



**UNIVERSIDADE DO
ALGARVE
FACULDADE DE
CIÊNCIAS DO MAR
E DO AMBIENTE**



**CENTRO DE
INVESTIGACIÓNS
MARIÑAS (CIMA)
Consellería de Pesca,
Marisqueo e Acuicultura
XUNTA DE GALICIA**

**“CRECIMIENTO Y REPRODUCCIÓN DE LA OSTRA
RIZADA, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793), CULTIVADA
EN INTERMAREAL Y EN BATEA EN GALICIA (NW
ESPAÑA)”**



Crassostrea gigas (Thunberg, 1793)

(Dissertação para a obtenção do grau de mestre em Aquaculture
and Fisheries)

ARACELI ESCUDEIRO ROSSIGNOLI

FARO
2006



**UNIVERSIDADE DO
ALGARVE
FACULDADE DE
CIÊNCIAS DO MAR
E DO AMBIENTE**

**CENTRO DE
INVESTIGACIÓNS
MARIÑAS (CIMA)
Consellería de Pesca,
Marisqueo e Acuicultura
XUNTA DE GALICIA**

“CRECIMIENTO Y REPRODUCCIÓN DE LA OSTRARIZADA, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793), CULTIVADA EN INTERMAREAL Y EN BATEA EN GALICIA (NW ESPAÑA)”

(Dissertação para a obtención do grau de mestre em Aquaculture and Fisheries)

ARACELI ESCUDEIRO ROSSIGNOLI

FARO
2006



Os investigadores Drs, Dna Maria Teresa Vieira Coelho Dinis da Universidade do Algarve (Faro, Portugal) e D. Alejandro Guerra Diaz, do Centro de Investigacións Mariñas (Pontevedra, España).

CERTIFICAN

Que o traballo realizado por ARACELI ESCUDEIRO ROSSIGNOLI, no Centro de Investigacións Mariñas (CIMA) da Xunta de Galicia, titulado "*Crecimiento y reproducción de la ostra rizada, Crassostrea gigas (Thunberg, 1793), cultivada en intermareal y en batea en Galicia (NW España)*", foi realizado baixo a súa tutoría e cumpre as condicións para ser presentado como Dissertação para el Master International in Aquaculture and Fisheries.

Para que así conste firman o presente Vilanova de Arousa, a 27 de xaneiro de 2006.

NOME: Araceli Escudeiro Rossignoli.

DEPARTAMENTO: Centro de Investigacións Mariñas (Vilanova de Arousa, España) y Universidade do Algarve (Faro, Portugal).

ORIENTADORES: Dr. Alejandro Guerra Díaz y Dra. Maria Teresa Vieira Coelho Dinis.

FECHA: 27 de enero de 2006.

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: “CRECIMIENTO Y REPRODUCCIÓN DE LA OSTRÁ RIZADA, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793), CULTIVADA EN INTERMAREAL Y EN BATEA EN GALICIA (NW ESPAÑA)”.

JÚRI:

Presidente: Doutor **Karim Erzini**, Professor Associado da Faculdade de Ciências do Mar e do Ambiente da Universidade do Algarve.

Vogais: Doutor **Alejandro Guerra Díaz**, Director do Centro de Investigações Marinhas, Direcção Peral de Inovação e Desenvolvimento Pesqueiro – Espanha;

Doutora **Maria Teresa Vieira Coelho Dinis**, Professora Catedrática da Faculdade de Ciências do Mar e do Ambiente da Universidade do Algarve;

Doutora **Ana Manuel Pereira Almeida Costa**, Professora Auxiliar da Universidade de Évora.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Alejandro Guerra Díaz, por la dirección de este proyecto de master.

A la Dra. Maria Teresa Dinis, codirectora de este proyecto, por sus útiles consejos.

A David Iglesias, sin el cual este trabajo no hubiera sido posible.

A los ostricultores Anselmo Bugallo, César García y Jacinto Piñeiro, por su inestimable cooperación en las labores de cultivo en batea.

A las asistencias técnicas de la cofradía de Vilaxoán, por la colaboración en las labores de cultivo en intermareal.

A M^a Isabel Meléndez y Elena Penas, por la realización del procesamiento de las ostras.

A Pilar Fraguela, por la aportación de numerosa bibliografía y documentación relevante.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
I.1. Clasificación taxonómica de <i>Crassostrea gigas</i>	2
I.2. Descripción de <i>Crassostrea gigas</i>	3
I.3. Sexualidad y ciclo reproductivo de <i>C. gigas</i>	9
I.4. Ecología, Hábitat y Distribución.....	11
I.5. Antecedentes y situación actual del cultivo.....	14
I.6 Técnicas de cultivo.....	18
I.6.1 Producción de semilla.....	18
I.6.2 Preengorde y engorde.....	20
I.7.Contexto económico.....	25
II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	29
III. MATERIAL Y MÉTODOS	31
III.1. Origen de las ostras y localización de los puntos de estudio.....	32
III.2. Métodos y condiciones de cultivo. Plan de trabajo.....	34
III.3. Evaluación de la condición gonadal.....	34
III.4. Variables biométricas e índices de condición.....	35
III.5. Parámetros ambientales.....	37
III.6. Reclutamiento natural.....	37
IV. RESULTADOS.....	39
IV.1. Evaluación de la condición gonadal.....	40
IV.1.1. Sexualidad y relación entre sexos (sex ratio).....	40
IV.1.2. Ciclo reproductivo.....	43
IV.2. Variables biométricas e índices de condición.....	51
IV.3. Parámetros ambientales.....	55
IV.4. Reclutamiento natural.....	56

V. DISCUSIÓN.....	57
VI. CONCLUSIONES.....	68
VII. REFERENCIAS BILIOGRÁFICAS.....	70
VIII. ANEXOS.....	81

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

I.-INTRODUCCIÓN GENERAL

I.1. Clasificación taxonómica

Los moluscos constituyen el mayor filo de invertebrados después de los artrópodos y en él se han descrito más de 50000 especies actuales. Los animales que integran este filo son algunos de los invertebrados más llamativos y mejor conocidos ya que entre ellos destacan especies de almejas, ostras, calamares, pulpos y caracoles (Ruppert & Barnes, 1995).

La “Ostra Rizada o del Pacífico” en la cual se centra el presente estudio, pertenece, a este filo y según Hayward, et al. (1998), se clasifica taxonómicamente de la siguiente manera :

Phylum: *Mollusca*, (Cuvier, 1798)

Clase: *Pelecypoda o Bivalvia*, (Linnaeus, 1758)

Subclase: *Pteriomorphia*, (Beurlen, 1944).

Orden: *Pterioida*, (Newell, 1965)

Familia: *Ostreidae*, (Rafinesqui, 1815)

Género: *Crassostrea*, (Sacco, 1897)

Especie: *Crassostrea gigas*: (Thunberg, 1793)

I.2. Descripción de *Crassostrea gigas*

Presenta un tamaño que puede alcanzar los 300 milímetros de longitud (incluso en casos especiales hasta los 400 mm) (Hayward, et al. 1998). Las formas de la concha son muy variadas y dependen del tipo de sustrato al que se fije.



Figura 1: *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793). Fuente: Fundación Alfonso Martín Escudero (2002)

Generalmente, la **concha** se caracteriza por ser más larga que ancha y presentar una ornamentación característica formada por costillas radiales gruesas que se distribuyen de manera concéntrica por las valvas acentuando el aspecto rugoso de la ostra. Las valvas son ambas convexas y bastante similares entre si aunque la inferior o izquierda es ligeramente más convexa que la superior o derecha (Figura 1). Presenta un **umbo** prominente y frecuentemente enrollado en la valva izquierda, siendo esta una característica distintiva de la especie. Su coloración externa es blanca con vetas marrones, a veces con irisaciones gris verdosas y destellos azules (Matus, 2004). La **charnela**, por donde se articulan las valvas, está ondulada en el adulto sin llegar a formar los dientes característicos (Ruiz, 1992).

Presenta un solo **músculo abductor** (monomiaria) (Figura 2) formado por, fibras lisas o tónicas (opaco), responsables de las contracciones lentas que mantienen las

valvas cerradas durante largos períodos de tiempo, y fibras estriadas o fásicas (semitranslúcidas), encargadas del rápido cierre de las valvas que se producen cuando el animal es molestado por cualquier motivo. La impresión que el músculo provoca, se localiza cerca del margen posterior de la valva y más cercana al margen ventral que a la charnela; tiene aspecto reniforme y aparece con una coloración púrpura intenso característica (Figura 1).

El **manto**, formado por dos lóbulos denominados "lóbulos del manto o paleales", es una fina lámina de tejido secretor situado bajo las valvas que se fija a la región anterodorsal del cuerpo desde donde se continúa hacia la boca y palpos labiales envolviendo completamente todo el cuerpo del animal y formando lo que se denomina "capuchón cefálico" (Grassé, et al. 1976) (Figura 2). La cavidad del manto o **cavidad paleal** es una cámara interna que se forma como consecuencia de la compresión dorso – ventral de los lóbulos del manto y cuya misión es, de alguna manera, proteger los órganos de alimentación y reproducción. También a dicha cavidad van a desembocar los conductos excretores, genitales y de la masa visceral, acentuando aún más su importancia.

La ostra del Pacífico también se caracteriza por presentar una cámara o **pasaje promial**, que no es más que un espacio que se forma sobre la región pericárdica, entre el músculo aductor y la charnela, y que establece la separación entre la masa visceral y el lóbulo derecho del manto. La presencia de esta cámara ha sido observada por diversos autores a lo largo del tiempo (Nelson, 1938; Thomson, 1954; Walne, 1980) y constituye según Galtsoff (1964) un carácter taxonómico primordial a la hora de diferenciar entre los dos géneros más importantes de la familia Ostreidae; el género *Ostrea*, sin pasaje promial y el género *Crassostrea*, con cámara promial. Son muchas

las funciones que se le han atribuido a esta cámara, entre ellas, destaca el que sea un área de descarga adicional para el agua filtrada por las branquias (Galtsoff, 1964; Quayle & Newkirk, 1989; Mitchell, et al. 2000) ayudando a la expulsión de pseudoheces. Es precisamente esta capacidad de producir pseudoheces la que permite a las especies del género *Crassostrea* crecer y sobrevivir en aguas que presentan alta turbidez de una manera mucho mas exitosa con respecto a otras especies.

Los **palpos labiales** son 4 láminas (2 pares) tisulares aplanadas que se encuentran situadas en la parte anterior del cuerpo a ambos lados de la boca y fusionados por su parte proximal al manto y a la masa visceral (Figura 2).

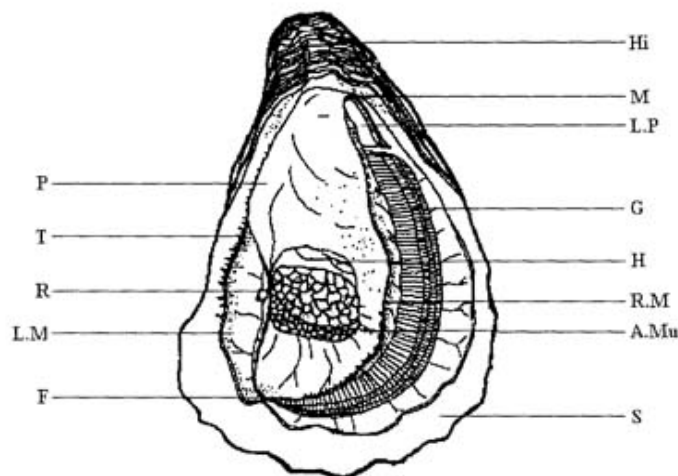


Figura 2: Órganos internos de *Crassostrea gigas*. Fuente: Mitchell et al. (2000).

A,Mu-Músculo abductor; F-Fusión de los lóbulos del manto con las branquias; G-Branquias; H-corazón; Hi-Ligamento; L.M.-Manto izquierdo;L.P-Palpos labiales; M-Boca; P-Cámara promial; R-Recto; R.M- Manto derecho; S-Concha; T-Tentáculos.

Las **branquias** son de tipo lamelibranquias (Figura 2). Están formada por dos pares de lamelas (4 filamentos branquiales), cada uno de los cuáles forma una hemibranchia que se pliega en forma de U, y que a su vez se unen mediante puentes interlamelares formando una estructura, que en corte transversal, tiene aspecto de W. Estas tienen numerosas funciones: respiración, alimentación (1ª selección del alimento) y como señalaba Galstoff (1964), reproducción, ya que son los encargados de dispersar los gametos durante el desove y, en las especie larvíparas (*Ostrea edulis*), proporcionan el medio idóneo para la fertilización y posterior incubación de los ovocitos.

El **tubo digestivo** (Figura 3) está formado por un esófago corto y ciliado, un amplio estómago con numerosos surcos, divertículos y crestas , un intestino con surcos y un ano, situado sobre el flanco del músculo abductor. Rodeando al estómago se encuentra la glándula digestiva o hepatopáncreas que es donde se asimilan y digieren intracelularmente los alimentos (Galstoff, 1964). En el interior de uno de los surcos intestinales aparece una varilla compacta semitransparente formada por una matriz proteica y denominada estilo cristalino que se mueve libremente en el interior de un saco ciliado, el saco del estilo. Se establece un flujo bidireccional continuo de entrada de material asimilable y salida de desechos (Galtsoff ,1964; Walne, 1980).

Las especies del género *Crassostrea*, al igual que el resto de los bivalvos característicos del intermareal, solo se alimentan durante la pleamar y en consecuencia todos sus procesos digestivos están obligados también a seguir el ritmo de las mareas. *Crassostrea gigas* como filtrador que es, ingiere, básicamente, fitoplancton microscópico, detritos y materia particulada que encuentra en el medio marino.

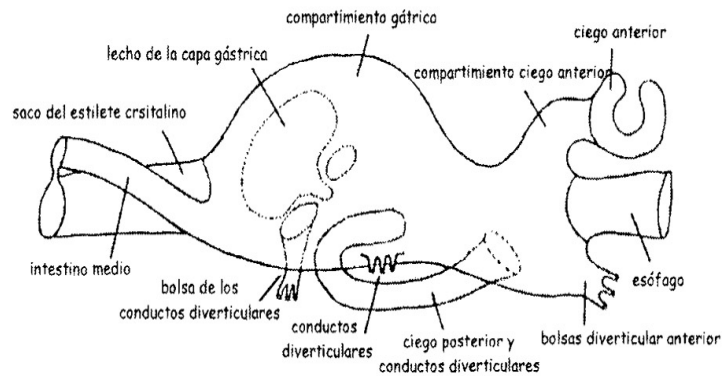


Figura 3 : Esquema de las estructuras del aparato digestivo de *C.gigas*. Fuente: Evseev, et al. (1996).

El **sistema circulatorio** está tabicado, es abierto y está formado por un corazón de color marfil o blanco – amarillento, encerrado en una cavidad pericárdica con un ventrículo que se pliega rodeando al intestino a nivel del recto y dos aurículas laterales marrón claro (Figura 2).

El **aparato excretor** está formado por dos nefridios con una estructura en forma de U, situados entre la cavidad pericárdica y las branquias (Grassé, et al. 1976).

El **sistema nervioso** de las ostras presenta simetría bilateral y está formado por dos pares de ganglios: cerebral y visceral, y dos pares de largos cordones nerviosos que atraviesan todo el cuerpo (Ruppert & Barnes, 1995) Los únicos órganos sensoriales importantes que presenta *Crassostrea* son unos tentáculos paleales, localizados en el borde del manto que presentan células táctiles y quimiorreceptoras.

El **sistema reproductor** presenta una gónada situada entre la epidermis y los divertículos digestivos que, antes de que comience el desarrollo de los productos sexuales (en reposo), consiste en una serie de túmulos entremezclado con el tejido

conectivo (Figura 4). La pared externa de cada túbulo, es decir, la mitad más próxima a la superficie del cuerpo, está revestida de epitelio ciliado, mientras que la pared opuesta, más cercana a los divertículos, lo está por una capa doble o triple de ovogonias y espermatogonias distinguibles en esa fase indiferenciada. (Cole, 1942; Román, 1992).

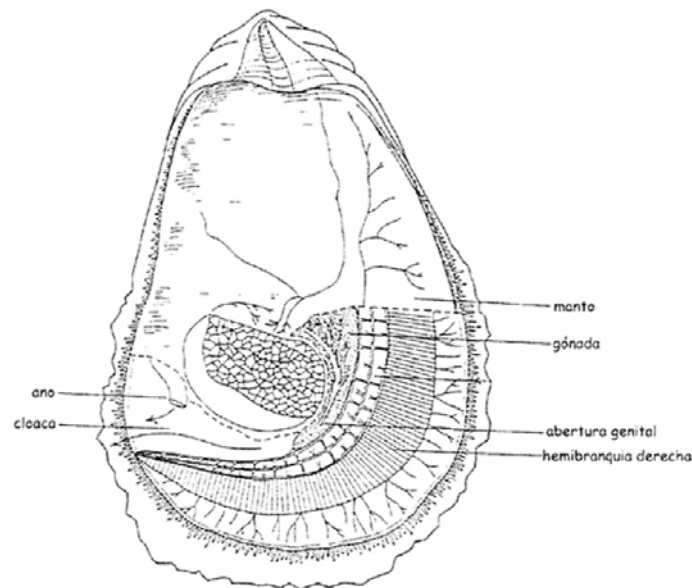


Figura 4 : Anatomía interna de un ejemplar maduro de *Crassostrea Virginica*. Fuente: Galtsoff (1964)

Cuando la gónada está madura constituye un órgano de gran tamaño y aparece en forma de racimos de túmulos (folículos) que emergen a lo largo de la superficie dorsal del cuerpo para formar una estructura continua que acompaña a la masa visceral y se extiende centralmente hasta el ápice del proceso pilórico (Galtsoff, 1964). En ostras sexualmente maduras la superficie que cubre la gónada llega a ser tan fina que se observa una maraña de finos canales genitales. Los canales genitales van aumentando su diámetro gradualmente hasta que convergen en un amplio gonoducto a través del cual se descargan las células sexuales.

I.3. Sexualidad y ciclo reproductivo de *C. gigas*

En 1943, Coe estableció una clasificación de los distintos tipos de reproducción sexual que pueden presentarse en los bivalvos; y en ella incluye a *Crassostrea gigas* como un claro ejemplo de hermafroditismo asincrónico alternante. Analizando cada uno de estos términos por separado nos encontramos con que; es hermafrodita porque produce ambos tipos de gametos masculinos y femeninos a lo largo de su ciclo reproductivo; es asincrónica porque los gametos se desarrollan en una misma gónada pero en momentos diferentes a lo largo de la etapa reproductiva y es alternante porque los numerosos cambios de sexo que tienen lugar a lo largo de toda la vida del animal se desarrollan al azar de tal forma que es muy difícil saber que sexo tendrá el individuo en ciclos consecutivos. Además, a esta denominación de hermafroditismo asincrónico alternante también se le puede añadir otro término y es el de protándrico (Román, 1992; Galtsoff; 1964; Coe, 1943) ya que el primer desarrollo sexual en individuos jóvenes es siempre como macho.

