

**UNIVERSIDAD NACIONAL  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES  
ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**Informe Escrito Final**

**Crecimiento y sobrevivencia de la ostra de mangle *Crassostrea rhizophorae* (Guidan 1828) bajo dos densidades de cultivo en un sistema tipo “*longline*” en el Golfo de Nicoya, Costa Rica.**

Proyecto de graduación presentado como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Biología con Énfasis en Recursos Marinos y Dulceacuícolas.

**Bach. Oscar José Pacheco Prieto**

**Campus Omar Dengo  
Heredia, Costa Rica  
2018**

Este trabajo de graduación fue \_\_\_\_\_ por el Tribunal Examinador de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Biología con Énfasis en Manejo de Recursos Marinos y Dulceacuícolas.

---

M.Sc. Natalia Corrales Gómez  
Sustituye al decano de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

---

Lic. Nelson Muñoz Simon  
Sustituye a la Directora de la Escuela de Ciencias Biológicas

---

Lic. Gerardo Zúñiga Calero  
Tutor

---

Lic. Sidey Arias Valverde  
Asesora

---

M.Sc. Milagro Carvajal Oses  
Invitada especial

## Resumen

La ostra de mangle (*Crassostrea rhizophorae*) ha sido considerada como una especie con un elevado potencial para la industria acuícola en los países de la costa Atlántica de América y su producción se realiza, por lo general, a través de la extracción de bancos naturales o mediante la captación de semilla para su cultivo. El estudio tuvo la finalidad de evaluar la sobrevivencia y el crecimiento de la ostra de mangle *C. rhizophorae* a partir de semilla producida en laboratorio, que permita conocer el desempeño de esta especie bajo condiciones de cultivo en sistemas tipo *longline*. Este trabajo se realizó durante un periodo de 264 días, aproximadamente nueve meses comprendidos entre octubre de 2011 y julio de 2012, en el sector de Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica (9.83292 N y 84.87976 W). Se evaluó el crecimiento y sobrevivencia de un lote de semilla de *C. rhizophorae* producida en laboratorio y cultivado a dos densidades de siembra: 30 610 individuos/m<sup>2</sup> y 10 200 individuos/m<sup>2</sup>, correspondientes a los tratamientos a baja y alta densidad, respectivamente; cada tratamiento contaba con tres réplicas; suspendidas a 1.5 m de profundidad en un sistema de cultivo tipo “*longline*”. El mantenimiento del cultivo, eliminación de *fouling*, determinaciones biométricas y de la sobrevivencia se realizaron cada 15 días, mientras que el registro de los parámetros físico-químicos del agua (salinidad, temperatura, pH, oxígeno disuelto) se realizó de manera mensual. La integración de los parámetros ambientales explica de manera estadísticamente significativa el comportamiento del crecimiento en ambos tratamientos ( $P < 0.05$ ); no se encontró diferencia significativa entre los tratamientos a baja y alta densidad ( $P > 0.05$ ). La mortalidad experimentada en ambos tratamientos no pudo ser asociada con los parámetros ambientales; sin embargo, la ocurrencia de fenómenos de floraciones algales nocivas podría afectar a esta especie. Las tallas finales fueron de 36.8mm y 40.8mm para los tratamientos a baja y alta densidad respectivamente. La proporción sexual entre machos y hembras fue de 4:1, y 23.6 mm la talla mínima a la que se diferenciaron los sexos.

## **Agradecimientos**

Agradezco al personal del Laboratorio de Cultivo y Reproducción de Moluscos (LCRM) por el apoyo brindado en la logística para llevar a cabo este trabajo; de igual manera al personal del Laboratorio de Fitoplancton Marino (LFM) por facilitar la información referente a los fenómenos de floraciones algales ocurridos en el durante el periodo de esta investigación. Ambos laboratorios están ubicados en la Estación de Biología Marina de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional.

También, agradezco a la familia Peralta Vázquez por la hospitalidad brindada; al Lic. Gerardo Zúñiga Calero por la asesoría y colaboración durante los muestreos; y, muy especialmente, a mi esposa Rebeca Quesada Céspedes y a mis “tatas” por estar siempre ahí apoyando y “puyando” para la culminación de este proceso.

## **Dedicatoria**

A aquellos estudiantes que, por motivos personales o externos, no han podido cumplir con el último paso que representa el “Trabajo Final de Graduación” en la obtención de su grado universitario, para de esta manera, culminar una etapa muy importante en su proceso formativo a nivel académico y personal.

# Índice

<b>Resumen</b> .....	i
<b>Agradecimientos</b> .....	ii
<b>Dedicatoria</b> .....	iii
<b>Índice de figuras</b> .....	vi
<b>Índice de cuadros</b> .....	viii
<b>1. Introducción</b> .....	1
1.1. Antecedentes .....	3
1.2. Justificación.....	5
1.3. Objetivos .....	7
1.3.1 Objetivo General: .....	7
1.3.2. Objetivos Específicos: .....	7
1.3.4. Hipótesis.....	7
<b>2. Metodología</b> .....	8
2.1. Área y periodo de estudio .....	8
2.2. Selección y cuantificación de la semilla .....	8
2.3. Siembra de las semillas de ostras .....	9
2.4. Parámetros ambientales.....	11
2.5. Manejo del cultivo y toma de datos.....	12
2.5.1. Manejo del cultivo.....	12
2.5.2. Crecimiento .....	13
2.5.3. Supervivencia .....	15
2.5.4. Proporción y madurez sexual .....	15
2.6. Análisis de datos .....	16
<b>3. Resultados</b> .....	17
3.1. Parámetros ambientales.....	17
3.2. Crecimiento .....	19

3.3. Supervivencia .....	23
3.4. Composición poblacional .....	26
3.5. Proporción y madurez sexual.....	30
<b>4. Discusión.....</b>	<b>33</b>
4.1. Parámetros ambientales.....	33
4.2. Crecimiento y supervivencia .....	34
4.3. Composición poblacional .....	37
4.4. Proporción y madurez sexual.....	37
<b>5. Conclusiones .....</b>	<b>40</b>
<b>6. Recomendaciones.....</b>	<b>41</b>
<b>7. Referencias .....</b>	<b>42</b>

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Ubicación geográfica de la granja ostrícola en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica.-----	8
<b>Figura 2.</b> Prototipo esquematizado de las linternas empleadas en las pruebas de crecimiento y sobrevivencia de <i>C. rhizophorae</i> . Fuente: Elaboración propia -----	10
<b>Figura 3.</b> Esquema del sistema de cultivo tipo longline empleado para la realización del ensayo. Fuente: Elaboración propia-----	11
<b>Figura 4.</b> Tratamiento de limpieza realizado para ambos tratamientos de <i>C. rhizophorae</i> durante el periodo de estudio; (a) exposición con agua dulce, (b) remoción de organismos incrustantes, (c y d) ostra previo y posterior a la eliminación de <i>fouling</i> -----	12
<b>Figura 5.</b> Determinaciones biométricas realizadas a los ejemplares de <i>C. rhizophorae</i> cultivados bajo las dos densidades de cultivo; (H) Altura, (L) Longitud y (E) Espesor -----	13
<b>Figura 6.</b> Proceso de medición y pesaje en campo de las muestras de ambos tratamientos de cultivo de <i>C. rhizophorae</i> en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica. -----	14
<b>Figura 7.</b> Valores de precipitación acumulada (mm) y salinidad (ppt), en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica, octubre 2011-julio 2012.-----	17
<b>Figura 8.</b> Valores de temperatura del agua (°C) registrados en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica, octubre 2011-julio 2012.-----	18
<b>Figura 9.</b> Valores de pH registrados en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica, octubre 2011-julio 2012 -----	18
<b>Figura 10.</b> Niveles de Oxígeno disuelto (mgL <sup>-1</sup> ) registrados en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica, octubre 2011-julio 2012.-----	19

<b>Figura 11.</b> Valores absolutos en tamaño de concha y el peso total de <i>C. rhizophorae</i> sometidos a dos densidades de cultivo con sus respectivas desviaciones estándar. -----	20
<b>Figura 12.</b> Tasa de crecimiento relativo Instantáneo (TICR) para la altura de <i>C. rhizophorae</i> en cultivo suspendido tipo <i>longline</i> en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica.-----	22
<b>Figura 13.</b> Variaciones de las densidades para <i>C. rhizophorae</i> sometida a dos densidades de cultivo en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica. -----	24
<b>Figura 14.</b> Supervivencia relativa de <i>C. rhizophorae</i> desde octubre de 2011 hasta junio de 2012 en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica. -----	24
<b>Figura 15.</b> Mortalidad relativa de <i>C. rhizophorae</i> en dos tratamientos de cultivo durante un periodo de aproximadamente nueve meses, así como la concentración acumulada de tres especies de microalgas potencialmente nocivas (MA) en el sector de Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica. 25	
<b>Figura 16.</b> Distribución de frecuencias de la altura de <i>C. rhizophorae</i> sometida dos densidades de cultivo, en un sistema tipo <i>longline</i> en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica. -----	29
<b>Figura 17.</b> Lote de organismos empleado para realizar las determinaciones de proporción sexual y madurez de <i>C. rhizophorae</i> bajo condiciones de cultivo en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica.-----	30
<b>Figura 18.</b> Grados de desarrollo gonadal encontrados en organismos de <i>C. rhizophorae</i> , (a) inmadura, (b) desarrollo temprano, (c-e) incremento paulatino en la madurez gonadal y (f) máximo estado de de madurez encontrado en un individuo (macho)-----	31
<b>Figura 19.</b> Variación del sexo de <i>C. rhizophorae</i> según la altura, bajo condiciones de cultivo en Punta Cuchillo, Paquera, Gof de Nicoya, Costa Rica-----	32

## Índice de cuadros

<b>Cuadro 1.</b> Indicadores de crecimiento de <i>C. rhizophorae</i> en función de la altura, cultivadas bajo un sistema tipo longline en Punta Cuchillo, Paquera, Costa Rica.....	22
<b>Cuadro 2.</b> Modelo explicativo para las fluctuaciones de las variables morfométricas con respecto a los parámetros ambientales, obtenidos mediante análisis de regresión múltiple .....	23

## 1.Introducción

La ostra de mangle (*Crassostrea rhizophorae*) pertenece al filo *Mollusca* que es uno de los grupos taxonómicos más extensos y diversos existentes en el planeta. Se conocen alrededor de 50 000 especies de las cuales 30 000 son características de ambientes marinos. Dentro de este filo se encuentra la clase *Bivalvia*, que reúne al menos 7 000 especies que se caracterizan por poseer un cuerpo blando protegido por un par de estructuras rígidas llamadas conchas y por ser organismos filtradores (Gosling, 2004). En Costa Rica, Magaña & Espinosa (2009) reportan un total de 521 especies de bivalvos, de las cuales 375 se distribuyen en las aguas de la costa Pacífica (incluyendo la Isla del Coco) y 151 especies se encuentran en el Caribe costarricense.

La ostra de mangle se encuentra ampliamente distribuida en las zonas estuarinas del mar Caribe, en todas sus islas y a lo largo de la plataforma continental desde la Península de Yucatán hasta el norte de Brasil; principalmente, se encuentra asociada a las raíces de *Rhizophora mangle* (Keen, 1971; Nikolić, Bosch & Alfonso, 1976) y a sustratos rocosos presentes en estas regiones. El rango en el que se encuentran en la columna de agua va desde los 0.5 hasta los 4.0 m de profundidad; por lo que el periodo de exposición fuera del agua depende de las fluctuaciones mareales (Bardach, Ryther & MacLarney, 1972).

En Costa Rica, los bancos naturales de esta especie son escasos y pequeños debido, principalmente, a lo reducido de su hábitat como consecuencia de la falta de irregularidades topográficas en la costa Caribe. Lo anterior ha propiciado que de los ecosistemas de manglar, sólo el 1% se ubiquen en la vertiente Caribe dentro del territorio nacional (Pizarro y Angulo, 1993; Nielsen y Quesada, 2006). El último reducto de manglar relativamente extenso se encuentra en el Refugio de Vida Silvestre Gandoca-Manzanillo (Carbonell, Gómez y Torrealba, 2002) en el Caribe Sur costarricense.

Se conocen cuatro sitios en el país donde se ha encontrado la especie tratada en este estudio, todos ubicados en la provincia de Limón: el primero se ubica en el manglar de Gandoca mencionado antes y existen dos poblaciones más en los pilotes de concreto de los puentes sobre la desembocadura de los ríos que conforman Estero de Vizcaya y Estero Negro (Alarcón, 1991); también, se sabe de la existencia de otra población en el sector de Moín, la cual desapareció probablemente a causa de la

contaminación por hidrocarburos debido a la actividad de desembarque de combustibles fósiles en ese sector (Alfaro, Quesada, Zamora, Madrigal y Pacheco, 1985).

La ostra de mangle ha sido considerada como una especie con un elevado potencial para la industria acuícola en los países de la costa Atlántica de América (Hernández, Troccoli y Millán, 1998; Pereira, Henriques y Machado, 2003). En los lugares que existen actividades económicas asociadas a esta especie, su producción se realiza a través de la extracción en bancos naturales o por el cultivo, mediante el uso de semillas provenientes del medio natural, en su mayoría, y en una menor proporción producidas en laboratorio (*hatchery*).

*C. rhizophorae* es la ostra más cultivada en el Caribe y en Cuba es la única especie comercial, empero, ha presentado una disminución significativa en los últimos años tras depender casi exclusivamente de la extracción pesquera directa en los bancos naturales, y no de la producción en granjas. Si bien Cuba contaba con laboratorios especializados en producción de semilla de esta especie, una serie de condiciones de orden económico (incremento en costos de producción, disminución del precio de venta de la ostra y un déficit de materiales para desarrollar el cultivo durante la década de 1990) y ambiental (impactos derivados de la contaminación costera y represamiento de aguas fluviales para su uso agropecuario) produjeron una desactivación progresiva de las granjas y laboratorios que producían semilla libre de *C. rhizophorae* (Betanzos, Rivero y Mazón, 2014).

En Brasil esta ostra es una de las especies en las que se basa la ostricultura junto con *C. gigas* (Lenz y Boehs, 2011); en Venezuela es considerada un importante recurso alimenticio y de sustento económico para una gran cantidad de pobladores de la zona costera (Lodeiros, Alio y Marcano, 2005; González, Graü, Villalobos, Gil y Vásquez, 2009) y en regiones de Colombia, como Santa Marta, fue considerada un recurso pesquero sociocultural y económico. Sin embargo, la sobreexplotación, aunada a desbalances hídricos y un aumento en la contaminación, propiciaron la casi total desaparición de esta especie para finales de la década de 1990 (Velasco y Barros, 2008). Esta situación indujo a la realización de estudios para la obtención de semilla proveniente de laboratorio para emplearse con fines de repoblamiento (Cáez y Vélez, 2000; Velasco, Vega, Acosta y Barros, 2010).

Los bancos naturales de esta especie ubicados en territorio costarricense son tan pequeños que no permitirían el desarrollo de una actividad productiva a partir de la obtención de semillas proveniente

de ellos, por lo que una alternativa para poder desarrollar el cultivo de *C. rhizophorae* como una actividad económica, debería ser a partir de la producción de semilla en laboratorio.

### **1.1. Antecedentes**

La acuicultura está en constante crecimiento y constituyó la actividad productiva del sector alimenticio de mayor incremento a nivel mundial para el año 2014. Los cultivos de moluscos bivalvos significaron 16.1 millones de toneladas a nivel mundial (FAO, 2016) y ya en el 2008 los moluscos y particularmente los bivalvos representaban el tercer grupo de mayor importancia en lo que respecta a la producción acuícola de la región (Lovatelli, Vannuccini y McLeod, 2008). En América Latina se ha presentado un estancamiento de la producción de moluscos provenientes de las pesquerías y existe un incremento constante en la demanda que podría suplirse con la producción acuícola (Lovatelli *et al.*, 2008).

Los primeros intentos para cultivar la ostra de mangle en la región se realizaron en Cuba en el año 1951. En la década de 1970 este país ya desarrollaba cultivos de manera comercial empleando semilla colectada del medio (Betanzos *et al.*, 2014). Para inicios de la década de 1960, Venezuela realizó sus primeros cultivos piloto; en 1972 Brasil reporta sus primeras experiencias para el cultivo de esta especie (Menzel, 1991); en todos los casos se empleó la semilla captada del medio natural.

Costa Rica registra las primeras actividades dirigidas al desarrollo del cultivo de moluscos bivalvos a partir del año 1969, impulsado por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) para promover el cultivo del mejillón *Mytella speciosa* (Naegel, 1980); posteriormente, en 1978, la Universidad de Costa Rica (UCR) realizó las primeras experiencias sobre el crecimiento y sobrevivencia de *C. gigas* cultivadas en el Golfo de Nicoya (Villalobos, 1984).

Para la década de 1980, la Universidad Nacional (UNA) inició los primeros estudios con la ostra de mangle *C. rhizophorae*. Las investigaciones se realizaron en el sector Caribe costarricense, particularmente en el área de Estero Vizcaya y Estero Negro, y posteriormente se implementaron experiencias en la región Pacífico Central. Durante esta etapa se pueden diferenciar tres líneas de investigación que se desarrollaron:

La primera se enfocó en aspectos bioecológicos de la especie, lo que generó información muy valiosa sobre su estructura poblacional en estero Vizcaya (Madrigal, Alfaro, Quesada, Pacheco y Zamora, 1985); también, se determinó la talla de primera madurez que fue de 13 mm; la tasa de crecimiento promedio fue de 10.9 mm mes<sup>-1</sup>; y la madurez sexual mostró un desplazamiento progresivo en función de la edad (Pacheco, Cabrera y Zamora, 1983). Las épocas reproductivas para las poblaciones en Estero Negro y Vizcaya (Alarcón, 1991) coincidieron con los meses de febrero-marzo y setiembre-octubre que marcan la época seca, con temperaturas cercanas a los 33°C y salinidades de 25-30 ppt. Madrigal, Pacheco, Zamora, Quesada y Alfaro (1985) determinaron que la tasa óptima de filtración para la ostra de mangle fue de 4.71 L h<sup>-1</sup> a una salinidad de 25 ppt y 28°C.

La segunda línea de investigaciones se dirigió hacia la determinación del potencial de cultivo de *C. rhizophorae*, por lo que se evaluó la captación de semilla natural empleando diferentes sustratos para el asentamiento de las larvas pediveliger de *C. rhizophorae* (Alfaro, Salas, Cabrera y Vargas, 1984; Alfaro *et al.*, 1985; Alfaro y Zamora 1986; Quesada, 1987). De igual modo se realizó la implantación y monitoreo de semilla captada de medio natural en algunas zonas del Pacífico Central costarricense (Quesada, 1987) para determinar su desempeño bajo condiciones de cultivo; se realizaron ensayos para evaluar el comportamiento de esta especie en sistemas de cultivo empleando balsas flotantes (Cabrera, Zamora y Pacheco, 1983), que determinaron la talla comercial en 60 mm, con un peso aproximado de 23 g. Además, se realizaron las primeras pruebas para la depuración bacteriana de esta especie, con las que se comprobó la efectividad de la luz ultravioleta para disminuir la concentración de coliformes hasta niveles aptos para su consumo humano (Madrigal, 1986).

