UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ
POSGRADO

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ
INSTITUTO DE POSGRADO

TEMA

Evaluación de moringa *Moringa oleifera* (Lam.,1783) como aditivo dietético para el cultivo de semillas de ostra perlera, *Pteria sterna* (Gould,1851), en ambiente controlado

AUTOR

César Alejandro Estay Moyano

TRABAJO DE TITULACIÓN DE POSGRADO PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE MAGISTER EN INVESTIGACIÓN EN ACUICULTURA

TUTOR

Dr. César Lodeiros Seijo

COTUTOR

Dr. José Manuel Mazón Suástegui

2021

¡No pienses en hacer, decide ser!

UNIVERSIDAD
TÉCNICA DE MANABÍ
POSGRADO

¡No pienses en hacer, decide ser!

Universidad Técnica de Manabí
Instituto de Posgrado
Maestría de investigación en Acuicultura

Evaluación de moringa *Moringa oleifera* (Lam.,1783) como aditivo dietético para el cultivo de semillas de ostra perlera, *Pteria sterna* (Gould,1851) en ambiente controlado

Trabajo de Titulación presentado por: Blgo. César Alejandro Estay Moyano
Titulación: Master en investigación en Acuicultura
Director/a: Blgo. César Lodeiros Seijo PhD

Ciudad: Portoviejo, Manabí, Ecuador
Agosto 2021

Firmado por: Blgo. César Alejandro Estay Moyano

DEDICATORIA

Esta tesis y el trabajo realizado, se lo dedico a mi familia quienes han conocido mi trabajo en campo desde mucho tiempo, a mi esposa Jessica y mi hijo Sebastián, que son el objetivo de mejorar en la vida y obtener y lograr nuevas metas que sean de ayuda para todos. Mi familia es lo más importante de mi vida y a ellos les dedico el esfuerzo realizado, las noches de trabajo y a veces las incomprensibles maneras de lograr un objetivo, dejando a veces de lado actividades y recreaciones para otros tiempos. Le dedico este trabajo a todos los que me han ayudado de una u otra manera a lograr concluirlo con éxito que espero sea de mucha proyección y aporte a la acuicultura nacional y local, especialmente para las comunidades costeras de Ecuador.

César Estay Moyano

AGRADECIMIENTOS

En esta oportunidad, quisiera agradecer a todas las personas que me han ayudado a realizar esta investigación, desde la concepción de la idea de proyecto hasta la ejecución de la experiencia.

Agradezco a las personas que me han apoyado desde la academia, al Instituto Superior Tecnológico "Luis Arboleda Martínez" (ISTLAM), que se me permitió utilizar las instalaciones para la ejecución de mi experimento. A las autoridades, el Sr. Rector Mg. Hernán Jiménez, quien ha apoyado constantemente las actividades en el ámbito acuícola. A los alumnos del ITSLAM, Milenka Rosado y Deivi Posligua, quienes colaboraron durante toda la experiencia en Laboratorio. También agradecer a mi compañera de maestría Guadalupe Bravo, quien siempre intercambió experiencias y apoyo permanente en las investigaciones realizadas en el ISTLAM, extensión Jaramijó.

Quisiera agradecer al Ing. Washington Briones Moreira por el suministro de harina de hojas de *Moringa oleifera* para toda la experiencia de cultivo en Laboratorio. Al Dr. Fernando Isea, quien siempre estuvo presto a apoyarme con su experiencia. Deseo agradecer en forma especial al Blgo. Daniel Rodríguez (CENAIM-ESPOL), quien me apoyo en la gestión y selección de pre-semillas de *Pteria sterna* desde los colectores en campo en Santa Elena. También agradecer al Dr. Jesús Simal, quien a través de la red CYTED AquaCibus 318RT0549 "Fortalecimiento de la acuicultura en Iberoamérica: calidad, competitividad y sostenibilidad", se realizaron los análisis de la calidad nutricional de la moringa utilizada, en Laboratorio de la Universidad de Vigo en España y se gestionó una interacción integradora y productiva.

Finalmente deseo agradecer a mis tutores quienes me han guiado y orientado en este proceso, en especial el Dr. César Lodeiros, quien me ha compartido de su experiencia y apoyo en esta tesis, también en forma especial a la guía del Dr. Edgar Zapata, quien estuvo siempre presto a guiarnos. Además, a mi cotutor Dr. José Manuel Mazón Suástegui, quien me ha apoyado activamente con su experiencia en las temáticas relacionadas.

Agradezco especialmente al Dr. José Alió Mingo, quien también me aportó buenos consejos y orientación en el desarrollo y revisión de mi tesis.

Además agradezco en forma especial al estudiante de Biología pesquera de la ULEAM, Mario Rivera, quien me apoyo en toda la fase de cultivo intermedio en mar.

César Estay Moyano

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Dr. César Lodeiros Seijo, catedrático de la Facultad de Ciencias Veterinarias-Escuela de Acuicultura y Pesquería de la Universidad Técnica de Manabí.

CERTIFICO
:

Que el presente trabajo de titulación del programa en Investigación en Acuicultura, titulado "Evaluación de moringa *Moringa oleifera* (Lam.,1783) como aditivo dietético para el cultivo de semillas de ostra perlera, *Pteria sterna* (Gould,1851), en ambiente controlado", es un trabajo de investigación original desarrollado por su autor César Alejandro Estay Moyano y los tutores Dr. César Lodeiros Seijo y Dr. José Manuel Mazón Suástegui. Dicho trabajo ha sido desarrollado y concluido de acuerdo a los requerimientos establecidos en el reglamento de titulación, bajo mi dirección con vigilancia periódica, habiendo cumplido con las disposiciones establecidas en la normativa del Instituto de Posgrado de la Universidad Técnica de Manabí.

Portoviejo, junio del 2021

Atentamente

0962755559
CESAR JORGE
MIGUEL
LODEIROS SEIJO

Firmado digitalmente
por 0962755559
CESAR JORGE MIGUEL
LODEIROS SEIJO
Fecha: 2021.09.14
11:37:38 -05'00'

Dr. César Lodeiros Seijo

Dr. José Manuel Mazón Suástegui

DECLARACIÓN SOBRE DERECHOS DE AUTOR

Quien suscribe, Blgo. César Alejandro Estay Moyano, declaro que el presente trabajo de investigación estuvo enmarcado en los objetivos planteados en la tesis y las ideas, resultados y datos presentados son de responsabilidad propia, por lo tanto, declaro que los criterios, el análisis, conclusiones y recomendaciones pertenecen a mi autoría.

Blgo. César Estay Moyano

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE DEFENSA PÚBLICA

Los miembros del tribunal de Defensa Pública designados por el honorable Consejo Académico de Posgrado, dan por aprobado el Trabajo de Titulación "Evaluación de moringa *Moringa oleifera* (Lam.,1783) como aditivo dietético para el cultivo de semillas de ostra perlera, *Pteria sterna* (Gould,1851), en ambiente controlado".