El ciclo reproductivo es definido por Seed (1976) como el ciclo completo de sucesos que ocurren a partir de la activación de la gónada desde el principio hasta el fin de la gametogénesis, y que finalizan con el desove. Puede ser dividido en un período reproductivo, que comienza con la iniciación de la gametogénesis y culmina con la emisión de los gametos, y un período vegetativo o de descanso, durante el cual los gametos residuales son eliminados. El período reproductivo incluye la acumulación de nutrientes para ser utilizados durante la gametogénesis, la proliferación de células goniales y su diferenciación (gametogénesis), la acumulación de gametos maduros y su liberación. (Román, 1992).

La gametogénesis de varias especies de ostreidos ha sido suficientemente descrita (Cole, 1942; Galtsoff, 1964) y sigue las pautas generales de los demás pelecípodos. Las células germinales denominadas gonocitos, dan lugar, por medio de divisiones mitóticas, a las células goniales, espermatogonias y ovogonias, que producirán, a su vez, los ovocitos y espermatoцитos primarios. Estos sufren una serie de cambios nucleares característicos durante la profase de la primera división meiótica, que implican duplicación, emparejamiento, condensación y separación parcial de los cromosomas homólogos. En la espermatogénesis, los espermatoцитos primarios tras sufrir la primera división meiótica dan lugar a los espermatoцитos secundarios. La segunda división meiótica tiene lugar poco después y produce espermátidas haploides (4 por cada espermatoцитo primario) que a su vez, mediante una serie de reorganizaciones celulares, se transforman en espermatozoides maduros.

En los ovocitos primarios, cuando estos alcanza el estado diploteno, se detienen los cambios nucleares y los cromosomas, emparejados y parcialmente separados, se muestran dispersos dentro de los núcleos engrosados (vesícula germinal). El desarrollo subsiguiente continúa a través de dos fases distintas: síntesis intensa de RNA y vitelogénesis (crecimiento por acumulación de vitelo y otras sustancias nutritivas como glucógeno). Una vez que el ovocito alcanza la madurez, se separa de la pared del folículo y migra hacia el lumen donde permanece a nivel de la metafase de la primera división meiótica, hasta el desove (Eckelbarger & Davis, 1996). Cuando este tiene lugar se expulsan ovocitos primarios totalmente desarrollados, diploides, y el resto de las etapas de la meiosis se completan en el medio externo. Son, por tanto, especies ovíparas con fecundación externa.

Tras la fertilización, los individuos tienen un tamaño aproximado de 70 micras de tamaño y comienzan rápidamente el desarrollo larvario. Inicialmente, a las pocas horas, se forma una larva trocófora que nada libremente y que se alimenta, preferentemente, de los restos de vitelo. A las 48 horas, comienza la fase de larva velíger, que es planctónica y en la que se desarrollan dos valvas que encierran completamente el cuerpo y comienza a aparecer un sistema de órganos (estómago, esófago, intestino) que favorecen la alimentación exógena. Hacia el final del estadio larvario de natación libre, con un tamaño aproximado es de 300 micras, un pie activo y una glándula funcional secretora de cemento, comienzan a desarrollarse. Una mancha ocular aparece a cada lado del cuerpo. Una vez que los individuos han alcanzado este grado de desarrollo, sufren metamorfosis y se fijan al sustrato excretando una pequeña gota de cemento en la valva inferior. En este momento, el pie ya no es necesario y su desaparición marca la transición de la vida libre al modo de vida sedentario (Galtsoff, 1964).

La puesta es dependiente de la temperatura, salinidad y disponibilidad de alimento y ocurre, generalmente en verano.

I.4. Ecología, Hábitat, y Distribución

Las especies adultas de *Crassotrea gigas* se caracterizan por poseer una extraordinaria capacidad para adaptarse a grandes variaciones en los parámetros ambientales del agua, especialmente, las de aquellos que afectan a su distribución como son la temperatura y la salinidad; siendo, en general, eurihalinas y estuarinas.

Han sido numerosos los estudios que han demostrado que pequeñas variaciones en la temperatura y disponibilidad de alimento, tanto estacional como anualmente, influyen

notablemente sobre el crecimiento y el esfuerzo reproductivo de las ostras (Brown & Hartwick, 1988; Hofmann, et al. 1992) .

Las tolerancias a las condiciones medioambientales de un adulto de *C. gigas* se resumen en la Tabla 1. Es conveniente resaltar que según las diferentes regiones del mundo, las condiciones del medio necesarias para la iniciación de la gametogénesis y la puesta son diferentes; por ello en la Tabla 1 se han recogido los intervalos más amplios que abarcan, aproximadamente, la totalidad de todos los rangos de tolerancia, independientemente de la situación geográfica. La fertilización ocurre entre 15 y 30 °C (Mitchell, 2000) , y el rango de temperaturas en el que el desarrollo larvario tiene lugar está delimitado entre 19-27 °C con su óptimo a 21-22 °C (Imai, 1980) . La salinidad ha sido identificado como el principal factor en el control del desarrollo larvario y aunque hay mucha variación sobre los rangos de tolerancia respecto a este factor, Mann, et al. (1991) lo establecieron entre 19 y 35 ppt. Además Héral & Deslous – Paoli (1991) establecieron que la temperatura necesaria para el desarrollo de la larva aumenta a medida que lo hace la salinidad. Las condiciones adecuadas para el desarrollo larvario deben mantenerse entre 15 y 30 días, que es el tiempo medio transcurrido desde el momento de la fertilización hasta que la larva se fija (Quayle & Newkirk, 1989; Mitchell, 2000).

Tabla 1. Rangos de tolerancia de factores medioambientales de *Crassostrea gigas*.

Factor	Rango de tolerancia		Rango óptimo		Referencias
	Crecimiento	Desove	Crecimiento	Desove	
Temperatura	3 – 35 °C	16 – 30 °C	11 – 34 °C	20-25 °C	2
Salinidad	10 – 42 ppt	10 – 30 ppt	35 ppt	20-30ppt	2
Disponibilidad de alimento	1 – 55 mg/l de clorofila a		> 12 mg/l de clorofila a		1,3
Profundidad	Intermareal a submareal sombrío		Más abundantes hacia la línea de marea baja		1,3
Substrato	Típicamente sustratos duros como rocas, piedras, fragmentos de conchas.... En ocasiones también crecen en sustratos arenosos y fangosos.		Más abundantes sobre rocas y piedras hacia la línea de marea baja.		1,3
Sedimentos en suspensión	0 – 100 mg/l		0 – 8 mg/l		1,3
Movimiento de agua	De estancamiento a fuerte oleaje.		Flujos de marea pero sin fuerte acción de las olas.		1,3
Oxígeno disuelto	40 – 100%		> 70%		1,3
pH	7,4 – 8,5		> 7,4		1,3

Referencias: 1. Coleman, 1996; 2. Mann, et al. (1991); 3. Mitchell, et al. (2000).

En la actualidad la especie *Crassostrea gigas* se encuentra distribuida por el océano Pacífico, en Japón, Korea y China, a lo largo de la costa Pacífica de Norte América desde Alaska hasta California (Shafee & Sabatie, 1986; Steele & Mulcahy, 1999), en Chile y Perú (Escapa, et al. 2004), en Costa Rica y Nueva Zelanda (Mann, et al. 1991) y en Australia (Mitchell, et al. 2000). También está presente en Brasil y Argentina (Escapa, et al. 2004); en Rusia en el mar de Okhotsk (Steele & Mulcahy, 1999); y en Europa, donde aparece en el Mar del Norte y se extiende por el

Mediterráneo hasta Marruecos teniendo representación en Irlanda, Inglaterra, Italia, Francia, Israel, Portugal y España (Mann, et al. 1991; Ruiz, et al. 1992).

I.5. Antecedentes y situación actual del cultivo

El cultivo de moluscos bivalvos es de los más antiguos entre los animales marinos, además del más intenso y el de mayor expansión a través del mundo (Pardellas & Polanco, 1987). Dentro de las ostras, las más cultivadas para el consumo humano pertenecen a tres géneros: *Crassostrea* (Sacco, 1897); *Saccostrea* (Dollfus & Dautzenberg, 1920) y *Ostrea* (Linné, 1758).

La ostra plana (*Ostrea edulis*), que se consume desde hace siglos, siempre ha tenido una gran aceptación en antiguas culturas lo que ha contribuido a la proliferación de normas reguladoras para su extracción y cultivo (Guerra, 1995). En el principio de nuestra era ya se enviaban ostras a Roma y durante la Edad Media y el Renacimiento comienzan en Francia a explotarse los criaderos naturales. A partir del siglo XVIII, los bancos naturales de las costas Atlánticas comienzan a sobreexplotarse y aparecen las primeras disposiciones que prohíben en toda la costa francesa la recolección de ostra durante el período de reproducción. (Héral, 1991).

Un siglo después, continua aumentando el esfuerzo de pesca debido al incremento de la demanda de semilla natural, marcado por el desarrollo del comercio. Estos factores añadidos a una época de condiciones climatológicas bastante desfavorables y un aumento notable de depredadores y competidores conllevaron a diezmar casi al completo el cultivo de *Ostrea edulis* en Francia. Fue por esto que a partir de mediados del siglo XIX comienzan a importarse ejemplares de *Crassostrea angulata* (ostra portuguesa) en la Bahía de Arcachon pero debido a un accidente de navegación del barco “Le Morlaisien”, esta especie coloniza gran parte de la costa

sudoeste francesa compitiendo con *Ostrea edulis* y desplazándola en gran medida de su hábitat (Matus, 2004).

Posteriormente, en 1920, comenzaron a sucederse una serie de fenómenos de mortandad masiva debido, probablemente, a enfermedades y a regimenes de temperaturas anormales que conllevaron a una paralización casi total de la ostricultura francesa al impedirse la reproducción y reducirse al máximo la disponibilidad de semilla (Héral, 1991). Por ello a partir de ahí, el desarrollo intensivo de la ostricultura se basó prácticamente en el cultivo de *C.angulata* reduciéndose al mínimo la producción de *O. edulis*. Así, en 1960, la producción de *C.angulata* en la costa Atlántica era de 85.000 toneladas frente a 28.000 toneladas de *O. edulis*.

Pero los fantasmas de las enfermedades volvieron a resurgir hacia 1960 cuando la ostra portuguesa comienza a padecer una serie de infecciones tales como, necrosis viral de las branquias (GNV) e infecciones hemocíticas (HIV) (Mann, et al. 1991; Marteil, 1979). Esto conlleva de nuevo, en torno a 1970, a la reducción drástica de las poblaciones naturales de *C. angulata* en las costas francesas.

Ante este problema, los ostricultores franceses comienzan a plantearse la introducción de un especie foránea para sustituir a la ostra portuguesa. De esta forma en 1967, aparecen las primeras importaciones en Francia de la ostra japonesa, *Crassostrea gigas*, originaria del Pacífico. Esta especie demostró desde un primer momento unas elevadísimas tasas de crecimiento, de reproducción y de resistencia a enfermedades con respecto a otras ostras. No obstante, cuando en 1977 se produjeron mortalidades limitadas en la laguna de Arcachon , se pudo demostrar la existencia en *C.gigas* de lesiones virales idénticas a las encontradas en *C.angulata* en 1970, lo que llevó a reconsiderar la resistencia de la ostra japonesa a ciertos virus (Héral, 1991). La

infección de *C.gigas* por el copépodo *Mytilicola orientalis* es un hecho reciente. Este pequeño crustáceo que vive en el tracto digestivo de la ostra fue observado en la Bahía de Arcachon por His (1977) y en la de Marennes- Olerón por Deslous – Paoli (1981); Pero parece que su presencia no es significativamente importante ya que no fue encontrada relación alguna entre infestación y mortalidad (Figueras & Villalba, 1988) y únicamente podría afectar al índice de condición de la ostra japonesa en primavera y en invierno (Héral, 1991).

La introducción de *C. gigas* aportó una serie de problemas biológicos, ya que con ellas se introdujeron, también, como fauna asociada otras especies japonesas entre las que se encuentran el anélido *Hydroides ezoensis*, el cnidario *Aiptasia pulchella*, el molusco *Anomia chinensis* o los cirrípedos *Balanus amphitrite* y *Balanus albicostatus*. (Pardellas & Polanco,1987)

En 1984, la producción de ostras francesas (100.000 toneladas) estuvo constituida por un 98% de la ostra japonesa *C. gigas*, cultivada sobre una superficie de 20.000 hectáreas (Héral, 1991); debido principalmente a los ataques sucesivos que entre 1974 y 1979 sufrieron los individuos de *O.edulis* por parte de sendos parásitos, *Martelia refringens*, en 1974 y *Bonamia ostreae*, en 1979 y que se propagaron por casi la totalidad de los centros de producción, comprometiendo su cultivo.

En Galicia la existencia desde antiguo de esta especie se constata por los abundantes restos de valvas encontradas en los “concheiros” de los castros celtas, también en las cartas marinas se citan numerosos fondos rocosos con el nombre “ostreira” que indicaban la presencia de bancos naturales (Guerra, 1995). Más recientemente la abundancia se refleja en las exportaciones que se efectuaron en el siglo XIX para repoblar las áreas ostrícolas de Arcachon (Francia) (Navaz, 1942).

A pesar de que la ostra plana fue una de las especies comerciales cultivadas de mayor importancia en el litoral gallego, no se libró del progresivo agotamiento que sus bancos naturales comenzaron a sufrir en Galicia en el siglo XVIII, paralelamente a sus análogos franceses; aunque no fue realmente hasta los años 50 del siglo pasado, cuando se produce prácticamente la desaparición total de estos bancos. Fue por esto que a partir de 1960 comienzan a engordarse en las costas gallegas ostras procedentes de Francia (Matus, 2004) y a ponerse en marcha diferentes métodos de obtención de semilla.

Los primeros estudios de captación natural de semilla a nivel experimental datan de los años 30 y 50. Inicialmente estas experiencias tuvieron éxito, especialmente en las Rías Altas hasta 1980 (Saavedra, 1982), pero fue a partir de este año, cuando comienza a detectarse una disminución progresiva de la captación de la semilla y unas elevadas mortandades. Dichas mortandades, coincidentes en el tiempo con las manifestadas en los parques ostrícolas franceses, son achacadas a fenómenos de infección a través de las importaciones de ejemplares desde Francia, (Montes, et al. 1990). Debido a esto la captación natural de *O.edulis* comienza a ser insuficiente como para mantener una producción estable y rentable, por lo que su cultivo se basa únicamente en el engorde de semilla y ejemplares adultos importados de terceros países como Francia o Italia. Por primera vez, Galicia, que tradicionalmente había sido exportadora de ostra utilizada en la repoblación de los bancos franceses, pasaba a convertirse en importador en los años 60 del siglo XX. Es en este momento cuando se empiezan a plantear alternativas parciales al cultivo de *O.edulis* y de esta forma se introduce la especie de ostra alóctona, originaria del Pacífico, *Crassostrea gigas*, conocida en Galicia como “ostra rizada”. La autorización de su cultivo en aguas gallegas, estuvo precedida de fuertes polémicas, debido sobre todo a la ausencia de conocimiento y datos concretos sobre su desarrollo

(Molares, et al. 1986), si bien en ensayos previos se había puesto de manifiesto la favorable respuesta al cultivo de esta especie (Guerra, et al. 1987).

I.6. Técnicas de cultivo

I.6.1. Producción de semilla:

La obtención de semilla para los cultivos puede hacerse de tres formas: pesca reglamentaria de juveniles en los criaderos autorizados, captación natural de juveniles producidos por los reproductores tanto de los bancos naturales como de los cultivados y compra de semilla a un criadero-semillero (Héral, 1991).

En Francia el método más utilizado es la captación natural mediante colectores (Marteil, 1979). La obtención mediante criaderos es secundaria y únicamente se recurre a ella cuando existe déficit en los colectores. Los métodos de captación de semilla de ostra prácticamente no han cambiado desde su inicio en las costas francesas en 1875, lo único que ha ido variando son los tipos de colectores y los materiales empleados para su construcción.

La especie *Crassostrea gigas* es poco exigente a la hora de elegir el tipo de sustrato sobre el que fijarse, el único requisito necesario es que la superficie seleccionada debe estar exenta de suciedad, algas y lodo (Gouletquer & Héral, 1997).

Los colectores mas antiguos que se conocen son los denominados de “teja árabe” hechos a base de tejas de arcilla comprimida y cocida, semicilíndricas y más o menos porosas, que se colocan perpendiculares 2 a 2 y se unen mediante un hilo de hierro que se retuerce y se engancha en los extremos (Figura 5.B). Las tejas se encalan no solo para favorecer la separación posterior de la ostra nueva del colector, sino también para proporcionar una mayor limpieza y crear un efecto más atractivo para las larvas.

Otro tipo de colectores son los fabricados a partir de fibrocemento. Estos, también están encalados y en comparación con los de teja árabe, presentan la ventaja de que el material es menos frágil que la arcilla. Las tejas de fibrocemento se instalan preferentemente sobre mesas o soportes metálicos.

A partir de 1960 comienzan a tener gran importancia los colectores de plástico, por ser un material resistente, no susceptible a la putrefacción y de fácil manejo. Las formas de este tipo de colectores son muy variadas; redes de malla, tubos (Figura 5.C), placas, barras o discos. Estos últimos constituyen los denominados “ sombreritos chinos” (Figura 5.A); Son unos conos encalados , de 30 centímetros de diámetro y 10 centímetros de altura que se colocan en batería superpuestos unos encima de otros.

También se usan como colectores, conchas de ciertos moluscos como las propias ostras, vieiras o mejillones, especialmente en parques de aguas profundas. Una vez limpias las conchas se utilizan para preparar unos sacos de plástico enrejados, semirrígidos y de malla amplia que se colocan sobre unas mesas o soportes. Por último, también se pueden usar como colectores, estructuras de cartón a los que se somete a una especie de encalado, mezclando cal con cemento y arena. De esta forma se vuelven impermeables y más resistentes.

La monitorización y el control de la abundancia larvaria, así como de las condiciones ambientales, son factores clave en el despliegue de los colectores para maximizar el reclutamiento. El éxito de la captación en medio natural radica, entre otros factores, en la abundancia de progenitores, de ahí que sea muy común encontrarse en el caso de la ostra, con problemas serios a la hora de plantearse un proyecto serio y rentable de obtención de semilla por este sistema.



Figura 5: Tipos de colectores más empleados en Francia para la captación de semilla de ostra rizada. Fuente: CIMA.
A. Sombreritos chinos. B. Tejas árabes. C. Tubos de PVC.

I.6.2. Preengorde y Engorde:

En las etapas de preengorde y engorde, se utiliza diferentes técnicas dependiendo de las características del área de cultivo. La duración de cada etapa se encuentra sujeta a la densidad del cultivo y a la capacidad de carga del ecosistema.

