis* en el laboratorio húmedo La Pirrayita.



ANEXO 9.

MATRIZ DE DATOS DE ALIMENTACION DE LARVAS DE *Anadara grandis*.

Fecha	Dia de cultivo	# de microalgas contadas cel/ml	Alimento Planeado cel/ml	Alimento Proporcionado cel/ml	Observaciones	
09/02/07	1	N. 28,640,000	N. 8,000	N. 5.59	Por ser el primer alimento solamente se dio N por ser esta microalga mas pequeña	
		I.	I.	I.		
		C.	C.	C.		
10/02/07	2	N. 36,960,000	N. 8,000	N. $4.32*2=8.64$	Se proporciono doble ración de N por no haber C	
		I. 10,880,000	I. 1,000	I. 1.83		
		C.	C.	C.		
11/02/07	3	N. 26,440,000	N. 8,000	N. $6.05*2=12.10$		
		I. 8,560,000	I. 1,000	I. 2.33		
		C.	C.	C.		
12/02/07	4	N. 6,080,000	N. 8,000	N. $26.31*2=2.63$		
		I. 14,700,000	I. 1,000	I. 1.36		
		C.	C.	C.		
13/02/07	5	N. 13,280,000	N. 16,000	N. $24.09*2=48.19$		
		I. 12,160,000	I. 2,000	I. 3.28		
		C.	C.	C.		
14/02/07	6	N. 16,640,000	N. 16,000	N. 19.23		Se alimento con los tres tipos de microalgas
		I. 12,160,000	I. 2,000	I. 5.81		
		C. 4,560,000	C. 8,000	C. 35.08		
15/02/07	7	N. 11,520,000	N. 16,000	N. 27.77		Se alimento con los tres tipos de microalga
		I. 11,680,000	I. 2,000	I. 3.42		
		C. 3,320,000	C. 8,000	C. 48.19		
16/02/07	8	N. 11,520,000	N. 32,000	N. 55.55	Se alimento con los tres tipos de microalgas	
		I. 11,680,000	I. 4,000	I. 6.84		
		C. 3,320,000	C. 16,000	C. 98.38		
17/02/07	9	N. 15,520,000	N. 32,000	N. 41.23	Se alimento con los tres tipos de microalgas	
		I. 11,800,000	I. 4,000	I. 6.77		
		C. 4,600,000	C. 16,000	C. 69.56		
18/02/07	10	N. 25,120,000	N. 32,000	N. 25.47	Se alimento con los tres tipos de microalgas	
		I. 13,446,000	I. 4,000	I. 5.76		
		C. 3,840,000	C. 16,000	C. 83.33		
19/02/07	11	N. 30,780,000	N. 56,000	N. $36.38*2=72.77$	Se proporciono doble ración de N por no haber C	
		I. 6,078,000	I. 7,000	I. 23.03		
		C.	C.	C.		
20/02/07	12	N. 35,231,000	N. 56,000	N. $31.79*2=63.58$		
		I. 13,423,000	I. 7,000	I. 10.42		
		C.	C.	C.		
21/02/07	13	N. 36,640,000	N. 56,000	N. $30.56*2=1.12$		
		I. 11,680,000	I. 7,000	I. 11.98		
		C.	C.	C.		
22/02/07	14	N. 48,640,000	N. 80,000	N. 32.89		Se alimento con los tres tipos de microalgas
		I. 9,120,000	I. 10,000	I. 21.92		
		C. 2,160,000	C. 40,000	C. 370.37		
23/02/07	15	N. 36,960,000	N. 80,000	N. $43.29*2=86.58$	Se alimento el doble de N y cedió la misma cantidad por no estar en el laboratorio	
		I. 10,440,000	I. 10,000	I. 19.15		
		C.	C.	C.		
24/02/07	16	N. 36,960,000	N. 80,000	N. $43.29*2=6.58$		
		I. 10,440,000	I. 10,000	I. 19.15		
		C.	C.	C.		
25/02/07	17	N. 52,960,000	N. 80,000	N. 30.21	Se alimento con los tres	