Tribunal 1	**Tribunal 1**	**Tribunal 1**

INDICE

DEDICATORIA ..... **II**
AGRADECIMIENTOS ..... **III**
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN ..... **IV**
DECLARACIÓN SOBRE DERECHOS DE AUTOR ..... **II**
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE DEFENSA PÚBLICA ..... **III**
ÍNDICE DE FIGURAS ..... **VII**
RESUMEN ..... **IX**
ABSTRACT ..... **X**
1. INTRODUCCIÓN **1**
1.1. PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA 3
1.2. HIPÓTESIS 6
1.3. OBJETIVOS 7
1.3.1. Objetivo general 7
1.3.2. Objetivos específicos 7
2. CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO **8**
2.1. ACUICULTURA A PEQUEÑA ESCALA 8
2.2. DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE OBJETIVO *PTERIA STERNA* 9
2.3. HÁBITAT Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE *PTERIA STERNA* 12
2.4. REPRODUCCIÓN DE *PTERIA STERNA* 13
2.5. ALIMENTACIÓN DE MOLUSCOS BIVALVOS 14
2.6. DIETAS UTILIZADAS EN *PTERIA STERNA* 15
2.7. PROPIEDADES NUTRICIONALES DE LA MORINGA *MORINGA OLEIFERA* 16
3. CAPÍTULO II. MARCO METODOLÓGICO **19**
3.1. LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN, PROCESO DE TRASLADO Y ACLIMATACIÓN DE PRE-SEMILLAS DE *PTERIA STERNA* 19
3.2. BIOENSAYO 20
3.2.1 FASE 1: PRE- SEMILLAS EN CONDICIONES CONTROLADAS 20
3.2.2 DIETAS 21
3.2.2.1 COMPOSICIÓN, PREPARACIÓN DE DIETAS Y RACIONES 22
3.2.2.2 ANÁLISIS NUTRICIONAL 24
Análisis de ácidos grasos 25
Análisis de aminoácidos y proteínas totales 25
3.2.2.3 EVALUACIÓN DE LA CONDICIÓN DE LOS ORGANISMOS 25
3.2.2.3.1 CRECIMIENTO 26
Tasa de crecimiento diario en longitud antero-posterior de la concha (mm) 26
Tasa de crecimiento relativo en longitud antero-posterior de la concha (%) 27
Tasa de crecimiento diario en masa de la concha seca TCmc (mg/día) 27
Tasa de crecimiento relativo en masa de la concha seca TCcr (%) 27
Tasa de crecimiento diario en masa de tejido seco TCmt (g) 27
Tasa de crecimiento relativo de masa de tejido seco TCtr (%) 28
3.2.2.3.2 SUPERVIVENCIA 28
3.2.2 PARÁMETROS AMBIENTALES 28
3.2.2 FASE 2: CULTIVO INTERMEDIO SUSPENDIDO EN MAR 29

3.2.2.1 EVALUACIÓN 29
3.2.2.2 CRECIMIENTO DE *PTERIA STERNA* EN MAR 30
3.2.2.3 SUPERVIVENCIA 30
3.2.3 PARÁMETROS AMBIENTALES 30
3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS 31
4 CAPÍTULO III. RESULTADOS 32
4.1 ANÁLISIS NUTRICIONAL DE *MORINGA OLEIFERA* 32
4.1.1 COMPONENTES DEL PERFIL DE LÍPIDOS 32
4.1.2 AMINOÁCIDOS 33
4.2 CRECIMIENTO 33
4.2.1 CRECIMIENTO COMPARATIVO EN LONGITUD (ANTERO-POSTERIOR) DE LA CONCHA DE JUVENILES DE *PTERIA STERNA* 33
4.2.2 CRECIMIENTO COMPARATIVO DE LA MASA DE LA CONCHA SECA DE JUVENILES DE *PTERIA STERNA* 36
4.2.3 CRECIMIENTO COMPARATIVO EN LA MASA DE TEJIDO SECO DE JUVENILES DE *PTERIA STERNA* 39
4.3 SUPERVIVENCIA DE JUVENILES DE *PTERIA STERNA* ALIMENTADOS CON DIFERENTES DIETAS DURANTE LA FASE 1 PRE-SEMILLAS (NURSERY) Y EN FASE 2 CULTIVO INTERMEDIO SUSPENDIDO EN MAR 41
4.4 SUPERVIVENCIA ACUMULADA DE JUVENILES DE *PTERIA STERNA* FINALIZADA LA FASE 2 CULTIVO INTERMEDIO SUSPENDIDO EN MAR 43
4.5 PARÁMETROS AMBIENTALES 45
5 CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN 46
6 CONCLUSIONES 54
7 RECOMENDACIONES 56
8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 57
9 ANEXOS 64

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Fases, etapas y temporalidad del diseño experimental 20
Tabla 2. Tratamientos con las diferentes dietas suministradas en la experiencia 22
Tabla 3. Características biométricas (promedio + DE, n = 30) de las microalgas utilizadas en la dieta-tratamiento 1 24
Tabla 4. Perfil de ácidos grasos de la harina de hojas de *Moringa oleifera*, expresado en mg/g. de la materia seca y su porcentaje 32
Tabla 5. Análisis cromatográfico del perfil de aminoácidos de harina de hojas deshidratadas de *Moringa oleifera*, expresado en porcentaje (%) del peso molecular 33
Tabla 6. Tasas de crecimiento diario y crecimiento porcentual relativo en longitud antero-posterior de la concha en pre-semillas de *Pteria sterna* alimentados con seis dietas-tratamiento (30 días), en ambiente controlado de laboratorio (Fase 1). 34
Tabla 7. Tasas de crecimiento diario y crecimiento porcentual relativo de longitud antero-posterior de la concha en juveniles de *Pteria sterna*, durante su cultivo intermedio inicial en mar por un período de 50 días y un total acumulado de 80 días (Fase 2)..... 35
Tabla 8. Tasas de crecimiento diario y crecimiento porcentual relativo en masa de la concha seca, en pre-semillas de *Pteria sterna* alimentadas bajo condiciones controladas de laboratorio durante 30 días (Fase 1). 37
Tabla 9. Tasas de crecimiento diario y crecimiento porcentual relativo de masa de la concha seca de semillas de *Pteria sterna* durante su cultivo intermedio inicial en mar (50 días) y un acumulado de 80 días al concluir la Fase 2. 38
Tabla 10. Tasas de crecimiento diario y crecimiento porcentual relativo en masa de tejido seco en pre-semillas de *Pteria sterna* alimentadas bajo condiciones controladas de laboratorio (durante 30 días), con seis dietas-tratamiento (Fase 1). 39
Tabla 11. Tasas de crecimiento diario y crecimiento porcentual relativo en masa de tejido seco de semillas de *Pteria sterna* cultivadas durante 50 días (Fase 2), en el mar..... 40
Tabla 12. Parámetros ambientales del agua de cultivo registrados durante la pre-engorda de pre-semillas en laboratorio (Fase 1) y durante el cultivo intermedio inicial en mar (Fase 2)……..... 45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Pre-semilla de *Pteria sterna*, detalle de la longitud de "ala"..... 10
Figura 2.-Vista exterior **(a)** e interior **(b)** de adulto de *Pteria sterna*..... 10
Figura 3.- Proceso de inserción de núcleo inorgánico (Fuente: Cartier and Krzemnicki, 2013)..... 11
Figura 4.-Núcleos inorgánicos (a) y perlas mabé (b) obtenidas de especies de ostras perleras (Fuente: Cartier and Krzemnicki, 2013)..... 12
Figura 5.- Distribución geográfica de *Pteria sterna*, Fuente: Gómez, (2013)..... 12
Figura 6.- Fases del desarrollo de *Pteria sterna*. Fuente: Díaz and Bückle Ramírez (1996). 13
Figura 7.- Desarrollo embrionario (a-c) y larval (d-j) de *Pteria sterna*, desde huevo fecundado hasta pre-semillas cultivado en hatchery (Fuente: Hoyos-Chairez, 2020) 14
Figura 8.- Árbol de *Moringa oleifera* (Fuente: Piscicultura global) 16
Figura 9.-Ubicación geográfica del Laboratorio del Instituto Superior Tecnológico "Luis Arboleda Martínez", en Jaramijó, Manabí, Ecuador..... 19
Figura 10.-Sistema experimental utilizado mostrando acuarios con canastos por triplicado (a) y conjunto experimental que incluyó 18 acuarios con flujo continuo de agua y aireación constante (b). 21
Figura 11.-Preparación de la dieta 3 con *Moringa oleífera*..... 23
Figura 12.-Dietas preparadas y raciones para entrega diaria en tratamientos 24
Figura 13.-Mediciones mediante fotometría de altura (a) de pre-semillas *Pteria sterna* con el programa image J..... 26
Figura 14.-Equipos de medición parámetros ambientales (a) equipo Oxígeno disuelto y temperatura (b) salinidad..... 28
Figura 15.-Siembra de semillas (30 días) en canastas individuales (a), preparación de linterna siembra (b), cierre de linterna (c) 29
Figura 16.-Termógrafo instalado en linterna durante la fase 2, cultivo intermedio en mar 31
Figura 17.-Crecimiento comparativo en longitud antero-posterior de la concha (mm) de juveniles de *Pteria sterna* alimentados con seis dietas suministradas durante su pre-engorda (nursery) en ambiente controlado de laboratorio (Fase 1) previo a la siembra y cultivo intermedio inicial en mar (Fase 2). Líneas verticales indican el intervalo de confianza al 95% 36