La tercera y última etapa investigativa se enfocó en el desarrollo de protocolos para la producción artificial de semilla de *C. rhizophorae* (Yukihira y Alarcón, 1987), en los que se realizaron estudios sobre la respuesta del crecimiento y sobrevivencia de estadios larvales con diferentes temperaturas (Picado, 1989), salinidades (Requena, 1989), dieta y ración alimenticia (Vargas, 1989). Durante esta etapa, también, se realizó la evaluación económica a partir de cultivos pilotos, con el objetivo de estimar proyecciones sobre la sostenibilidad de la producción (Pacheco, 1987).

En la década de los noventa, la UNA continuó la investigación en el mejoramiento de metodologías y estructuración de protocolos para la producción de semilla de *C. rhizophorae* y *Crassostrea gigas*. Se logró la producción de semilla a ciclo cerrado y los estudios experimentales del cultivo en el Golfo de Nicoya (Arias, Zúñiga, Zamora y Zurburg, 1998). A partir del año 2000, con la

tecnología validada para la producción de semilla en laboratorio, el crecimiento y sobrevivencia del ostión japonés cultivado en sistemas suspendidos, se inició la transferencia a comunidades costeras por medio de la modalidad de proyectos pilotos en el cultivo de esta especie; este trabajo fue realizado con la agrupación APROPESA (Asociación de Proyectos Pesqueros), CAMAPUM (Cámara Puntarenense de Pescadores y Molusqueros), el CONICIT y la UNA (G. Zúñiga, comunicación personal, julio de 2015).

Desde 1990, la investigación de *C. rhizophorae* ha permanecido inactiva en Costa Rica, aún así, en la región se continuó el desarrollo de investigaciones enfocadas principalmente, en determinar el potencial de esta especie empleando distintos sistemas de cultivo (Buitrago, Lunar y Moreno, 2000; Bastos, Guzenski & Ferreira, 2005; Alvarenga & Cunha, 2006; Lodeiros, Buitrago y Guerra, 2006; Bastos, Ferreira & Guzenski, 2007; Prieto, Montes y Ruiz, 2008; Nuñez, Lodeiros, Ramírez, Narváez y Graziani, 2010; Betanzos *et al.*, 2014), así como la influencia de los parámetros ambientales en el crecimiento, desarrollo y sobrevivencia de la ostra de mangle (Villaruel, Buitrago y Lodeiros, 2004; Buitrago, Buitrago, Freitas y Lodeiros, 2009; Betanzos, Siam y Arancibia, 2010).

En la actualidad, la ostra de mangle también ha demostrado ser apta como una especie centinela, que permite monitorear los niveles de contaminación en ecosistemas estuarinos y determinar el estado de salud de estos a nivel regional. El monitoreo puede realizarse considerando componentes químicos (Ríos, Marins, Oliveira y Lacerda, 2016; Aguirre-Rubí *et al.*, 2017), así como microbiológicos y patogénicos asociados a riesgos en la salud pública (Ribeiro *et al.*, 2015; Cabral *et al.*, 2017).

## **1.2. Justificación**

Las ostras cuentan con un enorme potencial para el desarrollo acuícola, así como para otras áreas como tratamiento de efluentes o monitoreo ambiental. La tecnología de cultivo requerida para estos organismos utiliza materiales de bajo costo y algo muy importante, es que su desarrollo en zonas rurales es adaptable (Angell, 1986); además, se elimina el costo de producción más elevado asociado a muchos organismos cultivados como lo es la alimentación; al ser organismos filtradores no existe la necesidad de incurrir en gastos de peletizados; por lo que, para economías del tipo comunitario, proporcionaría una gran ventaja no brindada por otros organismos como peces y camarones.

La ostra de mangle es una especie explotada de manera comercial en prácticamente todos los países donde se encuentra distribuida, desde Cuba hasta Brasil, incluyendo a Colombia y Venezuela; este aprovechamiento del recurso se da, esencialmente, a partir de la extracción de bancos naturales (como ha ocurrido históricamente); y en menor medida, mediante el cultivo a partir de la captación de semilla del medio. La creciente demanda y la disminución de las poblaciones naturales de esta especie debido a la sobreexplotación, contaminación y reducción de su hábitat, aunado a los costos ambientales que implica la extracción a nivel comercial de los bancos naturales (ubicados en ecosistemas tan importantes como lo son los manglares) son inequívocas razones para implementar modelos de aprovechamiento de este recurso de una manera más eficiente.

La costa Caribe de Costa Rica, a diferencia de la mayoría de los países del área, no presenta el nivel de irregularidad necesario para que existan suficientes ecosistemas de manglar, por lo que los bancos de *C. rhizophorae* son escasos (ya que los manglares son el hábitat natural de la ostra de mangle). Lo anterior implica que el desarrollo de proyectos productivos a partir de la captación de semilla del medio, como se realiza en la mayoría de países, no sería viable (Pacheco, 1987).

A través de los años se generó una gran cantidad de información de línea base sobre la ostra de mangle en el país. Esto, ligado al desarrollo posterior de paquetes tecnológicos para el cultivo de la ostra del Pacífico (*C. gigas*), implica un adelanto significativo que permitiría la implementación a un mediano plazo de un paquete tecnológico para propiciar el desarrollo del cultivo de la ostra de mangle que, a la vez, podría ser dirigido hacia las comunidades del Caribe costarricense como una alternativa productiva para mejorar su calidad de vida.

Este trabajo tuvo la finalidad de evaluar el desempeño de *C. rhizophorae* bajo condiciones de cultivo en un sistema tipo *longline*, mediante la determinación de su crecimiento y sobrevivencia. Lo anterior permitirá contar con parte de la información que en un futuro cercano facultaría la implementación del cultivo de esta especie.

## 1.3. Objetivos

### 1.3.1 Objetivo General:

- Evaluar la sobrevivencia y el crecimiento de la ostra de mangle *C. rhizophorae* a partir de semilla producida en laboratorio, que permita conocer el desempeño de esta especie bajo condiciones de cultivo en sistemas tipo *longline*.

### 1.3.2. Objetivos Específicos:

- Determinar la tasa de crecimiento de *C. rhizophorae* bajo dos densidades de siembra en un sistema de cultivo tipo “*longline*”.
- Estimar la tasa de mortalidad de *C. rhizophorae* bajo dos densidades de siembra diferente en un sistema de cultivo tipo “*longline*”.
- Relacionar la influencia de algunos parámetros físicos-químicos en el crecimiento y la mortalidad que *C. rhizophorae* bajo dos densidades de cultivo.

### 1.3.4. Hipótesis

**H<sub>0</sub>:** ( $D_1 = D_2$ ). No existen diferencias entre las tasas de crecimiento y la sobrevivencia de *C. rhizophorae* sometida a dos densidades de cultivo.

**H<sub>1</sub>:** ( $D_1 \neq D_2$ ). Existe diferencia entre el crecimiento o sobrevivencia de *C. rhizophorae* sometida a dos densidades de cultivo.

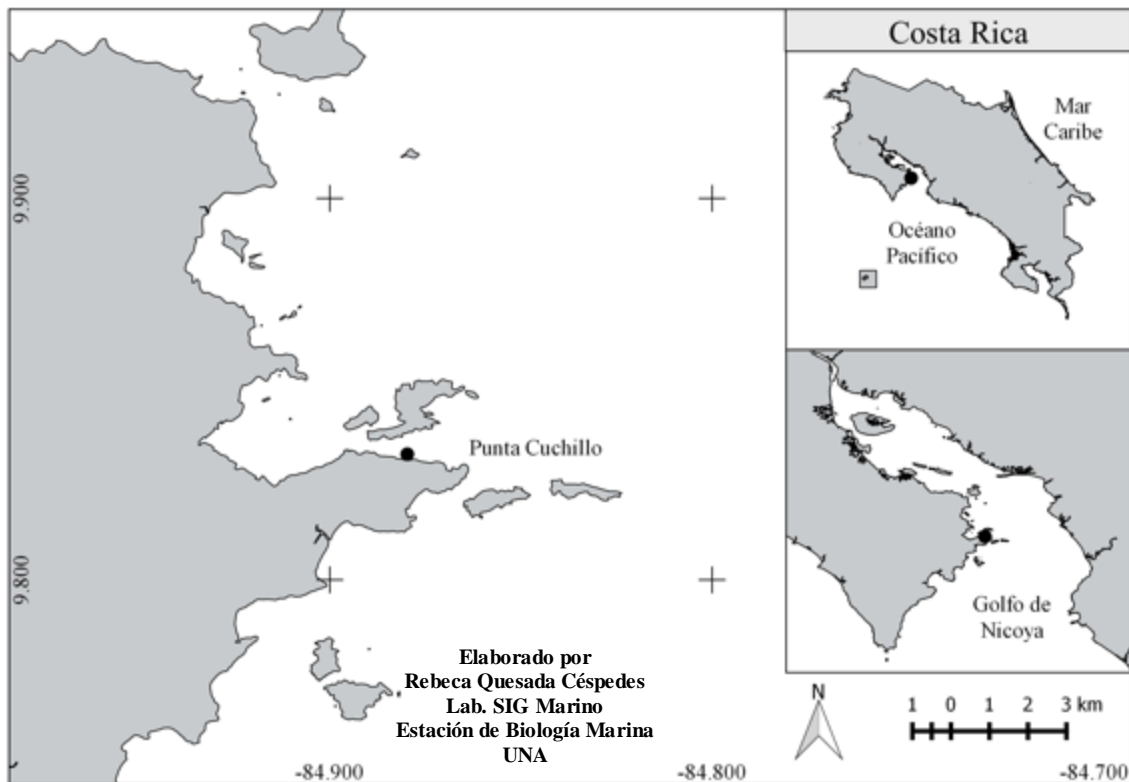
Densidad baja ( $D_1$ ): Semillas con calibre de 2.8mm sembradas a una densidad inicial de 6 000 individuos por piso (30 558 individuos  $m^2$ ) y con reajustes de densidad del 25% cada 15 días.

Densidad alta ( $D_2$ ): Semillas con calibre de 2.8mm sembradas a una densidad inicial de 2 000 individuos por piso (10 186 individuos  $m^2$ ) y con reajustes de densidad del 25% cada 15 días.

## 2. Metodología

### 2.1. Área y periodo de estudio

El ensayo se realizó en una granja ostrícola, ubicada 9.83292 N y 84.87976 W, en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica (Figura 1), en donde se evaluó el desempeño de la ostra *C. rhizophorae* bajo condiciones de cultivo en un sistema suspendido tipo *longline*. El estudio se llevó a cabo durante un periodo de 264 días, que abarcaron desde octubre de 2011 hasta julio de 2012.



**Figura 1.** Ubicación geográfica de la granja ostrícola en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica.

### 2.2. Selección y cuantificación de la semilla

Para el desarrollo de la prueba se empleó semilla libre producida en el Laboratorio de Cultivo y Reproducción de Moluscos (LCRM), ubicado en la Estación de Biología Marina Juan Bertoglia Richards, Puntarenas, UNA, obtenida a partir de un lote de organismos silvestres provenientes de la población de estero Vizcaya (9.9088 N y 82.9862 W), en el sector del Caribe Sur costarricense.

Después de aproximadamente tres semanas del proceso de asentamiento larval, una vez que la semilla alcanzó la talla requerida, se procedió a seleccionarla para la realización de la prueba mediante

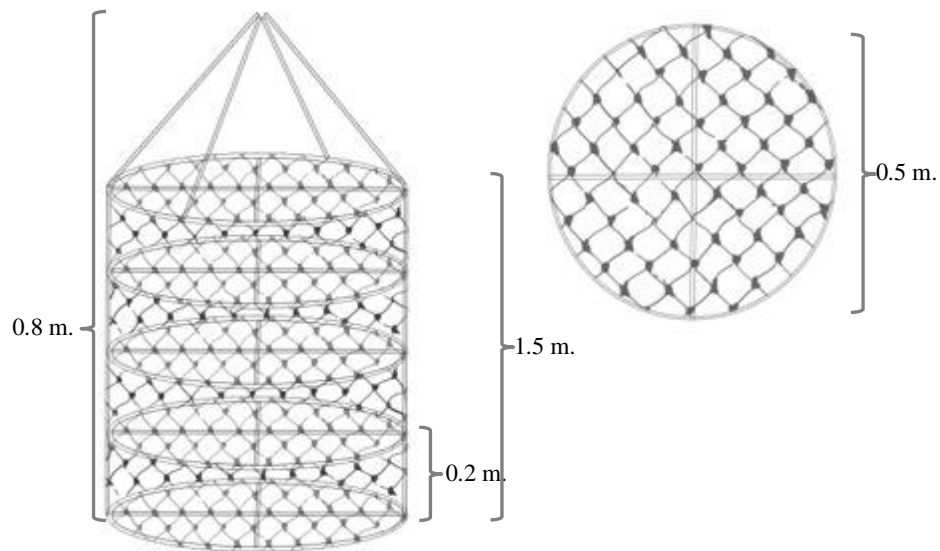
la utilización de una criba de acero inoxidable con luz de malla de 2.0 x 2.0 mm. Esta implica una talla efectiva de 2.8 mm, correspondiente a la diagonal obtenida a partir del polígono que forma la abertura de la malla del tamiz.

Una vez seleccionadas las semillas según su talla, se contabilizaron mediante la extrapolación del peso de una cantidad conocida de semillas a la totalidad de la muestra. Para lo anterior, se procedió a contar cuatro submuestras de 200 individuos cada una. Con el fin de discriminar entre los animales vivos y muertos se empleó el criterio de que todos los organismos con las valvas abiertas serían considerados como animales muertos, mientras que aquellos con las valvas cerradas estarían vivos. Las observaciones se realizaron utilizando una lupa ( $\varnothing 100\text{mm}$  y 3X). A cada submuestra se le extrajo el exceso de humedad empleando toallas de papel absorbente, para posteriormente, ser pesadas en una balanza semi analítica, marca UME ( $\pm 0.05\text{g}$ ). Se determinó el peso promedio de 200 semillas de ostras. Finalmente, se separó la muestra experimental de 30 000 semillas para su empleo en este trabajo.

### **2.3. Siembra de las semillas de ostras**

Las semillas fueron transportadas al sitio de cultivo empleando recipientes isotérmicos. El traslado de los animales se realizó en una hora y la preparación de los sistemas de siembra y colocación de los organismos implicó tres horas, por lo que los animales desde el momento en que salieron del LCRM en Puntarenas hasta su siembra en la granja ubicada en Punta Cuchillo, Paquera, permanecieron fuera del agua cuatro horas.

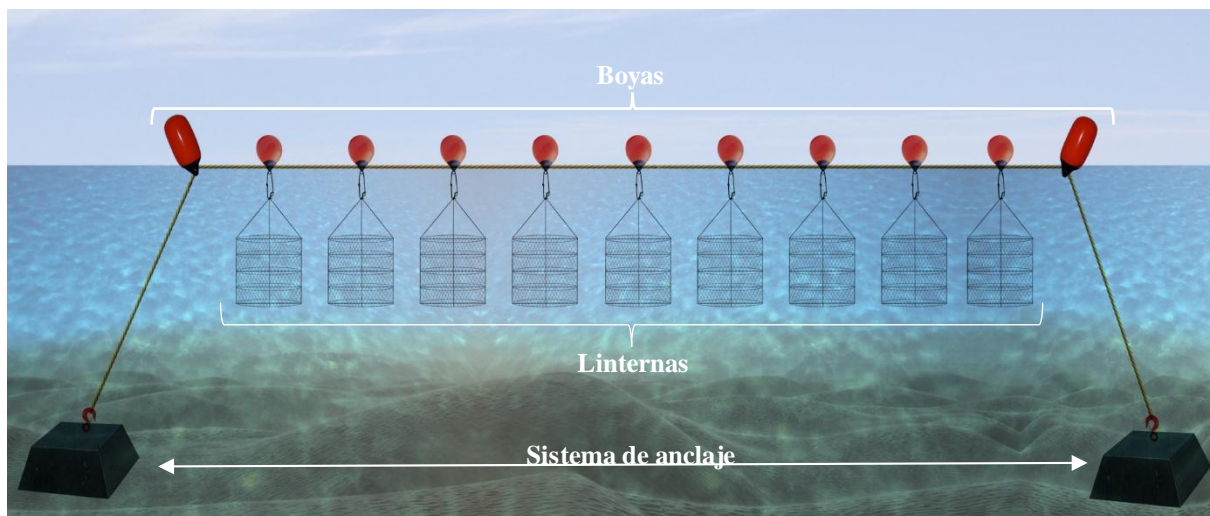
La siembra de los organismos se hizo en linternas, es decir, estructuras cilíndricas subdivididas en cuatro niveles y cuya estructura mantiene su forma gracias a la disposición de molduras rígidas de alambre galvanizado en cada uno de sus niveles, y a una maya de nylon que recubre y entrelaza los distintos componentes del sistema; cada uno de estos niveles cuenta con un área efectiva de  $0.196\text{m}^2$ , separados por un espacio de 0.2 m (Figura 2). Estos mismos sistemas son utilizados para el cultivo de *C. gigas*; son elaborados de manera artesanal y localmente por los grupos de ostricultores ubicados en el Golfo de Nicoya.



**Figura 2.** Prototipo esquematizado de las linternas empleadas en las pruebas de crecimiento y supervivencia de *C. rhizophorae*. Fuente: Elaboración propia

Se emplearon dos linternas para realizar el experimento; en una de ellas se colocaron 6 000 semillas totales distribuidas de manera equitativa en cada uno de los tres primeros niveles de la linterna (2 000 individuos/0.196m<sup>2</sup>) que correspondieron a las repeticiones del tratamiento a “densidad baja”; en la otra linterna se colocaron 18 000 semillas totales distribuidas equitativamente entre los tres primeros niveles (6 000 individuos/0.196m<sup>2</sup>) que correspondieron a las repeticiones del tratamiento a “densidad alta”. Para evitar la pérdida de organismos debido a su reducido tamaño, se emplearon bolsas de siembra con una luz de malla de 0.5mm, con un área efectiva equivalente a la de los niveles de la linterna de 0.196m<sup>2</sup>.

Una vez que los animales fueron distribuidos en las linternas, estas fueron colocadas en una línea madre flotante (sistema tipo *longline*) de aproximadamente 100 m de longitud, con anclajes de concreto, boyas para la flotabilidad y señalización (Figura 3). Las linternas se colocaron con una separación de 1.5m entre ellas y se mantuvieron a una profundidad de 1.5m.