		I. 13,200,000	I. 10,000	I. 15.15	tipos de microalgas
		C. 3,760,000	C. 40,000	C. 212.76	
26/02/07	18	N. 61,600,000	N.104,000	N.37.76*2= 75.52	Se proporciono doble ración de N por no haber C
		I. 9,920,000	I. 13,000	I. 26.20	
		C.	C.	C.	
		C.	C.	C.	
27/02/07	19	N. 47,040,000	N.104,000	N.44.21*2= 88.42	Se proporciono doble ración de N por no haber C y se proporciono la misma cantidad por no estar en el laboratorio
		I. 10,560,000	I. 10,000	I. 18.93	
		C.	C.	C.	
		C.	C.	C.	
28/02/07	20	N. 49,920,000	N.104,000	N. 41.66*2= 83.32	Se proporciono doble ración de N por no haber C y se proporciono la misma cantidad por no estar en el laboratorio
		I. 5,920,000	I. 10,000	I. 33.78	
		C.	C.	C.	
		C.	C.	C.	
01/03/07	21	N. 49,920,000	N.104,000	N.41.66*2= 83.32	Se alimento el doble de N
		I. 5,920,000	I. 10,000	I. 33.78	
		C.	C.	C.	
		C.	C.	C.	
02/03/07	22	N. 36,000,000	N.104,000	N.57.77*2=115.54	Se proporciono doble ración de N por no haber C y la misma cantidad de alimento por no estar en el laboratorio
		I. 8,960,000	I. 10,000	I. 22.32	
		C.	C.	C.	
		C.	C.	C.	
03/03/07	23	N. 38,400,000	N.104,000	N.54.16*2=108.32	Se proporciono doble ración de N por no haber C y la misma cantidad de alimento por no estar en el laboratorio
		I. 9,280,000	I. 10,000	I. 21.55	
		C.	C.	C.	
		C.	C.	C.	
04/03/07	24	N. 38,400,000	N.104,000	N.54.16*2=108.32	Se alimento con los tres tipos de microalgas
		I. 9,280,000	I. 10,000	I. 21.55	
		C.	C.	C.	
		C.	C.	C.	
05/03/07	25	N. 68,640,000	N.104,000	N.30.30*2= 60.60	Se proporciono doble ración de N por no haber C
		I. 11,520,000	I. 10,000	I. 17.36	
		C. 32,800,000	C. 52,000	C. 31.70	
		C.	C.	C.	
06/03/07	26	N. 57,120,000	N.104,000	N. 36.41*2= 72.82	Se proporciono doble ración de N por no haber C
		I. 12,000,000	I. 10,000	I. 16.66	
		C.	C.	C.	
		C.	C.	C.	
07/03/07	27	N. 68,480,000	N.104,000	N. 30.37*2= 60.74	Se proporciono doble ración de N por no haber C
		I. 14,400,000	I. 10,000	I. 13.88	
		C.	C.	C.	
		C.	C.	C.	
08/03/07	28	N. 56,000,000	N.104,000	N. 37.14*2= 74.28	Se proporciono doble ración de N por no haber C.
		I. 12,160,000	I. 10,000	I. 16.44	
		C.	C.	C.	
		C.	C.	C.	
09/03/07	29	N. 36,000,000	N.104,000	N. 57.77	Se dio la misma cantidad de alimento por no encontrarnos en el laboratorio
		I. 19,360,000	I. 10,000	I. 10.33	
		C.	C.	C.	
		C.	C.	C.	
10/03/07	30	N. 36,000,000	N.104,000	N.57.77*2=115.54	Se alimento solamente con N dando triple ración por que se contaminao el otro tipo de microalgas
		I. 19,360,000	I. 10,000	I. 10.33	
		C.	C.	C.	
		C.	C.	C.	
11/03/07	31	N. 36,000,000	N.104,000	N.57.77*2=115.54	Se alimento solamente con N dando triple ración por que se contaminao el otro tipo de microalgas
		I. 19,360,000	I. 10,000	I. 10.33	
		C.	C.	C.	
		C.	C.	C.	
12/03/07	32	N. 36,000,000	N.104,000	N.57.77*2=115.54	Se alimento solamente con N dando triple ración por que se contaminao el otro tipo de microalgas
		I. 19,360,000	I. 10,000	I. 10.33	
		C.	C.	C.	
		C.	C.	C.	
13/03/07	33	N. 66,880,000	N.104,000	N. 31.10*3= 93.30	Se alimento solamente con N dando triple ración por que se contaminao el otro tipo de microalgas
		I.	I.	I.	
		C.	C.	C.	
		C.	C.	C.	
14/03/07	34	N. 63,800,000	N.104,000	N. 32.60*3= 97.80	Se alimento solamente con N dando triple ración por que se contaminao el otro tipo de microalgas
		I.	I. 10,000	I.	
		C.	C.	C.	
		C.	C.	C.	
15/03/07	35	N. 62,800,000	N.104,000	N. 33.12*3= 99.36	Se alimento solamente con N dando triple ración por que se contaminao el otro tipo de microalgas
		I.	I.	I.	
		C.	C.	C.	
		C.	C.	C.	