Figura 18.-Crecimiento comparativo en masa de la concha seca de juveniles de *Pteria sterna* cultivados en sistema intermedio inicial en el mar (Fase 2) y alimentados previamente con seis dietas experimentales suministradas en condiciones de laboratorio (Fase 1). Líneas verticales indican el intervalo de confianza al 95%. 38
Figura 19.-Crecimiento comparativo en masa de tejido seco de juveniles de *Pteria sterna* cultivados en sistema intermedio inicial en el mar (Fase 2) y alimentadas previamente con seis dietas experimentales suministradas en el laboratorio (Fase 1). Líneas verticales indican el intervalo de confianza al 95%. 41
Figura 20.-Variación de la supervivencia de juveniles de *Pteria sterna* alimentados con distintas dietas/tratamiento durante su pre-engorda en el laboratorio (Fase 1), previo a su siembra y cultivo intermedio inicial en el mar (Fase 2). Media ± IC. (IC = Intervalo de confianza al 95%). 43
Figura 21.-Supervivencia acumulada (%) de juveniles *Pteria sterna* evaluado desde el inicio hasta la conclusión del bioensayo en el laboratorio y en el mar durante un período acumulado de 80 días de bioensayo. Media ± IC. (IC = Intervalo de confianza al 95%). ... 44
Figura 22.-Cultivo de microalgas masivos de las cepas *Tetraselmis suecica* (a) y *Chaetoceros gracilis* (b), utilizadas en la dieta 1. 64
Figura 23.-Preparación de emulsiones en plancha térmica de *Moringa oleifera* (a), Fécula de maíz (b) y mezcla de moringa y carboximetilcelulosa (c) 64
Figura 24.-Emulsiones listas de *Moringa oleifera* (a), Fécula de maíz (b) y Mezcla de moringa y fécula de maíz (c), para alimentación en las distintas dietas. 64
Figura 25.-Proceso de alimentación en el sistema de cultivo experimental en ambiente controlado. 65
Figura 26.-Proceso de limpieza de estanques de los tratamientos en el sistema de cultivo experimental en ambiente controlado. 65
Figura 27.-Pesaje en balanza analítica de emulsiones de *Moringa oleifera* (a), Fécula de maíz (b) Ingreso muestras a estufa para obtener peso masa seca (c). 65
Figura 28.- Juveniles de *Pteria sterna* en proceso de medición y biometría en laboratorio 66
Figura 29.-Siembra de semillas (30 días) en canastas individuales (a), preparación de linterna siembra (b), cierre de linterna y posicionamiento de termógrafo (c) 66
Figura 30.-Cosecha de juveniles (80 días) en canastas individuales (a), preparación de linterna siembra (b), cierre de linterna y posicionamiento de termógrafo (c) 66

RESUMEN

Las microalgas son la dieta natural por excelencia durante la pre-engorda de semillas (*nursery*) de moluscos en laboratorio (*hatchery*), pero pueden suplementarse con dietas artificiales para incrementar eficiencia productiva y reducir costos de producción. Se evaluaron durante un mes los efectos de la utilización de harina de moringa (*Moringa oleifera*) y fécula de maíz (maicena®) como aditivos dietéticos suministrados en función (%) del peso seco de tejidos en pre-semillas de ostra perla *Pteria sterna*. La maicena aporta energía principalmente en forma de carbohidratos, mientras que la moringa aporta ácidos grasos y aminoácidos esenciales. El diseño experimental incluyó seis dietas por triplicado: D1 (Mezcla 50:50 *Chaetoceros gracilis y Tetraselmis suecica* = MM), D2 (MM + 5% fécula maíz), D3 (MM + 5% moringa), D4 (MM + 2,5% fécula de maíz + 2,5% moringa), D5 (5% moringa) y D6 (5% fécula de maíz), considerando 42 individuos por unidad experimental (acuario). Se registró crecimiento en peso, tamaño y porcentaje de supervivencia de pre-semillas con frecuencia quincenal. Al concluir el bioensayo en laboratorio (Fase 1) las pre-semillas fueron trasladadas a una granja de cultivo suspendido en el mar (Fase 2) durante 50 días, para acumular un total de 80 días. Como resultado relevante, la dieta 4 produjo el mayor incremento significativo de crecimiento en masa de tejido seco y masa seca de la concha, superando a la dieta natural que son las microalgas (D1). La supervivencia de las ostras alimentadas con D5 disminuyó progresivamente hasta llegar a 0% al finalizar la fase 1 (30 días), descartando a la harina de moringa como mono-dieta útil. Los valores promedio más altos en materia de supervivencia (97,6%), masa de tejido seco y masa de la concha seca se obtuvieron con D4, lo cual sugiere un efecto sinérgico y positivo de sus componentes. La eficiencia superior de la dieta 4 se confirmó al obtener semillas más competentes, una vez transferidas a sistema de cultivo suspendido en el mar. Los resultados de esta investigación permiten asumir que la dieta 4 (microalgas + 2,5% fécula de maíz + 2,5% moringa), tiene potencial aplicación productiva para la pre-engorda de semillas de *P. sterna*, y posiblemente de otras especies de moluscos bivalvos de interés comercial.