**Figura 3.** Esquema del sistema de cultivo tipo longline empleado para la realización del ensayo. Fuente: Elaboración propia

## 2.4. Parámetros ambientales

De manera mensual se registraron *in situ* los parámetros físico-químicos del agua correspondientes a temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), salinidad (ppt), pH y la concentración de oxígeno disuelto ( $\text{mg L}^{-1}$ ), empleando un multiparámetros Thermo-Fisher modelo Orion5Star; las determinaciones se realizaron a 1.5 m de profundidad. Además, se incluyeron los registros de precipitación diaria reportados por el Instituto Meteorológico Nacional de Costa Rica (IMN) para el periodo del ensayo y se utilizaron los valores de las estaciones meteorológicas más cercanas al sitio de cultivo (Paquera y Puntarenas). Estos valores son presentados como la acumulación pluviométrica mensual.

Otro aspecto que se consideró fue el fenómeno de floraciones algales potencialmente nocivas (FAN's) de tres especies de microalgas (*Alexandrium monilatum*, *Cochlodinium catenatum* y *Gymnodinium catenatum*) ocurrido en el sitio de cultivo durante el periodo de estudio. Este fenómeno fue reportado por el Laboratorio de Fitoplancton Marino (LFM), ubicado en la Estación de Biología Marina de la UNA. Este laboratorio analizó muestras de agua tomadas a 1 y 5 metros de profundidad en busca de células microalgales con el potencial de generar floraciones nocivas; los valores son expresados en células  $\text{litro}^{-1}$ .

Para este estudio se consideraron las mayores concentraciones registradas por parte del LFM, de las tres especies de microalgas mencionadas anteriormente, independientemente de la profundidad a la que la muestra fue colectada. Para el análisis y la graficación se aplicó la transformación logarítmica de los datos ( $\text{Log}_{10}$ ).

## 2.5. Manejo del cultivo y toma de datos

### 2.5.1. Manejo del cultivo

El mantenimiento de los organismos de investigación se ejecutó cada 15 días. La metodología aplicada en este trabajo fue la implementada por el LCRM para el manejo de reproductores de *C. gigas* (Arias *et al.*, 2017), que consistió en la eliminación manual de epibiontes y *fouling* tanto de la población de estudio como de los sistemas de cultivo, además de inmersiones en agua dulce durante periodos desde 5 hasta 30 minutos que inició desde la primera vez que se le dio el manejo a los organismos y, de manera paulatina, se incrementó el tiempo conforme aumentó la edad de la semilla (Figura 4).



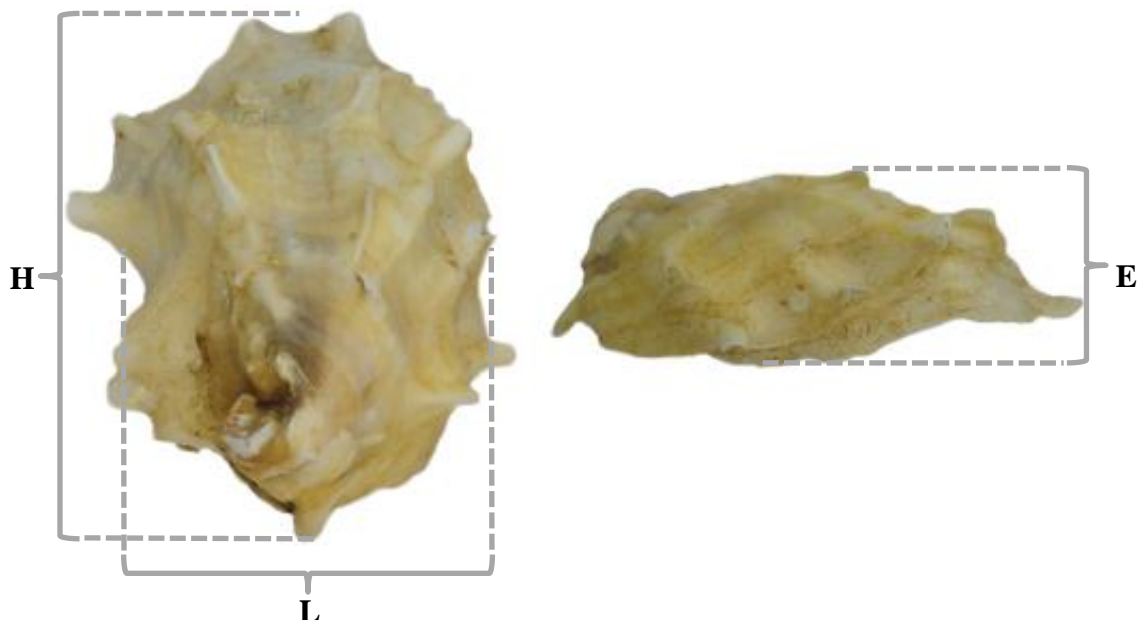
**Figura 4.** Tratamiento de limpieza realizado para ambos tratamientos de *C. rhizophorae* durante el periodo de estudio; (a) exposición con agua dulce, (b) remoción de organismos incrustantes, (c y d) ostra previo y posterior a la eliminación de *fouling*

Cada vez que se realizó el mantenimiento de los organismos, se procedió, a realizar un ajuste de la densidad, lo que redujo en un 25% la cantidad de individuos vivos registrados en cada una de las réplicas de ambos tratamientos. Este procedimiento de reajuste de la densidad se realizó hasta alcanzar una densidad de 300 y 100 individuos por réplica en los tratamientos de “densidad alta” y “densidad baja” respectivamente, correspondientes al último ajuste de la población experimental.

### 2.5.2. Crecimiento

Se registró el crecimiento de 5 669 individuos (2 578 correspondieron al tratamiento “densidad baja” y 3 091 individuos al tratamiento “densidad alta”), lo que implicó 22 676 datos biométricos colectados durante el periodo comprendido entre octubre de 2011 y julio de 2012.

Para estimar el crecimiento, se realizaron determinaciones biométricas cada 15 días a una muestra de entre 30 a 150 organismos, empleando la metodología utilizada por Galtsoff (1964) y Carriker (1996) en función de las dimensiones de la concha en su eje máximo antero-posterior (altura), dorso-ventral (longitud) e intervalvar (espesor). Para esto se empleó un vernier marca *General* (0.05mm) (Figura 5); la determinación del peso fresco total de los organismos muestreados se hizo con una balanza de campo marca UME modelo HGM-2000 (0.05 g), (Figura 6).



**Figura 5.** Determinaciones biométricas realizadas a los ejemplares de *C. rhizophorae* cultivados bajo las dos densidades de cultivo; (H) Altura, (L) Longitud y (E) Espesor



**Figura 6.** Proceso de medición y pesaje en campo de las muestras de ambos tratamientos de cultivo de *C. rhizophorae* en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica.

Para cada réplica, se calculó el valor promedio y la desviación estándar de cada una de las variables biométricas medidas. De estas variables, la altura se utilizó para realizar las determinaciones del crecimiento y para el cálculo de diversos indicadores como la tasa de crecimiento diaria (TCD) y la tasa de crecimiento instantáneo relativo (TCIR) (Ricker, 1975; Xiao *et al.*, 2005). También, se determinó la tasa de crecimiento absoluto (TCA) y la tasa de crecimiento relativo (TCR) acorde con Wooton (1991).

<b>TCD</b> = $(Y_2 - Y_1)/t$	$Y_2$ y $Y_1$ son la talla final e inicial, respectivamente, entre dos muestreos consecutivos; $t$ es el número de días totales de cultivo; $t_2$ y $t_1$ tiempo final e inicial, respectivamente, entre dos muestreos consecutivos.
<b>TCA</b> = $(Y_2 - Y_1)/(t_2 - t_1)$	
<b>TCR</b> = $((Y_2 - Y_1)/Y_1)/(t_2 - t_1) \times 100$	
<b>TCIR</b> = $((\ln Y_2 - \ln Y_1)/t) \times 100$	$Y_2$ y $Y_1$ son las talla final e inicial, respectivamente; $t$ es el intervalo de tiempo (en días) entre dos muestreos consecutivos.

### **2.5.3. Supervivencia**

Cada 15 días se estimó la supervivencia mediante el recuento poblacional en cada una de las réplicas de ambos tratamientos. Para ello se consideró como la totalidad de la población la cantidad de organismos determinada en el último ajuste de densidad y como número final la estimación o conteo directo realizada el día de muestreo; con lo que se obtuvieron los porcentajes de supervivencia de cada periodo.

Durante las primeras semanas, debido al reducido tamaño y la elevada cantidad de organismos, el conteo directo resultaba inmanejable, por lo que fue realizado de manera indirecta mediante la extrapolación de peso de una muestra conocida de organismos para la totalidad de organismos de cada una de las réplicas para cada tratamiento. Para ello, se tomó una muestra aleatoria de cada una de las réplicas y se contabilizaron 100 individuos; los organismos que presentaron las valvas abiertas fueron considerados como muertos. Posteriormente, se realizó un conteo directo conforme la densidad disminuyó y los organismos aumentaron de talla.

### **2.5.4. Proporción y madurez sexual**

Para la determinación de la proporción sexual y la talla de madurez, se colectó por única vez una muestra aleatoria de 42 organismos, provenientes de ambos tratamientos en igual medida; los organismos fueron transportados al LCRM donde se realizó la eliminación del *fouling*, además, se disectaron, y categorizaron en función de la presencia o ausencia de gametos, en inmaduros o maduros (machos/hembras) mediante la observación al microscopio de luz de un raspado del tejido gonadal.

Esta caracterización se realizó una única vez, por lo que los resultados obtenidos presentan un criterio cualitativo únicamente; y debido a la imposibilidad de repetirlo a lo largo del estudio, no permitieron generalizar este comportamiento para la población a lo largo del periodo considerado.

## 2.6. Análisis de datos

Se determinó la normalidad de los datos, y se empleó la prueba “T-student” para determinar incrementos significativos en las variables morfométricas (H, L, E) y el peso; las pruebas se efectuaron dentro de cada tratamiento a lo largo del periodo de estudio (correspondiente a muestreos consecutivos), así como entre tratamientos (correspondiente al mismo día de muestreo) para determinar si existían diferencias entre ellos, tanto a nivel puntual (día de muestreo) como general. Para evaluar el efecto de los parámetros ambientales (temperatura, salinidad, concentración de oxígeno, pH, y precipitación) sobre el crecimiento y la sobrevivencia, se utilizó el análisis de regresión múltiple. Se consideró el crecimiento y la sobrevivencia en cada tratamiento como variables dependientes y los parámetros ambientales como variables independientes.

Se valoró el potencial efecto de las floraciones algales nocivas sobre la sobrevivencia en ambos tratamientos, para lo que se empleó una regresión múltiple en la que se consideraron las tres especies de microalgas reportadas como variables independientes y la tasa de mortalidad como variable dependiente. Así mismo, se determinó el coeficiente de correlación de Pearson ( $r$ ), entre la concentración total de microalgas nocivas y la tasa de mortalidad; para estos análisis, se trabajó con los valores de concentraciones microalgales transformadas con  $\text{Log}_{10}$ .

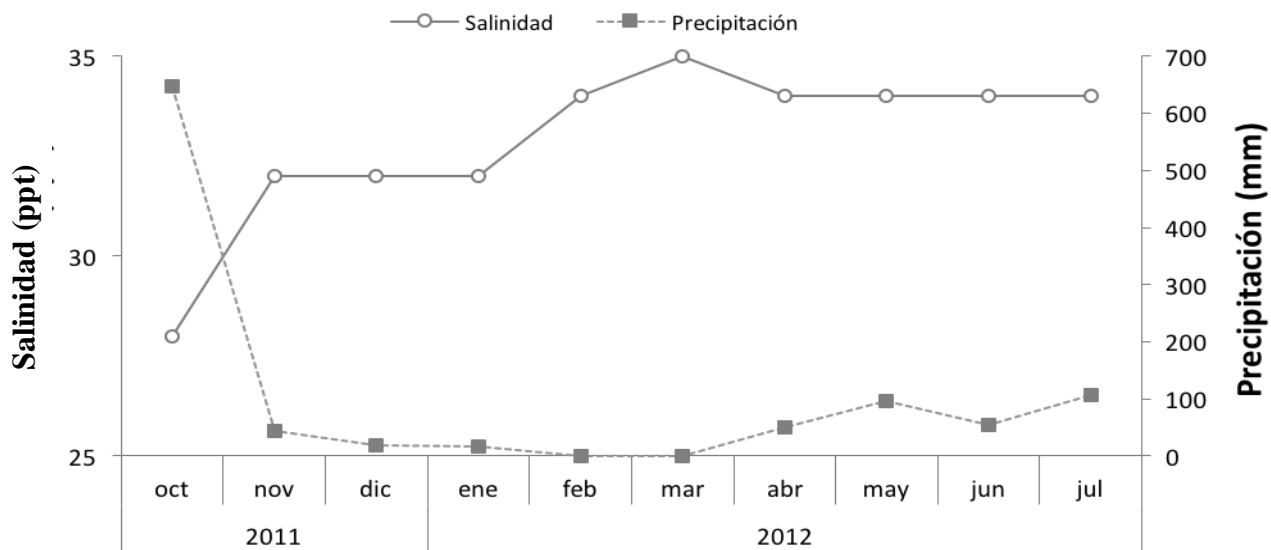
La tabulación y graficación fueron realizadas con el programa Office Excel 2010; para todas las pruebas ejecutadas se empleó un nivel de significancia de  $\alpha=5\%$ , y los análisis estadísticos fueron ejecutados con el programa *Statgraphics XVII*.

### 3. Resultados

#### 3.1. Parámetros ambientales

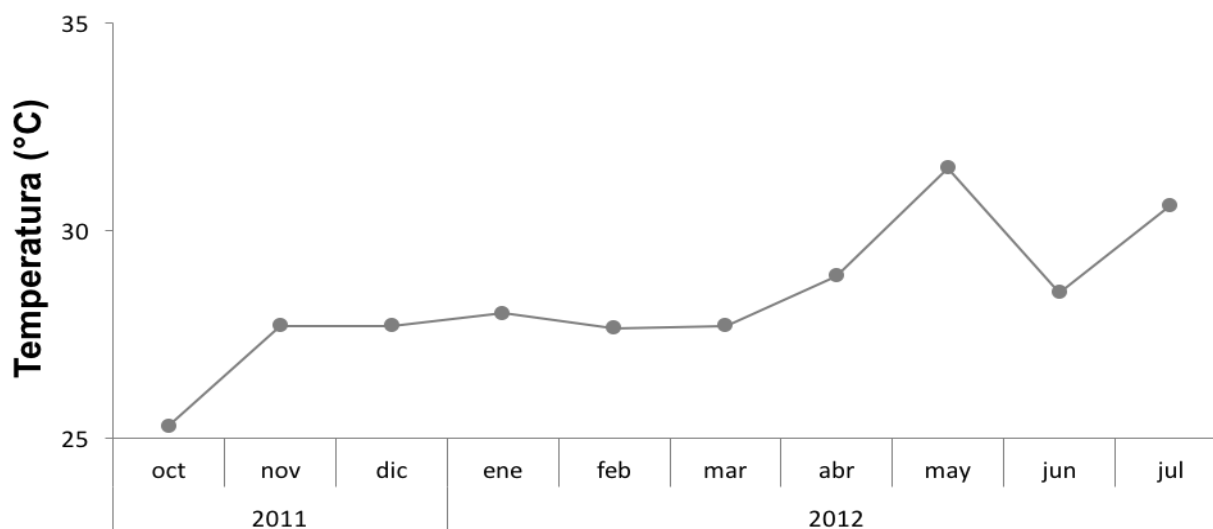
La variación pluviométrica registrada por el Instituto Meteorológico Nacional reportó la mayor precipitación en el mes de octubre de 2011, equivalente a 646 mm, que correspondió con la culminación de la época lluviosa, mientras que para los meses de febrero y marzo no se reportaron precipitaciones, lo que indica que en estos meses la época seca fue más marcada; de abril en adelante se presentaron precipitaciones leves pero en incremento constante conforme se acercaba el periodo de transición entre época seca y lluviosa (Figura 7).

La salinidad varió entre 28 y 35 ppt (promedio=32.9±1.9), en los meses de octubre y marzo, respectivamente; presentó un incremento paulatino para estabilizarse durante los últimos seis meses del estudio en 34.17±0.4 ppt; comportándose de manera inversamente proporcional a la precipitación (Figura 7). Estos parámetros fueron los que presentaron una mayor fluctuación.



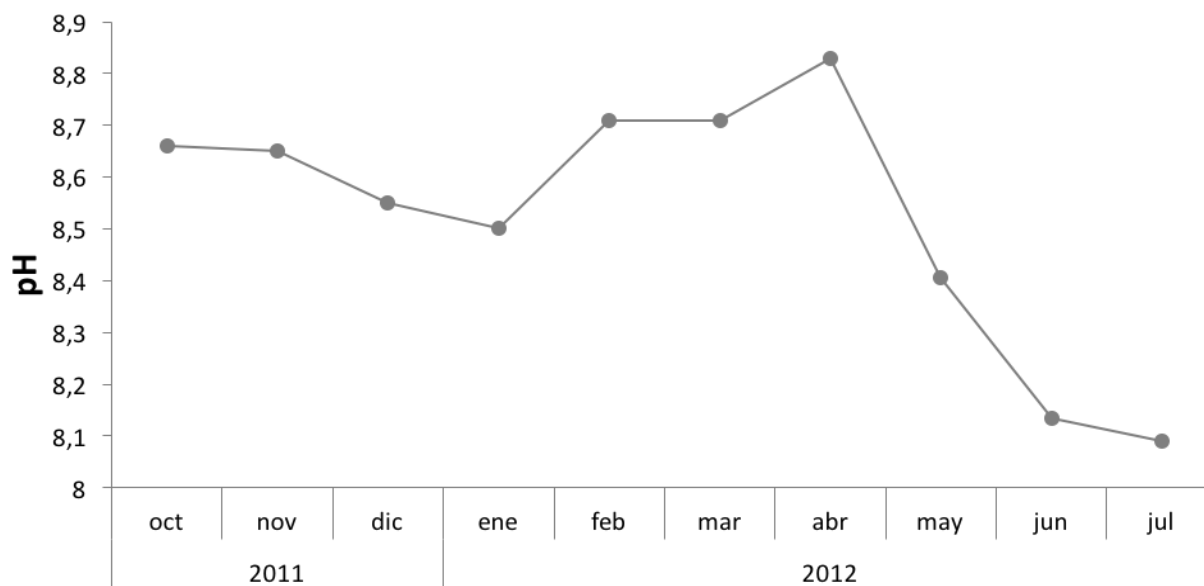
**Figura 7.** Valores de precipitación acumulada (mm) y salinidad (ppt), en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica, octubre 2011-julio 2012.

La temperatura del agua varió de 25.3 °C a 31.5 °C (promedio=28.4±1.6 °C), correspondiendo al mes de octubre de 2011 y mayo de 2012, respectivamente (Figura 8), coincidiendo el primero con el pico de mayor pluviosidad y el segundo con un periodo de muy poca precipitación.