Transcurrido de 6 a 18 meses tras la fijación, se procede al despegue de la ostra joven de los colectores (Marteil, 1979). Este puede hacerse o bien a mano o bien de forma automatizada; esta última tiene la ventaja de reducir la mano de obra pero es de la forma en la que se estropean más ejemplares, llegando en ocasiones a causar un 25% de mortalidades.

En el caso de los colectores encalados, la ostra se despega de la teja o similar, se lava y se clasifica por tamaños, quedando así lista para ser sometida al proceso de engorde.

Las ostras de los colectores hechos a base de conchas de otros moluscos, no necesitan ser despegadas. Simplemente cuando han transcurrido de 6 a 12 meses tras la fijación de la larva, se esparce el contenido de los sacos o barras directamente por el parque de cultivo (Grizel, et al. 1979). La semilla fijada seguirá creciendo a medida que la concha sobre la que se asienta se vaya rompiendo, sin perturbar el desarrollo normal de la ostra.

Cuando se utilizan técnicas de captación que exigen el despegue de la ostra joven de los colectores, la fase de engorde, que comienza en el segundo año de cultivo, puede realizarse sobre el fondo, en cultivos sobreelevados o en suspensión. Generalmente se cultivan hasta los 3 años de edad.

El **cultivo en parque** se desarrolla en la zona intermareal y consta de una serie de parcelas que en el caso de la ostricultura se suelen delimitar mediante verjas de plástico. Dichas parcelas se preparan mediante, limpiezas de fondo, eliminación de depredadores, y en casos necesarios aportes de sedimentos apropiados. Las ostras se disponen sobre los fondos así adaptados, metidas en unas bolsas de malla de material plástico, que se colocan directamente sobre el sustrato. La instalación de la semilla ha de hacerse de forma que quede bien repartida, procurando que la densidad de siembra sea acorde con la capacidad alimentaria del parque en cuestión. En el caso de *C.gigas*, la densidad media de su cultivo durante las etapas de preengorde y engorde es de 5 y 7 Kg/m² (Gouletquer & Héral, 1997).

En el período de tiempo que transcurre desde la época de siembra hasta la salida de la ostra para su comercialización, es fundamental evitar la proliferación de los depredadores y remover regularmente a los individuos con rastrillos u horcas para evitar que queden cubiertas por lodo.

El cultivo sobreelevado se lleva a cabo en las zonas de parques que quedan en seco durante las etapas de mareas (Figura 6.A, 6.B). Para ello se pueden emplear cajas o casilleros ostrícolas, aunque lo más utilizado son unos sacos de redes denominados “pochones”, cuya abertura se va aumentando a medida que avanza el cultivo, y que se sostienen por unas mesas o parrillas situadas sobre el sustrato a algunos centímetros de altura. Los sacos, de un tamaño estándar de 1 metro por 0,5 metros, se sitúan yuxtapuestos en filas sobre las mesas de 50 centímetros de altura y 4 metros de longitud (Héral, 1991; Marteil, 1979). Periódicamente se les da la vuelta a los sacos para impedir que proliferen las algas y se desdoblán cuando la carga se hace demasiado grande. Este tipo de cultivo sobreelevado en “pochones” presenta una serie de ventajas con respecto a otros; ya que con él se logran mayores tasas de crecimiento, mejor calidad, más facilidad de explotación y menores mortandades durante las épocas de temporales.

Aunque es muy importante mantener una densidad óptima de ejemplares y una correcta limpieza de las instalaciones ya que sino esto puede acarrear grandes inconvenientes como son la disminución de las tasas de crecimiento, aumento de las deposiciones de lodo o imposibilidad de utilización de los cultivos sobreelevados durante ciertos períodos del año.

Finalmente el **cultivo en suspensión** es un tipo de cultivo tridimensional, en el que se utiliza un volumen y no una superficie, con lo que se ve multiplicada su rentabilidad (Figura 7.A, 7.B). Esta modalidad permite un crecimiento que, en

ocasiones, es de 2 a 3 veces superior al obtenido mediante otros sistemas (Pardellas & Polanco, 1987) y posiblemente esto se deba a que, por este sistema, las ostras no solo están en continúa inmersión con lo que se alimentan constantemente sino que también se evitan las perturbaciones climáticas, que en otros cultivos se generan como consecuencia de estar sometidas a períodos de sequía. La suspensión puede hacerse sobre estructuras pesadas (fijas o flotantes) o sobre estructuras ligeras (barrotes flotantes o boyas). En Galicia lo más utilizado son unos artefactos flotantes denominados “bateas”. Estas están formadas fundamentalmente por una serie de flotadores de madera, hierro o poliuretano que soportan un emparrillado (de madera o poliuretano) de forma más o menos rectangular, del cuál cuelgan unas cuerdas sobre las que se sitúan las ostras directamente o los sistemas, cestas o sacos, que las contengan. Las bateas se fondean con una o dos cadenas que actúan de ancla, evitando que la estructura se desplace con las mareas o con los temporales. Cuando las ostras se colocan directamente sobre las cuerdas de la batea, se fijan con una mezcla de cemento en grupos de tres, de tal forma que la valva inferior o izquierda es la que queda adherida a la cuerda. En otras ocasiones, las ostras son introducidas en cestas planas cilíndricas de material plástico o en sacos de red, con un canal en el medio por el que se introduce la cuerda; Así se van formando pilares y se cuelgan sobre el emparrillado de la batea.

La ventaja de este sistema de cultivo es que se pone a disposición de la ostra toda la capa de agua y el inconveniente es que al estar en constante inmersión se favorece el incremento de competidores tróficos (ascidias) y algas (sargazos) sobre las estructuras de cultivo.



Figura 6 : Cultivo de ostra rizada en intermareal. Fuente: CIMA.

A. Detalle de las ostras dispuestas en el interior de los sacos ostrícolas (pochones). **B.** Mesas de cultivo en sobreelevado ubicadas en la playa de Corón (Vilaxoán).

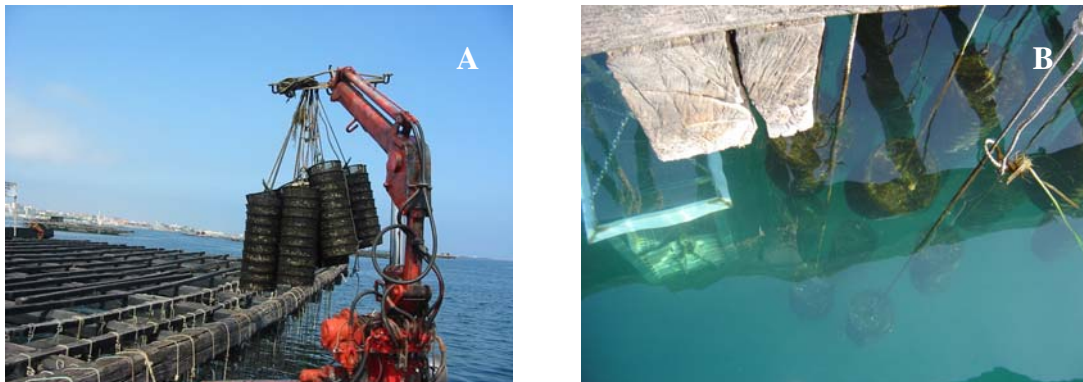


Figura 7 : Cultivo de ostra suspendido en batea. Fuente: CIMA.

A. Cestos ostrícolas dispuestos en cuerdas. **B.** Ubicación de los cestos suspendidos en batea.

Una de las principales consecuencias del cultivo en batea es que la ostra al permanecer tanto tiempo en inmersión, ve disminuida su capacidad para cerrar efectivamente las valvas y presenta por ello una importante pérdida de agua en el proceso de transporte hacia el lugar de comercialización. Incluso en ocasiones, el productor que las compra se ve obligado a volver a sumergir las ostras de manera previa a su comercialización con los gastos asociados que esto conlleva. Por este motivo, se comenzaron a realizar en Galicia experiencias de afinado o de resistencia a la desecación consistentes en llevara cabo una serie de protocolos de sometimiento de las

ostras a períodos de emersión en la propia batea. Estas experiencias, reciben su nombre en referencia al proceso de “affinage” que practican los ostricultores franceses en estanques (Figura. 8) con el fin de mejorar las propiedades organolépticas de sus ostras incrementando así, tanto su calidad final como su valor en el mercado (Marteil, 1979)



Figura 8: Estanque de afinado en la Île d’Oleron (Francia). Fuente: CIMA.

I.7. Contexto económico

Actualmente *Crassostrea gigas* es la especie de ostra más cultivada en el mundo. Según datos de la FAO, la producción mundial de ostras en el 2003 fue de 4.496.659 toneladas, lo que equivale a unos 3.794.374.000 \$US en divisas. De esta producción, 4.376.802 toneladas (3.687.951.000 \$US) fueron de *C. gigas*. Por continentes, Asia es con diferencia el mayor productor de esta especie con 4.191.925 toneladas en 2003 (3.299.645.000 \$US en divisas), seguido por Europa a gran distancia con 122.540 toneladas (304.549.000 \$US). Desglosando los datos por países (Tabla 2), la China es el principal productor mundial de *Crassostrea gigas*, seguido por Japón, República de Corea, Francia, que es el principal productor de la Ostra del Pacífico en Europa, y Estados Unidos.

Tabla 2. Principales países productores de *Crassostrea gigas* en el año 2003. (Fuente FAO, 2003)

País	Producción (ton)	Divisas (\$US)
China	3.668.237	2.751.178.000
Japón	260.644	390.966.000
República de Corea	238.326	82.480.000
Francia	115.000	284.893.000
E.E.U.U.	51.012	43.675.000

La producción total de moluscos en Francia ascendió en 2002 a 187.599 toneladas, facturando en divisas unos 30.053.219 €. De esta cifra, la mayor parte correspondía a *Crassostrea gigas* (Tabla 3).

La producción de *C.angulata* ha experimentado una cierta mejoría en los últimos años, aumentando de 4.166 toneladas en 1984 a 14.000 toneladas en 1995, año en el que constituyó el 6,51% de la producción total de moluscos en Francia (FAO, 1997). Esta industria tiene lugar principalmente en la costa atlántica francesa, en la zona litoral intermareal que va desde Arcachon a Normandía, en cultivo sobreelevado en sacos ostrícolas (pochones). La producción se orienta básicamente al mercado y consumo nacional y genera un gran número de puestos de trabajo debido a su carácter artesanal. Ocupa 20.000 hectáreas en concesión por parte del Estado, de las que 14.000 se sitúan en la zona intermareal y 6.000 en mar abierto (Grizel, 1996; Héral, 1991).

Por otro lado, la producción de ostras triploides en Francia es una actividad a tener en cuenta ya que está sufriendo una gran expansión. Esto, en gran parte se debe a que tiene una calidad constante de carne, una mayor tasa de crecimiento, alcanza la talla comercial unos meses antes que los ejemplares diploides y, en general, el manejo del cultivo es menos laborioso, con lo que se aseguran la disponibilidad de un producto de calidad todo el año. El problema está en que las tasas de mortalidad parecen ser superiores, especialmente en los períodos de escasez de fitoplancton. Son individuos

estériles ya que no completan la gametogénesis por lo que presentan índices de condición muy elevados durante todo el año y, como no tienen gónadas lechosas en los meses estivales, se hacen más apetecibles para el consumidor en esta época, momento en el que la ostra diploide lo es menos ya que se encuentra en período de desove. Su desarrollo comenzó en Estados Unidos y llegó a Francia hacia 1980 lo que supuso una gran revolución para el sector ostrícola. Actualmente existen algunos países donde hasta más del 50% de la producción de semillas en criadero está constituida por triploides (Guo, et al. 1996).

En España, actualmente se cultivan 3 especies de ostra: *O.edulis*; *C.gigas* y *C.angulata*. Las producciones totales de las 2 primeras para el año 2002 se reflejan en la tabla 3.

Tabla 3. Producción y divisas de *Ostrea edulis* vs *Crassostrea gigas* en España y Francia en el año 2002. (Fuente FAO, 2002).

Ostras	España		Francia	
	Producción (Ton)	Divisas (€)	Producción (Ton)	Divisas (€)
<i>Ostrea edulis</i>	4.565	10.971.674	6583	17.866.953
<i>Crassostrea gigas</i>	591	1.420.600	113.877	20.287.897

Crassostrea gigas en España, se cultiva en la costa cantábrica, Delta del Ebro, región suratlántica y Galicia. Esta última es la principal comunidad española en producción ostrícola con un 85 – 90% del total y abastece totalmente el mercado nacional, repartiéndose las producciones entre las grandes superficies, los diferentes mercados y la restauración (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1999). En 2002 las tasas de producción gallegas fueron de 369 y 3.783 toneladas para *C.gigas* y *O.edulis* respectivamente (Fuente, Voz de Galicia 23-05-2004)

Actualmente existen en Galicia alrededor de 150 bateas dedicadas al cultivo experimental de la ostra, de las cuales salen al mercado cerca de 4.500 toneladas anuales, con una facturación aproximada de 11.000.000 €

.

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

En respuesta a las demandas del sector ostrícola, la Dirección Xeral de Recursos Mariños inicia en 2004 un proyecto coordinado destinado a valorar desde un punto de vista integral –técnico, biológico, ecológico y económico- la viabilidad del cultivo de la ostra rizada (*Crassostrea gigas*) en Galicia como posible complemento al cultivo de la ostra plana.

El presente trabajo que se integra dentro del citado proyecto, tiene como finalidad realizar una valoración del crecimiento y potencial reproductor de *Crassostrea gigas* en las Rías Bajas gallegas. Para ello se establecieron los siguientes objetivos:

1. Definir el ciclo de desarrollo gonadal propio de ostras adultas cultivadas en aguas gallegas mediante dos sistemas de cultivo diferentes: suspendido en batea y sobreelevado en intermareal.
2. Determinar el patrón de crecimiento y el rendimiento en carne de las ostras mediante el registro de una serie de variables biométricas y el cálculo de índices de condición fisiológicos (I.C.)
3. Valorar si se produce reclutamiento de semilla de *C. gigas* a lo largo del período de estudio.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

III. MATERIAL Y MÉTODOS

III.1. Origen de las ostras y localización de los puntos de cultivo

En febrero de 2005 se recibe en el Centro de Investigaciones Marinas (CIMA) de Corón - Vilanova de Arousa, un lote de 4000 unidades de ostra de 18 meses de edad con una talla media (\pm EE) de 46,8 (\pm 1,5) mm y un peso total medio (\pm EE) de 8,95 (\pm 0,63) g, procedentes de captación natural de la Bahía de Arcachon (Francia). Este lote se somete a un control inicial nada más llegar, basado en análisis biométrico (talla y biomasa) e histopatológico (para detectar si existía alguna alteración patológica de importancia) de una muestra de 30 individuos. Una vez tramitados los correspondientes permisos de inmersión se introducen los lotes en los dos puntos geográficos elegidos para la realización del estudio; Polígono de Grove F y Polígono de Vilaxoán. Ambos polígonos están localizados en la Ría de Arousa. Dicha ría se sitúa en la costa noroccidental de la Península Ibérica y pertenece junto con las Rías de Vigo, Pontevedra, Arosa y Muros-Noia a las denominadas Rías Bajas gallegas (Figura 9) (Guerra, 1995). Es un estuario de 25 kilómetros de longitud, con una superficie global de 230 Km² y un volumen aproximado de $4,3 \times 10^3$ m³ (Otto, 1975). Se caracteriza por poseer importantes corrientes de marea, cuyo flujo tiende a penetrar por el lado sur. Además sus entradas están parcialmente protegidas por islas e islotes. Las profundidades que presenta, también son importantes, si bien van disminuyendo hacia el interior, apreciándose una tendencia a la sedimentación fangosa o arenosa. Otra característica interesante de la Ría de Arousa es que tiene un profundo canal central (de más o menos 70 metros) que facilita la circulación, mezcla y renovación de las aguas. Además no

existen alturas próximas al litoral lo que contribuye igualmente a la renovación de las aguas por el viento, favoreciendo los afloramientos. Está abierta al océano mediante un canal, entre las llamadas Isla de Sálvora y la Península del Grove (Pardellas & Polanco, 1987). Soporta una gran producción, no sólo de mejillón, sino también de almeja, berberecho, navaja y ostra, que son objeto de explotación en los numerosos parques que existen en esta ría.

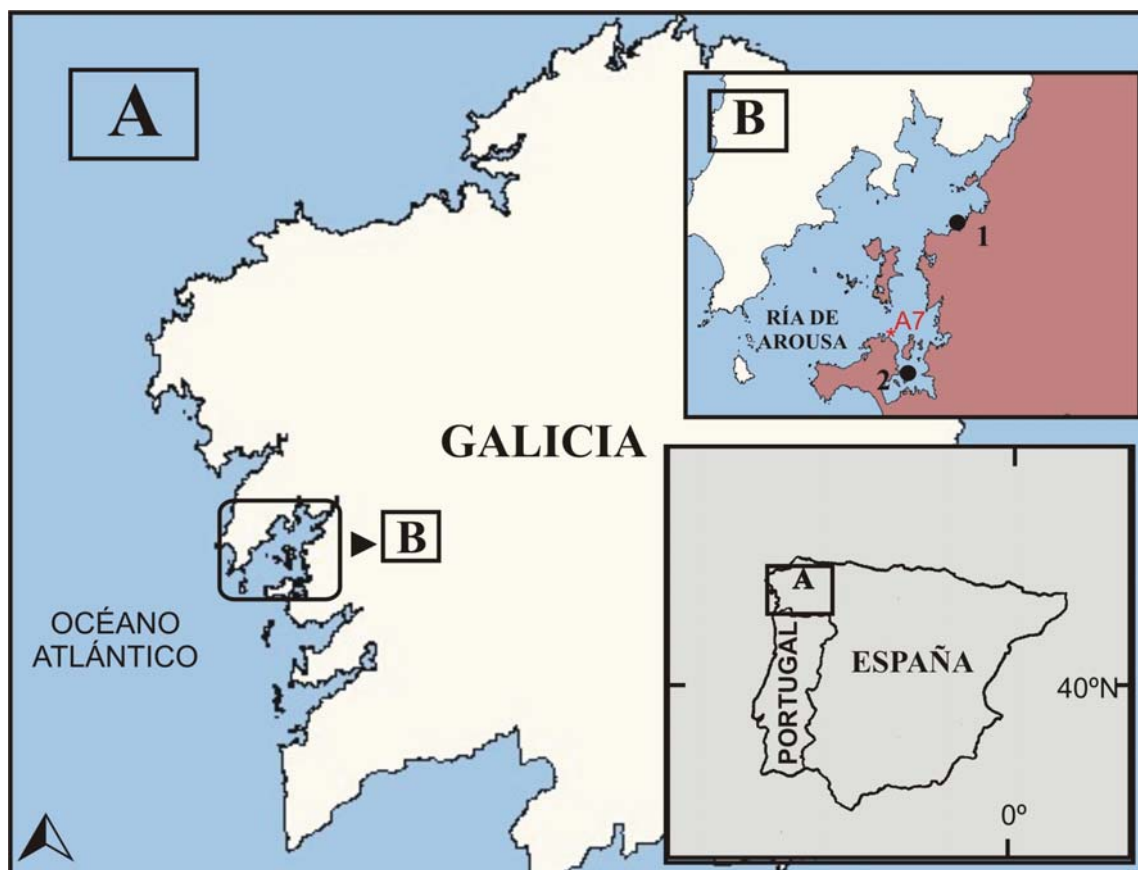


Figura 9 : Ubicación de los lotes de *Crassostrea gigas* estudiados.
Fuente : CIMA.
1. Vilaxoán (intermareal). 2. Grove F (batea). A7. Estación oceanográfica.