Palabras claves: pre-semillas de *Pteria sterna*, aditivos alimenticios, microalgas, *Moringa oleífera*, sistema de cultivo intermedio suspendido, supervivencia.

ABSTRACT

Microalgae are the natural diet par excellence during the hatchery mollusks seed nursery, but they can be supplemented with artificial diets to increase production efficiency and reduce production costs. The effects of the use of moringa flour (*Moringa oleifera*) and cornstarch (maicena®) as dietary additives supplied as a function of dry weight (%) of tissues in pearl oyster spat *Pteria sterna*, were evaluated for one month. Cornstarch provides energy mainly in the form of carbohydrates, while moringa provides essential fatty acids and amino acids. The experimental design included six diets in triplicate: D1 (Mix 50:50 *Chaetoceros gracilis* and *Tetraselmis suecica* = MM), D2 (MM + 5% cornstarch), D3 (MM + 5% moringa), D4 (MM + 2.5 % cornstarch + 2.5% moringa), D5 (5% moringa) and D6 (5% cornstarch), considering 42 individuals for experimental unit (aquarium). Spat growth in weight, size and survival percentage was recorded every fortnight. At the end of the laboratory bioassay (phase 1), the seeds were transferred to a cultivation farm suspended in the sea (phase 2) for 50 days, to accumulate a total of 80 days. As the main and relevant result, diet 4 produced the highest significant increase in dry tissue mass and dry mass of the shell, surpassing the natural diet which are microalgae (D1). Survival of oysters fed D5 progressively decreased until reaching 0% at the end of phase 1 (30 days), ruling out moringa meal as a useful mono-diet. The highest average values were obtained with D4, in terms of survival (97.6%), dry tissue mass and dry shell mass, which suggests a synergistic and positive effect of its components. The superior efficiency of diet 4 was confirmed by obtaining more competent seeds, once transferred to a suspended culture system in the sea. The results of this research allow us to assume that diet 4 (microalgae + 2.5% cornstarch + 2.5% moringa), has potential productive application for the nursery of *P. sterna* seeds, and possibly other species of bivalve mollusks of commercial interest.

Keywords: *Pteria sterna* spat, food additives, microalgae, *Moringa oleifera,* suspended intermediate culture system, survival.

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura de moluscos es una actividad productiva de bajo impacto ambiental y se proyecta como una alternativa relevante para el desarrollo sostenible de las comunidades pesqueras artesanales de los países en vías de desarrollo. Esta actividad está especialmente apalancada en los objetivos de hambre cero, trabajo decente y vida submarina, que están muy relacionados con la sustentabilidad acuícola, además de conservar y utilizar los recursos marinos para el desarrollo de los países (FAO, 2020a). Por otro lado, existen nuevas e inminentes prioridades y retos como consecuencia de la pandemia ocasionada por el COVID 19 (Wrigth, 2020), una de los cuales es incrementar la cantidad y calidad de alimentos para la seguridad alimentaria en tiempos de crisis, donde la acuicultura y la bioseguridad tienen un rol preponderante.

Según FAO (2020b), la producción de moluscos analizada a un nivel taxonómico mundial, refleja una producción de ~17,5 millones de toneladas con ingresos superiores a US$ 31.500 millones. Dentro del grupo de las ostras, la especie de mayor importancia es *Crassostrea gigas*, la cual es cultivada prácticamente en todos los continentes con grandes volúmenes de producción. Además, en esta misma referencia se puede encontrar datos de ostras perlíferas, como *Pinctada margaritifera*, *Pinctada* spp., y *Pteria penguin,* sin embargo, no se provee información específica sobre la producción de *Pteria sterna*.

Entre los principales moluscos bivalvos, nativos e introducidos, de importancia económica en la región del Pacífico americano se destacan: *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951), *Anadara tuberculosa* (Sowerby, 1833), *Striostrea prismática* (Gray, 1825), *Pteria sterna* (Gould, 1891) y *Crassostrea gigas* (Thumberg, 1793), entre otros. Estos bivalvos se han utilizado como especies objetivo en experiencias de promoción al desarrollo y transferencia de conocimientos y de tecnología a comunidades pesquero artesanales en varios países Latinoamericanos. En relación a las actividades de cultivo, se han obtenido diferentes resultados relacionados con la producción de proteína marina y perlas cultivadas (Guerra-Lima, 2008; Valero and Caballero, 2003; Helm and Lovatelli, 2006; Vite-García and Saucedo, 2008, Gervis and Sims, 1992).

La ostra perla u ostra alada *Pteria sterna* es un bivalvo tropical que ofrece un beneficio dual, ya que puede servir de matriz para el desarrollo de perlas y, además, su carne posee un valor nutritivo importante (Vite-García and Saucedo, 2008). En México, el cultivo de la concha perla *P. sterna*, se ha venido desarrollando e investigando en comunidades pesqueras artesanales. En ellas, se desarrolla el cultivo desde la etapa de asentamiento larval en sustratos colectores instalados en el medio natural durante la temporada reproductiva (colecta de semilla silvestre), mientras que en ambiente controlado de laboratorio se investiga a partir de la maduración sexual, desove, cultivo larvario, asentamiento o fijación larvaria y pre-engorda de pre-semillas, con fines de producción experimental-piloto de semillas (Hoyos-Chairez et al., 2020). En campo, también se hacen implantes de núcleos para la producción de perlas y medias perlas (Mabes), principalmente en el estado de Baja California Sur (Monteforte et al., 1995; Vite-García and Saucedo, 2008). En Ecuador, *Pteria sterna* es uno de los bivalvos nativos que se proyecta como "especie emergente" para la acuicultura local, en función de sus potenciales rendimientos productivos como alimento y su uso en joyería de nácar y perlas finas (Treviño et al., 2019; Lodeiros et al., 2018).

Las investigaciones en el cultivo de moluscos bivalvos en ambiente controlado, se han orientado principalmente a generar nuevo conocimiento científico aplicable al desarrollo y optimización de tecnología para la producción de semillas en laboratorio. El objetivo es producir organismos juveniles competentes, que posean una talla mínima adecuada que permita su comercialización para siembra y cultivo en campo, pero también como estrategia alternativa a la colecta de semilla del medio natural, que suele ser variable e insegura (Mazón-Suástegui et al., 2011).

La nutrición es uno de los aspectos más importantes a considerar en el estudio del crecimiento y maduración de las ostras (Hawkyns-Martínez et al., 2014; Loor et al., 2016), ya que la composición, calidad y cantidad de alimento proporcionado puede afectar su metabolismo y alterar su desempeño fisiológico (Gómez-Robles et al., 2014). Investigaciones recientes sobre ostras tropicales se han orientado al desarrollo de un modelo de cultivo y crecimiento de *P. sterna* con alimentación natural, desde larva a juvenil, utilizando únicamente dietas naturales formuladas con diversas especies de microalgas que son cultivadas, dentro o fuera del laboratorio (Hoyos-Chairez et al., 2020).