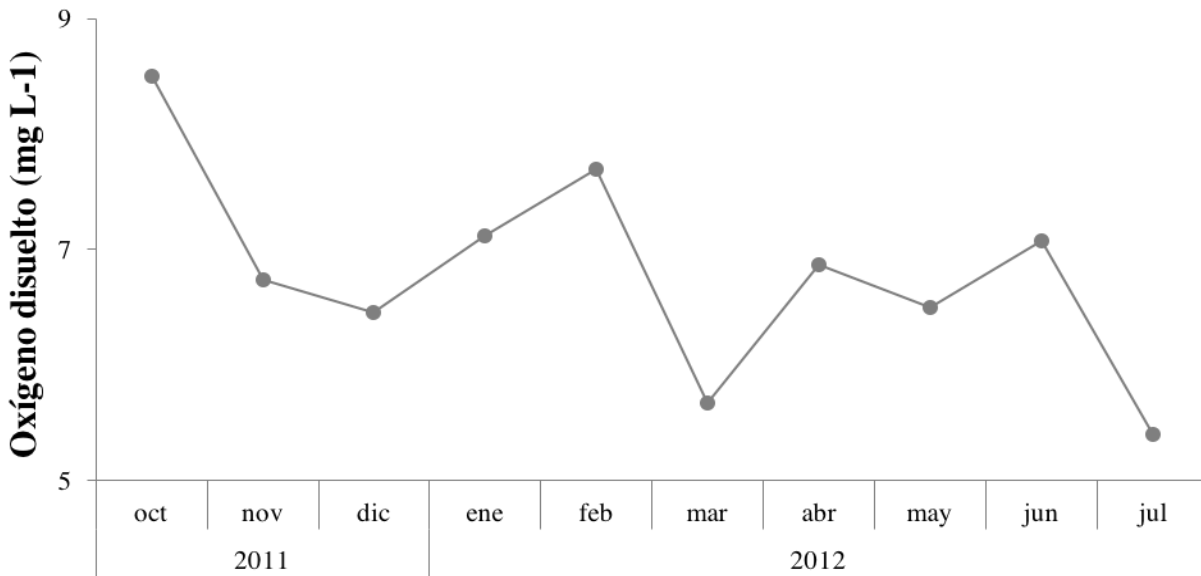
**Figura 8.** Valores de temperatura del agua (°C) registrados en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica, octubre 2011-julio 2012.

El comportamiento del pH mostró fluctuaciones entre 8.1 y 8.7 (promedio=8.5±0.2); el valor máximo se presentó en abril y el mínimo en julio de 2012; los valores siempre se mantuvieron por encima de 8 (Figura 9).



**Figura 9.** Valores de pH registrados en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica, octubre 2011-julio 2012

Durante el periodo de estudio, la concentración de oxígeno presentó valores mínimos de 5.4 mgL<sup>-1</sup> en el mes de julio del 2012 y máximos de 8.5 mgL<sup>-1</sup> en octubre de 2011; el promedio registrado fue de 6.8±0.9 mgL<sup>-1</sup> (Figura 10).

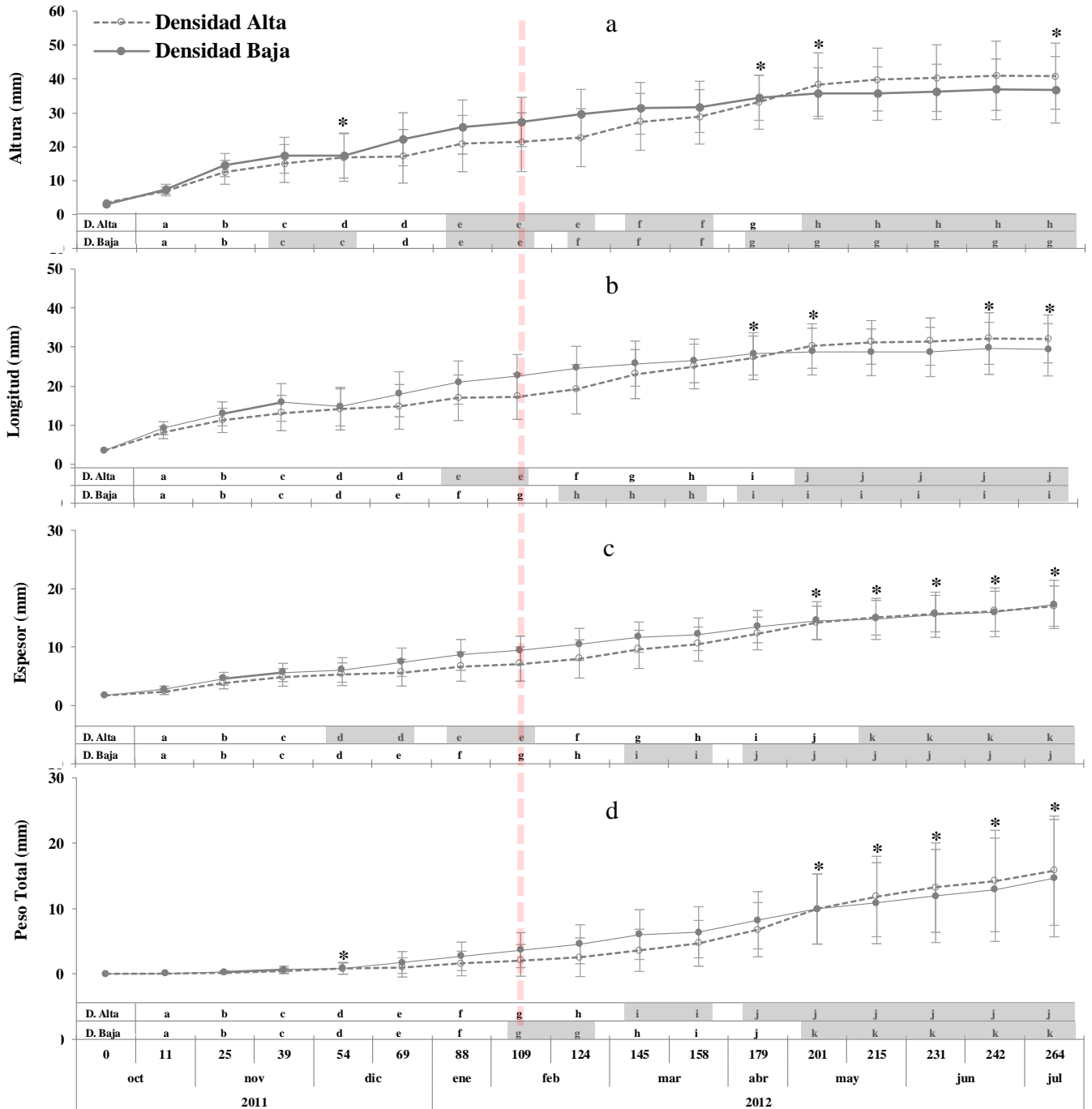


**Figura 10.** Niveles de Oxígeno disuelto (mgL<sup>-1</sup>) registrados en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica, octubre 2011-julio 2012.

### 3.2. Crecimiento

En ambos tratamientos, las variables morfométricas (H, L, E y P) presentaron un incremento significativo con respecto a los valores iniciales (P<0.05). No se logró determinar diferencia estadísticamente significativa entre ambos tratamientos, considerándolos a través de todo el periodo de estudio (P=0.79), previo al fenómeno donde se presentó el pico de mortalidad (P=0.47) o posterior a este (P=0.87).

Pese a esto, durante parte del periodo de estudio se encontraron diferencias significativas para los parámetros morfométricos entre tratamientos (P<0.05) hasta el día 201; posteriormente, las poblaciones de ambos tratamientos mostraron con mayor frecuencia una igualdad de medias (Figura 11).



**Figura 11.** Valores absolutos en tamaño de concha y el peso total de *C. rhizophorae* sometidos a dos densidades de cultivo con sus respectivas desviaciones estándar. Letras diferentes representan diferencias significativas de las medias entre los días de muestreo dentro de cada uno de los tratamientos ( $P < 0.05$ ). Asterisco (\*) representa igualdad de medias entre tratamientos ( $P < 0.05$ ) para el mismo día de muestreo. La línea punteada roja marca el momento en que se detectó la máxima mortalidad.

Durante la primera mitad del estudio se identificó una mayor frecuencia en el incremento de las variables biométricas entre periodos consecutivos de muestreo dentro de cada tratamiento; conforme transcurrió el tiempo, disminuyó esta frecuencia y prevalecieron periodos o fases de estancamiento en que los organismos no incrementaron su tamaño o peso de manera significativa. Estas fases de estancamiento en el crecimiento fueron más prolongadas a partir del mes de abril (día 179), donde para ambos tratamientos se observaron periodos de entre 50 y 85 días en los que no hubo un incremento en las variables biométricas (Figura 11).

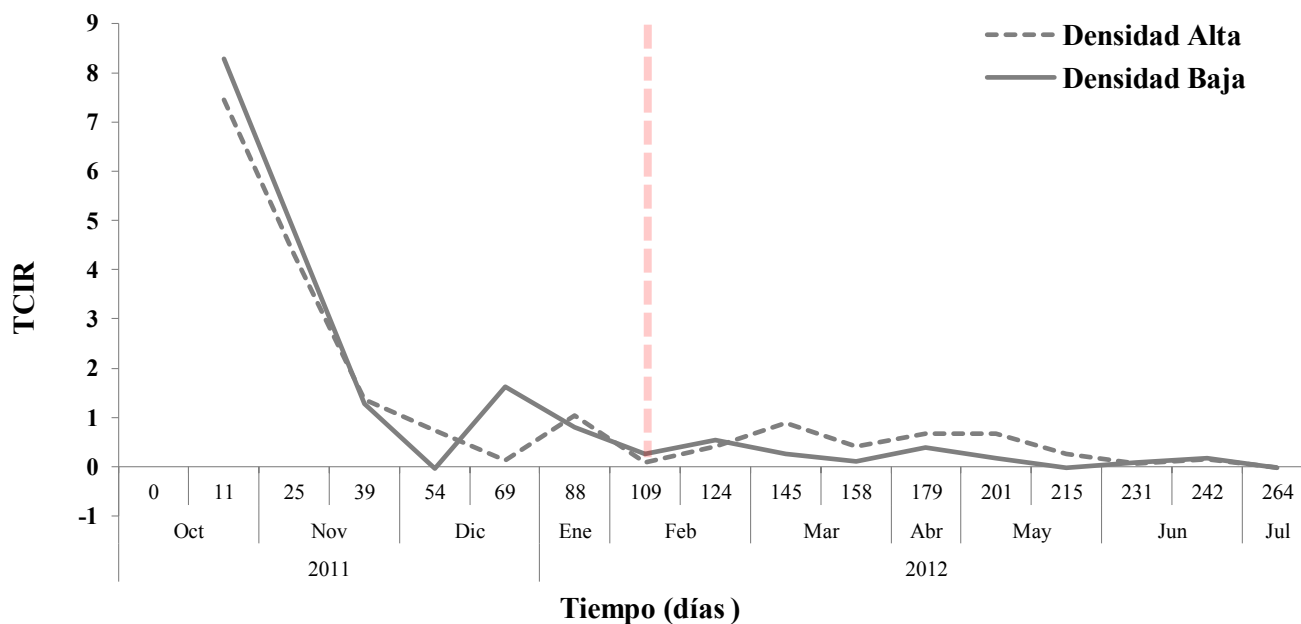
Las dimensiones de altura, longitud y espesor aumentaron en 13.3; 10.5 y 10 veces respectivamente, en relación con los valores iniciales. Con respecto a la altura, se obtuvo un valor medio  $39.9 \pm 9.9$  mm, con un intervalo de tallas de 23.0 a 69.9 mm, para ambos tratamientos. Los animales presentaron una tasa de crecimiento de  $4.3 \text{ mm mes}^{-1}$  ( $4.7 \text{ mm mes}^{-1}$  y  $3.9 \text{ mm mes}^{-1}$  para el tratamiento de alta y baja densidad, respectivamente). El peso fresco total de los organismos tras 264 días de seguimiento presentó un valor final  $15.5 \pm 8.5\text{g}$ ; lo que representa un incremento de más de 200 veces el valor inicial de las semillas al realizarse la siembra (Figura 11d).

Las tasas de crecimiento estimadas en función de la altura de los organismos, si bien difirieron levemente entre sí, presentaron, en ambos tratamientos, un comportamiento similar, por lo que los valores más elevados coincidieron durante los primeros días del experimento, para después tender a una disminución paulatina, encontrándose para el final del experimento los valores mínimos (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Indicadores de crecimiento de *C. rhizophorae* en función de la altura, cultivadas bajo un sistema tipo *longline* en Punta Cuchillo, Paquera, Costa Rica. TCA=tasa de crecimiento absoluto, TCR= tasa de crecimiento relativo, TCIR= tasa de crecimiento instantáneo relativo. Las casillas marcadas corresponden al día en que se detectó la mortalidad masiva.

Fecha	Día de muestreo	Densidad alta				Densidad baja			
		Altura (mm)	TCA	TCR	TCIR.	Altura (mm)	TCA	TCR	TCIR
20/10/11	0	3.00				3.00			
31/10/11	11	6.81	0.35	11.54	7.45	7.46	0.41	13.52	8.28
14/11/11	25	12.44	0.40	5.91	4.30	14.59	0.51	6.83	4.79
28/11/11	39	15.05	0.19	1.50	1.36	17.48	0.21	1.41	1.29
13/12/11	54	16.82	0.12	0.78	0.74	17.38	-0.01	-0.04	-0.04
28/12/11	69	17.16	0.02	0.13	0.13	22.21	0.32	1.85	1.63
16/01/12	88	20.92	0.20	1.15	1.04	25.82	0.19	0.86	0.79
06/02/12	109	21.35	0.02	0.10	0.10	27.32	0.07	0.28	0.27
21/02/12	124	22.67	0.09	0.41	0.40	29.63	0.15	0.56	0.54
13/03/12	145	27.34	0.22	0.98	0.89	31.34	0.08	0.27	0.27
26/03/12	158	28.82	0.11	0.42	0.41	31.77	0.03	0.11	0.11
16/04/12	179	33.14	0.21	0.71	0.66	34.46	0.13	0.40	0.39
08/05/12	201	38.35	0.24	0.72	0.66	35.76	0.06	0.17	0.17
22/05/12	215	39.82	0.10	0.27	0.27	35.67	-0.01	-0.02	-0.02
07/06/12	231	40.24	0.03	0.07	0.07	36.18	0.032	0.09	0.09
18/06/12	242	40.96	0.06	0.16	0.160	36.91	0.066	0.18	0.18
10/07/12	264	40.81	-0.01	-0.02	-0.02	36.80	-0.005	-0.01	-0.01

En referencia a la tasa de crecimiento instantáneo relativo (TCIR), se observa la misma tendencia que en las demás medidas de crecimiento, incluso presentándose valores negativos durante los últimos días de muestreo (Figura 12).



**Figura 12.** Tasa de crecimiento relativo Instantáneo (TCIR) para la altura de *C. rhizophorae* en cultivo suspendido tipo *longline* en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica. La línea punteada roja marca el momento en que se detectó la máxima mortalidad.

Según el modelo generado para conocer la influencia de los parámetros ambientales sobre el crecimiento de *C. rhizophorae*, la integración de los parámetros ambientales en los modelos permitió explicar de manera estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ) la variabilidad de los parámetros morfométricos durante el periodo de estudio. Sin embargo, bajo las consideraciones del modelo generado a partir de la regresión múltiple, la salinidad y la temperatura fueron las variables ambientales que explican en mayor proporción el crecimiento de la especie sometida a dos densidades de cultivo en sistemas suspendidos tipo *longline*, apareciendo en la mayoría de los casos, únicamente no contemplándose la temperatura para la longitud en el tratamiento a baja densidad. Por otra parte, el oxígeno fue la variable que con mayor frecuencia fue excluida del modelo, figurando solamente en la altura y longitud del tratamiento a baja densidad.

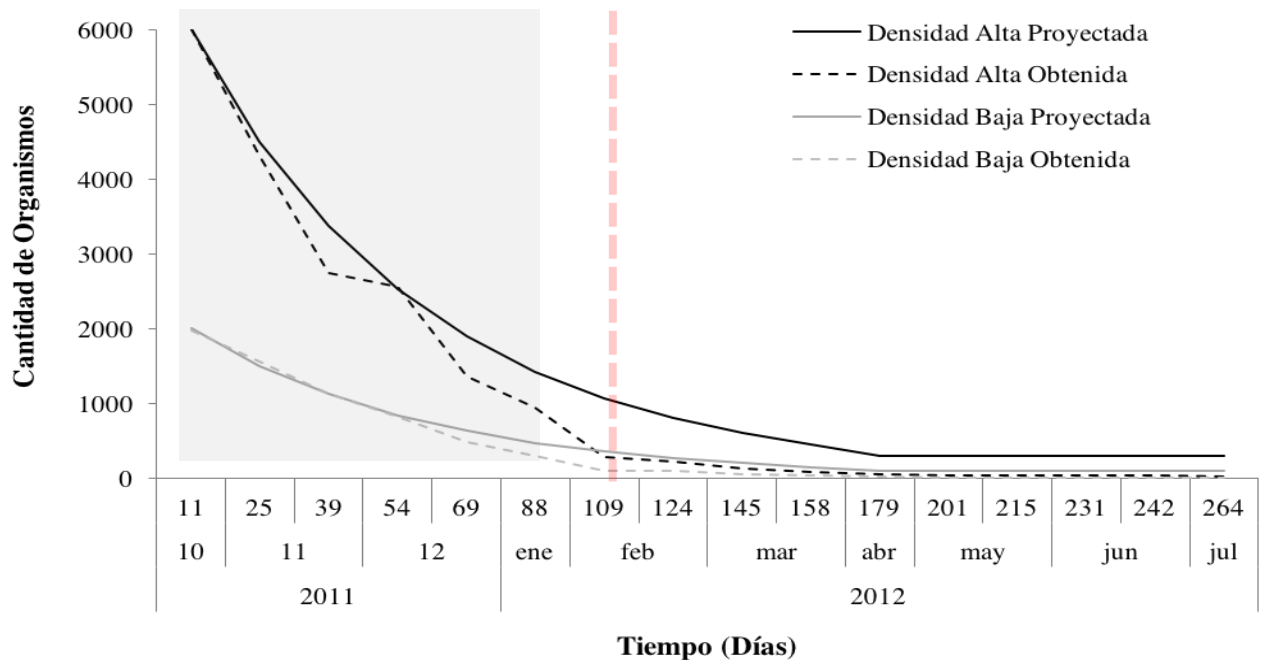
**Cuadro 2.** Modelo explicativo para las fluctuaciones de las variables morfométricas con respecto a los parámetros ambientales, obtenidos mediante análisis de regresión múltiple