III.2. Métodos y condiciones de cultivo. Plan de trabajo

Entre febrero y noviembre de 2005, se recolectaron - con carácter mensual- entre 15 y 30 ejemplares en cada uno de los puntos de cultivo objeto de estudio, siendo trasladados al laboratorio en neveras isoterma. Los individuos se procesaron para los análisis correspondientes, en un período de tiempo lo más breve posible.

Los sistemas de cultivo empleados fueron el cultivo sobreelevado en intermareal, para el polígono de Vilaxoán y el cultivo suspendido en batea para el polígono Grove F. La distribución de los lotes se detalla en la tabla 1 de Anexos, las condiciones de cultivo y el plan de trabajo seguido en las tablas 2 y 3 de Anexos respectivamente.

III.3. Evaluación de la condición gonadal

A cada individuo muestreado se le extrajo una pieza de tejido (de aproximadamente 5 milímetros de espesor) correspondiente a una sección transversal realizada a la altura de la unión entre los palpos labiales y las branquias. Esta muestra de tejido se procesó mediante técnicas histológicas clásicas siguiendo el protocolo descrito en la tabla 4 de Anexos. Las secciones histológicas resultantes fueron examinadas al microscopio óptico con el fin de determinar la maduración gonadal.

Para cuantificar la maduración gonadal se estableció una escala propia que comprendía 6 estados; ésta se desarrolló a partir de los esquemas propuestos por Mann (1979) y por Steele & Mulcahy (1999), y se expone con detalle en el apartado IV.1.2. En base a dicha escala se calculó un índice de maduración gonadal (I.M.G.) (Seed & Brown, 1975) mensual (para el conjunto de la población y, también, para machos y hembras por separado) como una media ponderada conforme a la siguiente categorización de los estados de maduración gonadal (Shafee & Daoudi, 1991):

Estado 0	(Gónada inactiva o reposo)	:0
Estado 1	(Actividad temprana)	:1
Estado 2	(Gónada en desarrollo)	:2
Estado 3	(Madurez)	:3
Estado 4	(Desove)	:2
Estado 5	(Reabsorción)	:1

Para cada muestra, el número de ostras en cada estado fue multiplicado por el “peso” atribuido a cada estado. El producto de esta multiplicación fue sumado y el resultado dividido por el número total de ostras en la muestra. El desarrollo gametogénico fue indicado por un incremento en el índice mientras que una disminución del mismo señalaba que la puesta había tenido lugar (Shaffe & Daoudi, 1991).

Así mismo, con el fin de determinar si la relación entre sexos (sex ratios) se ajustaba a una distribución 1:1, se realizaron, mediante EXCEL, tests Chi-cuadrado de bondad de ajuste sobre las muestras mensuales, y sobre el total de individuos analizados a lo largo del período estudiado. La hipótesis nula (H_0) contrastada fue que la relación entre machos y hembras se ajustaba a 1.

III.4. Variables biométricas e índices de condición

Los ejemplares recolectados (15 -30/mes) se midieron con un calibre (0,01 mm de precisión) y se pesaron con una balanza de precisión (sd=0,01g).

Inicialmente, además de la longitud, se registró el peso total de cada uno de los individuos muestreados. A continuación se abrió cada una de las ostras y se extrajo la

carne, cuyo peso húmedo fue registrado tras un breve escurrido sobre papel secante. Estos tejidos húmedos fueron sometidos a deshidratación en estufa a 60°C durante 72°C, tras lo cual su peso seco fue registrado. Con las valvas se procedió de la misma forma, registrando tanto su peso húmedo como su peso seco tras el período de desecación en estufa. Todos los datos fueron archivados en EXCEL y el valor promedio, la desviación típica y el error estándar calculados para cada lote y período muestreado.

Una vez obtenidas estas variables biométricas, se procedió a realizar los cálculos de los índices de condición fisiológicos (I.C.) según la siguiente expresión (Walne, 1976; Mann & Glomb, 1978):

$$IC = \text{Peso seco vianda (g)} \times 100 / \text{Peso seco valvas (g)}$$

De la misma forma que con las variables biométricas, todos los índices calculados fueron registrados en hojas de cálculo de EXCEL y se obtuvieron la media aritmética, desviación típica y error estándar para cada uno de los lotes cultivados y en cada uno de los muestreos realizados. Con el fin de valorar si existían diferencias significativas en el último mes muestreado (noviembre 2005), entre ambos lotes de cultivo en lo que respecta a las diferentes variables biométricas e índices de condición, se realizaron tests no paramétricos de Mann-Whitney, puesto que alguna de las variables no se ajustaba a una distribución normal. Asimismo se calcularon coeficientes de correlación por rangos de Spearman entre los valores de índice de maduración gonadal (IMG) y los índices de condición fisiológicos obtenidos con el fin de evaluar si existía algún tipo de relación entre la evolución del ciclo gonadal y los mismos. Para ello se empleó la aplicación informática MINITAB 14.0.

III.5. Parámetros ambientales

No fue posible disponer de los registros de condiciones oceanográficas que el *INTECMAR*¹ realiza en las rías gallegas, porque los mismos se editan al concluir la anualidad en curso. En su defecto, y con motivo de referenciar al menos el rango de temperatura y salinidad imperante en la Ría de Arousa –en la que se ubican ambos puntos de estudio- se emplearon los registros de la estación A7 correspondientes al año 2004 (Figura 9).

¹*INTECMAR*: El Instituto Tecnológico para o Control do Medio Mariño de Galicia registra, semanalmente, parámetros ambientales a lo largo de una red de estaciones oceanográficas incluidas dentro de un programa de control, promovido por la Consellería de Pesca y Asuntos marítimos, cuya finalidad es la de tener en todo momento un conocimiento completo de las características del medio.

III.6. Reclutamiento natural

Con el fin de disponer de datos reales acerca de la viabilidad de las puestas de *Crassostrea gigas* en las rías gallegas, se emprendió una campaña de disposición de colectores en los puntos geográficos donde se estaba llevando a cabo el estudio de seguimiento del ciclo gonadal (Vilaxoán y Grove F). Para ello con periodicidad mensual entre los meses de junio y septiembre –período de puesta de *C. gigas* en las rías gallegas (Ruiz, et al. 1992; Rodríguez & Carrasco, 1993)- se dispusieron colectores comerciales utilizados por la industria ostrícola francesa para la captación de ostra. En el caso del cultivo sobreelevado del intermareal de Vilaxoán se emplearon dos tipos diferentes de colectores: “sombrecitos chinos” y torres colectoras de semitubos plásticos, ubicados sobre parrillas metálicas sobreelevadas (Figura.10). En la batea de Grove F se colgaron únicamente torres colectoras de semitubos plásticos (Figura 11). En enero de 2006 está prevista la retirada de estos colectores y su traslado al laboratorio para proceder a la cuantificación de la cantidad de semilla de ostra fijada. Previamente en noviembre de

2005 se realizó una valoración cualitativa *in situ* de la presencia de fijaciones en los mismos.



Figura 10: Colectores comerciales dispuestos en intermareal (Vilaxoán) en las experiencias de captación natural desarrolladas en el proyecto: sombreritos chinos y torres colectoras de semitubos plásticos encalados. Fuente: CIMA.



Figura 11: Torres colectoras de semitubos plásticos encalados situados en una batea (polígono Grove F). Fuente: CIMA.

IV. RESULTADOS

IV. RESULTADOS

IV.1. Evaluación de la condición gonadal

IV.1.1. Sexualidad y relación entre sexos (sex ratio):

En las Tablas 4 y 5 se muestran el número de machos, hembras e individuos indeterminados, global y en los diferentes períodos de muestreo, observados en cada una de las zonas estudiadas. En el cultivo sobreelevado (Vilaxoán), la relación entre sexos presentó diferencias significativas a nivel global (así como en los meses de mayo y junio) con respecto a la distribución 1:1 (Tabla 4), de manera que el número de hembras fue significativamente superior al de machos. Las ostras cultivadas en suspensión (Grove F) presentaron una distribución de sexos que se ajustó a una relación 1:1 a nivel global, y a lo largo de todo el período de estudio (Tabla 5). En el muestreo correspondiente al mes de septiembre en batea, por motivos técnicos no fue posible el procesamiento histológico de los ejemplares y por ello se carece de los datos de los índices de condición gonadal de dicho mes. Los individuos de sexo indeterminado fueron predominantes en el período invernal (febrero) y en los meses de otoño. Durante la primavera y el verano no se detectó ninguna ostra de sexo indeterminado en intermareal, pero sí en batea, donde únicamente en junio no se detectó ningún individuo indeterminado (Tablas 4 y 5).

Tabla 4: Distribución de las ostras *Crassostrea gigas* cultivadas mediante sobreelevado en intermareal (Vilaxoán) en función de su caracterización sexual.

Fecha	Hembras		Machos		Indeterminados		Ratio H/M observado	Test χ^2 ⁽¹⁾	
	n	%	n	%	n	%		Valor χ^2 (G.L. ²)	P ⁽³⁾ (significación estadística)
8/02/2005	0	0	0	0	30	100	-	-	-
9/03/2005	6	31,6	11	57,9	2	10,5	0,5	1,47 (1)	0,23 (n.s.)
11/04/2005	16	57,1	12	42,9	0	0	1,3	0,57 (1)	0,45 (n.s.)
5/05/2005	16	84,2	3	15,8	0	0	5,3	8,89 (1)	0,00 (**)
8/06/2005	21	77,8	6	22,2	0	0	3,5	8,33 (1)	0,00 (**)
8/07/2005	10	71,4	4	28,6	0	0	2,5	2,57 (1)	0,11 (n.s.)
23/08/2005	5	33,3	2	13,3	8	53,3	2,5	1,29 (1)	0,26 (n.s.)
6/09/2005	5	33,3	2	13,3	8	53,3	2,5	1,29 (1)	0,26 (n.s.)
17/10/2005	2	13,3	2	13,3	11	73,3	1	0,00 (1)	1,00 (n.s.)
TOTAL	81	53,3	42	27,6	29	19,1	1,9	12,37 (1)	0,00 (**)

¹ Ho: machos y hembras siguen una distribución 1:1

² G.L.: Grados de libertad del test

³ Probabilidad de aceptar la Ho. Criterio de significación estadística al 95%: n.s., diferencias no significativas: $p > 0.05$; *, $0.05 > p > 0.01$; **, $0.01 > p > 0.00$

Tabla 5: Distribución de las ostras *Crassostrea gigas* cultivadas mediante suspensión en batea (Grove F) en función de su caracterización sexual.

Fecha	Hembras		Machos		Indeterminados		Ratio H/M observado	Test χ^2 ⁽¹⁾	
	n	%	n	%	n	%		Valor χ^2 (G.L. ²)	P ⁽³⁾ (significación estadística)
8/02/2005	0	0	0	0	30	100	-	-	-
30/03/2005	4	21,1	12	63,2	3	15,8	0,3	4,00 (1)	0,05* (n.s.)
12/04/2005	10	55,6	5	27,8	3	16,7	2,0	1,67 (1)	0,20 (n.s.)
11/05/2005	9	45,0	10	50,0	1	5,0	0,9	0,05 (1)	0,82 (n.s.)
9/06/2005	19	65,5	10	34,5	0	0	1,9	2,79 (1)	0,09* (n.s.)
8/07/2005	10	52,6	8	42,1	1	5,3	1,25	0,22 (1)	0,64 (n.s.)
24/08/2005	3	20,0	8	53,3	4	26,7	0,4	2,27 (1)	0,13 (n.s.)
26/10/2005	1	6,7	3	20,0	11	73,3	0,3	1,00 (1)	0,32 (n.s.)
TOTAL	56	41,5	56	41,5	23	17,0	1	0,00 (1)	1 (n.s.)

¹ Ho: machos y hembras siguen una distribución 1:1

² G.L.: Grados de libertad del test

³ Probabilidad de aceptar la Ho. Criterio de significación estadística al 95%: n.s., diferencias no significativas: $p > 0.05$; *, $0.05 > p > 0.01$; **, $0.01 > p > 0.00$

*Valores próximos a la significación estadística

Después del análisis de secciones histológicas de 291 ostras, únicamente se detectaron 4 individuos (3 en batea y 1 en intermareal) que presentaban gametos masculinos y femeninos simultáneamente (Figura 12) si bien, debido a que la viabilidad de los mismos no pudo ser determinada, se clasificaron como “potencialmente hermafroditas”.

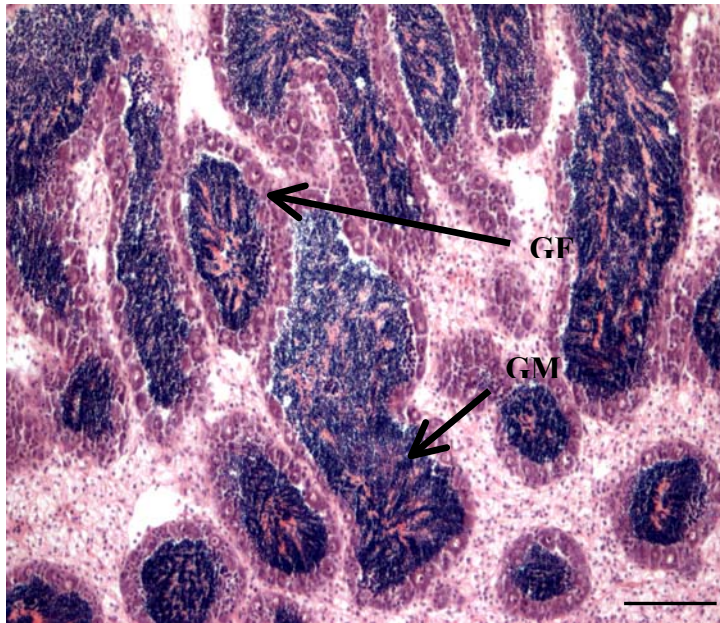


Figura 12: Estado de Hermafrodita potencial. Foto realizada por Araceli Escudeiro.

Corte histológico de gónada de *C.gigas*. Se observan simultáneamente en la gónada gametos femeninos (GF) y masculinos (GM). Barra: 100 μ m.

IV.1.2. Ciclo reproductivo:

Basándose en los criterios propuestos por Mann (1979) y por Steele & Mulcahy (1999) y en observaciones propias se elaboró una escala de madurez para el seguimiento del ciclo reproductivo. Dicha escala comprende 6 estados que se exponen a continuación:

- *Estado 0: Gónada inactiva o reposo:*

Prácticamente la totalidad de la gónada estaba ocupada por tejido conjuntivo, no distinguiéndose, o muy difícilmente la existencia de folículos periféricos a la glándula digestiva. No resultaba posible diferenciar el sexo.

- *Estado 1: Actividad temprana.*

Se comenzaban a detectar los primeros signos de gametogénesis. Las paredes de los folículos parecían más prominentes y estaban tapizadas por las células germinales (Figuras 13 y 14).

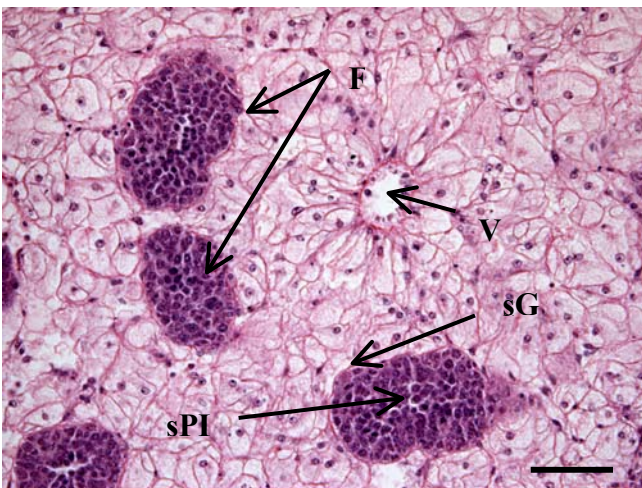


Figura 13 : Estado 1 de macho. Foto realizada por Araceli Escudeiro. Corte histológico de gónada de *Crassostrea gigas*. Se observan folículos gonadales abundantes (F) con espermatogonias (sG) y espermatocitos (sPI) en la pared; pero no espermatozoos. El tejido de reserva es consumido y regenerado alrededor de los vasos hemolinfáticos (V). Barra: 50 μ m.

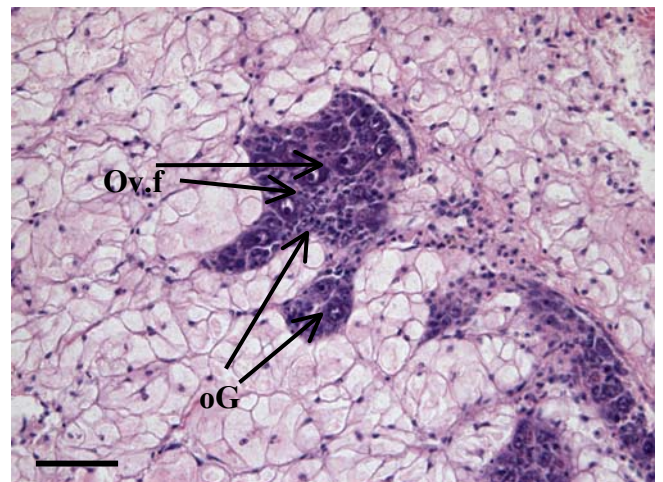


Figura 14: Estado 1 de Hembra. Foto realizada por Araceli Escudeiro. Corte histológico de gónada de *Crassostrea gigas*. Se observan ovogonias (oG) surgiendo de las paredes de los folículos y algún ovocito (Ov.f) en el lumen. Barra: 50 μ m.

- *Estado 2. Gónada en desarrollo.*

Los folículos ocupaban una gran parte de la masa visceral mientras que el tejido conjuntivo estaba en regresión (Figuras 15 y 16).