En condiciones de laboratorio, las mejores dietas naturales (microalgales), ya sea para maduración de reproductores, cultivo larvario, fijación, o pre-engorda de semillas, suelen incorporar una combinación de especies, incluyendo por lo general un flagelado desnudo y una microalga bentónica (diatomea); de esta manera, se generará una sinergia bioquímica y nutricional complementaria que permite optimizar la producción biológica (mayor crecimiento y supervivencia) e incrementar la rentabilidad económica, porque el costo de algunas dietas artificiales, como la fécula de maíz y otras harina de cereales, es menor que la producción de microalgas forrajeras (Mazón-Suástegui, 2005).

La combinación de ciertas especies de microalgas en dietas multiespecíficas, presenta un importante contenido nutricional de proteínas, lípidos, carbohidratos, perfiles de aminoácidos y ácidos grasos que son relevantes para determinar la calidad final de la dieta suministrada (Maeda-Martínez et al., 2016). Estas dietas multiespecíficas de microalgas cultivadas, cubren totalmente las necesidades nutricionales de los moluscos bivalvos, desde sus primeros estadios larvales hasta la etapa juvenil y adulta (Brown et al., 1997).

Las microalgas utilizadas en la nutrición de moluscos bivalvos deben incorporar ácidos grasos polinsaturados (PUFA), los cuales participan en la regulación de la fluidez de la membrana celular y también son relevantes como precursores en el desarrollo de hormonas (Brett and Müller-Navarra, 1997). Estos compuestos son producidos por organismos fotosintetizadores, que utilizan la luz disponible en la capa fótica de la columna de agua, y son principalmente las especies autótrofas pertenecientes al fitoplancton (Dalsgaard et al., 2003). Las microalgas forrajeras utilizadas para la alimentación de moluscos bivalvos se producen principalmente en laboratorios con ambiente controlado (luz, temperatura, nutrientes) donde se pueden proveer las condiciones adecuadas para un óptimo crecimiento de estas especies.

1.1. Planteamiento de Problema

La acuicultura de moluscos se sustenta principalmente en la producción de juveniles (pre-semillas, semillas) producidos en condiciones de ambiente controlado de laboratorio (*hatchery*), lo cual permite garantizar la disponibilidad de larvas competentes y evitar la incertidumbre relacionada con la obtención de semillas provenientes de fijación larvaria

natural, en sustratos colectores, instalados en bancos naturales de la especie objetivo (Mazón-Suástegui, 2005).

El principal alimento utilizado para los moluscos bivalvos en los sistemas de cultivo controlado son las microalgas cultivadas, las cuales son el soporte nutricional más importante durante las etapas de cultivo de adultos reproductores, larvas y pre-semillas de diversas especies. Sin embargo, debido a diversas circunstancias la producción de biomasa de las microalgas puede disminuir en cantidad y en calidad, además de implicar costos significativos en la operación rutinaria del laboratorio.

La viabilidad operativa de un laboratorio (*hatchery*) ostrícola demanda el desarrollo e implementación de alternativas nutricionales eco-sostenibles, como las dietas artificiales, que permitan complementar la dieta natural (microalgas) de los moluscos cultivados y reducir costos asociados al acondicionamiento gonádico de adultos reproductores y a la pre-engorda de semillas, sin detrimento de su calidad y desempeño en campo (Mazón-Suástegui, 2005; Mazón-Suástegui et al., 2019).

Las dietas artificiales son principalmente aplicables para los adultos reproductores durante el proceso de maduración sexual en ambiente controlado y también para pre-semillas en crecimiento; tanto adultos como juveniles, son extremadamente demandantes de alimento, ya sea natural, artificial, o natural/artificial y esta última combinación es por demás recomendable durante el proceso de producción de semillas de talla comercializable (Mazón-Suástegui, 1988, Mazón-Suástegui, 2005; Mazón-Suástegui et al., 1988, Mazón-Suástegui et al., 2019; Coutteau and Sorgeloos, 1992).

Como una alternativa para reducir los altos costos operativos en materia de alimentación de moluscos bivalvos bajo condiciones controladas de laboratorio, se han estudiado diversas dietas artificiales complementarias a las dietas microalgales vivas, que incluyen pastas de microalgas (Southgate et al., 2016), microencapsulados, levaduras, microalgas secas, así como también, harinas de cereales por su alto contenido de carbohidratos (Mazón-Suástegui et al., 2008; Mazón-Suástegui et al., 2019) y emulsiones de lípidos (Espinoza, 2014). Todas estas dietas complementarias han tenido sus ventajas y

desventajas, pero ninguna de ellas ha podido sustituir en un 100% a la dieta natural compuesta por microalgas (Mazón-Suástegui, 2005; Mazón-Suástegui et al., 2019).

La moringa (*Moringa oleifera*, Lam.,1783) como nutriente de origen vegetal posee un alto contenido de vitamina C, calcio y hierro, y se le atribuyen propiedades antibacterianas, antivirales, antiparasitarias y antidiuréticas, entre otras características beneficiosas para la salud humana (Fahey, 2005). Las hojas de moringa son ricas en proteínas, vitaminas A, B y C, y minerales, y se recomiendan como alimento fortificante para mujeres embarazadas, lactantes y niños pequeños (FAO, 2020c).

La harina de hojas de moringa ha sido utilizada en acuicultura del hibrido de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus),* a través del desarrollo de pruebas experimentales de reemplazo de la proteína de origen animal (harina de sardina), y como resultado de esos estudios se recomendó una sustitución de hasta un 20%, para lograr una dieta alternativa con una digestibilidad de 89% (Rivas-Vega et al., 2012).

El desarrollo de dietas artificiales alternativas que permitan suplementar la producción de alimento vivo (microalgas), es un tema esencial para aumentar y mantener la supervivencia de pre-semillas y semillas de moluscos bivalvos de interés comercial actual y emergentes para la acuicultura, como es el caso de la ostra perla *P. sterna*.

A pesar de los beneficios nutricionales que se reportan para el ser humano (Fahey, 2005), hay solo escasos estudios sobre su empleo en la alimentación de tilapias (Richter et al., 2003) y se desconoce cuáles serían las implicaciones y beneficios de su uso en la alimentación de *Pteria sterna*, pero definitivamente es un tema de gran importancia por su probable aplicabilidad productiva en el cultivo de esta especie.

En función de lo anteriormente expuesto, y para los fines de la presente investigación, se ha propuesto la generación de nuevo conocimiento científico y sus aplicaciones tecnológicas potenciales, para incrementar productividad y eficiencia en el cultivo de esta especie en ambiente controlado. Concretamente se ha propuesto evaluar la efectividad de la harina de hojas de moringa (*Moringa oleifera*) como una nueva dieta

artificial o suplemento dietético utilizable durante la fase de pre-engorda de pre-semillas de *Pteria sterna*.

Adicionalmente, y dado que se han comprobado estos beneficios en moluscos bivalvos alimentados con dietas naturales (microalgas) suplementadas con dietas artificiales (fécula de maíz; maicena ®), se concibe interesante comprobar el potencial efecto sinérgico y/o aditivo que tendría en dietas mixtas formuladas con microalgas, fécula de maíz y polvo de hojas de *Moringa oleifera*.