## ANEXO 10.

MATRIZ DE CONTROL DE LARVAS DE *Anadara grandis*

Hoja de datos: 6

Fecha: 9 / 2 / 07

Hora: 11:15

T° Ambiente: 29°C

pH: 7.7

Oxigeno disuelto: 6.0

T° de agua de tanque: 27.3

S° %: 32.0

N° de objetivo ocular: 10 x

N° de larvas	Longitud (µm)	Altura (µm)	Observaciones
1	70	60	Larva trocófora
2	70	60	Larva trocófora
3	50	50	Larva trocófora
4	70	70	Larva trocófora
5	60	70	Larva trocófora
6	50	50	Larva trocófora
7	70	70	Larva trocófora
8	80	70	Larva trocófora
9	70	60	Larva trocófora
10	70	70	Larva trocófora
11	70	70	Larva trocófora
12	70	70	Larva trocófora
13	70	70	Larva trocófora
14	50	60	Larva trocófora
15	70	80	Larva trocófora
16	80	70	Larva trocófora
17	80	70	Larva trocófora
18	80	70	Larva trocófora
19	80	80	Larva trocófora
20	70	70	Larva trocófora
21	70	70	Larva trocófora
22	70	60	Larva trocófora
23	80	70	Larva trocófora
24	60	60	Larva trocófora
25	60	60	Larva trocófora
26	60	50	Larva trocófora
27	70	70	Larva trocófora
28	80	70	Larva trocófora
29	70	70	Larva trocófora
30	70	70	Larva trocófora

ANEXO 11.

Elaboracion de los colectores de los colectores utilizados para la adhesion de larvas de *Anadara grandis* noviembre 2006.



A. Cortes de PVC.



B. Perforación de Valvas de casco de burro



C. Elaboración de Colectores tipo rosario.



D. Elaboración de colector de listón



### ANEXO 13-A.

Formación de bisas tipo telaraña de los reproductores de *Anadara grandis*, al segundo y tercer día de inducción al desove 4 y 5 de febrero 2007.