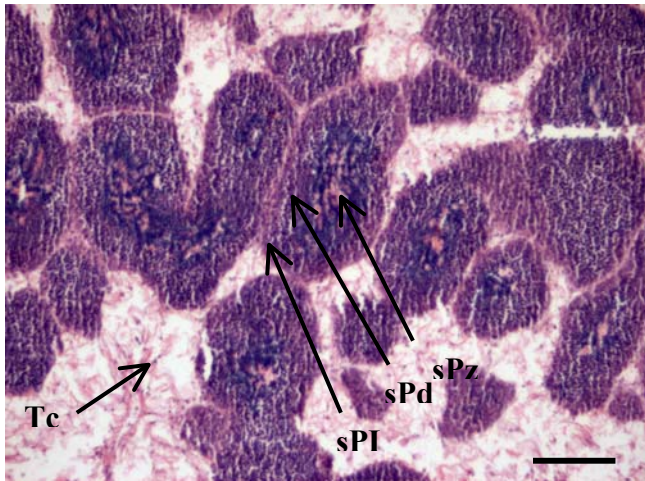


Figura 15 : Estado 2 de Macho. Foto realizada por Araceli Escudeiro. Corte histológico de gónada de *Crassostrea gigas*. Se observan folículos con espermatocitos (**sPI**) y espermatidas (**sPd**) como células predominantes. Comienzan a aparecer, de manera desordenada, espermatozoides en el folículo (**sPz**) con las colas orientada hacia el lumen del mismo . El tejido conjuntivo (**Tc**) está en regresión. Barra: 100 μ m.



Figura 16: Estado 2 de Hembra. Foto realizada por Araceli Escudeiro. Corte histológico de gónada de *Crassostrea gigas*. Se observan ovocitos fijados (**Ov.f**) a las paredes de los folículos en proceso de aumento de tamaño. Comienza a aparecer algún ovocito libre. Los núcleos se tiñen más claro que el citoplasma Barra: 100 μ m.

- *Estado 3: Madurez.*

La gónada ocupaba la mayor parte del volumen de la masa visceral. Casi no se distinguía tejido conjuntivo separando los folículos que presentaban un aspecto muy distendido (Figuras 17 y 18).

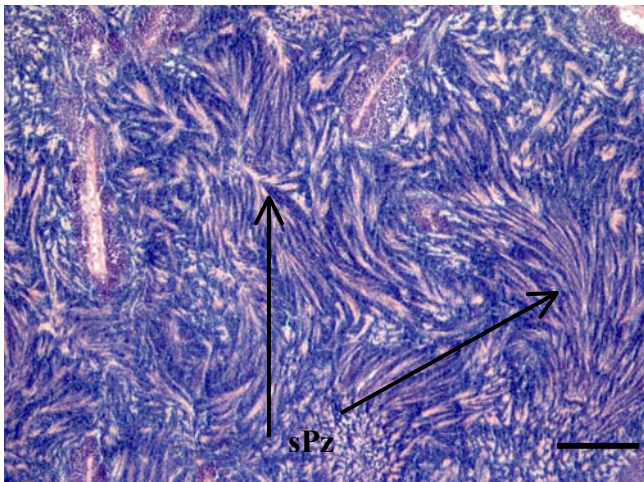


Figura 17: Estado 3 de Macho. Foto realizada por Araceli Escudeiro. Corte histológico de gónada de *Crassostrea gigas*. Se observan los folículos llenos de espermatozoides (sPz) formando la disposición en remolino típica que llena completamente el folículo. Barra: 100 μ m

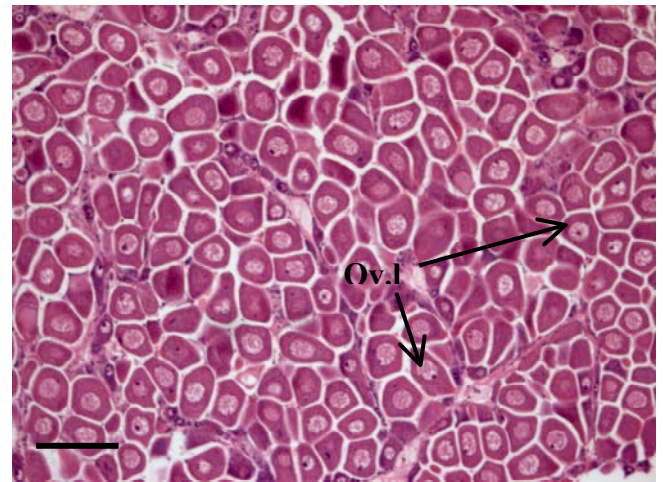


Figura 18: Estado 3 de Hembra. Foto realizada por Araceli Escudeiro. Corte histológico de gónada de *Crassostrea gigas*. Se observan folículos repletos de ovocitos libres (Ov. I) con forma poligonal y distinguiéndose de manera clara sus núcleos y nucleolos. Barra: 100 μ m.

▪ *Estado 4: Desove.*

Ha tenido lugar una liberación parcial de los gametos y como consecuencia la presión en el interior de los folículos disminuyó. En el caso de las hembras se observaban espacios libres en el interior del folículo. Los machos, por su parte presentaban un desorden generalizado de las células sexuales. (Figuras 19 y 20).

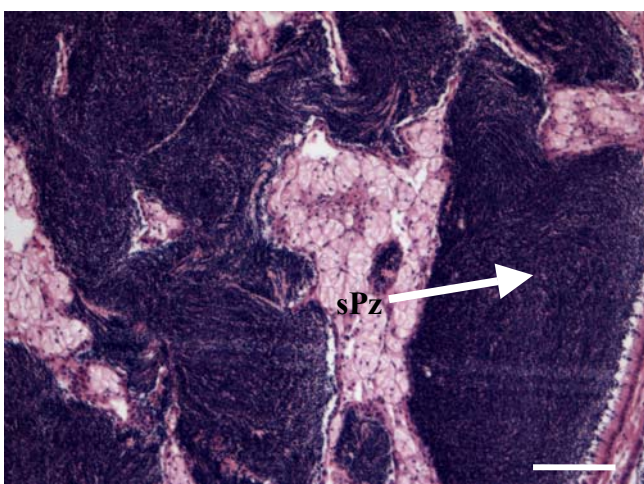


Figura 19: Estado 4 de Macho. Foto realizada por Araceli Escudeiro. Corte histológico de gónada de *Crassostrea gigas*. Se observa como los espermatozoides (sPz) han perdido su disposición y aparecen desordenados en el interior de los folículos que empiezan a vaciarse. Barra: 100 μ m.

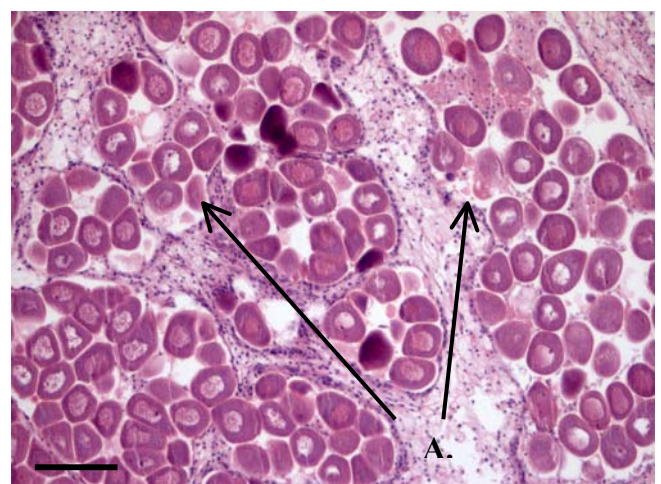


Figura 20: Estado 4 de Hembra. Foto realizada por Araceli Escudeiro. Corte histológico de gónada de *Crassostrea gigas*. Se observan ovocitos en estadios de madurez junto con folículos que presentan huecos en el lumen debido a los ovocitos emitidos. Algún ovocito en atresia (A). Barra: 100 μ m.

- *Estado 5: Reabsorción.*

Los folículos degeneran y comienza un proceso de citólisis de los gametos que no han sido liberados. La gónada se encontraba en recesión siendo sustituida por tejido conjuntivo (Figuras 21 y 22).

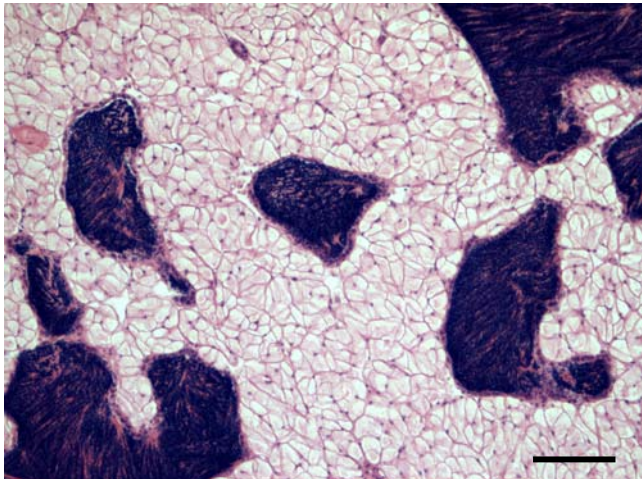


Figura 21: Estado 5 de Macho. Foto realizada por Araceli Escudeiro. Corte histológico de gónada de *Crassostrea gigas*. Barra: 100 μ m.

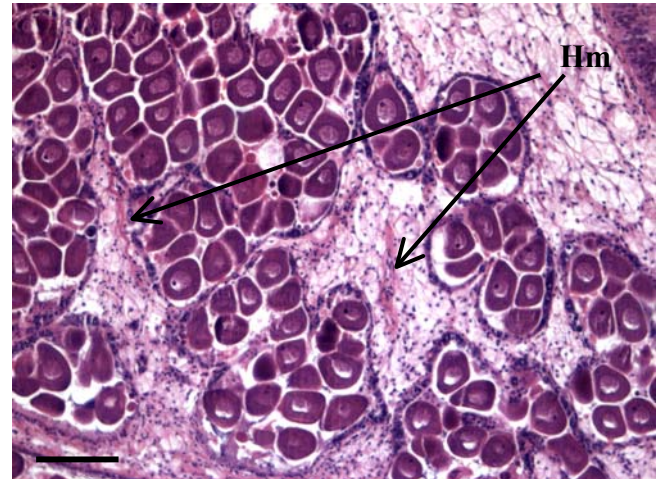


Figura 22: Estado 5 de Hembra. Foto realizada por Araceli Escudeiro. Corte histológico de gónada de *Crassostrea gigas*. Se observan hemocitos (**Hm**) atacando los folículos, que comienzan a degenerar. Proliferación de tejido conjuntivo. Barra: 100 μ m.

Cuando en una sección histológica de un individuo coexistían características de diferentes estadios de desarrollo gonadal se recurrió al criterio de clasificarlo como perteneciente al estadio en el que se encontraban la mayoría de los folículos gonadales. Asimismo aquellas preparaciones histológicas que estaban muy rotas y deterioradas, fueron descartadas del estudio.

Tal y como se aprecia en la Figura 23, a través de la evolución del índice de maduración gonadal, el ciclo gametogénico de machos y hembras presentó un patrón temporal similar. Por ello ambos sexos fueron considerados de manera conjunta en la

descripción del ciclo reproductivo de *Crassostrea gigas* en los dos tipos de cultivo estudiados.

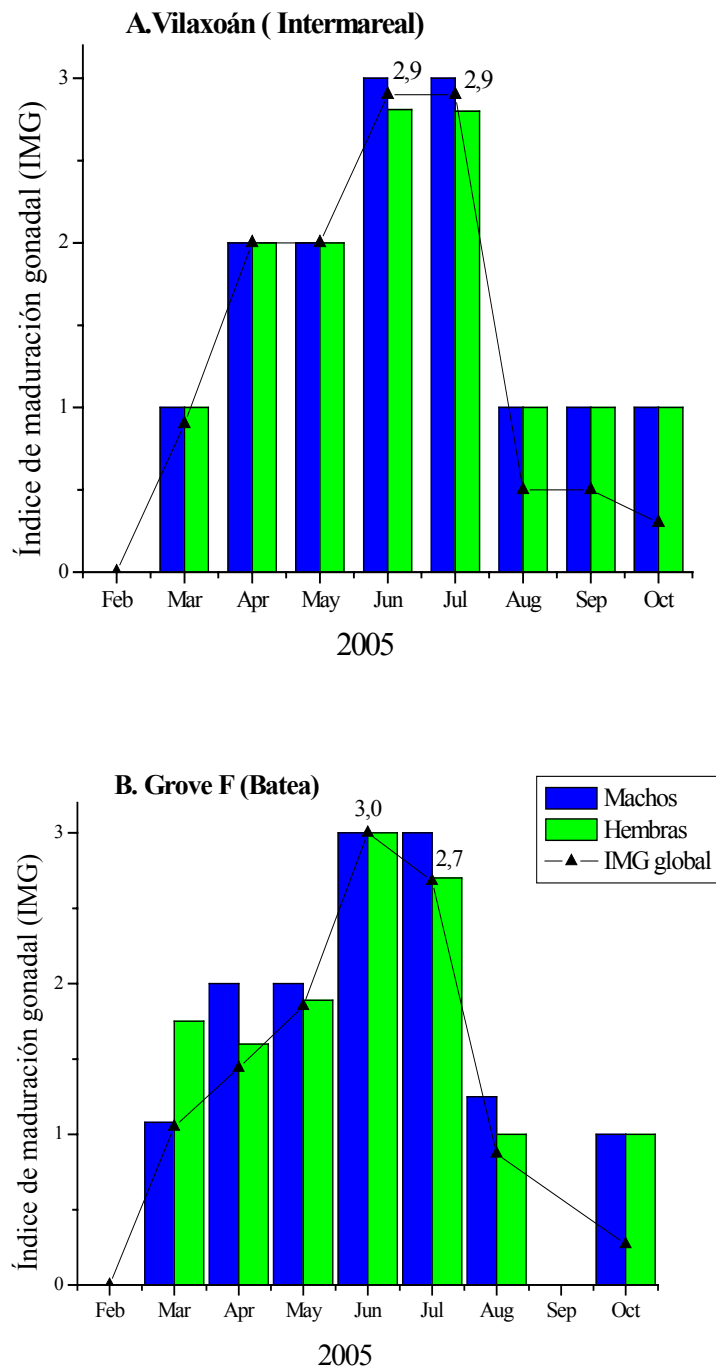


Figura 23: Evolución del índice de maduración gonadal de *Crassostrea gigas* en los dos tipos de cultivo empleados, a nivel global y según el sexo de los organismos.

En el momento de su introducción (febrero de 2005) las ostras se encontraban indiferenciadas sexualmente y con su gónada en reposo (Figura 23 y 24). La gametogénesis se inició en marzo en los dos puntos de estudio (aunque la Figura 24 parece indicar que ésta se encontraba más avanzada en este mes en batea, hay que considerar que el muestreo en este cultivo tuvo lugar casi 20 días más tarde) y progresó a lo largo de la primavera. A finales de primavera (principios de junio) la práctica totalidad de la población de *Crassostrea gigas* de ambas localizaciones presentaba su gónada madura (Figura. 24), alcanzando el índice de maduración gametogénico valores máximos (Figura. 23). La misma situación aparecía en julio, si bien es posible que tuviese lugar alguna puesta parcial entre estas fechas de muestreo tanto en intermareal (Vilaxoán) como en batea (Grove F), como parece deducirse de la observación de un pequeño porcentaje de individuos con su gónada en puesta y/o reabsorción. Este hecho resulta más evidente en el caso de Grove F, donde se aprecia una disminución significativa tanto en el índice de maduración gonadal (Figura 23) como en el índice de condición fisiológico de la población (Figura 26). En todo caso, entre julio y agosto tuvo lugar una puesta masiva en los dos puntos de cultivo objeto de seguimiento, tal y como indica la brusca disminución de los índices de maduración gonadal (Figura 23) y la observación de la práctica totalidad de los individuos de las poblaciones cultivadas con su gónada en reabsorción y reposo. Esta puesta parece ser ligeramente más sostenida en el tiempo en el caso de las ostras de batea, puesto que a finales de agosto aún existe un pequeño porcentaje de individuos con su gónada en puesta (Figura. 24). La condición de reabsorción y reposo gonadal aparece como mayoritaria a finales de verano y a lo largo del otoño, si bien un cierto porcentaje de individuos comienza un nuevo ciclo de gametogénesis (Figura 24).

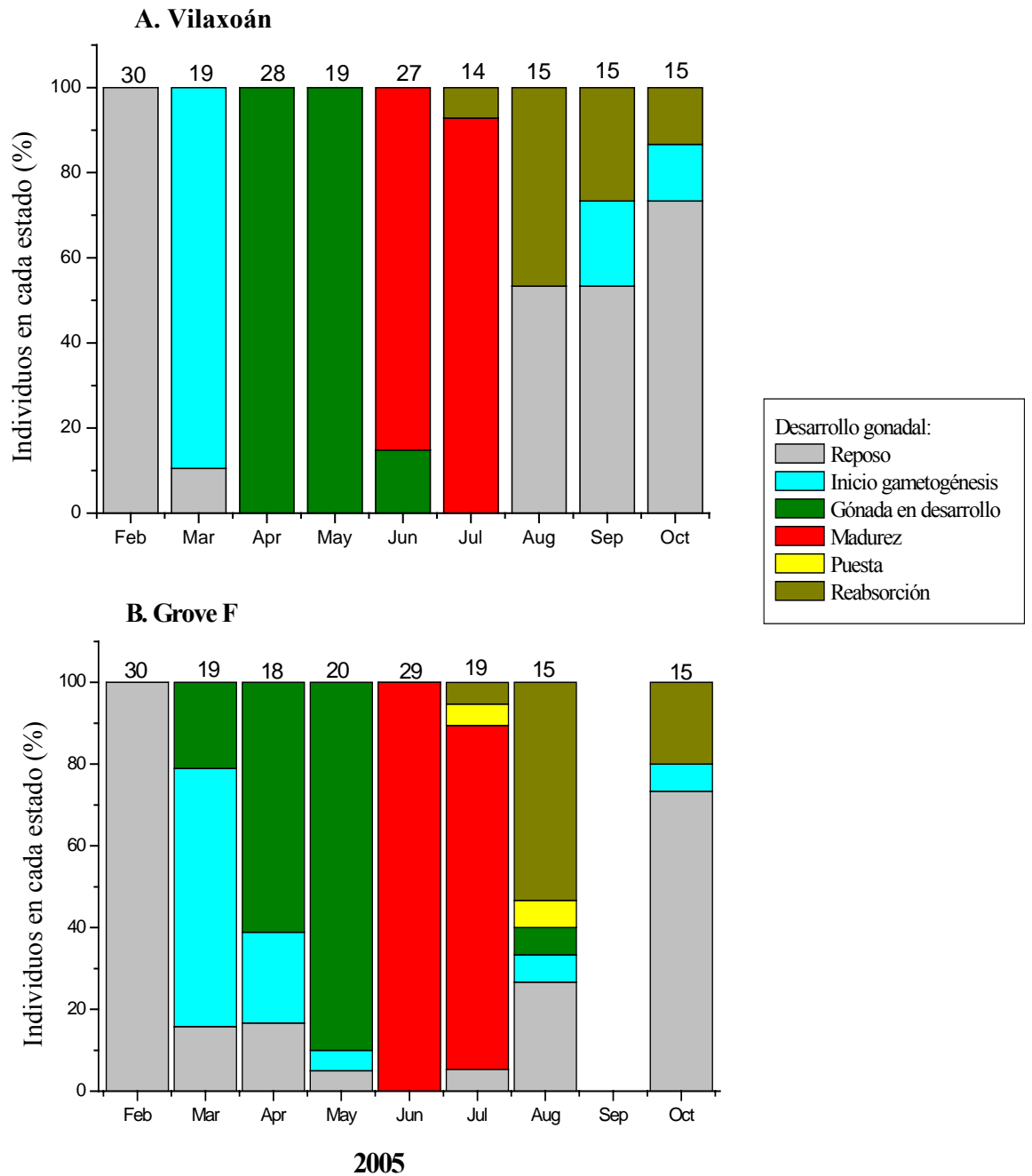


Figura 24: Distribución mensual de frecuencias de los diferentes estados de desarrollo gonadal en *Crassostrea gigas* cultivada en intermareal en Vilaxoán (A) y en batea en Grove F (B).