1.2. Hipótesis

En base a las cualidades nutritivas y fitoquímicas de *Moringa oleifera*, es factible asumir que la harina de sus hojas puede ser utilizada como suplemento dietético en la alimentación de pre-semillas de concha perla *Pteria sterna* y obtener bajo condiciones controladas de laboratorio, semillas con mayor crecimiento y supervivencia y mejor condición fisiológica y salud animal debido a sus propiedades nutricionales y a su acción protectora e inmunológica adquirida, previo a su traslado a sistemas de cultivo intermedio inicial en el mar.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo general

Evaluar la moringa *Moringa oleifera* como aditivo dietético durante la fase de pre-semillas en el cultivo de la ostra perla *Pteria sterna.*

1.3.2. Objetivos específicos

1.- Evaluar la calidad nutritiva de los suplementos y componentes dietéticos, suministrados a pre-semillas de *Pteria sterna*

2.- Determinar el crecimiento y la supervivencia de pre-semillas de *Pteria sterna*, alimentadas con microalgas cultivadas, fécula de maíz y harina de hojas de moringa, bajo condiciones controladas de laboratorio.

3.- Determinar el crecimiento y la supervivencia de las semillas de *Pteria sterna*, durante su cultivo intermedio inicial en el mar, posterior a su alimentación en laboratorio con microalgas cultivadas, fécula de maíz y harina de hojas de moringa.

2. CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO

2.1. Acuicultura a pequeña escala

La acuicultura de moluscos alcanzó una producción >17 millones de toneladas en 2019 (FAO, 2020b). Uno de los problemas actuales del planeta, es el creciente incremento de la población humana, con comprobados efectos colaterales, como la contaminación ambiental y el cambio climático y los moluscos bivalvos son reconocidos como especies que cumplen un importante rol de servicio ambiental relacionado a biorremediación ambiental (Smaal et al., 2019)

En Latinoamérica, el cultivo de moluscos bivalvos es una importante alternativa productiva para los emprendedores acuícolas, significando una fuente de recursos económicos y de generación de alimentos basados en proteína marina que es considerada saludable (Lovatelli et al., 2008).

La acuicultura de moluscos tiene un impacto ecológico bajo, comparado con la acuicultura de peces y crustáceos, lo que estimula la diversificación de la industria acuícola (Lodeiros, 2013). No obstante, aún no se ha investigado a cabalidad la biología y el potencial productivo de algunas especies de moluscos bivalvos, como la concha perla *Pteria sterna* en los temas relativos a implementar técnicas y adquirir capacidades para la producción de semillas en laboratorio, para su posterior siembra y cultivo en el mar (Lodeiros, & Lovatelli, 2019).

Derivado de la importancia ecológica y económica de la acuicultura de bivalvos, se hace necesaria la implementación de nuevas y adecuadas tecnologías para optimizar su cultivo, considerando que por ser especies filtradoras no se alimentan con dietas balanceadas como los peces y crustáceos (Lodeiros & Lovatelli, 2019).

En Ecuador se ha promulgado la nueva Ley Orgánica para la Acuicultura y Pesca 2020 (SRO N° 187, 2020), que refleja un importante enfoque ecosistémico, alineado con los objetivos de Desarrollo Sostenible de la UNESCO en su Agenda 2030 (FAO, 2020a). En este contexto, se menciona el concepto de "Acuicultura artesanal", la cual es realizada por grupos, familias, comunidades, pueblos, actores de la economía popular y solidaria. Estos

proyectos están orientados al consumo familiar para el mejoramiento nutricional y al comercio a pequeña escala, a fin de promover fuentes de trabajo sustentables, amigables con el medio ambiente, reguladas para la inocuidad y salud humana, controladas y con procesos de trazabilidad para sus productos en la cadena productiva del negocio acuícola. Esta ley ecuatoriana respalda el desarrollo de iniciativas a pequeña escala y amigables con el medio ambiente, siendo los moluscos bivalvos protagonistas para este nuevo enfoque acuícola nacional.

2.2. Descripción de la especie objetivo *Pteria sterna*

La ostra perlera *Pteria sterna*, es un molusco bivalvo, llamado comúnmente "concha nácar", perteneciente a la familia Pteriidae. La morfología de sus valvas es variable, relativamente delgada, oblicuamente ovalada, con una coloración marrón oscura en el exterior y superficie interna intensamente nacarada. La especie posee una extensión en la charnela (Fig.1), la cual da origen a su nombre (*Pterion* en griego significa "ala"). El ala es más larga en la parte anterior que en la posterior (Coan & Valentich-Scott, 2012).

La superficie externa, cuando no está degastada, aparece densamente cubierta por lamelas concéntricas, quebradizas, aplanadas, generalmente imbricadas y provistas de espinas radiales (Fig.2) especialmente a lo largo de los bordes de la concha (Coan & Valentich-Scott, 2012).

Figura 1.- Pre-semilla de *Pteria sterna*, detalle de la longitud de “ala”

Figura 2.-Vista exterior **(a)** e interior **(b)** de adulto de *Pteria sterna*

Taxonomía de la especie *Pteria sterna*

Reino = Animalia

Filo = Mollusca

Clase = Bivalvia

Subclase = Autobranchia

Infraclase = Pteriomorphia

Orden = Ostreida

Superfamilia = Pterioidea

Familia = Pteriidae

Género = Pteria

Especie = *Pteria sterna* (Gould, 1851)

Sinonimia = *Avicula sterna* (Gould, 1851).

Extraído desde el registro de especies marinas en la página web:

http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=464505

Producción comercial de la especie *Pteria sterna*

La concha nácar u ostra perla *Pteria sterna* está clasificada dentro del grupo de especies productoras de perlas, ya que posee al interior de sus valvas, un nácar iridiscente muy característico, que la hace una de las ostras mayormente requeridas para su producción comercial. Existen varios países que actualmente están desarrollando la producción de especies productoras de perlas, como México, Fiji, Ecuador y en menor proporción Chile con abalones americanos (Saucedo et al., 2021).

Las principales especies relacionadas a producción de perlas son *Pinctada fucata*, *Pinctada margaritifera*, *Pinctada máxima*, *Pteria sterna* y *Pinctada mazatlanica*. En estas especies se pueden desarrollar comúnmente las medias perlas, también denominadas perlas *mabé* (Fig.4b). Esta perla se desarrolla a partir de la cementación de un núcleo insertado en la concha (Fig.4a) bajo el tejido del manto de las especies de ostras perlíferas, mediante un proceso meticuloso (Fig.3) realizado en organismos adultos que secretan paulatinamente capas de nácar que cubren este núcleo y forman una perla *mabé* (Freites et al., 2020, Saucedo et al., 2021).

En aguas subtropicales de México, los adultos de *Pteria sterna* alcanzan una talla adecuada de entre 70 y 80 mm de longitud antero-posterior de la concha, para después de 15 meses de cultivo, antes de que sean consideradas aptas para la inserción de núcleos para producción de perlas (Serna-Gallo et al., 2014).

Figura 3.- Proceso de inserción de núcleo inorgánico (Fuente: Cartier and Krzemnicki, 2013).