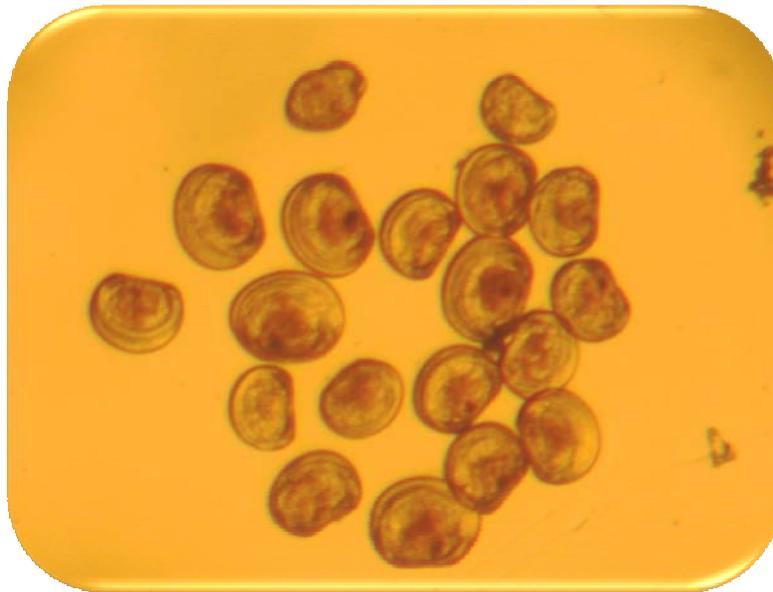
### ANEXO 13-B.

Sexto día de inducción los reproductores de *Anadara grandis* se observaron con sus valvas entre abiertas.



ANEXO 14.

Larvas de *Anadara grandis* en estadio "D" desarrollado.



ANEXO 15-A.

Medición diaria de los parámetros físicos químicos en los tanques de cultivo de *Anadara grandis*.



ANEXO 15-B.

Observación diaria y toma de biometría de larvas *Anadara grandis*.



## ANEXO 16.

PARAMETROS FISICOS QUIMICOS DE LOS TANQUES DE CULTIVO DE *Anadara grandis*.