IV.2. Variables biométricas e índices de condición

La figura 25 muestra la evolución de los valores medios de la longitud dorso-ventral (Fig 25.A), peso total medio (Figura 25.B), y peso fresco de vianda (Figura 25.C), correspondientes a los lotes de ostra rizada de los cultivos en suspensión (Grove F) y en intermareal (Vilaxoán).

En líneas generales el crecimiento (tanto en longitud como en peso) fue considerable en los primeros meses (febrero-julio) y más progresivo hacia finales de verano – otoño (agosto – octubre). En el momento final del seguimiento expuesto en el presente trabajo (noviembre 2005) el lote cultivado en intermareal (Vilaxoán) presentó valores estadísticos de longitud ($P=0,0310 < 0,05$), peso total ($P=0,0019 < 0,05$), peso fresco de vianda ($P=0,0006 < 0,05$) e índice de condición ($P=0,0001 < 0,05$) significativamente superiores a los registrados en batea (Grove F). En el caso de Vilaxoán al finalizar el período de estudio ya se había superado el tamaño comercial y, por tanto, se trataba de ostras ya comercializables (Figura 25.B) con un peso total que superaba la categoría comercial 3 del mercado francés (70 g).

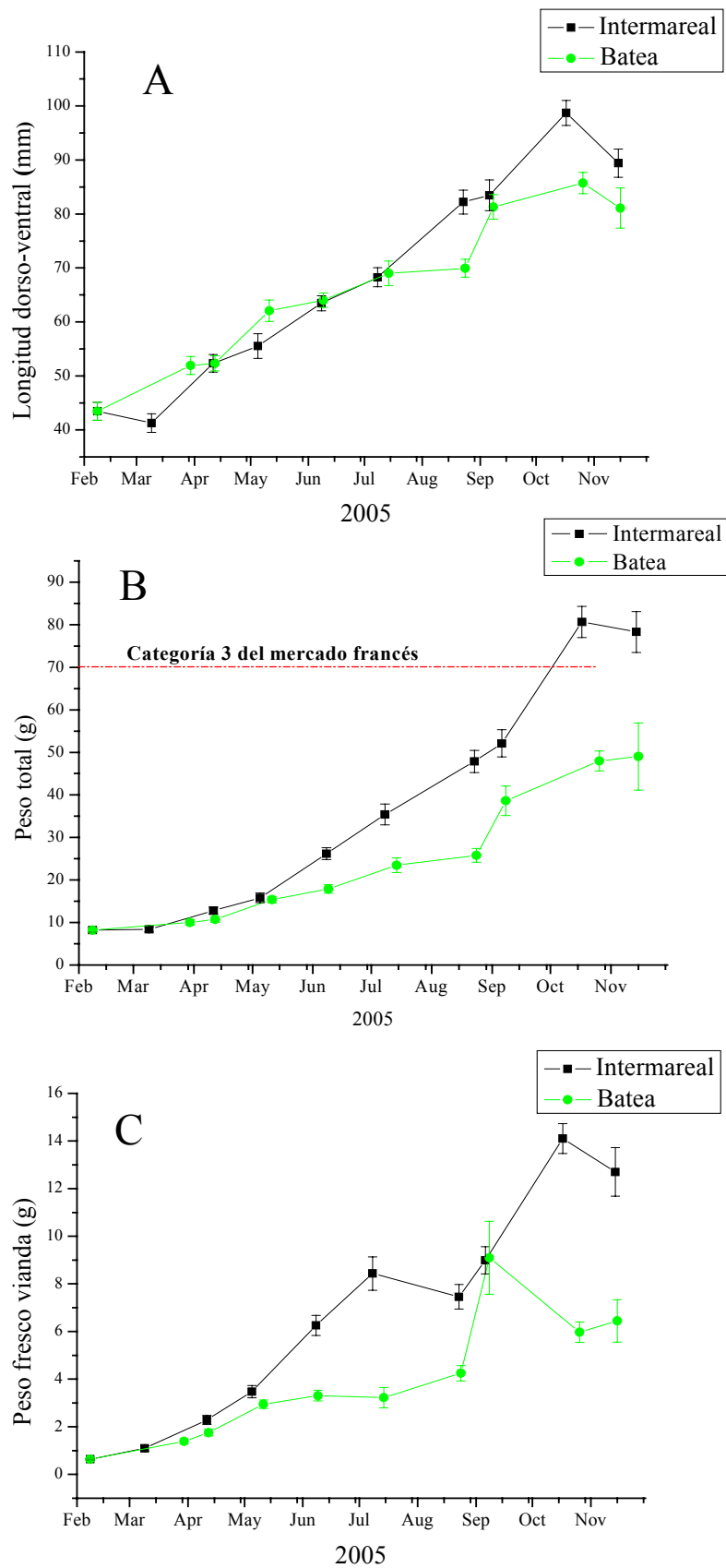


Figura 25 : Evolución de los valores medios de longitud dorso – ventral (A), peso total (B) y peso fresco de vianda (C) correspondientes a los dos lotes de ostra rizada estudiados. Las barras de dispersión muestran el error estándar.

En la figura 26 se muestra la evolución del índice de condición fisiológico de los dos lotes estudiados. Desde su introducción en febrero de 2005 hasta junio, ambos lotes sufrieron un incremento de los valores de condición, siendo ligeramente superior en el intermareal de Vilaxoán donde llegan a alcanzar valores superiores a 12. A partir de ahí sufren una caída bastante rápida. Esta caída cesa en agosto en el cultivo en suspensión (Grove F) y en septiembre en sobreelevado (Vilaxoán), sufriendo un ligero incremento en la condición al mes siguiente y volviendo a estabilizarse a continuación con valores en torno a 7 y 4 respectivamente para cada punto.

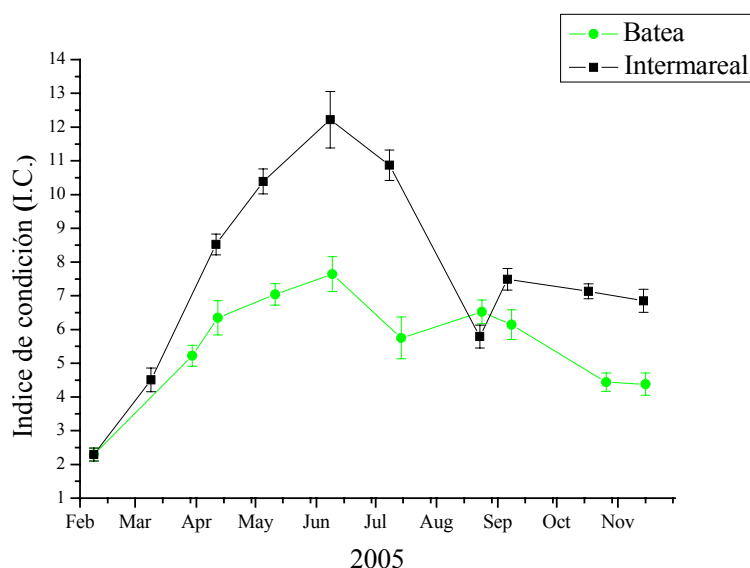


Figura 26. Evolución de índices de condición fisiológico medio (\pm EE) obtenido para los lotes de *Crassostrea gigas* en cada uno de los tipos de cultivo de la Ría de Arousa.

En cuanto a los análisis de correlación por rangos de Spearman aplicados entre los índices de condición fisiológicos y los índices de madurez gonadal en ambos cultivos de estudio, los resultados se representan en la figura 27. Se observó una elevada correlación estadísticamente significativa para los dos lotes que se constata con unos

valores de r (coeficiente de correlación) de 0,87 ($P= 0,003 < 0,05$) para el intermareal (Figura 27.A) y 0,72 ($P= 0,045 < 0,05$) para batea (Figura 27.B).

Ambos índices evolucionaban de manera simétrica, aumentando notablemente durante la época de desarrollo gametogénico (febrero- mayo) y cayendo bruscamente tras el desove (junio-agosto) para recuperarse ligeramente a posteriori (septiembre – octubre) y estabilizarse en la época invernal.

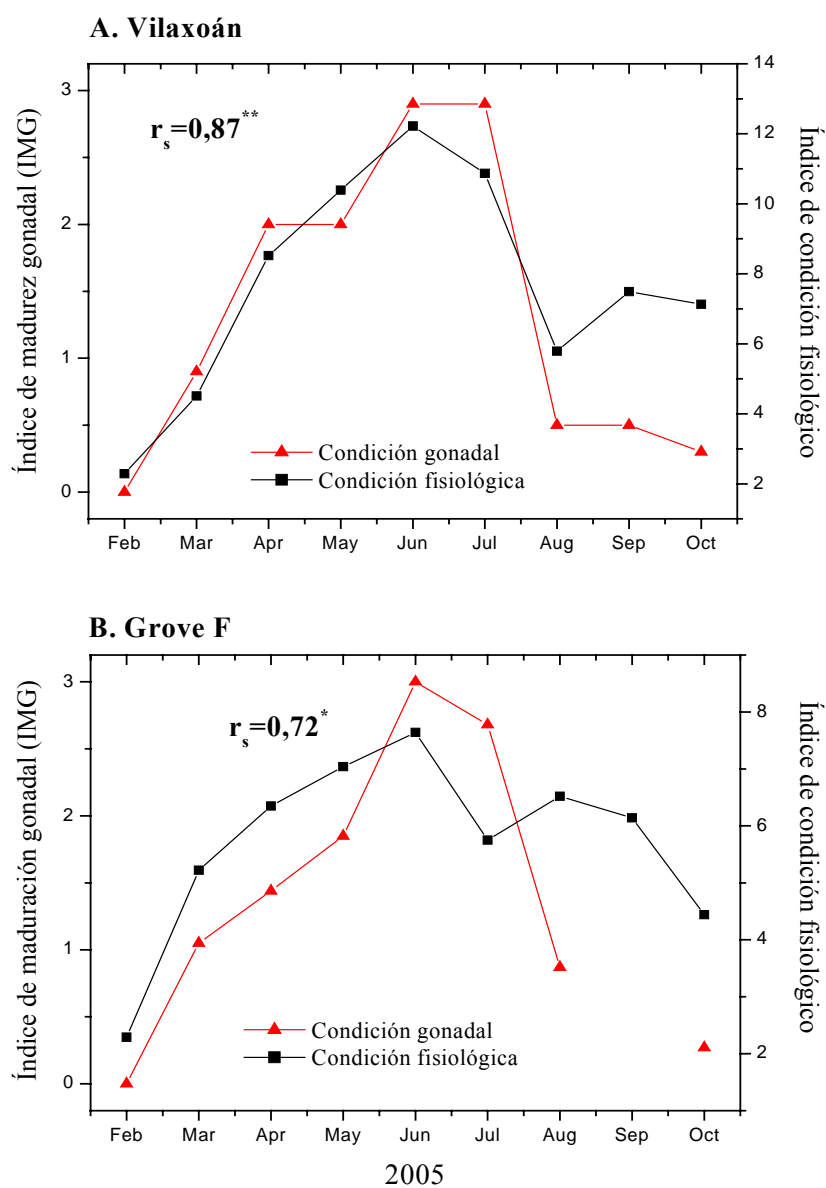


Figura 27 : Evolución y coeficientes de correlación por rangos de Spearman entre los índices de maduración gonadal (I.M.G.) y los índices de condición fisiológicos (I.C.) para cada lote estudiado. r_s = coeficiente de correlación de Spearman.

IV.3. Parámetros ambientales

En la estación oceanográfica A7, tomada de referencia en este estudio para la obtención de los parámetros ambientales, en el período comprendido entre enero y diciembre de 2004, los valores de temperatura oscilaron entre una mínima de 12,43 °C en el mes de marzo hasta una máxima de casi 19 °C en agosto. Analizando los datos por estaciones, las medias obtenidas fueron de 12,97 °C en invierno, 13,91 °C en primavera, 17,54 °C en verano y 15,25 °C en otoño (Figura 28).

Con respecto a la salinidad, los valores permanecieron prácticamente constantes a lo largo de todo el período de estudio, oscilando entre el 33,42 ‰ de enero y el 35,44 ‰ de julio. Por estaciones los valores medios alcanzados fueron 34,08 ‰, 34,83 ‰, 35,31 ‰ y 35,15 ‰ para invierno, primavera, verano y otoño respectivamente (Figura 29).

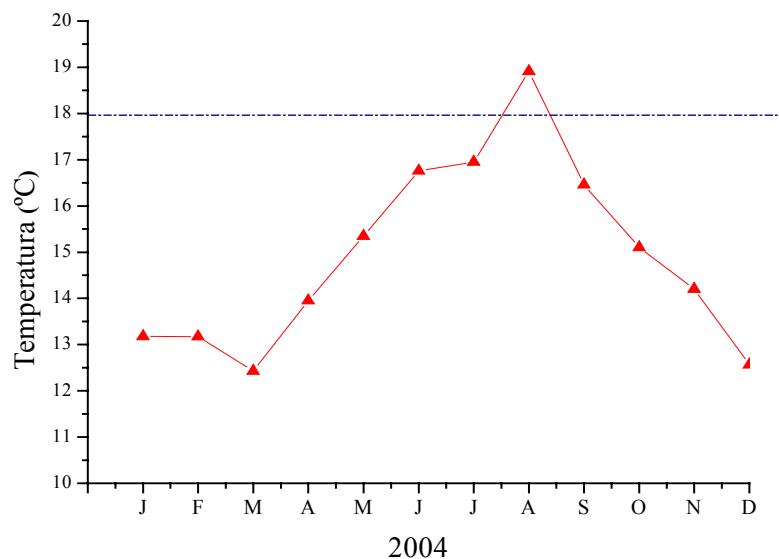


Figura 28: Valores medios mensuales de temperatura registrados durante el año 2004 en la estación oceanográfica A7 de la ría de Arousa. La línea azul discontinua hace referencia a la temperatura de inicio de puesta de Mann (1979).

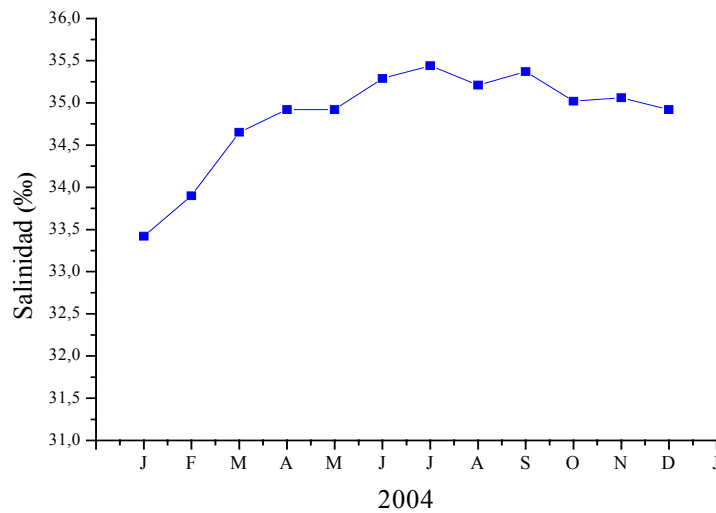


Figura 29: Registros de salinidad del año 2004 en la estación oceanográfica A7 de la Ría de Arousa.

IV.4. Reclutamiento natural:

En noviembre de 2005 –transcurridos 5 meses desde la disposición del primer grupo de colectores, y 2 meses de la ubicación del último- se examinaron *in situ* y de *visu* los colectores con el fin de determinar si se habían producido fijaciones de *Crassostrea gigas* sobre los mismos. Tanto en batea como en intermareal los colectores presentaban abundantes fijaciones de organismos de diferente naturaleza – principalmente algas macrófitas, cirrípedos y tunicados-; no se apreció, sin embargo, fijación alguna de juveniles de ostra.

V. DISCUSIÓN

V. DISCUSIÓN

En general, la estrategia reproductiva de los organismos marinos, que habitan en ambientes tan inestables como la zona litoral, constituye una adaptación a las condiciones ambientales y por ello tienden a adoptar estrategias de tipo *r* basadas en períodos reproductivos cortos y una elevada fecundidad (Lubet, 1976). El género *Crassostrea* constituye uno de los máximos exponentes de dicha adaptación (Andrews, 1979), y *Crassostrea gigas*, en concreto, ejemplifica a la perfección la respuesta adaptativa de una especie introducida en un ambiente nuevo (Dinamani, 1987). Es importante resaltar en este punto que la especie *Crassostrea angulata*, Lamarck, (1819) (también llamada Ostra Portuguesa u Ostión) representa un importante conflicto taxonómico con *C. gigas*. Inicialmente, estas dos especies fueron clasificadas por separado debido a su aparentemente diferente, distribución geográfica; *C. gigas* fue descrita en Asia y *C. angulata* en Europa. (Lapegue, et al. 2004). Sin embargo, estudios de comparaciones morfológicas, de hibridaciones experimentales (Huvet, et al. 2001, Huvet, et al. 2002) y de variación genética de proteínas y enzimas (Mathers, et al. 1974, Mattiucci & Villani, 1983) conllevaron a que estos autores las considerarán como una sola especie. De todas maneras es importante no olvidar que existen características diferentes entre ellas a nivel fenotípico, de metabolismo respiratorio, tasa de retención de partículas, tasas de crecimiento, modo de reproducción y vulnerabilidad frente a las enfermedades, lo que definiría dos especies distintas por sus marcadas diferencias fisiológicas. (Héral, 1991).

La viabilidad reproductiva de las ostras dependerá fundamentalmente de su fecundidad –condicionada por aspectos como la talla, la edad, el estado nutricional, la presencia de patologías y la duración del período reproductivo- y de su viabilidad

larvaria –que depende de los factores físicos y biológicos del medio donde los gametos son liberados- (Andrews, 1979).