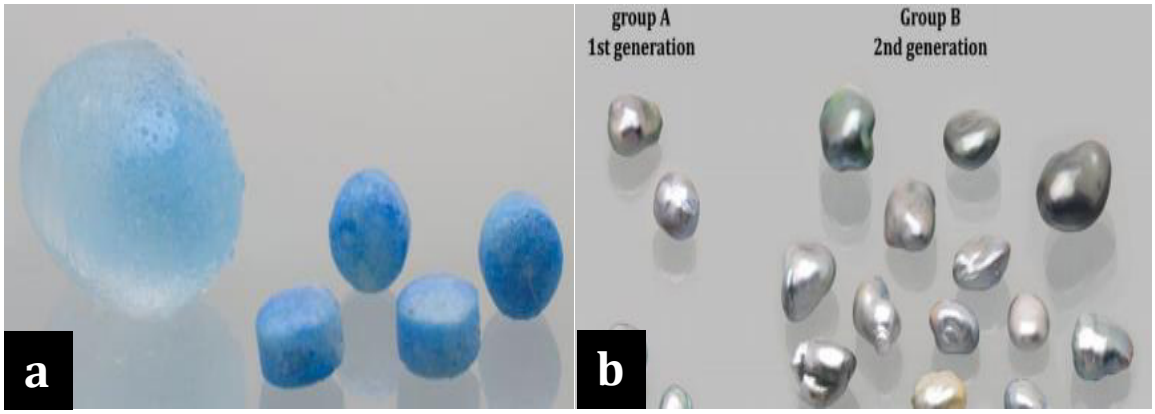

Figura 4.-Núcleos inorgánicos (a) y perlas *mabé* (b) obtenidas de especies de ostras perleras (Fuente: Cartier and Krzemnicki, 2013).

2.3. Hábitat y Distribución geográfica de *Pteria sterna*

La ostra alada, *P. sterna* habita naturalmente en ecosistemas submareales y manglares y se encuentra adherida por medio de un biso a sustratos duros, como rocas, corales gorgónidos y arena gruesa. La especie se distribuye desde las costas de Baja California, México, hasta Pimentel, Perú (Fig.5) con poblaciones bien identificadas en la costa del Pacífico tropical y subtropical de América (Monteforte, 2005; Ordinola et al., 2013).

Figura 5.- Distribución geográfica de *Pteria sterna*, Fuente: Gómez, (2013).

2.4. Reproducción de *Pteria sterna*

El desarrollo gonadal y reproductivo de los moluscos bivalvos depende mucho de los factores ambientales, como la temperatura y la disponibilidad del alimento en el medio que se encuentre (natural y/o controlado). La concha perla, *P. sterna* es una especie hermafrodita protándrica y en su primera madurez gonadal, la mayor proporción de la población es macho, en relación a hembras. El cambio de sexo puede presentarse a partir de los 50 mm de altura de concha (Fig.6) cuando desarrolla la gónada femenina durante su ciclo de vida (Díaz and Bückle Ramírez, 1996).

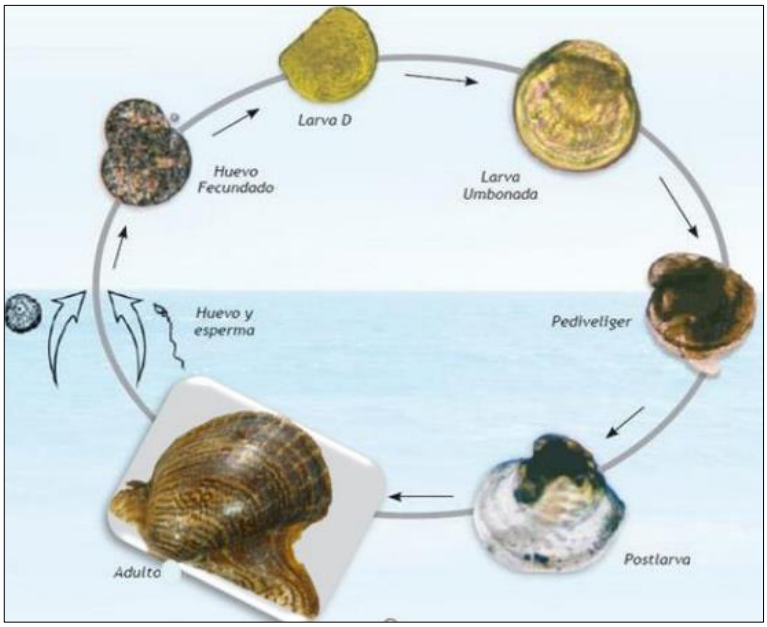

Figura 6.- Fases del desarrollo de Pteria sterna. Fuente: Díaz and Bückle Ramírez (1996).

Crecimiento larval de *Pteria sterna*

El desarrollo larval es la fase crítica del crecimiento de *Pteria sterna* (Fig.7). Es la etapa donde ocurre y se eleva la mortalidad después del proceso de fijación, donde las larvas buscan un sustrato adecuado para realizar su asentamiento utilizando su biso larval (Hoyos-Chairez et al., 2020).

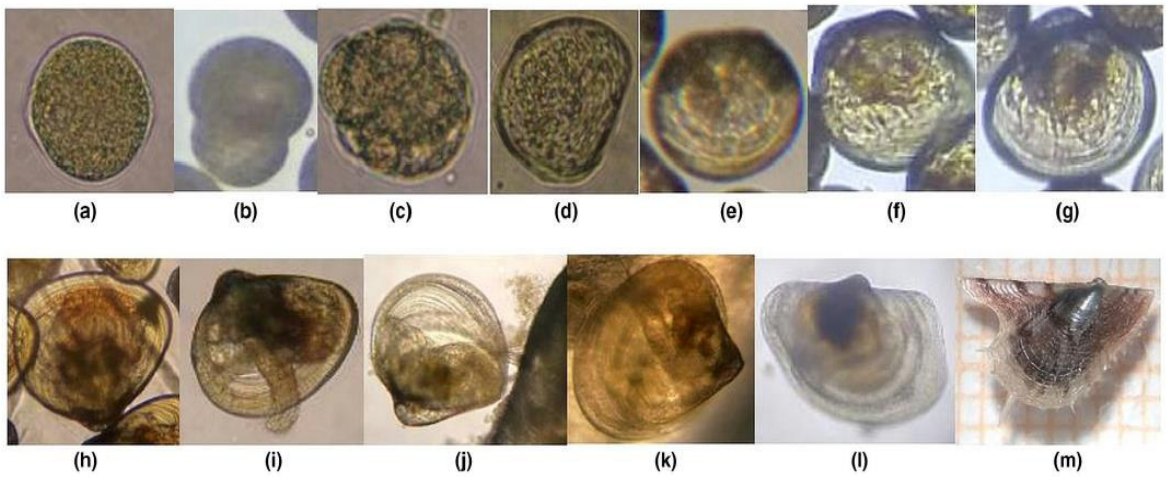

Figura 7.- Desarrollo embrionario (a-c) y larval (d-j) de *Pteria sterna*, desde huevo fecundado hasta pre-semillas cultivado en *hatchery* (Fuente: Hoyos-Chairez, 2020)

2.5. Alimentación de moluscos bivalvos

La nutrición es uno de los factores más importantes en el crecimiento y maduración de las ostras (Hawkyns-Martínez et al., 2014; Loor et al., 2016), ya que la composición, calidad y cantidad del alimento proporcionado puede afectar el metabolismo de los moluscos bivalvos (Gómez-Robles et al., 2013). La presencia o ausencia de ciertas especies de microalgas en una dieta multiespecífica, bialgal o trialgal, puede ser más importante que el contenido nutricional particular de cada especie por separado (Maeda-Martínez et al., 2016).