Tratamiento	Parámetro	Modelo	R <sup>2</sup>	GL	P
Baja densidad	Altura	$-97.10 + 4.45 (S) + 1.28 (T) - 8.35 (pH) + 1.88 (O_2)$	95.7	5	0.007
	Longitud	$-85.67 + 3.64 (S) - 5.25 (pH) + 1.47 (O_2) + 0.01 (P)$	96.3	5	0.006
	Espesor	$-31.96 + 2.28 (S) + 0.60 (T) - 6.18 (pH) + 0.01 (P)$	96.1	5	0.006
	Peso	$-15.05 + 2.42 (S) + 0.67 (T) - 9.49 (pH) + 0.02 (P)$	96.2	5	0.006
Alta densidad	Altura	$-90.33 + 5.20 (S) + 0.02 (P) + 2.31 (T) - 15.50 (pH)$	95.8	5	0.007
	Longitud	$-81.35 + 4.31 (S) + 1.40 (T) - 10.04 (pH) + 0.02 (P)$	95.5	5	0.008
	Espesor	$-29.11 + 2.31 (S) + 0.86 (T) - 7.64 (pH) + 0.01 (P)$	96.2	5	0.005
	Peso	$8.97 + 2.23 (S) + 0.98 (T) - 12.66 (pH) + 0.01 (P)$	96.6	5	0.004

S: Salinidad, T: Temperatura; pH: Nivel de acidez del agua; O<sub>2</sub>: Oxígeno disuelto en el agua, P: Precipitación

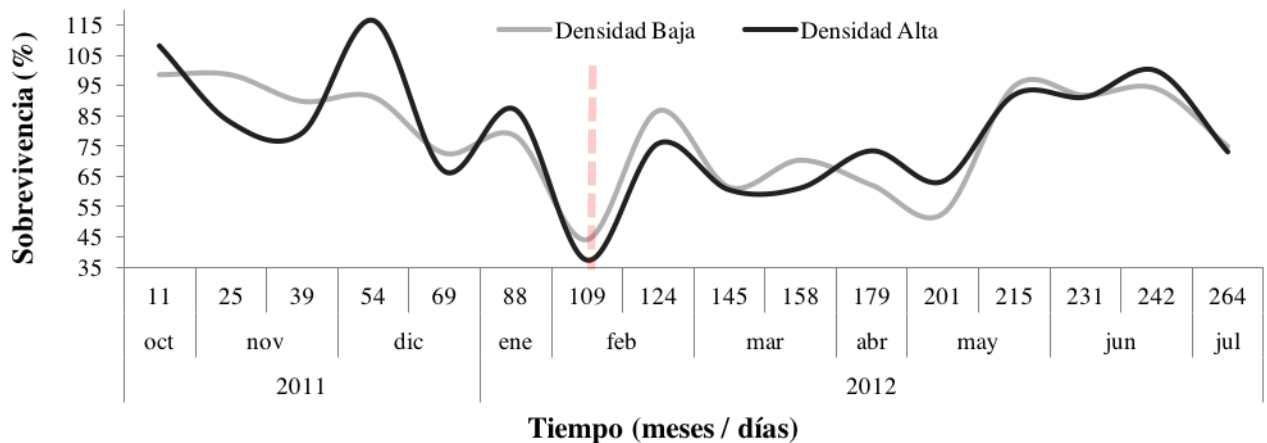
### 3.3. Supervivencia

Es importante considerar que para el día 109 de la prueba se registró una mortalidad del 56% y 63% para los tratamientos a densidad baja y alta, respectivamente (Figura 13); debido a este factor se suspendieron los ajustes de densidad mediante releas del 25% para ambos. Dada la elevada mortalidad, las densidades finales obtenidas estuvieron entre un 80-90% por debajo de las proyectadas.



**Figura 13.** Variaciones de las densidades para *C. rhizophorae* sometida a dos densidades de cultivo en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica. El periodo denotado correspondió a los días en los que se pudo realizar el reajuste de densidad y la línea vertical punteada marca el momento en que se detectó la máxima mortalidad.

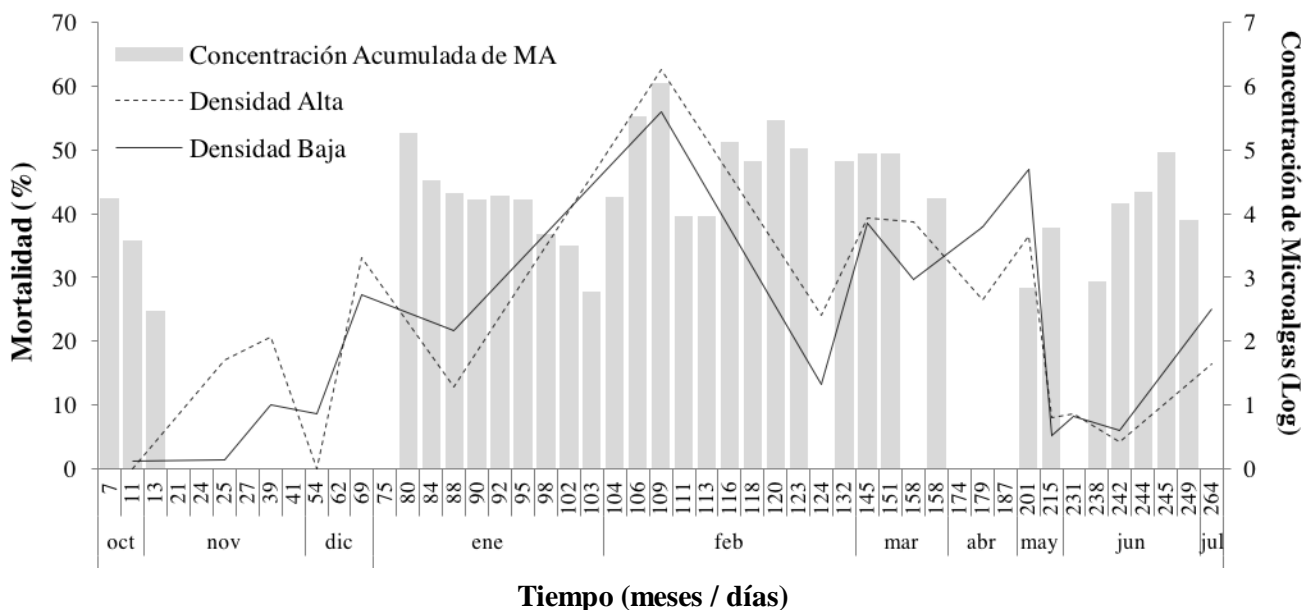
Con respecto a la tasa de sobrevivencia relativa, ambos tratamientos presentaron un patrón similar; el mes de febrero se registraron los mínimos valores: 44% y 37% para los tratamientos de baja y alta densidad, respectivamente (Figura 14).



**Figura 14.** Sobrevivencia relativa de *C. rhizophorae* desde octubre de 2011 hasta junio de 2012 en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica. La línea vertical punteada marca el momento en que se detectó la máxima mortalidad.

El análisis de regresión múltiple empleado para determinar el efecto de los parámetros ambientales (salinidad, temperatura, pH, concentración de oxígeno y precipitación) sobre la mortalidad para ambos tratamientos no logró establecer una relación con significancia estadística que lograra vincularlos.

Durante la ejecución de este trabajo se presentó un fenómeno de floraciones algales nocivas (FAN's), la mayor mortalidad registrada en ambos tratamientos se dio en el mes de febrero (Figura 15), situación que coincidió con un evento de floración algal de *Alexandrium monilatum*, *Cochlodinium catenatum* y *Gymnodinium catenatum*, especies catalogadas como tóxicas.



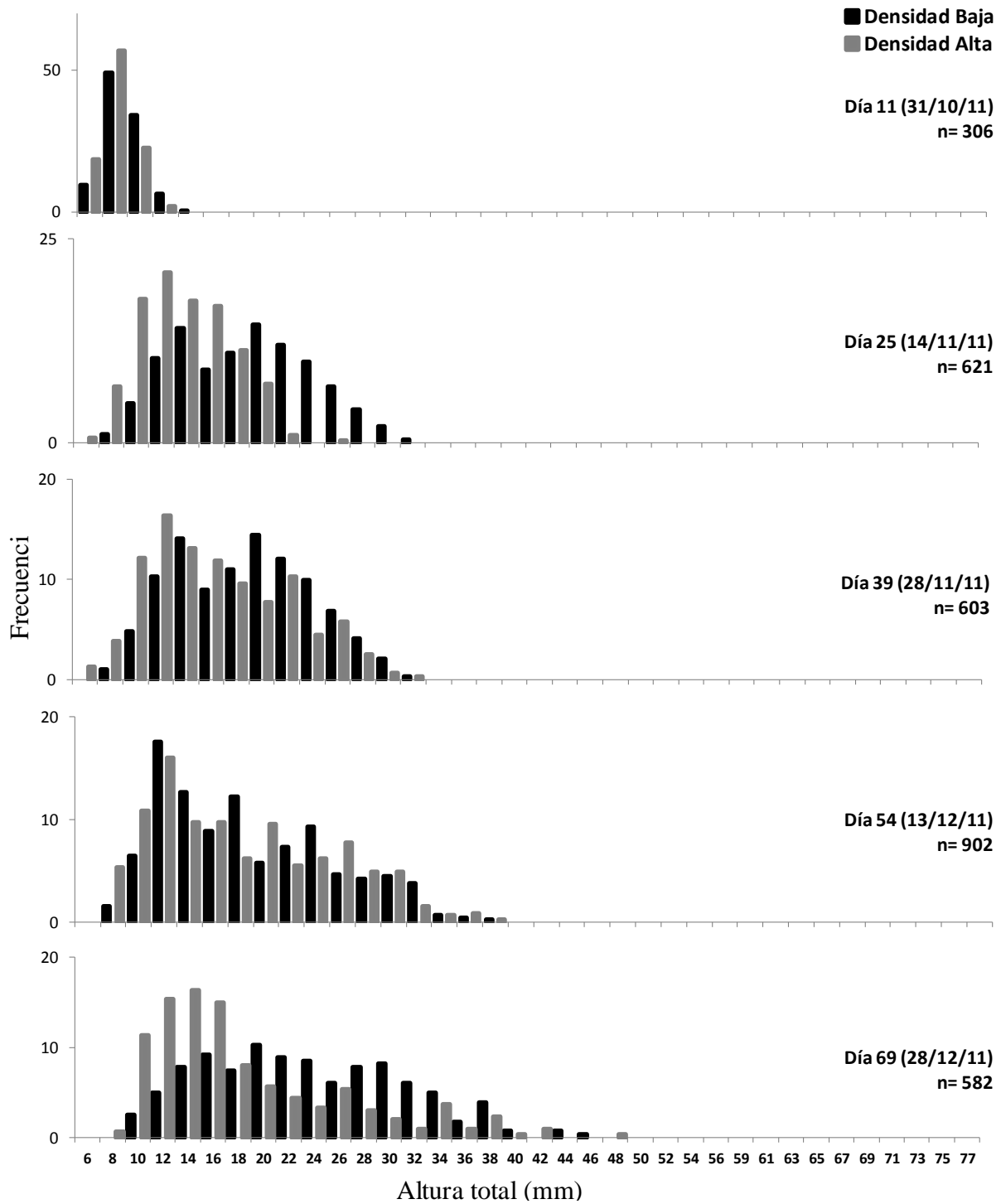
**Figura 15.** Mortalidad relativa de *C. rhizophorae* en dos tratamientos de cultivo durante un periodo de aproximadamente nueve meses, así como la concentración acumulada de tres especies de microalgas potencialmente nocivas (MA) en el sector de Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica.

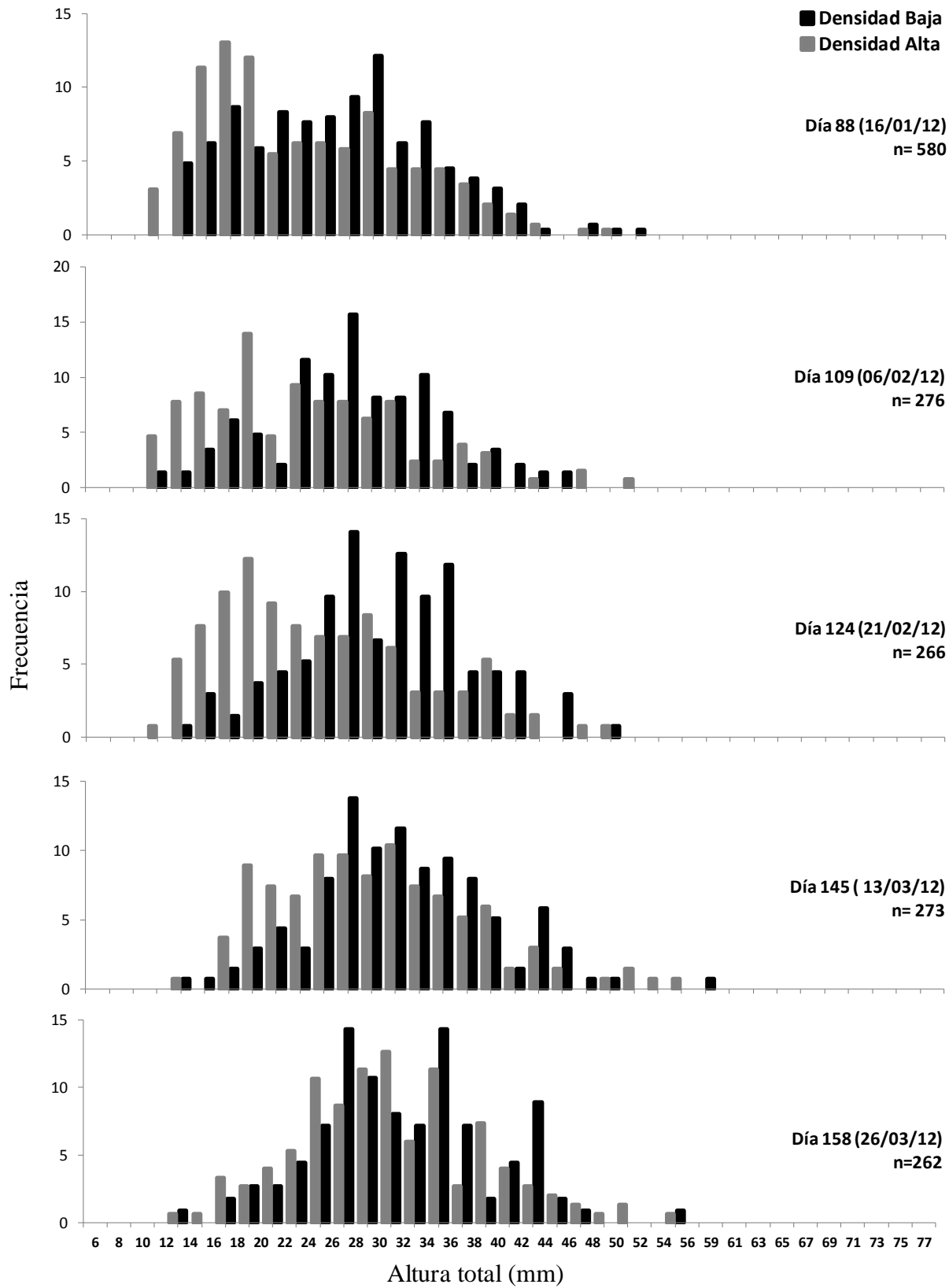
Tras la aplicación de análisis de regresión múltiple, los modelos no lograron explicar la fluctuación de la mortalidad en función de las concentraciones microalgales para el tratamiento de baja densidad ( $P=0.33$ ) ni para el de alta densidad ( $P=0.10$ ); tampoco se logró la vinculación de los parámetros ambientales (salinidad, temperatura, concentración de oxígeno, pH y precipitación) para los tratamientos a baja ( $P=0.19$ ) ni alta ( $P=0.08$ ) densidad. Sin embargo, el coeficiente de correlación de Pearson para ambos tratamientos (densidad Baja  $r=0,31$  densidad alta  $r=0.23$ ) mostró una correlación positiva de baja magnitud en función del incremento de la concentración de las tres especies de microalgas.

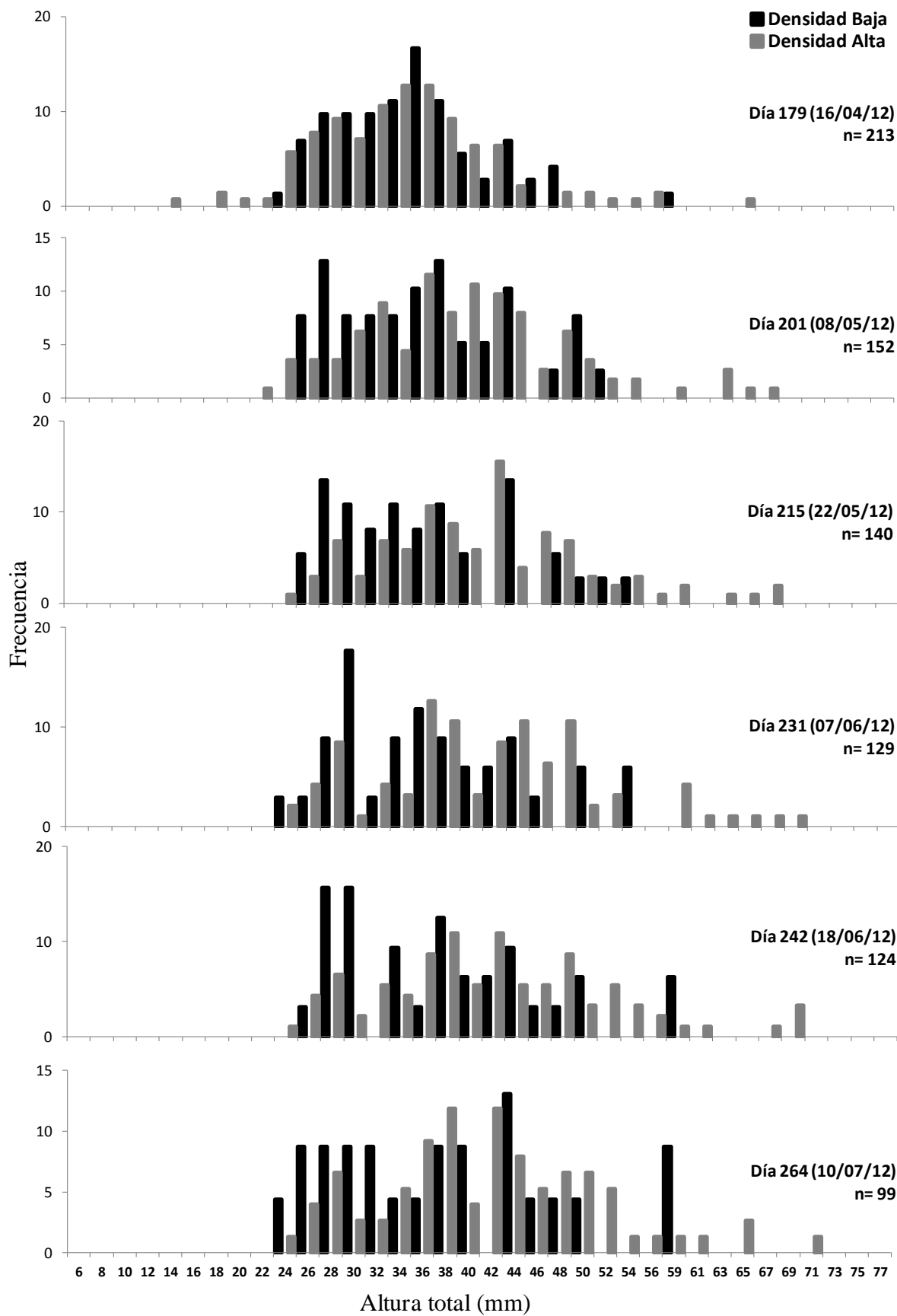
### **3.4. Composición poblacional**

Los histogramas de frecuencia de talla para ambos tratamientos presentaron un patrón similar; desde octubre y hasta abril se presentó una distribución que podría definirse como unimodal; sin embargo, en febrero se presentó una variación de este patrón para terminar la experiencia con una distribución de clases polimodal (Figura 16).