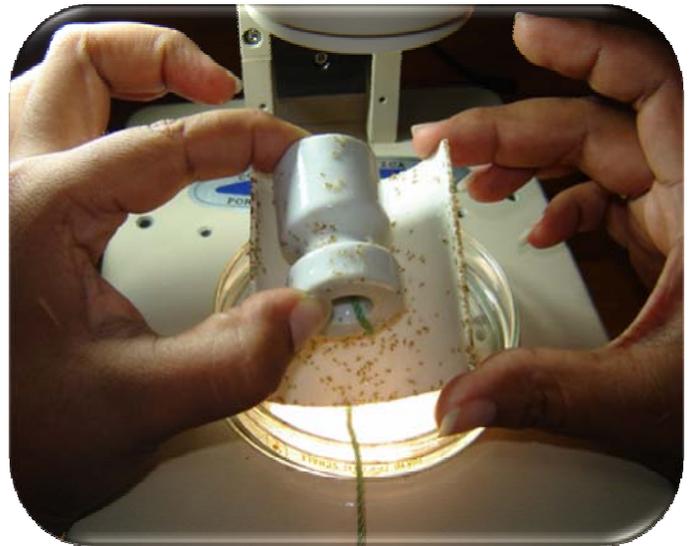
Día	T°			pH			S%			Do		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
1	27.3	27.3	27.3	7.7	7.7	7.7	32.0	32.0	32.0	6.0	6.0	6.0
2	28.4	28.4	28.4	7.0	7.0	7.0	33.0	33.0	33.0	6.6	6.6	6.6
3	26.2	26.6	27.3	7.5	7.0	7.7	32.0	32.0	33.0	6.5	6.3	6.6
4	26.2	26.0	25.8	7.5	7.5	7.7	33.0	33.0	33.0	6.0	6.6	6.6
5	25.2	25.6	25.0	7.0	7.0	7.0	32.0	33.0	33.0	5.8	6.0	6.0
6	26.0	26.3	27.0	7.7	7.0	7.7	32.0	32.0	32.0	5.9	6.6	6.5
7	27.6	27.6	28.0	7.5	7.7	7.7	33.0	32.0	33.0	6.9	6.3	6.9
8	27.5	27.5	28.0	7.8	7.5	7.7	33.0	33.0	33.0	5.8	5.5	6.0
9	28.3	28.5	28.5	7.7	7.8	7.7	33.0	33.0	33.0	6.0	6.6	6.6
10	26.2	26.0	26.5	7.5	7.3	7.5	33.0	33.0	33.0	6.6	6.0	6.6
11	26.2	26.0	26.5	7.5	7.3	7.5	33.0	33.0	33.0	6.6	6.0	6.6
12	26.2	26.0	26.5	7.5	7.3	7.5	32.0	33.0	33.0	6.6	6.0	6.6
13	24.2	26.0	24.0	7.0	7.0	7.3	33.0	33.0	33.0	6.6	6.0	6.6
14	25.4	25.4	25.0	7.7	7.7	7.7	32.0	33.0	33.0	6.6	6.6	6.6
15	27.6	27.4	27.6	7.0	7.7	7.7	32.0	33.0	33.0	6.0	6.6	6.6
16	28.0	28.0	28.0	7.7	7.7	7.7	32.0	33.0	33.0	6.0	6.6	6.6
17	28.0	28.0	28.0	7.7	7.7	7.7	32.0	33.0	33.0	6.0	6.6	6.6
18	28.2	28.5	28.5	7.0	7.8	7.8	33.0	33.0	32.0	6.0	6.6	6.6
19	26.3	26.2	26.0	7.7	7.7	7.7	32.0	33.0	35.0	6.0	6.6	6.8
20	26.2	26.0	28.0	7.5	7.5	7.7	32.0	34.0	33.0	6.4	6.8	6.8
21	26.0	26.8	26.8	7.5	7.8	7.8	32.0	34.0	33.0	5.4	6.0	6.6
22	26.0	26.8	26.8	7.5	7.8	7.8	32.0	34.0	33.0	5.4	6.0	6.6
23	28.3	28.5	28.5	7.5	7.8	7.7	32.0	34.0	33.0	6.0	6.0	6.6
24	26.5	26.8	26.8	7.5	7.8	7.7	33.0	34.0	33.0	6.0	6.0	6.6
25	26.3	26.5	26.8	7.5	7.7	7.7	32.0	33.0	33.0	6.0	6.0	6.6
26	26.5	26.0	26.8	7.5	7.8	7.8	33.0	34.0	35.0	6.5	6.5	6.5
27	26.0	26.5	25.2	7.1	7.2	7.2	33.0	33.0	32.0	6.5	6.0	6.4
28	26.8	25.9	28.0	7.1	8.3	8.3	32.0	32.0	32.0	6.7	6.8	6.5
29	29.2	27.0	27.0	8.0	8.1	8.3	32.0	33.0	32.0	6.4	6.5	6.8
30	29.2	27.0	27.5	8.0	8.1	8.5	32.0	33.0	32.0	6.4	6.5	6.6
31	28.0	28.5	28.5	8.0	8.0	8.1	33.0	33.0	33.0	6.5	6.6	6.6
32	27.5	27.5	28.0	7.8	7.9	7.9	32.0	33.0	32.0	6.4	5.8	5.9
33	27.5	27.0	27.5	7.9	7.8	7.9	33.0	33.0	33.0	5.8	6.9	6.0
34	27.5	27.0	26.8	7.8	7.9	7.9	32.0	32.0	32.0	5.8	5.9	5.9
35	27.8	27.5	27.9	7.8	7.8	7.9	32.0	32.0	32.0	5.9	5.8	5.8

## ANEXO 17.

Adherencia de larvas de *A. grandis* a los cuatro tipos de colectores.



Ubicación de los colectores a los tres tanques de cultivo  
20/02/07.



Semillas de *Anadara grandis* adheridas al colector de PVC  
observadas 14/03/07 en el laboratorio húmedo La Pirrayita.



Semillas de *Anadara grandis* adheridas al colector de arena de mar  
observadas el 15/03/07 en el laboratorio húmedo La Pirrayita.