La viabilidad reproductiva de las especies está condicionada por la existencia de individuos de ambos sexos reproductivamente activos en un número suficientemente elevado. La familia Ostreidae presenta hermafroditismo asincrónico caracterizado por presentar protandria y un cambio consecutivo de sexo a lo largo de su vida (Gosling, 2003). Por ello la proporción de machos, hembras e individuos indeterminados varía temporalmente. Este hecho se confirmó a lo largo del presente trabajo en los dos tipos de cultivo estudiados (sobreelevado en Vilaxoán y susendido en Grove F), de manera que las proporciones de machos y hembras disminuyeron en la época invernal cuando las ostras entraron en período de reposo. Por otra parte, mientras que en Grove F –al considerar la totalidad de los individuos muestreados- la relación machos:hembras se ajustó a una relación 1:1, en Vilaxoán el número de hembras prácticamente duplicó al de machos. Las proporciones medias en intermareal fueron de 53% de hembras, 28% de machos y 19% de indeterminados y en batea de 41,5% para machos y hembras y 17% para indeterminados. La relación entre sexos presenta una gran variación en la bibliografía (Mann, 1979; Perdue & Ericsson, 1984; Dinamani, 1987; Sphigel, 1989; Steele & Mulchay, 1999) y no resulta posible observar un patrón común en las diferentes localidades. Parece que tanto el mecanismo de cambio de sexo de *C. gigas* como los factores que lo determinan son, en definitiva, los responsables de las proporciones observadas en diferentes lugares. A este respecto parece que existe un fuerte condicionante genético en el mecanismo de cambio de sexo en *C. gigas* (Guo, et al. 1998), pero otros factores, como la temperatura, el manejo, el tamaño de muestra y la

localización, pueden también ejercer influencias en dicha distribución (Steele & Mulcahy, 1999).

En el examen de las secciones histológicas, de los casi 300 individuos analizados en el presente estudio, únicamente se observó la coexistencia de gametos masculinos y femeninos en 4 individuos. La viabilidad de dichos gametos no pudo ser determinada mediante criterios histológicos. Basándose en la idea de que un verdadero hermafroditismo funcional probablemente no tiene lugar en ostras debido a la degeneración genética que supone la autofertilización (Andrews, 1979), y al hecho de que otros autores tras el examen de un número de muestras mucho mayor, que las correspondientes al presente estudio, no detectasen ningún individuo hermafrodita (Mann, 1979) o lo hiciesen en una cantidad meramente testimonial (Steele & Mulcahy, 1999), es lógico pensar que se tratase de individuos en los que tuvo lugar el inicio de un nuevo ciclo sexual, con cambio de sexo asociado, sin que hubiese liberación completa o reabsorción total de los gametos del ciclo anterior.

Crassostrea gigas ha sido introducida en numerosos países con el fin de su explotación acuícola comercial. Pese a que en algunos países su éxito reproductivo fue tan elevado que ha llegado a causar problemas (Medcof & Wolf, 1975; Reise, 1998), en muchos otros ha presentado tasas de crecimiento y supervivencia adecuadas pero no se ha detectado liberación de gametos (Bernard, 1974; Mann, 1979; Robinson, 1992). El ciclo gonadal y la liberación de gametos están influenciados por factores ambientales tales como la temperatura, la salinidad, el fotoperíodo y la disponibilidad de alimento (Sastry, 1979). El ciclo reproductivo de *C. gigas* puede considerarse como una adaptación a factores ambientales como la temperatura y las condiciones nutricionales

(Lubet, 1976; Ruíz, et al. 1992). El patrón reproductivo general de las ostras objeto de estudio ha sido similar en ambas localizaciones, no detectándose tampoco diferencias apreciables en el ciclo gametogénico en función del sexo. Así, aunque en el momento de su introducción (febrero 2005) las ostras se encontraban en reposo, al cabo de un mes la gónada ya había comenzado su desarrollo y el sexo de las mismas ya resultaba distinguible en la mayor parte de los individuos cultivados. La gametogénesis progresó a lo largo de la primavera y, a finales de la misma, la práctica totalidad de las ostras cultivadas en ambos lugares presentaban su gónada madura. Una primera puesta parcial parece haber tenido lugar a finales de primavera-principios de verano en ambas localizaciones, aunque, tal y como denota la ligera caída del índice de maduración gonadal en Grove F, esta parece haber sido más fuerte en el citado lugar. En julio todavía la mayor parte de la población se encontraba en estado de máxima madurez pero, a finales de agosto, la condición gonadal mayoritaria fue la reabsorción de la gónada y el reposo. En batea parece que algún individuo aún mostraba cierta actividad gonadal. En otoño la mayor parte de la población presentaba su gónada en reposo, cierta proporción de ostras continuaba con su reabsorción y un porcentaje mínimo de individuos iniciaban un nuevo ciclo de desarrollo gametogénico. El momento preciso en que tiene lugar la liberación de gametos en *C. gigas* es difícil de concretar en estudios basados en una periodicidad mensual de muestreo (Dinamani, 1987; Kang, 2000). Sin embargo, en el presente estudio sí se ha podido determinar que el ciclo reproductivo de *C. gigas* en los lugares estudiados se ha extendido durante varios meses localizados en primavera – verano e inicios de otoño, lo cual se adecua bastante a observaciones de otros autores en estudios realizados en localizaciones geográficas diferentes (Perdue & Ericsson, 1984; Dinamani, 1987; Steele & Mulcahy, 1999; Kang, 2000). Resulta

importante resaltar que existen, sin embargo, diferencias con respecto al ciclo reproductivo definido para esta especie por Ruiz, et al. (1992) en una zona próxima a las del presente estudio. Estos autores describen dos máximos de maduración gonadal, uno localizado en junio (al igual que en nuestros resultados) al que sigue una puesta importante, y una remaduración gonadal que da lugar a otro máximo en septiembre-octubre seguida de la correspondiente liberación de gametos. En el presente estudio los valores máximos de maduración gonadal coincidieron con el primer máximo citado por Ruíz, et al. (1992) –aunque se mantuvieron elevados hasta julio- y no se observó remaduración en el otoño. Si bien no fue posible disponer de datos oceanográficos de las zonas en las que se llevó a cabo el cultivo y durante el período de estudio concreto, y basándonos en datos medios del año anterior –correspondientes a una estación oceanográfica (A7) ubicada en la Ría de Arousa - parece que la actividad gonadal de *C. gigas* descrita se localiza en los meses más cálidos del año, progresando su desarrollo de manera continua con el incremento de temperatura propio de la primavera y realizando la liberación de gametos en el momento en que la temperatura alcanza valores máximos, en torno a los 18 °C definidos por Mann, (1979) como mínimos para el desove de *Crassostrea gigas*. El primer ciclo de maduración descrito por Ruíz, et al. (1992) presentó una correlación elevada con la temperatura del agua, sin embargo, la remaduración otoñal estuvo más ligada a las condiciones de disponibilidad de alimento debido a la presencia de blooms fitoplanctónicos en otoño, y que son muy específicos de la localización (Grove A) en la que estos autores llevaron a cabo su estudio.

Las ostras cultivadas en las dos localizaciones consideradas en este estudio, presentaron un crecimiento positivo continuo, tanto en longitud como en peso total, a lo largo de todo el período estudiado. Si bien, se detectaron diferencias estadísticas entre

ellos en las dos localizaciones de referencia siendo significativamente mayores en Vilaxoán que en Grove F. En general, el método de cultivo de bivalvos mediante suspensión suele contribuir al desarrollo de mayores tasas de crecimiento debido a la mayor disponibilidad de alimento al encontrarse los individuos todo el tiempo en inmersión (Pazos, et al. 1997). En nuestro caso, sin embargo, esto no resulta así y el crecimiento fue mayor en el caso de las ostras cultivadas en el intermareal de Vilaxoán. La explicación de este hecho probablemente esté en las condiciones específicas de cultivo, de tal forma que tanto la densidad efectiva de cultivo –mayor en Grove F-, como las características de las cajas plásticas empleadas en la batea –luz de malla menor que los sacos ostrícolas-, determinaron que finalmente el alimento disponible fuese menor en el caso del cultivo suspendido en batea. Aunque otro tipo de aspectos tales como parámetros ambientales, presencia de depredadores, sexo etc.. también podrían ejercer su efecto en dicha desigualdad en las tasas de crecimiento entre ambos tipos de cultivo y serían, por tanto, interesantes de estudiar. Por otra parte, el nivel mareal, en el que se situaron las parrillas metálicas de cultivo intermareal en Vilaxoán, fue lo suficientemente bajo como para que sólo descubriesen durante unas cuantas horas en los días de mareas vivas, permaneciendo el resto del tiempo cubiertas por el agua. Es por ello de esperar que no existiesen grandes diferencias en el período efectivo de alimentación entre ambas localizaciones y tipos de cultivo.

La condición fisiológica de los bivalvos es directamente proporcional a las reservas de glucógeno en los tejidos (Galtsoff, 1964) y, debido a que éste es el sustrato energético primordial de los tejidos, bajos niveles de condición pueden tener efectos sobre algún tipo de proceso fisiológico tal como la reproducción (Bayne, 1976). Desde su introducción en febrero y hasta principios de junio las ostras de ambos lotes

(Vilaxoán y Grove F) sufrieron un incremento en los valores de sus índices de condición fisiológicos. A partir de aquí, los índices sufrieron una caída, que fue bastante rápida en el caso de Vilaxoán, con un ligero incremento en el mes de septiembre, y estabilizándose en los meses siguientes. En Grove F, el desarrollo fue ligeramente diferente: tras el máximo de condición detectado en junio, tuvo lugar un descenso en julio, seguida de una ligera recuperación en septiembre para volver a descender en los dos meses siguientes. Almeida, et al. (1999) describen en *C.gigas* cultivada en el Río de Lima (Portugal) valores máximos de índice de condición en junio y julio. Ruiz, et al. (1992) encontraron en *C. gigas* cultivada en Grove A un patrón de condición fisiológica similar a nuestros resultados en Vilaxoán, con un pico máximo a principios de verano, ligeramente inferior que el nuestro, y otro menor en otoño. Steele & Mulcahy, (1999) citan para ostras *C. gigas* del sur de Irlanda un patrón similar al encontrado en el presente estudio, con un máximo de condición en verano, si bien los datos no pueden ser comparados porque el índice de condición empleado por estos autores fue diferente. Aunque los ciclos estacionales de condición fisiológica fueron similares en Grove F y Vilaxoán, la magnitud de los mismos así como su la amplitud de oscilación, fue mucho mayor en Vilaxoán que en Grove F. La buena correlación positiva existente entre el índice de maduración gonadal y el índice de condición fisiológica empleado en ambos lotes ha sido confirmado por diferentes autores (Ruíz, et al. 1992; Park, et al. 1999) y pone de manifiesto que ambos están íntimamente relacionados por lo que los índices de condición fisiológica y su variación pueden ser empleados en *Crassostrea gigas* como descriptores de los fenómenos de madurez gametogénica y desove. En base a esta relación se puede concluir que tanto la intensidad de puesta como la fecundidad fueron mayor en el caso de las ostras cultivadas en Vilaxoán que en Grove F.

Aún cuando la fecundidad y la intensidad de desove determinan el potencial de fijación y reclutamiento de una población de ostra (Dinamani, 1987), el éxito final de la reproducción está condicionada por la supervivencia de las larvas, que depende de los factores físicos y biológicos del medio donde los gametos son liberados (Andrews, 1979). Mientras que la fertilización en *C. gigas* ocurre en un rango de temperaturas comprendido entre 15 y 30 °C, el rango en el que la larva puede completar su desarrollo está restringido al intervalo 19-27 °C (Imai, 1980), con su óptimo a 21-22 °C, aunque presenta gran variedad según la situación geográfica de la que se trate. La salinidad a su vez, también ha sido identificada como un factor controlador del desarrollo larvario, y aunque hay mucha variación sobre los rangos de tolerancia respecto a este factor, Mann, et al. (1991) lo establecieron entre 19 y 35 ppt. Además la temperatura necesaria para el desarrollo de la larva aumenta cuanto mayor es la salinidad (Héral & Deslous-Paoli, 1991). Estas condiciones adecuadas para el desarrollo larvario deben mantenerse al menos 18 días siendo 24 días el tiempo medio transcurrido desde el momento de la fertilización hasta que la larva se fija (con aproximadamente un tamaño medio de 290 micras). Los movimientos de las mareas y las corrientes oceánicas parecen jugar un papel importante en la capacidad de la larva para nadar y mantenerse a lo largo de la columna de agua. Algunos estudios, entre los que destaca el de Quayle & Newkirk (1989), han mostrado la capacidad de la larva para moverse hasta 4 – 5 metros verticalmente en la columna de agua, nadando activamente hacia la superficie durante la noche y retrocediendo hacia el fondo al caer la noche. La supervivencia y mortalidad de la larva esta duramente influenciada por varios factores ambientales, entre los que se sitúan, la salinidad, la turbidez, la temperatura, la disponibilidad de alimento y los patrones de circulación de las aguas. La incapacidad de la larva para encontrar un

sustrato adecuado sobre el que asentarse también aumenta las tasas de mortalidad (Allen & Turner, 1989; Austin, et al. 1996).

En Galicia, en los más de 15 años en los que el cultivo se ha desarrollado de manera experimental, no se ha tenido constancia de reclutamiento de juveniles de *C. gigas* en las Rías Bajas, lo cual está en concordancia con los resultados de las experiencias de fijación llevados a cabo en el presente estudio. En estas rías gallegas imperan unas condiciones ambientales de clara influencia oceánica, determinadas, en gran medida, por los frecuentes fenómenos de afloramiento de aguas profundas frías y ricas en nutrientes. La salinidad raramente desciende por debajo de valores de 30 ‰, y la temperatura, aún en verano, no suele ser superior a 19-20 °C, y en todo caso nunca de manera sostenida durante el tiempo necesario para que *Crassostrea gigas* complete su desarrollo larvario. Sin embargo en los cultivos experimentales de las Rías Altas gallegas (Ribadeo) (Figuras 30 y 31) si se ha observado un pequeño reclutamiento de semilla de *C. gigas* a lo largo de los años; Probablemente esto se deba a que las condiciones ambientales de esta zona son muy similares a las de la zona de captación de Arcachon (Francia) ya que las temperaturas en las épocas estivales si superan los 20°C en los meses estivales y las salinidades no son tan elevadas como en las Rías Bajas, lo que hace que las temperaturas necesarias para el desarrollo de la larva no sean tan altas como en el caso de las Rías Bajas (Vilaxoán y Grove F). Además estas condiciones se mantienen de manera sostenida durante el tiempo necesario para que se complete el desarrollo larvario.



Figura 30: “Pochones” dispuestos en el intermareal de Ribadeo (Rías Altas gallegas). Fuente: CIMA.



Figura 31: Colectores comerciales y “pochones” dispuestos en el intermareal de Ribadeo. Fuente: CIMA.

VI. CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES

Por tanto en el presente estudio se ha podido observar que:

- 1.- *Crassostrea gigas* libera sus gametos en las Rías Bajas gallegas.

- 2.- El manejo del cultivo constituye un factor fundamental, aunque no único, determinante del crecimiento y de un desarrollo fisiológico adecuado de las ostras objeto del mismo.

- 3.- El reclutamiento de juveniles de la ostra del Pacífico hasta el momento no ha tenido lugar, debido probablemente a que las condiciones oceanográficas imperantes en las Rías Bajas gallegas no permiten la supervivencia de sus larvas.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- .- **Allen, R.L. & R.E. Turner. 1989.** Environmental influences on the oyster industry along the west coast of Florida. *J. Shell. Res.* 9(1): 95-104.
- .- **Almeida, M.J., Machado, J. & J, Coimbra. 1999.** Growth and biochemical composition of *Crassostrea gigas* (Thunberg) and *Ostrea edulis* (Linné) in two estuaries from the north of Portugal. *J.Shell.Res.* 18(1): 139-146.
- .- **Andrews, J.D.1979.** Pelecypoda: Ostreidae. In: *Reproduction of marine invertebrates.* Giese, A.C.,& J.S, Pearse. Ed. Academic Press. New York. Vol. VI. 293-341.
- .- **Austin, H.M., Evans, D. & D.S. Haven. 1996.** A retrospective time series analysis of oyster, *Crassostrea virginica*, recruitment (1946-1993). *J. Shell. Res.* 15(3): 565-582.
- .- **Bayne, B.L., Thompson, R.J., Widdows, J. 1976.** Physiology I. In: Bayne B.L., Ed: *Marine mussels, their ecology and physiology.* Cambridge University Press. I.B.P., 10: 121-206.
- .- **Bernard, F.R. 1974.** Annual biodeposition and gross energy budget of mature pacific oysters, *Crassostrea gigas*. *J. Fish. Res. Board. Can,* 31(2): 185-190.
- .- **Brown, J.E. & E.B. Hartwick. 1988;** Influence of temperature, salinity and available food upon suspended culture of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* II.Condition index and survival. *Aquaculture,* Vol. 70: 253 – 267.
- .- **Coe, W. R. 1943.** Sexual differentiation in Mollusks I. Pelecypods. *Q. Rev. Biol.,* 18 (2):154 – 164.
- .- **Cole, H.A. 1942.** Primary sex-phases in *Ostrea edulis*. *Q. JI. Microsc. Sci.* 83: 317-356.

- .- **Coleman, N. 1996.** Potential for the establishment of wild populations and biological risk assessment of the introduction of Pacific oysters into Victoria. Victorian Marine & Freshwater Resources Institute. In: Report conducted by the Hon. P.R. Davis, MLC, Parliamentary Secretary for Natural Resources, Dept. of Natural Resources & Environment, Victoria.
- .- **Darriba, S. 2001.** Biología de la navaja (*Ensis arcuatus* Jeffreys, 1865) de la Ría de Vigo (N.O. de España): Crecimiento y reproducción. Tesis doctoral, Universidad de Vigo.
- .- **Deslous-Paoli, J.M., 1981.** *Myticola orientalis* Mori, *Crassostrea gigas* Thunberg's parasite, in the basin of Marennes-Oléron: impact on the condition and the biochemical composition of oysters during rearing. Cons. Int. Explor. Mer., K29.
- .- **Dinamani, P. 1987.** Gametogenic patterns in populations of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in Northland, New Zealand. Aquaculture, 64: 65-76.
- .- **Eckelbarger, K.J. & C.V. Davis. 1996.** Ultrastructure of the gonad and gametogenesis in the eastern oyster *Crassostrea virginica*. I. Ovary and oogenesis. Marine Biology, 127: 79-87.
- .- **Escapa, M., Isaac, J.P., Daleo, P., Alberti, J., Iribarne, O., Borges, M., Dos Santos, E.P., Gagliardini, D.A., Lasta, M. 2004.** The distribution and ecological effects of the introduced Pacific Oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) in Northern Patagonia. J.Shell.Res. 23(3): 765-772.
- .- **Evseev, G.A., Yakoviev, Y.M. & L. Xiaoxu. 1996.** The anatomy of Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg) (Bivalvia:Ostreidae). Publ. Seto Mar. Biol.Lab, 37(3/6):239-255.