Hasta el día 54, ambos tratamientos se comportaron de manera muy similar en lo que respecta a la distribución de frecuencias; posterior al día 69, el tratamiento de alta densidad presentó una mayor proporción de organismos con tallas inferiores a 20mm, mientras que el tratamiento a densidad baja mostró una mayor cantidad de organismos en el intervalo comprendido entre 20-30mm. Esta condición parece potenciarse a partir del día 109 tras el fenómeno de mortalidad masiva que se presentó; seguido por una tendencia a la normalización de la distribución de frecuencias en ambos tratamientos que se mantuvo hasta el día 179, cuando empezó a mostrar un patrón de distribución de frecuencias de tipo polimodal y que se mantuvo hasta la conclusión de este trabajo.







**Figura 16.** Distribución de frecuencias de la altura de *C. rhizophorae* sometida dos densidades de cultivo, en un sistema tipo *longline* en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica.

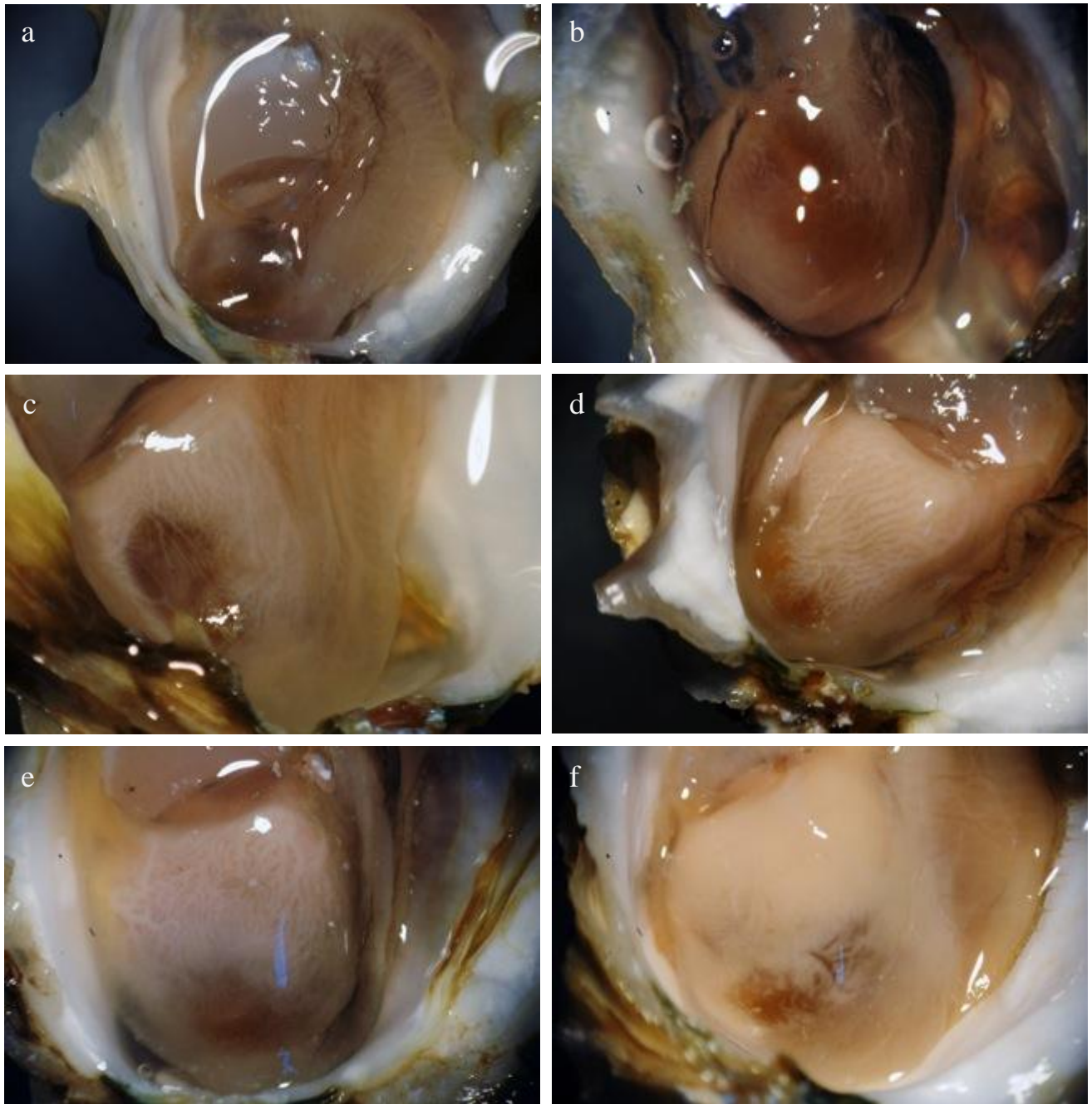
### 3.5. Proporción y madurez sexual

En el día 88 de cultivo se tomó una muestra aleatoria de 41 organismos. Entre los dos tratamientos el rango de tallas estuvo comprendido entre 12.4 – 39.9mm de altura (Figura 17). La talla mínima, a la que fue posible identificar el sexo de los organismos fue de 23.6 mm.



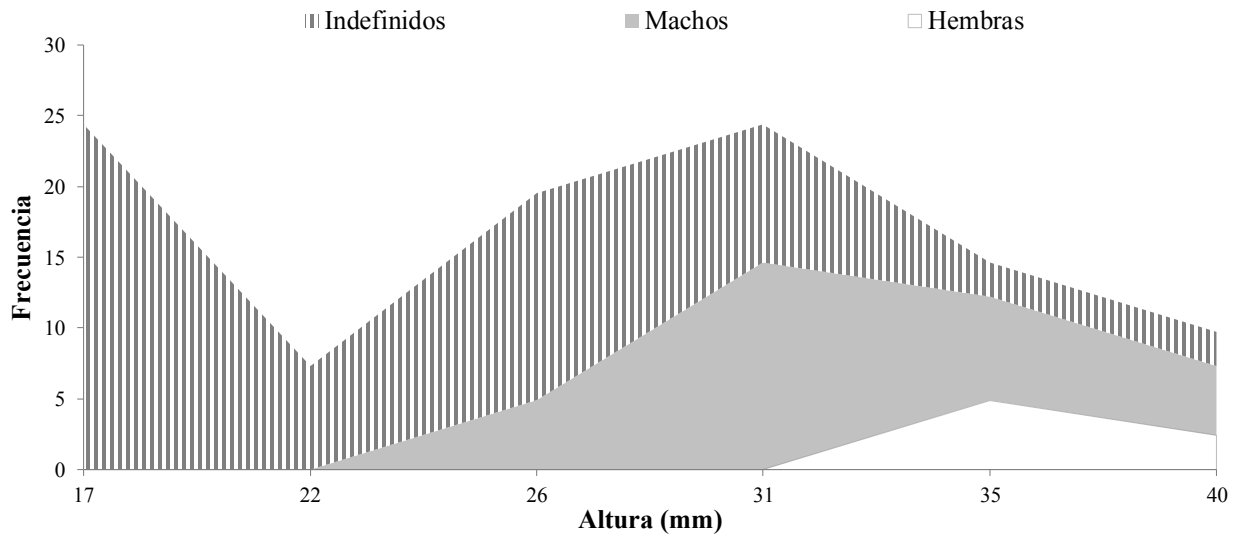
**Figura 17.** Lote de organismos empleado para realizar las determinaciones de proporción sexual y madurez de *C. rhizophorae* bajo condiciones de cultivo en Punta Cuchillo, Paquera, Golfo de Nicoya, Costa Rica.

Se identificaron organismos inmaduros, en los que la gónada se observó traslúcida (Figura 18 a) y con ausencia de gametos; maduros (machos y hembras) con distinto grado de desarrollo gonádico en función de la coloración y llenado gonadal. La coloración de la gónada entre sexos fue la misma; los grados de madurez tempranos se caracterizaron por un llenado leve con la presencia de venaciones o ramificaciones blanquecinas (Figura 18 b); conforme el grado de madurez se incrementó, estas venaciones se engrosaron (Figura. 18 c-e), hasta que resultó imposible distinguir la individualidad de estas y se observó un área con coloración homogénea (Fig. 18 f).



**Figura 18.** Grados de desarrollo gonadal encontrados en organismos de *C. rhizophorae*, (a) inmadura, (b) desarrollo temprano, (c-e) incremento paulatino en la madurez gonadal y (f) máximo estado de de madurez encontrado en un individuo (macho)

De la totalidad de organismos examinados, el mayor porcentaje correspondió a los inmaduros (61%), seguido por los machos (32%) y por un 7% de hembras. La talla mínima a la que se logró identificar el sexo fue de 23.6 mm y correspondió a machos; a partir de los 34mm se dio la ocurrencia de hembras; los organismos inmaduros se encontraron presentes a través de todo el ámbito de tallas, con una tendencia a la disminución en función al aumento de talla (Figura 19).



**Figura 19.** Variación del sexo de *C. rhizophorae* según la altura, bajo condiciones de cultivo en Punta Cuchillo, Paquera, Gofu de Nicoya, Costa Rica

## 4. Discusión

### 4.1. Parámetros ambientales

Experiencias en laboratorio con *C. rhizophorae* han demostrado que es una especie eurioica y resistente a variaciones amplias tanto de temperatura como de salinidad (Poza y Rodríguez, 1987). Los rangos reportados para esta especie en distintos países por Angel (1986) varían entre los 18-34°C y 11-40 ppt; no obstante, observaciones realizadas por Madrigal *et al.* (1985) establecen la tasa de filtración óptima para esta especie a 28°C y 25 ppt.

Para este trabajo la temperatura promedio estuvo cercana a la óptima reportada; sin embargo, la salinidad promedio fue de 32.9 ppt lo que podría interferir en algunos procesos fisiológicos (Lunetta y Grotta, 1982); Pereira, Akaboshi y Soares (1988) encontraron que las mayores tasas de crecimiento y sobrevivencia se presentan a bajas salinidades, mientras que en Brasil (Vilanova y Fonteles, 1989; Alvarenga y Cunha, 2006) y en Cuba (Betanzos *et al.*, 2010) se han asociado las altas salinidades a tallas pequeñas de organismos, lo que podría explicar el reducido tamaño que se presentaron en este estudio ( cercano a 40 mm de altura).

Para especies del género *Crassostrea*, la temperatura y la disponibilidad de alimento son unos de los principales factores que explican de mejor manera su crecimiento (Powell, Song, Ellis y Wilson, 1995; Hyun *et al.* (2001). Villarroel *et al.* (2004) registraron un crecimiento de 13.3 mm a los seis meses de cultivo en semillas de 30mm de altura de *C. rhizophorae* cultivadas bajo condiciones de surgencias discontinuas, en los que encontraron periodos de poca disponibilidad de alimento; ellos concluyen que estos factores incidieron en el bajo crecimiento de la población en estudio; de otro modo, Buitrago *et al.* (2009) consideraron que en ambientes con elevada biomasa fitoplanctónica, la disponibilidad de alimento no representa una variable significativa en función del crecimiento, así como tampoco los parámetros ambientales con poca variabilidad, siempre y cuando se encuentren dentro de los valores de tolerancia para la especie.

En el modelo explicativo para las variables biométricas en relación con los parámetros ambientales, mostró que la integración de estos (incluyendo la precipitación), se relacionaron con el incremento de las distintas variables biométricas. En el modelo, el parámetro de la concentración de

oxígeno disuelto fue excluido con mayor frecuencia, por lo que parece tuvo menor injerencia sobre el comportamiento de las variables biométricas, no debido a su falta de importancia, ya que es indispensable para el desarrollo adecuado de los organismos, sino, probablemente asociado a la poca variabilidad que presentó este durante el periodo de estudio y al encontrarse siempre por encima de los niveles recomendados. Los valores de la concentración de oxígeno se mantuvieron sobre los 5 mgL<sup>-1</sup>, lo que es indicativo de una buena disponibilidad de este (Villaruel *et al.* 2004).

Durante todo el periodo en que se efectuó el estudio, el nivel de pH se mantuvo sobre 8, que son niveles que se consideran adecuados para el cultivo de moluscos bivalvos; ya que estos niveles se encuentran por encima del límite en el que puede generarse un deterioro significativo de la concha, asociado a procesos de descalcificación (Waldbusser, Steenson y Green, 2011), con lo que podría darse una desaceleración del crecimiento.

#### **4.2. Crecimiento y sobrevivencia**

Durante los primeros 109 días del experimento (hasta el momento en que se presentó la mortalidad masiva), se observaron incrementos constantes significativos en las dimensiones morfométricas en ambos tratamientos entre periodos de muestreo consecutivos, lo que coincide con diversos autores que han evaluado el patrón de crecimiento en poblaciones naturales en que determinó un crecimiento acelerado durante los primeros meses de vida, tendiendo a disminuir conforme los organismos incrementaban su edad (Prieto *et al.*, 2012; González *et al.*, 2015).

De igual manera. el mismo patrón de crecimiento ha sido reportado en organismos cultivados (Pacheco *et al.*, 1983; Buitrago *et al.* 2009). Alvarenga & Cunha (2006) encontraron una caída exponencial en la tasa de crecimiento instantánea a través del tiempo y su estancamiento en el desarrollo a partir del quinto mes de estudio, esto fue atribuido principalmente a niveles de salinidad superiores a 30 ppt. De la misma manera, en este trabajo se registraron valores superiores a 30 ppt con excepción del primer mes de estudio, por lo que podría considerarse como un factor potencial.

Para este estudio se encontró que, el periodo previo al momento de la máxima mortalidad, el tratamiento de baja densidad presentó una tasa de crecimiento mayor que la del tratamiento de alta densidad; sin embargo, después de este momento se dio un punto de inflexión en el que este patrón se

invierte, hasta terminar ambos tratamientos con valores muy similares. De Azevedo, Tonini, dos Santos & Braga (2015) reportan para *C. rhizophorae* cultivada en efluentes de granjas de camarón, en que las ostras cultivadas en menor densidad crecieron, un 15% más que aquellas cultivadas a mayor densidad; de igual manera se ha reportado un mejor crecimiento de *C. gigas* en densidades menores (Roncarati, Felici, Magi, Bilandžić & Melotti, 2017; Marshall & Dunham, 2013). El crecimiento de moluscos bivalvos se ve afectado de manera negativa con respecto al incremento de la densidad (Hadley & Manzi, 1984; Alfaro, 2006) por un incremento en la competencia por el espacio y alimento disponibles.

Se dificultó comparar los valores obtenidos en este trabajo con los reportados por otros autores, debido a tres aspectos fundamentales: la procedencia de la semilla, la talla de siembra y el periodo de estudio. Para este estudio se emplearon semillas producidas en laboratorio, mientras que la mayoría de las investigaciones ha utilizado semilla colectada del medio natural, con tallas de siembra de al menos 30 mm, mientras que la talla empleada para este trabajo fue significativamente menor (2.8 mm). La tasa de crecimiento promedio para esta especie, basándose en información publicada por distintos autores ronda los 5.3 mm mes<sup>-1</sup>, partiendo de organismos con tallas desde 10-45mm, y empleando distintos sistemas de cultivo.

Considerando como punto de inicio una talla cercana a los 30 mm empleada por Villaroel *et al.* (2004), el incremento total en la altura (H) reportado fue cercano al 45%, mientras que para este trabajo resultó menor, entre el 19% y 29% para los tratamientos a baja y alta densidad respectivamente, la tasa de crecimiento mensual para el tratamiento a baja y alta densidad fue de 1.6 mm mes<sup>-1</sup> y 4.2mm mes<sup>-1</sup>, respectivamente; lo que implica que durante los últimos meses (posterior al pico de mortalidad) el tratamiento a baja densidad experimentó muy poco crecimiento, mientras que el tratamiento a alta densidad mostró un crecimiento significativamente mayor.

Es importante recalcar que para las variables biométricas evaluadas, el tratamiento con baja densidad mostró valores mayores al tratamiento con alta densidad, hasta el día 109 (momento en que se dio el máximo pico de mortalidad). Posterior a esto, empezó a invertirse la tendencia y el tratamiento con mayor densidad presentó mayores tasas de crecimiento que el de baja; esto pudo deberse a una modificación de la composición y densidad poblacional de los tratamientos como efecto de la mortalidad, con lo que la cantidad de organismos en el tratamiento con mayor densidad disminuyó lo suficiente como para que la densidad de individuos dejara de ser un factor limitante en el crecimiento.

Si bien no se encontró una explicación para la inversión en las tasas de crecimiento entre los tratamientos, este podría estar asociado en cierto grado con un fenómeno conocido como “crecimiento compensatorio”, que es la capacidad que tienen algunos organismos de crecer a tasas más aceleradas que las normales, después de intervalos de crecimiento. Este patrón de crecimiento se encuentra asociado a condiciones de estrés como la reducción del suministro de alimento o variaciones en la temperatura (Schultz, Lakford & Conover, 2002; Ali, Niecieza y Wootton, 2003); también, densidades de cultivo elevadas son consideradas condiciones de estrés en las que se genera una competencia por espacio y alimento (Alfaro, 2006).

En moluscos bivalvos se ha encontrado la capacidad de desarrollar este tipo de crecimiento compensatorio durante estadios tempranos de desarrollo, en que los organismos sobrevivientes al proceso de estrés como la privación alimenticia o inanición presentan la capacidad de tener este tipo de crecimiento (Yan, Zhang, Huo, Yang y Guofan, 2009; Kheder, Quéré, Moal & Robert, 2010). Sería necesario realizar investigaciones dirigidas a determinar la potencialidad que esta especie tiene para manifestar este tipo de crecimiento.

Una posible causa que puede afectar el crecimiento y la sobrevivencia en moluscos bivalvos es el grado de estrés mecánico que pueden sufrir los animales en función del tipo de sistema de cultivo empleado. Lodeiros *et al.* (2006) consideran que la perturbación causada por el oleaje en los sistemas de cultivo tipo *longline* es mayor que el experimentado en los sistemas tipo balsas, ya que estas últimas estructuras poseen un mayor nivel de amortiguamiento. Por lo anterior, consideraron que el tipo de sistema de cultivo tuvo un rol preponderante en el menor crecimiento obtenido para *C. rhizophorae*; de la misma manera, ocurrió con *Euvola ziczac* en la que el estrés generado por el oleaje en el *longline* interfirió de manera significativa en su crecimiento y sobrevivencia (Freites, Côté, Himmelman & Lodeiros, 1999).

Distintos autores como Freites, Himmelman & Lodeiros (2000), Villarroel *et al.* (2004), Lodeiros y Freites (2008), Buitrago *et al.* (2009) y Nuñez *et al.* (2010), señalan la presencia de depredadores (principalmente el gasterópodo del género *Cymatium*), como uno de los principales factores asociados a la mortalidad en el cultivo de moluscos bivalvos. Sin embargo, durante todo el ensayo únicamente fueron detectados dos de estos gasterópodos en los sistemas de cultivo, por lo que para este experimento no representaron un factor que pudiera influir en la sobrevivencia obtenida.

### **4.3. Composición poblacional**

Este tipo de análisis no es común de observarse en estudios similares; no obstante, se consideró importante conocer el comportamiento del crecimiento y la distribución de frecuencias de tallas ya que, desde el punto de vista comercial, permite tener un criterio mejor fundamentado para realizar proyecciones de cultivo.

Ambas poblaciones inician con una distribución de tallas muy semejante entre ellas, sin embargo, la “densidad alta” presentó una mayor frecuencia de individuos de menor tamaño y esta tendencia se mantuvo incluso después de ser registrado el máximo pico de mortalidad; en ninguno de los dos tratamientos la mortalidad presentó distinción entre las clases de talla. Se observó una normalización de la distribución de frecuencias entre ambos tratamientos, tendiendo hacia la normalidad hasta cerca del día 179 en que la frecuencia encontrada en ambos tratamientos mostró una propensión a distribuirse en un mayor número de clases debido, probablemente, a la reducción de la población sobreviviente. Al finalizar el ensayo, los organismos con mayores tallas se encontraron en el tratamiento con mayor densidad, aunque en muy baja frecuencia.

Los histogramas de frecuencia de talla para ambos tratamientos exhibieron un patrón similar entre octubre de 2011 hasta abril de 2012 presentando una distribución unimodal, con una tendencia en el tratamiento de mayor densidad a tener un aumento en la proporción de individuos de tallas menores que el tratamiento a menor densidad, de Acevedo y otros (2015), el cual encontró un mayor crecimiento en organismos cultivados a menor densidad.

### **4.4. Proporción y madurez sexual**

Las ostras del género *Crassostrea ssp.* son consideradas hermafroditas secuenciales sin dimorfismo sexual y cuya alternancia de sexo está en función de la edad y las condiciones ambientales presentes (Galtsoff, 1964; Andrews, 1979). El único registro realizado a la población de estudio determinó una mayor proporción de machos que de hembras (4 : 1), similar a lo reportado por Pacheco *et al.* (1983) para un lote cultivado en Estero Vizcaya, Costa Rica; además, se nota una mayor

prevalencia de machos en tallas menores, lo que coincide con lo reportado por Nascimento, Da Silva, Ramos y Santos (1980) en Brasil; Velez (1976 y 1982) en Venezuela; y Alarcón y Zamora (1993) en Costa Rica.

La proporción sexual y los rangos de talla de los individuos en función de su sexo podría ser atribuible a la estrategia reproductiva de hermafroditismo secuencial de tipo protándrico, reportado para esta especie por Velez (1982). Esto implica que conforme la cohorte crece la proporcionalidad de hembras aumentará en el tiempo; la ventaja que presenta esta estrategia reproductiva es que los machos tienen una mayor capacidad fisiológica para la recuperación gonádica en corto tiempo comparados con las hembras, por tanto, el mayor número de hembras representará un mayor éxito reproductivo de la especie (Lenz y Boehs, 2011).

La variación en la proporción sexual es intrínseca de los organismos y está determinada por pocos genes (Guo, Hedgecock, Hershberger, Cooper y Allen, 1998). Empero, Yusa (2007) y Lee, Cho, Jin, Park, & Shin, (2009) reportan que la exposición a contaminantes químicos considerados como interruptores endocrinos (EDC's) pueden afectar los estímulos hormonales asociados a la regulación de los ciclos reproductivos.

En este trabajo se encontró que la talla mínima a la que fue posible la diferenciación de gametos fue de 23.6 mm, cifra semejante a 20-25mm, reportada por Nascimento *et al.* (1980) en Brasil. Sin embargo, resulta significativamente mayor que las reportadas por Pacheco *et al.* (1983), de 13 mm en una población en Estero Vizcaya, Costa Rica, y 10mm encontrada por Velez (1976) en Venezuela. Estudios recientes (Santerre *et al.*, 2013) han demostrado que para *C. gigas* el incremento en la temperatura acelera el proceso de diferenciación sexual, por lo que sería importante valorar si para *C. rhizophorae* representa un factor influyente.

#### 4.5. Posible efecto causado por floraciones algales potencialmente nocivas

King et al. (2006) encontraron que, para *C. gigas* en condiciones de cultivo en Reino Unido, la composición del fitoplancton disponible influye en la tasa de crecimiento, además, puede tener un efecto en la mortalidad en aquellos casos en que se dé la presencia de floraciones algales potencialmente nocivas. No solo la composición del fitoplancton en forma de clorofila *a* resulta como fuente de alimento, sino que hay gran cantidad de materia orgánica particulada que sirve para este fin (Hyun *et al.*, 2001)

En los resultados se aprecia que el máximo pico de mortalidad coincide con la mayor concentración acumulada de microalgas potencialmente nocivas, pese a no mostrar una relación estadísticamente significativa. La afectación que puede generar la presencia de dinoflagelados potencialmente nocivos como *Alexandrium monilatum* a diferentes especies de moluscos bivalvos, es especie-específica (May *et al.*, 2010), es decir, no todas las especies de bivalvos presentan el mismo nivel de susceptibilidad ante concentraciones elevadas de microalgas potencialmente nocivas. Cuando los organismos generan una respuesta, esta busca en primera instancia el aislamiento del medio externo como mecanismo de defensa (Gainey & Shumway, 1988).

Como parte de este mecanismo de defensa, una de las principales variables que se ve alterada ante la presencia de dinoflagelados tóxicos, es la tasa de aclaramiento, así para *C. virginica* en presencia *Protogonyaulax tamarensis* puede reducirse significativamente (Shumway & Cucci, 1987), mientras que para otras especies, la tasa de aclaramiento puede aumentar ante la presencia de otra microalga nociva como *Prorocentrum minimum* o, incluso, presentar un cierre total de valvas cuando el mismo molusco se encuentra en presencia de otra especie tóxica como *Alexandrium fundyense* (Hégaret, Wikfors & Shumway, 2007).

Estudios recientes vinculan la exposición de *C. gigas* a especies del género *Alexandrium*, con alteraciones en el tejido branquial, actividad valvar, interrupciones en el ritmo biológico (Castrec *et al.*, 2018). También procesos metabólicos como la conducción neuromuscular, canales de intercambio iónico y digestión pueden verse afectados (Mat *et al.*, 2018); incluso la respuesta inmune debido al proceso de apoptosis que puede generar sobre los hemocitos puede llegar a verse comprometido (Abi-Khalil, 2017)

## 5. Conclusiones

No se encontró diferencia significativa para el crecimiento registrado entre tratamientos; sin embargo, el tratamiento con menor densidad presentó una mayor tasa de crecimiento que el tratamiento con alta densidad previo al fenómeno de mortalidad masiva; posterior a este pico de mortalidad, la tasa de crecimiento se invirtió entre los dos tratamientos. Esta alteración en la composición de la población pudo haber generado un efecto compensatorio en que la densidad ya no era un factor limitante.

Por otro lado, las poblaciones en ambos tratamientos presentaron una distribución de frecuencias de tallas normal, durante la mayor parte del experimento, tendiendo hacia una distribución polimodal en los últimos dos meses. Asimismo, se encontró una mayor proporción de organismos de menor talla en el tratamiento de densidad alta, hasta el evento de alta mortalidad.

La mortalidad fue muy elevada para ambos tratamientos. No se logró establecer la causalidad de esta con ninguno de los parámetros ambientales que se registraron durante el periodo de estudio, incluyendo el fenómeno de floraciones algales nocivas; sin embargo, se observa una débil correlación positiva.

El conjunto de parámetros físico-químicos del agua logró explicar las variaciones en el crecimiento en ambos tratamientos. Las condiciones físico químicas del agua presentaron niveles que se encuentran dentro del rango de tolerancia *Crassostrea rhizophorae*; pero es importante considerar el posible efecto que pueden tener niveles de salinidad relativamente altos en función de la talla final de los organismos para efectos de producción y comerciales.

La talla mínima en la que se pudo observar la diferenciación entre organismos masculinos y femeninos de *Crassostrea rhizophorae* fue a los 23.6 mm de altura. La proporción sexual entre machos y hembras de *Crassostrea rhizophorae* fue de 4:1, esto significa una mayor cantidad de machos con respecto a las hembras en las tallas inferiores.

Más de la mitad de los animales examinados resultaron ser indeterminados y tendieron a disminuir en su proporción conforme incrementaba la talla, pero permaneciendo presentes a lo largo de todos los rangos de tallas observados; aunque es importante considerar que los resultados referentes a la

proporción sexual de los organismos, responden a un único muestreo, por lo que deben ser considerados con cautela.

## 6. Recomendaciones

Se puntualizan las recomendaciones atinentes para futuros estudios dirigidos a *C. rhizophorae*, para potenciar la información de línea base que permita tomar decisiones claras sobre la implementación de esta especie en la acuicultura:

- Para continuar con estudios que permitan determinar la implementación de esta especie a nivel productivo, es indispensable retomar la investigación que permita cerrar su ciclo reproductivo en laboratorio.
- Sería importante retomar investigaciones enfocadas a la determinación de las densidades de cultivo óptimas para esta especie, considerando que no se logró encontrar diferencias entre las densidades probadas, deberían considerarse nuevas densidades de prueba; y en la medida en que sea posible considerar diversos sitios para contar con una mayor riqueza en los datos que se puedan generar.
- Realizar estudios para evaluar el efecto de la salinidad sobre el crecimiento de *C. rhizophorae*, con la finalidad de poder generar sugerencias sobre sitios aptos para el cultivo, en función de esta variable en sistemas estuarinos como el Golfo de Nicoya, donde, debido a su dinámica, presenta secciones con niveles de salinidad diferentes a lo largo de toda su extensión.
- Para próximas experiencias, sería importante considerar alguna variable asociada indirectamente a la alimentación de estos organismos, como podría ser la determinación de clorofilas o un análisis de seston para contar con otro tipo de información que permita realizar inferencias más robustas.
- Sería prudente efectuar investigaciones que permitan conocer el efecto especie-específico de las distintas especies de microalgas potencialmente nocivas que tienen capacidad de generar

florecimientos algales en el Golfo de Nicoya, con la finalidad de conocer si este factor podría ser limitante para el desarrollo de la ostricultura de esta especie como una actividad socioeconómica

- El desarrollo de la ostricultura de *C. rhizophorae* tiene un gran potencial que va desde la posibilidad de establecer cultivos comerciales, el repoblamiento de áreas naturales e incluso como mecanismo para tratamiento de aguas residuales generadas por otros sistemas de cultivo; pero para cualquier aprovechamiento que se quiera realizar en un futuro, es indispensable el desarrollo de la tecnología de cultivo para esta especie, desde la producción en laboratorio hasta el mejoramiento de líneas generacionales para potenciar el desarrollo de la actividad.

## 7. Referencias

- Abi-Khalil, C., Finkelstein, D. S., Conejero, G., Du Bois, J., Destoumieux-Garzon, D., & Rolland, J. L. (2017). The paralytic shellfish toxin, saxitoxin, enters the cytoplasm and induces apoptosis of oyster immune cells through a caspase-dependent pathway. *Aquatic Toxicology*, *190*, 133-141.
- Aguirre-Rubí, J., Luna-Acosta, A., Ortiz-Zarragoitia, M., Zaldibar, B., Izagirre, U., Ahrens, M. J., ... & Marigómez, I. (2017). Assessment of ecosystem health disturbance in mangrove-lined Caribbean coastal systems using the oyster *Crassostrea rhizophorae* as sentinel species. *Science of The Total Environment*. 618, 718-735. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.08.098.
- Alarcón, F. (1991). *Estructura, dinámica y ciclo reproductivo de las poblaciones de Crassostrea rhizophorae en Estero Vizcaya y Estero Negro, Limón, Costa Rica* (Tesis de Licenciatura), Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Costa Rica.
- Alarcón, F., & Zamora, E. (1993). Ciclo de maduración sexual y hermafroditismo en las poblaciones de *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) en estero Negro y estero Vizcaya, Limón, Costa Rica. *Simposio Investigación Acuícola en Centroamérica*, Heredia, Costa Rica.
- Alfaro A.C. (2006) Population dynamics of the green-lipped mussel, *Perna canaliculus*, at various spatial and temporal scales in northern New Zealand. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* *334*, 294–315.
- Alfaro, J., Salas, J., Cabrera, J. & Vargas, A. (1984). Uso de un colector experimental para captación larval de *Crassostrea rhizophorae*, Guilding 1828 en Estero Damas, Costa Rica. *Rev. Lat. Acui.* *21*, 23-28.

- Alfaro, J., & Zamora, E. Z. (1986). Cultivo de *Crassostrea rhizophorae* (Bivalvia: Ostreidae). I: El uso de la lámina para techo como colector de semillas. *Rev. Lat Amer. Acuicult., Lima-Peru*, 28, 29-32.
- Alfaro, J., Quesada, R., Zamora, E., Madrigal, E., & Pacheco, O. (1985). Análisis comparativo de sustratos para coleccionar juveniles del ostión de manglar (*Crassostrea rhizophorae*, Guilding 1828) en Estero Vizcaya, Limón, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 33(1), 1-6.
- Alvarenga, L., & Cunha, R. (2006). Preliminary assessment of the potential for mangrove oyster cultivation in Piraquê-açu river estuary (Aracruz, ES). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 49(1), 163-169. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132006000100019>.
- Ali, M., Nieceza, A., & Wootton, R. J. (2003). Compensatory growth in fishes: a response to growth depression. *Fish and fisheries*, 4(2), 147-190. <https://doi.org/10.1046/j.1467-2979.2003.00120.x>
- Andrews, J. D. (1979). Pelecypoda: Ostreidae, 293-341 En: A. *Reproduction of Marine Invertebrates*. Nueva York, USA: Academic Press.
- Angell, C. L. (1986). *The biology and culture of tropical oysters* (Vol. 13). WorldFish.
- Arias, S., Zúñiga, G., Zamora, E., & Zurburg, W. (1998). Perspectivas para el cultivo de ostras en el golfo de Nicoya. *Uniciencia*, 15(1), 9-20.
- Arias S., Zúñiga, G., Pacheco, O., Calvo, E., Berrocal, K., Vega, H., Agüero, J., (2017). Vinculación interinstitucional con actores del litoral pacífico de Costa Rica, estratégicos que promuevan el fomento de la ostricultura como una alternativa socio-económica desarrollada por grupos "organizados" de las comunidades costeras. Informe proyecto Programa de Regionalización Universidad Nacional. 56 p.
- Bardach, J. E., Ryther, J. H., & McLarney, W. O. (1972). *Aquaculture. The farming and husbandry of freshwater and marine organisms*. New York, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Bastos, G., Guzinski, J., & Ferreira, J. F. (2005). Allometric growth on mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828), cultured in Southern Brazil. *Revista Ciência Agronômica*, 36(3), 400-403.
- Bastos, G., Ferreira, J. F., & Guzinski, J. (2007). Influence of stocking density and culture management on growth and mortality of the mangrove native oyster *Crassostrea sp.* in southern Brazil. *Biotemas*, 20(3), 47-53. <https://doi.org/10.5007/%25x>.
- Betanzos, A., Siam, C., & Arencibia, G. (2010). Variación de la salinidad y su relación con la distribución por talla del ostión de mangle, Villa Clara, Cuba. *Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras*. 27(1):41-46.
- Betanzos, A., Rivero, S. & Mazón, J. (2014). Factibilidad económica-ambiental para el cultivo sostenible de ostión de mangle *Crassostrea rhizophorae* (Gülding, 1828), en Cuba. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 42 (5), 1148-1158. <https://dx.doi.org/10.3856/vol42-issue5-fulltext-18>.