- .- **Figueras, A.J. & A. Villalba.1988.** Patología de moluscos. En: Patologías en acuicultura. CAICYT. 327-376.
- .- **Fundación Alfonso Martín Escudero, 2002.** Impulso, Desarrollo y potenciación de la Ostricultura en España. Ed. Mundi – Prensa. Madrid.
- .- **Galtsoff, P. S. 1964.** The american oyster, *Crassostrea virginica* Gmelin. U.S. Fish. Wild. Ser. Fish. Bull., 64: 1 - 480.
- .- **Gosling, E. 2003.** Bivalve Molluscs. Biology, Ecology and Culture. Blackwell Publishing.
- .- **Gouletquer, P. & M. Héral. 1997.** Marine Molluscan Production Trends in France: From Fisheries to Aquaculture, In: U.S. Dep. Commer., NOAA Tech. Rep. NMFS, 129: 137-164.
- .- **Grassé, P.P., Poisson, R. A., Tuzet, O. 1976.** Zoología. Invertebrados. Vol. 1. Ed. Toray – masson. Barcelona.
- .- **Grizel, H.1996.** Quelques exemples d'introductions et de transferts de mollusques. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 15(2): 401-408.
- .- **Grizel, H., Langlade, A., Perodu, J.B.1979.** Premiers essais d'une nouvelle technique de captage d'huître plate en Baie de Quiberon. Cons. Int. Explor. Mer. K 24.
- .- **Guerra, A. 1995.** Cultivo de Ostra plana (*Ostrea edulis* L.) en Galicia (N.O. de España). Estudios para la mejora de la producción. Xunta de Galicia. Santiago de Compostela.
- .- **Guerra, A., Pérez Acosta, C.& F. Espinos. 1987.** Primeras experiencias de cultivo de almeja japonesa (*Tapes semidecussatus*) y ostra japonesa (*Crassostrea gigas*) en la Ría de Ribadeo (N.W. de España). Cuad. Marisq. Publ. Téc., 12: 347-352.

- .- **Guo, X., De Brosse, G.A. & S.K. Allen Jr. 1996.** All- triploid Pacific oyster *Crassostrea gigas* produced by mating tetraploid and diploids. *Aquaculture*, 142: 149-161.
- .- **Guo, X., Hedgecock, D., Hershberger, W.K., Cooper, K. & S.K. Jr, Allen. 1998.** Genetic determinants of protandric sex in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Evolution*, 52: 394-402.
- .- **Hayward, P., Nelson – Smith, T. & C. Shields. 1998.** Guía de Identificación: Flora y Fauna de las costas de España y de Europa. Ediciones Omega. Barcelona.
- .- **Héral, M. 1991.** La ostricultura francesa tradicional. In: *Acuicultura*. Ed. Omega. 295 – 336.
- .- **Héral, M. & J.M. Deslous – Paoli. 1991.** Oyster Culture in European Countries. In: *Estuarine and marine bivalve mollusk culture*. CRC Press; pp 153 – 190.
- .- **Hirase, H.1930.** On the classification of japanese oyster Natl. Res. Council Japan, *Japanese Jour. Zoology* 3 (1): 1-65.
- .- **His E., 1977.** Observations relatives á l’infestation de *Crassostrea gigas*. Thunberg par le copépode parasite *Myticola orientalis* Mori dans le bassin d’Arcachon. *Cons. Int. Explor. Mer.*, K33.
- .- **Hofmann, E.E., Powel, E.N., Klinck, J.M. & E.A. Wilson. 1992.** Modelling oyster populations III. Critical feeding periods, growth and reproduction. *J. Shellfish Res.*, Vol.11(2) 399 – 416.
- .- **Huvet, A., Balabaud, K., Bierne, N. & P. Boudry. 2001.** Microsatellite análisis of 6 - hour – old embryos reveals no preferential intra – specific fertilization between cupped oysters *Crassostrea gigas* and *Crassostra angulata*. *Mar. Biotech* 3:448 – 453.

.- Huvet, A., Gérard, A., Ledu, C., Phélipot, P., Heurtebise, S. & P. Boudry. 2002.

Is fertility of hybrids enough to conclude that the two oysters *Crassostrea gigas* and *Crassostrea angulata* are the same specie?. Aquat. Living Res. 15(1):45 – 52.

.- Imai, T. 1980. Biological research on the oyster. In: (Ed. Imai, T.). Aquaculture in shallow seas. 115-204.

.- Kang, C.K., Park, M.S., Lee, P.Y., Choi, W.J. & W.C, Lee (2000). Seasonal variations in condition, reproductive activity, and biochemical composition of the Pacific Oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), in suspended culture in two coastal bays of Korea. J. of Shell. Res.,19:771-778.

.- Lapegue, S., Batista, F.M., Heurtebise, S., Yu, Z. & P. Boudry. 2004. Evidence for the presence of the Portuguese Oyster, *Crassostrea Angulata*, in northern China. Journal of Shellfish Research, 23(3): 759 – 763.

.- Lubet, P.1976. Ecophysiologie de la reproduction chez les mollusques lamellibranches . Haliotis, 7: 49-55

.- Mann, R. 1979. Some biochemical and physiological aspects of growth and gametogenesis in *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis* grown at sustained elevated temperatures. J.Mar.Biol. Ass. UK. 59:95-110.

.- Mann, R. & S.J. Glomb. 1978. The effect of temperature on growth and ammonia excretion of the Manila clam *Tapes japonica*. Estuarine Coastal Mar. Sci., Vol 6: 335-339.

.- Mann, R., Burreson, E.M. & P.K. Baker. 1991. The decline of the Virginia Oyster Fishery in Chesapeake Bay: Considerations for introduction of a non endemic- species, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793). J. Shellfish Res., 10(2). 379 – 388.

- .- **Marteil, L. 1979.** La conchyliculture française. 3^a partie: L'ostreiculture et la mytiliculture. Rev. Trav. Inst. Pêches marit., 43(1): 5 – 130.
- .-**Mathers, N. F., Wilkins, N. P. & P.R. Walne. 1974.** Phosphoglucose isomerase and esterase phenotypes in *Crassostrea angulata* and *C. gigas*. Biochem. Syst. Ecol. 2: 93 – 96.
- .- **Mattiucci, S. & F. Villani. 1983.** Studio elettroforetico dei sistemi gene – enzima in ostriche classificate come *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) e *Crassostrea angulata* (Lamarck, 1819) (Mollusca: Ostreidae). Parasitologia. 25: 21 – 27.
- .- **Matus de la Parra, A. 2004.** Variación de las reservas energéticas de *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1794) en relación a la gametogénesis. Tesis doctoral. Universidad de Vigo.
- .- **Medcof, J.C. & P.H. Wolf. 1975.** Spread of Pacific oyster worries NSW culturists. Australian Fisheries, July 1975: 32-38.
- .- **Menzel, R. W. 1974.** Portuguese and Japanese oysters are the same species. J. Fish. Res. Board Can. 31:453 – 456.
- .- **Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. 1999.** Libro Blanco de la Acuicultura en España. Secretaría General de Pesca Marítima. Madrid.
- .- **Mitchell, I., Jones, A., Crawford, C. 2000.** Distribution of Feral Pacific Oysters and Environmental Conditions. Marine. Research. Laboratories – Tasmanian Aquaculture and Fisheries Institute, University of Tasmania.
- .- **Molares, J., Pascual, C. & R. Quintana. 1986.** Evaluación de la calidad de la ostra *Crassostrea gigas* mediante la utilización de índices de condición y análisis bioquímico elemental. Alimentaria 171: 79-87.

- .- **Montes, J., Carballal, M.S., López, M.C. & S.G. Mourelle. 1990.** Incidence of *Bonamia ostreae*, parasite of flat oyster (*Ostrea edulis*, L.) cultured in Galicia. (NW, Spain). 4th International Collg. Patohl. Mar. Aquac. Vigo, Spain.
- .- **Navaz, J.M. 1942.** Estudios de los yacimientos de moluscos comestibles de la ría de Vigo. Trab. Inst. Esp. Oceanogr. 16.
- .- **Nelson, T. C., 1938.** The feeding mechanism of the oyster. I. On the pallium and the branchial chambers of *Ostrea virginica*, *O. edulis* and *O. angulata*, with comparisons with other species of the genus. Journal of Morphology; 63 (1): 1 – 161.
- .- **Otto, L. 1975.** Oceanography of the Ría de Arosa (NW Spain). Medelelingen Jerhandeligen 96. Staatsuit-geverij's. Gravenhage.
- .- **Pardellas, X. X. & E. Polanco. 1987.** A acuicultura mariña en Galicia. Ed. Xerais Universitaria. Vigo.
- .- **Park, M.S., Lim, M.J., Jo, Q.T., Yoo, J.A. & Jeon, M.1999.** Assessment of reproductive health in the wild seed oysters, *Crassostrea gigas*, from two locations in Korea. J. Shell. Res., 18: 445-450.
- .- **Pazos, A.J., Román, G., Acosta, C.P., Abad, M. & J.L. Sánchez. 1997.** Seasonal changes in condition and biochemical composition of the scallop *Pecten maximus* (L.) from suspended culture in the Ría de Arousa (Galicia, NW Spain) in relation to environmental conditions. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 211. 169-193.
- .- **Perdue, J.A. & G. Erickson. 1984.** A comparison of the gametogenic cycle between the pacific oyster, *Crassostrea gigas*, and the suminoe oyster, *Crassostrea rivularis*, in Washington State. Aquaculture, 37: 231-237.

- .- **Quayle, D.B. & G.F. Newkirk. 1989.** Farming Bivalve Molluscs: Methods for study and development. Advances in World Aquaculture. Vol.1. World Aquaculture Society, International Development Research Centre. Canada.
- .- **Reise, K. 1998.** Pacific oyster invade mussel beds in the European Wadden Sea. *Senckenbergiana maritime*, Vol.28 (4/6): 167-175.
- .-**Robinson, A. 1992.** Gonadal cycle of *Crassostrea gigas* (Thunberg) in Yaquina Bay, Oregon and optimum conditions for broodstock oysters and larval culture. *Aquaculture*, 106: 89-97.
- .- **Rodríguez, C & J.F. Carrasco. 1993.** Condición y época de puesta de la ostra japonesa (*Crassostrea gigas*) cultivada en la Ría de Eo (Principado de Asturias). Actas IV Congreso Nacional de Acuicultura . 293-298.
- .- **Román, G. 1992.** Efecto del ciclo reproductivo y de acondicionamiento en el desarrollo larvario, la fijación y el posterior crecimiento de la semilla de *Ostrea edulis*. Linné, 1758. Publicaciones especiales del IEO. Nº 9. Madrid.
- .- **Ruiz, C. 1992.** Composición Bioquímica y Ciclo Reproductor en *Ostrea edulis* L. y *Crassostrea gigas* Th. Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.
- .-**Ruiz, C., Abad, M., Sedano, F., García-Martín, L.O., Sánchez López, J.L. 1992.** Influence of seasonal environmental changes on the gamete production and biochemical composition of *Crassostrea gigas* (Thunberg) in suspended culture in El Grove, Galicia, Spain. *J.Exp.Mar.Biol.Ecol.* 155: 249-262.
- .- **Ruppert, E. & D. Barnes. 1995.** Zoología de los Invertebrados. Sexta Edición. Ed. McGraw-Hill Interamericana. México.

- .- **Saavedra, B.A., 1982.** Recuperación ostrícola “Rías Altas”. Informe Técnico de la Consellería de Agricultura , Pesca y Alimentación. Santiago de Compostela.
- .- **Sastry, A.N. 1979.** Pelecypoda (excluding Ostreidae). In: Reproduction of marine invertebrates. Vol V. Molluscs: Pelecypods and lessers classes. Giese, A.C.,& J.S, Pearse. Ed. Academic Press. New York. 113-292.
- .- **Seed, R. 1976.** Ecology. In: Marine mussels: their ecology and physiology. (ed.): B.L. Bayen (ed.) I.B.P. 10. Cambridge University Press. Cambridge: 13-66.
- .- **Seed, R. & R.A. Brown, 1975.** The influence of reproductive cycle, growth and mortality on population structure in *Modiolus modiolus* (L.), *Cerastoderma edule* (L.) and *Mytilus edulis* (L.) (Mollusca: Bivalvia). Proc. 9th Europ. Mar. boil. Symp. 257-274.
- .- **Shafee, M.S. & M.R. Sabatie. 1986.** Croissance et Mortalite des Huitres dans la Lagune de Oualidia (Maroc). Aquaculture 53: 201-214.
- .- **Shafee, M.S. & M, Daoudi. 1991.** Gametogenesis and spawning in the carpet - shell clam, *Ruditapes decussatus* (L.) (Mollusca: Bivalvia), from the Atlantic coast of Morocco. Aquaculture & Fish. Management 22: 203-216.
- .- **Sphigel, M. 1989.** Gametogenesis of the European flat oyster (*Ostrea edulis*) and the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in warm water in Israel. Aquaculture, 80: 343-349.
- .- **Steele,S., Mulcahy, M.F. 1999.** Gametogenesis of the oyster *Crassostrea gigas* in Southern Ireland. J.Mar.Biol.Ass.UK 79: 673-686.
- .- **Thomson, J. M. 1954.** The genera of oysters and the Australian species. Australian Jour. Mar. & Freshwater Research. Láms. 1-11, 5: 132-168.
- .- **Walne , P.R. 1976.** Experiments on the culture in the sea of the butterfish *Venerupis decussata* L. Aquaculture 8: 371-381.

.- **Walne, P. R.1980.** Cultivo de Moluscos Bivalvos. 50 años de experiencia en Conwy.
Editorial Acribia, Zaragoza.

VIII. ANEXOS

VIII. ANEXOS

Tabla 1. Distribución de los lotes de *C. gigas* de 18 meses de edad.

Ámbito geográfico	Ámbito administrativo Polígono	Coordenadas geográficas	Instalación / concesión	Lote introducido	Cantidad (uds.)	Sistema de cultivo
Ría de Arousa	Grove F	N 42°28.681´ W 08° 50.494´	Batea "Bugallo I"	18 meses 2005	1.500	Suspendido
	Cofradía de Vilaxoán	N 42° 34. 774´ W 08° 48. 346´	Corón Praia de Corón	18 meses 2005	1.000	Sobreelevado

Tabla 2. Condiciones de cultivo.

Sistema de Cultivo	Puntos de estudio	Lotes	Condiciones de cultivo
Suspendido	Grove F	18 meses 2005	Introducción de lote en cajas plásticas / densidad (uds./caja): según criterio del ostricultor
Sobreelevado	Vilaxoán	18 meses 2005	Introducción lotes en <i>poches</i> (sacos ostrícolas) con 9 mm de luz de malla/ densidad (uds/poche): 200 uds.

Tabla 3. Plan de trabajo.

Meses	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sept	Oct	Nov
Tareas										

- Introducción de los lotes de 18 meses de 2005
- Recolección y procesado de muestras (I.C., Histología)
- Colocación de colectores
- Valoración de la captación

Tabla 4. Protocolo de las técnicas histológicas seguidas.**FIJACIÓN:**

- Se introduce el tejido en un cassette para cortes histológicos (Uni-Cassette TISSUE-TEK de Bayer) y se deja en fijador Davidson durante 24 horas.

Fijador Davidson (composición para un volumen de 1 litro):

- . 200 ml de formaldehído 40%;
- . 100 ml de glicerol;
- . 100 ml de ácido acético;
- . 300 ml de alcohol de 96°;
- . 300 ml de agua de mar.

-Tras las 24 horas de fijación se lava con agua y se pasa a alcohol de 70° donde permanece hasta pasar a la siguiente fase.

DESHIDRATACIÓN e INCLUSIÓN en PARAFINA:

Estas dos fases tienen lugar en un procesador de tejidos automático (HISTOKINETTE 2000) donde se suceden los siguientes baños:

- 1 baño de 1 hora en alcohol de 80°;
- 3 baños de 2 horas cada uno en alcohol de 96°;
- 2 baños de 1 hora cada uno en alcohol de 100°;
- 1 baño de 1 hora en alcohol de 100° y xileno (1:1);
- 2 baños de 1 hora cada uno en xileno;
- 1 baño de 3 horas en parafina con $\frac{1}{4}$ de xileno;
- 1 baño de 3 horas en parafina.

Finalizado el parafinado se pasan las muestras a un recipiente que contiene parafina y se hace el vacío durante 1 hora para eliminar las burbujas de aire que contienen las muestras.

FORMACIÓN DE BLOQUES:

- Se pasan las muestras a un centro formador de bloques compuesto por una consola que mantiene la parafina líquida (60°C), un dispensador de parafina y una placa refrigeradora (TISSUE-TEK) donde se enfrían los bloques una vez montados y rellenos con parafina.

CORTES HISTOLÓGICOS:

Los cortes sobre los bloques se realizan en el microtomo manual JUNG BICUT 2035 (Leica) a 5 micras.

Se extienden en un baño de agua caliente (40°C), se recogen sobre un portaobjetos y se depositan sobre una placa caliente (40°C) dejándolos posteriormente en estufa 12-24 horas a 40°C.

DESPARAFINADO:

Se meten los portaobjetos que contiene los cortes histológicos en los siguientes baños:

- 1 baño de 5 minutos en xileno;
- 6 inmersiones rápidas en xileno.

HIDRATACIÓN:

Se hidratan los cortes en alcohol de graduación descendente:

- 6 inmersiones rápidas en alcohol de 100°;
- 6 inmersiones rápidas en alcohol de 100°;
- 6 inmersiones rápidas en alcohol de 96°;
- 6 inmersiones rápidas en alcohol de 70°;
- 6 inmersiones rápidas en alcohol de 50°;
- 2 minutos en agua destilada.

TINCIÓN:

Los portaobjetos se introducen en cubetas consecutivas donde van teniendo lugar las distintas fases propias de la tinción:

- 8 minutos en Hematoxilina de Harris;
- 5 minutos en agua del grifo fluyendo.

Diferenciación de Hematoxilina:

- 2 minutos en alcohol ácido (0,3 ml de HCL en 250 ml de alcohol de 70°);
- 5 minutos en agua del grifo fluyendo.

Contratinción:

- 3 minutos en alcohol de 96°;
- 15 segundos en eosina Y.

Azulado:

- 1 minuto en NAHCO_3 .
- 5 minutos en agua del grifo fluyendo.

Diferenciación de Eosina y deshidratación:

- 6 inmersiones rápidas en alcohol de 96°;
- 6 inmersiones rápidas en alcohol de 96°;
- 6 inmersiones rápidas en alcohol de 100°;
- 6 inmersiones rápidas en alcohol de 100°.

Aclarado:

- xileno hasta que las preparaciones queden claras;
- 3 baños de xileno;
- xileno en el que permanecen las preparaciones.

MONTAJE:

Se montan las preparaciones con solución de montaje Histomount. Se ponen unas gotas de histomount en un cubre objetos y se coloca en la preparación cuidando de no dañar la muestra, se deja secar a temperatura ambiente 1 o 2 días antes de poder observar al microscopio.