- Buitrago, E., Lunar, K., & Moreno, P. (2000). Cultivo piloto de la ostra de mangle *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) en la laguna de La Restinga, Isla de Margarita. *Mem. Fund. La Salle de Cienc. Nat*, 154, 25-38.
- Buitrago, E., Buitrago, J., Freitas, L., & Lodeiros, C. (2009). Identificación de factores que afectan al crecimiento y la supervivencia de la ostra de mangle, *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828), bajo condiciones de cultivo suspendido en la laguna de La Restinga, Isla de Margarita, Venezuela. *Zootecnia Tropical*, 27(1), 79-90.
- Cabral, D. S., Barbirato, J. O., Arpini, C. M., Barcellos, B. D., Ruas, K. F., & Dobbss, L. B. (2017). Microbiological monitoring of water and *Crassostrea rhizophorae* in a mangrove ecosystem in Brazil. *African Journal of Microbiology Research*, 11(30), 1211-1217.
- Cabrera, J., Zamora, E., & Pacheco, O. (1983). Determinación del tamaño comercial de la ostra de manglar, *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) en sistema de cultivo suspendido en Estero Viscaya, Limón. *Revista de Biología Tropical.*, 31(2), 257-261.
- Cáez, J. & Vélez, G. (2000). *Reproducción artificial y levante de larvas de la ostra de mangle Crassostrea rhizophorae (Guilding, 1828) con el fin de elaborar un método aplicable a procesos de repoblamiento de la especie en la CGSM. Santa Marta* (Tesis de grado de Ingeniero Pesquero). Universidad del Magdalena, Colombia.
- Carbonell, F., Gómez, E. & Torrealba, I. (2002). Situación de los manglares: Una síntesis sobre el caso de Costa Rica. *Documento borrador resumen a diciembre 2002*. Investigación sobre los manglares en el Golfo de Nicoya, Puntarenas, Costa Rica. ONG Meralvis. Heredia, Costa Rica.
- Carriker, M. R. (1996). The shell and ligament. *En: V. Kennedy, R. Newell y A. Ebbles (eds), The eastern oyster Crassostrea virginica* (pp. 75-168). Maryland, USA: Maryland Sea Grant College.
- Castrec, J., Soudant, P., Payton, L., Tran, D., Miner, P., Lambert, C., ... & Amzil, Z. (2018). Bioactive extracellular compounds produced by the dinoflagellate *Alexandrium minutum* are highly detrimental for oysters. *Aquatic Toxicology*, 199, 188-198.
- De Azevedo, R. V., Tonini, W. C. T., dos Santos, M. J., & Braga, L. G. (2015). Biofiltration, growth and body composition of oyster *Crassostrea rhizophorae* in effluents from shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Revista Ciência Agronômica*, 46(1), 193-203.
- FAO. (2016). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos*. Roma. 224 pp. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-i5555s.pdf>.
- Freitas, L., Côté, J., Himmelman, J. H., & Lodeiros, C. J. (1999). Effects of wave action on the growth and survival of the scallops *Euvola ziczac* and *Lyropecten nodosus* in suspended culture. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 239(1), 47-59. <https://doi.10.1590/S1516-89132006000100019>.
- Freitas, L., Himmelman, J. H., & Lodeiros, C. J. (2000). Impact of predation by gastropods and crabs recruiting onto culture enclosures on the survival of the scallop *Euvola ziczac* (L.) in suspended

culture. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 244(2), 297-303. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(99\)00149-5](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(99)00149-5)

- Gainey, L. & Shumway, S. (1988). A compendium of the responses of bivalve molluscs to toxic dinoflagellates. *J. Shellfish Res.* 7, 623–628.
- Galtsoff, P. (1964). The American Oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin). *Fish. Bull. Fish Wildlife Service.* 64, 1-480.
- Gonzalez, C., Crescini, R., Villalba, W., Maldonado, A., Vásquez, G., & Soto, G. (2015). Estructura de tallas, crecimiento y mortalidad de *Crassostrea rhizophorae* en la laguna de la Restinga, Isla de Margarita, Venezuela. *Saber Universidad de Oriente*, 27(2), 328-333.
- González, M., Graü, C., Villalobos, L., Gil, H.L. & Vásquez, A. (2009). Calidad Microbiológica de la ostra *Crassostrea rhizophorae* y aguas de extracción, estado Sucre, Venezuela. *Revista Científica. FCV-LUZ.* 19 (6), 659-666.
- Gosling, E. (2004). *Bivalve Molluscs Biology, Ecology and Culture*. Cornwall, Gran Bretaña: Blackwell Publishing.
- Guo, X., Hedgecock, D., Hershberger, W. K., Cooper, K., & Allen, S. K. (1998). Genetic determinants of protandric sex in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* Thunberg. *Evolution*, 52(2), 394-402. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1998.tb01640.x>
- Hadley, N. H., & Manzi, J. J. (1984). Growth of seed clams, *Mercenaria mercenaria*, at various densities in a commercial scale nursery system. *Aquaculture*, 36(4), 369-378. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(84\)90329-6](https://doi.org/10.1016/0044-8486(84)90329-6)
- Hegaret, H., Wikfors, G. H., & Shumway, S. E. (2007). Diverse feeding responses of five species of bivalve mollusc when exposed to three species of harmful algae. *Journal of Shellfish Research*, 26(2), 549-559. [https://doi.org/10.2983/0730-8000\(2007\)26\[549:DFROFS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2983/0730-8000(2007)26[549:DFROFS]2.0.CO;2)
- Hernández, O., Troccoli, G. & Millán, J. (1998). Crecimiento, engorde y supervivencia de la ostra de mangle *Crassostrea rhizophorae*. Guilding, 1828 en la isla de Cubagua, Venezuela. *Caribb.J. Sci.*, 34(3-4), 243-249.
- Hyun, K., Pang C., Klinck J., Choi J., Powell E., Hofmann E. & E. Bochenek. (2001). The effect of food composition on Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) growth in Korea: a modelling study. *Aquaculture*, 199, 41-62. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00509-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00509-9).
- Keen, A. M. (1971). *Shells of Tropical West América*. California, USA: Stanford Univ. Press.
- Kheder, R. B., Quéré, C., Moal, J., & Robert, R. (2010). Effect of nutrition on *Crassostrea gigas* larval development and the evolution of physiological indices: Part B: Effects of temporary food deprivation. *Aquaculture*, 308(3-4), 174-182. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.08.030>.
- King, J. W., Malham, S. K., Skov, M. W., Cotter, E., Latchford, J. W., Culloty, S. C., & Beaumont, A. R. (2006). Growth of *Crassostrea gigas* spat and juveniles under differing environmental

conditions at two sites in Wales. *Aquatic Living Resources*, 19(3), 289-297. <https://doi.org/10.1051/alr:2006030>.

- Lee, J. S., Cho, H. S., Jin, Y. G., Park, J. J., & Shin, Y. K. (2009). Reproductive disrupting effect of organotin compound in the ark shell, *Scapharca broughtonii* (Bivalvia: Arcidae). *Animal Cells and Systems*, 13(2), 223-227. <https://doi.org/10.1080/19768354.2009.9647214>.
- Lenz, T., & Boehs, G. (2011). Ciclo reproductivo del ostión de manglar *Crassostrea rhizophorae* (Bivalvia: Ostreidae) en la Bahía de Camamu, Bahia, Brasil. *Revista de Biología Tropical*, 59(1), 137-149.
- Lodeiros, C., Alio, J., & Marcano, J. (2005). Actividad extractiva de moluscos en Venezuela. *Fernández, J., Rey, M. Guevara, A. (Eds.) Recursos marinos y acuicultura de las Rías Gallegas*, 353-367.
- Lodeiros, C., Buitrago, E., & Guerra, A. (2006). Evaluación del tipo de cestos de cultivo para la ostra de mangle *Crassostrea rhizophorae* suspendidas en long line y balsa. *Ciencias marinas*, 32(2), 331-337.
- Lodeiros C. & Freitas, L. (2008). Estado actual y perspectivas del cultivo de moluscos bivalvos en Venezuela. *En Lovatelli A., U. Iker y A. Farias (Eds.) Estado Actual del Cultivo y Manejo de Moluscos Bivalvos y su Proyección Futura: Factores que Afectan su Sustentabilidad en Latinoamérica*. Taller Técnico Regional de la FAO. FAO Actas de Pesca y Acuicultura. No. 12. Roma, Italia.
- Lovatelli, A., Vannuccini, S. & McLeod, D. 2008. Current status of world bivalve aquaculture and trade. *En A. Lovatelli, A. Fariás e I. Uriarte (eds). Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina*. Taller Técnico Regional de la FAO. 20–24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. *FAO Actas de Pesca y Acuicultura*. No. 12. Roma, FAO. pp. 45–59.
- Lunetta, J., & Grotta, M. (1982). Influência de fatores exógenos e endógenos sobre a reprodução de moluscos marinhos. *Bol. Fisiol. Animal*, 6, 191-204.
- Madrigal, E. (1986). Depuración del ostión de manglar (*Crassostrea rhizophorae*) con luz ultravioleta y cloro (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional, Escuela de Ciencias Biológicas, Heredia, Costa Rica.
- Madrigal, E., Alfaro, J., Quesada, R., Pacheco, O., & Zamora, E. (1985). Estructura de la población y distribución de talla del ostión de manglar (*Crassostrea rhizophorae*, Guilding, 1828), en el Estero Vizcaya, Limón, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*. 33(1), 61-62.
- Madrigal, E., O. Pacheco, E. Zamora, R. Quesada & J. Alfaro. (1985). Tasa de filtración del ostión de manglar (*Crassostrea rhizophorae*, Guilding 1828), a diferentes salinidades y temperaturas. *Rev. Biol. Trop.* 33(1): 77-79.
- Magaña, J. A., & Espinosa, J. (2009). Bivalves. In *Marine Biodiversity of Costa Rica, Central America* (pp. 387-398). Berlin, Alemania: Springer.

- Marshall, R. D., & Dunham, A. (2013). Effects of culture media and stocking density on biofouling, shell shape, growth, and survival of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) and the Manila clam (*Venerupis philippinarum*) in suspended culture. *Aquaculture*, 406, 68-78.
- Mat, A. M., Klopp, C., Payton, L., Jeziorski, C., Chalopin, M., Amzil, Z., ... & Huvet, A. (2018). Oyster transcriptome response to Alexandrium exposure is related to saxitoxin load and characterized by disrupted digestion, energy balance, and calcium and sodium signaling. *Aquatic Toxicology*, 199, 127-137.
- May, S. P., Burkholder, J. M., Shumway, S. E., Hegaret, H., Wikfors, G. H., & Frank, D. (2010). Effects of the toxic dinoflagellate *Alexandrium monilatum* on survival, grazing and behavioral response of three ecologically important bivalve molluscs. *Harmful Algae*, 9(3), 281-293. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2009.11.005>.
- Menzel, W. (1991). Estuarine and Marine Bivalve Mollusk Culture. EE. UU.: CRP Press Inc.
- Naegel, L. C. (1980). Status, potentials and problems of mariculture in Costa Rica. *Journal of the World Aquaculture Society*, 11(1-4), 570-576.
- Nascimento, I. A., Da Silva, E. M., Ramos, M. I. S., & Santos, A. E. D. (1980). Desenvolvimento da gônada primária em ostras de mangue *Crassostrea rhizophorae*: idade e tamanho mínimos de maturação sexual. *Ciencia e cultura-Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciencia*, 32, 735-742.
- Nielsen, V. & Quesada, M. A. (2006). Informe Técnico Ambientes Marino Costeros de Costa Rica. Comisión Interdisciplinaria Marino Costera de la Zona Económica Exclusiva de Costa Rica.
- Nikolić, M., Bosch, A., & Alfonso, S. (1976). A system for farming the mangrove oyster (*Crassostrea rhizophorae* Guilding, 1828). *Aquaculture*, 9, 1-18. [https://doi:10.1016/0044-8486\(76\)90044-2](https://doi:10.1016/0044-8486(76)90044-2).
- Nuñez, M., C. Lodeiros, E. Ramirez, N. Narváez & C. Graziani. (2010). Crecimiento y sobrevivencia de la ostra de mangle *Crassostrea rhizophorae* bajo condición de cultivo intermareal y submareal. *Zootecnia Trop.*, 28 (2), 239-254.
- Pacheco, O., Cabrera, J., & Zamora, E. (1983). Crecimiento y madurez sexual de *Crassostrea rhizophorae* (Guilding 1828) cultivada en sistema suspendido en Estero Vizcaya, Limón, Costa Rica. *Rev Biol Trop*, 31, 277-282.
- Pacheco, O. (1987). *Proyección económica del cultivo de la ostra de manglar (Crassostrea rhizophorae), con datos obtenidos de proyectos experimentales o piloto: diagnóstico y perspectivas* (Tesis de Licenciatura). Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Costa Rica. 142p.
- Pereira, O. M., Akaboshi, S., & Soares, F. D. C. (1988). Cultivo experimental de *Crassostrea brasiliiana* (Lamarck, 1819) no canal da Bertioaga, São Paulo, Brasil (23°54'30" S, 45°13'42" W). *Bolm Inst. Pesca*, 151, 55-65.

- Pereira, O. M., Henriques, M. B., & Machado, I. C. (2003). Estimativa da curva de crescimento da ostra *Crassostrea brasiliana* em bosques de mangue e proposta para sua extração ordenada no estuário de Cananéia, SP, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 29(1), 19-28.
- Picado, M. (1989). *Efecto de la temperatura sobre el crecimiento y sobrevivencia larval del ostión de mangle Crassostrea rhizophorae bajo condiciones de laboratorio* (Investigación para la obtención del grado de bachiller en Biología Marina). Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional. Costa Rica. 22 p.
- Pizarro, B., & Angulo, Z. (1993). *Diagnóstico de los manglares de la costa Pacífica de Costa Rica* (No. 333.918097286 P695). Universidad Nacional, Heredia (Costa Rica). Escuela de Ciencias Biológicas. Laboratorio de Ecología y Manejo de Ecosistemas Estuarinos CATIE, Turrialba (Costa Rica). Proyecto Uso Adecuado de los Recursos del Manglar en Térraba-Sierpe CATIE-UICN-DANIDA.
- Poza, B., & Rodríguez, R. (1987). Supervivencia de la ostra de mangle *Crassostrea rhizophorae* (Gilding, 1828) a las variaciones de temperatura, salinidad y pH. *Soc Cienc Nat La Salle*, 18(127-128), 217-231.
- Powell E., Song J., Ellis M., & E. Wilson E. (1995). The status of long-term trends of oyster reefs in Galveston bay, Texas. *J. Shellfish. Res.*, 14: 439-457.
- Prieto, A., Montes, A., & Ruiz, L. J. (2008). Potencial de producción de biomasa en una población natural de la ostra *Crassostrea rhizophorae*, en la laguna Grande de Obispo, Golfo de Cariaco, Venezuela. *Interciencia*, 33(10), 747-753.
- Prieto, A., Barrios, A., & Ruiz, L. (2012). Crecimiento y mortalidad del ostión *Crassostrea rhizophorae* en la laguna grande del obispo, Golfo de Cariaco, Venezuela. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, 46(4). <https://doi.org/10.15517/rbt.v31i2.24989>.
- Quesada, R. (1987). *Implantación de un banco de Crassostrea rhizophorae (Guilding, 1828) en ambiente natural y controlado y valoración de colectores para larvas de ostras, en Punta Morales y Chomes, Puntarenas, Costa Rica* (Tesis de Licenciatura), Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Costa Rica. 110p.
- Requena, R. (1989). *Efecto de la salinidad sobre el crecimiento y sobrevivencia de la larva del ostión Crassostrea rhizophorae*. (Investigación de bachiller en Biología Marina). Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional. Costa Rica.
- Ribeiro, L. A., Santos, L. K., Brito Jr, P. A., Maciel, B. M., Da Silva, A. V., & Albuquerque, G. R. (2015). Detection of *Toxoplasma gondii* DNA in Brazilian oysters (*Crassostrea rhizophorae*). *Genet Mol Res*, 14(14), 4658-4665.
- Ricker, W. E. (1975). Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bull. Fish. Res. Board Can.*, 191, 382.
- Rios, J. H. L., Marins, R. V., Oliveira, K. F., & Lacerda, L. D. (2016). Long-term (2002–2015) changes in mercury contamination in NE Brazil depicted by the mangrove oyster *Crassostraea*

*rhizophorae* (Guilding, 1828). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 97(4), 474-479.

- Roncarati, A., Felici, A., Magi, G. E., Bilandžić, N., & Melotti, P. (2017). Growth and survival of cupped oysters (*Crassostrea gigas*) during nursery and pregrowing stages in open sea facilities using different stocking densities. *Aquaculture International*, 25(5), 1777-1785.
- Santerre, C., Sourdain, P., Marc, N., Mingant, C., Robert, R., & Martínez, A. S. (2013). Oyster sex determination is influenced by temperature—first clues in spat during first gonadic differentiation and gametogenesis. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular Integrative Physiology*, 165(1), 61-69. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.02.007>.
- Schultz, E. T., Lankford, T. E., & Conover, D. O. (2002). The covariance of routine and compensatory juvenile growth rates over a seasonality gradient in a coastal fish. *Oecologia*, 133(4), 501-509. <https://doi.org/10.1007/s00442-002-1076-4>.
- Shumway, S. E., & Cucci, T. L. (1987). The effects of the toxic dinoflagellate *Protogonyaulax tamarensis* on the feeding and behaviour of bivalve molluscs. *Aquatic toxicology*, 10(1), 9-27. [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(87\)90024-5](https://doi.org/10.1016/0166-445X(87)90024-5).
- Vargas, M. (1989). *Efecto de la alimentación con 5 dietas algales sobre el desarrollo larval del ostión de mangle Crassostrea rhizophorae*. (Investigación para la obtención del grado de bachiller en Biología Marina), Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional. Costa Rica. 29 p.
- Velasco, L. & Barros, J. (2008). Cultivo de bivalvos en Colombia: ¿utopía o apuesta de futuro? En A. Lovatelli, A. Farías e I. Uriarte (eds). *Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina*. Taller Técnico Regional de la FAO. 20–24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. *FAO Actas de Pesca y Acuicultura*. No. 12. Roma, FAO. pp. 115–128.
- Velasco, L. A., Vega, D., Acosta, E., & Barros, J. (2010). Reproducción artificial de la ostra del mangle *Crassostrea rhizophorae* Guilding, 1828 en el Caribe Colombiano. *Intropica*, 5, 47.
- Vilanova, M. F., & Fonteles, A. A. (1989). Análise da biometria e do fator de condição da ostra-do-mangue, *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) (Mollusca, Bivalvia), no estuário do rio Ceará, Ceará, Brasil. *Ciência e Cultura*, 41(11), 1117-1124.
- Velez, A. (1976). Crecimiento, edad y madurez sexual del ostión *Crassostrea rhizophorae* de Bahía de Mochima. *Bol. Inst. Oceanogr. Univ. Oriente*, 15 (1): 65-72.
- Velez, A. (1982). Hermafroditismo en la ostra de mangle *Crassostrea rhizophorae*. *Bol. Inst. Oceanogr. Univ. Oriente*, 21,129-132.
- Villalobos, C. (1984). El cultivo del ostión japonés (*Crassostrea gigas*) en Costa Rica, problemas y perspectivas. Primer seminario de acuicultura, Heredia, Costa Rica. Resumen mimeografiado, 1p.
- Villarroel, E., Buitrago, E., & Lodeiros, C. (2004). Identificación de factores ambientales que afectan al crecimiento y la supervivencia de *Crassostrea rhizophorae* (Mollusca: Bivalvia) bajo

condiciones de cultivo suspendido en el golfo de Cariaco, Venezuela. *Revista Científica FCV-LUZ*, 14 (1), 28-35.

- Waldbusser, G. G., Steenson, R. A., & Green, M. A. (2011). Oyster shell dissolution rates in estuarine waters: effects of pH and shell legacy. *Journal of Shellfish Research*, 30(3), 659-669. <https://doi.org/10.2983/035.030.0308>.
- Wootton, R.J. (1991). Ecology of Teleost Fishes. Fish and Fisheries Series. Londres, Inglaterra: Chapman y Hall. 404pp.
- Xiao, J., Ford, S. E., Yang, H., Zhang, G., Zhang, F., & Guo, X. (2005). Studies on mass summer mortality of cultured zhikong scallops (*Chlamys farreri* Jones et Preston) in China. *Aquaculture*, 250(3-4), 602-615. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.05.002>.
- Yan, X., Zhang, Y., Huo, Z., Yang, F., & Guofan, Z. (2009). Effects of starvation on larval growth, survival, and metamorphosis of Manila clam *Ruditapes philippinarum*. *Acta Ecologica Sinica*, 29(6), 327-334. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2009.09.012>.
- Yukihira, H. & Alarcón, F. (1987). Guía ilustrada, producción artificial de semilla del ostión de mangle a nivel experimental. Proyecto CONICIT-UNA-JOCV. Costa Rica. 53 p.
- Yusa, Y. (2007) Causes of variation in sex ratio and modes of sex determination in the Mollusca - an overview. *Amer Malac Bull*, 23, 89-98.