Previo a la alimentación exógena de las larvas de los moluscos bivalvos, incluida la especie *P. sterna*, la energía necesaria para todos sus procesos metabólicos proviene de las reservas vitelinas de los ovocitos, acumuladas durante la ovogénesis (Holland, 1978). Una vez que las larvas "D" (Fig.6) han formado su concha, ya han desarrollado su aparato digestivo y empiezan a ingerir alimento mediante la filtración de partículas en suspensión presentes en el medio circundante. Para ello, utilizan su velo, creando corrientes de agua que les permiten atraer esas partículas en suspensión hacia la boca. A partir del inicio de la alimentación exógena, es imprescindible suministrar alimento a las larvas (Lodeiros and Lovatelli, 2019).

El principal alimento de los bivalvos disponible en el mar es el fitoplancton, una dieta natural que ha sido evaluada midiendo la concentración de clorofila *a* en el agua (Hernández, 2003; Lodeiros et al., 2017). Durante la etapa larvaria, los individuos no suelen ser selectivos con su dieta (Martínez-Fernández et al., 2004), pero otros estudios han sugerido un posible nexo entre la dieta epifaunal disponible y la óptima profundidad de reclutamiento de larvas al sustrato, lo cual es importante para definir la localización de colectores para juveniles de moluscos gasterópodos, como *Haliotis rufescens* (Morse et al., 1979) o bivalvos como *Pinctada mazatlanica* y *Pteria sterna,* entre otros (Monteforte and García-Gasca, 1994).

2.6. Dietas utilizadas en *Pteria sterna*

En la producción de semillas de moluscos bivalvos, la principal dieta natural está formulada en base a diversas combinaciones de microalgas cultivadas en ambiente controlado con climatización térmica e iluminación artificial, y cultivos masivos generalmente en exteriores, a temperatura ambiente y luz solar difusa. Para obtener los mejores resultados y un mayor equilibrio nutricional, es importante que la dieta microalgal incluya al menos un flagelado desnudo y una diatomea (Mazón-Suástegui et al., 2008).

Los adultos y juveniles de moluscos ingieren una cantidad considerable de alimento natural o artificial, y es por eso que la demanda de microalgas se ve incrementada durante los procesos de acondicionamiento gonádico de reproductores y la pre-engorda de semillas. Es necesario mantener un presupuesto importante para la continuidad del cultivo de microalgas, y entre las alternativas para incrementar la eficiencia dietética y reducir los costos operativos, está la utilización de una dieta microalgal enriquecida mediante la adición de componentes artificiales complementarios.

No existe una dieta natural predeterminada para el desarrollo larvario y postlarvario de *Pteria sterna.* Sin embargo, las microalgas más utilizadas y probadas en la alimentación de moluscos ostreidos y de ostras perleras, han sido suministradas de forma monoalgal, bialgal y trialgal, incluyendo las combinaciones de *Tetraselmis* sp., *Chaetoceros* sp. e *Isochrysis galbana*, entre otras, siendo imprescindibles en la dieta inicial de pre-semillas y juveniles de estas especies (Lodeiros et al, 2016; Mazón-Suástegui et al., 2019).

2.7. Propiedades nutricionales de la moringa *Moringa oleifera*

Actualmente, existen ingredientes nutricionales alternativos, como la harina de moringa (*Moringa oleifera*), una especie también conocida como "árbol de la vida" (Fig.8), con un importante potencial de uso en la alimentación de moluscos bivalvos, debido a sus cualidades nutritivas conocidas desde hace mucho tiempo. Sin embargo, aunque este producto natural no se ha estudiado lo suficiente, ni se ha utilizado específicamente en la acuicultura de moluscos, presenta una serie de propiedades relevantes que han motivado su consumo por el ser humano (Fahey, 2005).

Figura 8.- Árbol de *Moringa oleifera* (Fuente: Piscicultura global)

La moringa (*M. oleífera,* Brassicales: Moringaceae), es originaria de la India y ofrece grandes beneficios para la salud humana. Su extracto se utiliza como un complemento nutricional y se le considera un antibiótico natural con propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, cardiovasculares, y hepatoprotectoras, por lo que resulta útil para en el tratamiento orgánico de diversas enfermedades en humanos (Mbikay, 2012; Gopalakrishnan et al., 2016).

La moringa es también considerada un alimento fortificante (Oyeyinka and Oyeyinka, 2018) por sus cualidades inmunológicas, ya que posee importantes concentraciones de vitamina C (Guzmán-Maldonado et al., 2015), lo que produce un reforzamiento de las defensas naturales del organismo y, además, presenta importantes cantidades de ácido linolénico (Moyo et al., 2011).

Actualmente el uso de *M. oleifera* en acuicultura es limitado con respecto a moluscos bivalvos filtradores, pero se ha probado su uso en algunas especies de peces de río. En la carpa común, *Cyprinus carpio*, se probó en dietas mediante el reemplazo de la soya con diferentes niveles de inclusión de moringa, obteniéndose una mejor conversión alimenticia añadiendo 5% de moringa en su dieta (Al-Dubakel and Taher, 2020). En tilapias, se han realizado pruebas de crecimiento y sustitución de proteína en tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), determinándose que es recomendable su uso hasta en un 10% de inclusión en la dieta, para no afectar su crecimiento (Richter et al., 2003). Sin embargo, también se ha probado en inclusiones de 20% con una digestibilidad de 89% en el híbrido de tilapia *Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus* (Rivas-Vega, et al., 2012).

Taxonomía de la planta *Moringa oleifera*

Reino = Plantae
Filo = Tracheoophyta
Clase = Magnoliopsida
Superorden = Rosidae
Orden = Brassicales
Familia = Moringaceae
Género = Moringa
Especie = *Moringa oleifera* (Lamarck, 1783)

Extraído desde la página web: ITIS Standard Report
https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=503874#null

Fitoquímica de *Moringa oleifera*

La fitoquímica es la ciencia que se dedica a estudiar los principales productos químicos extraídos de los vegetales, que favorecen a la salud humana (Fahey, 2005).

Las hojas de moringa que es una de las partes de la planta que presenta variados fitoquímicos, así como también están presentes en sus semillas y tallos. En las hojas los fitoquímicos presentes son polifenoles, alcaloides, glucosinolatos, taninos, saponinas, fitatos y oxalatos (Fahey, 2005), que presentan propiedades hipoglucémicas, antioxidantes, anticancerígenas, antinflamatorias, y antibacterianas, entre otras.

Las hojas de moringa contienen material proteico, con aminoácidos esenciales y no esenciales que son primordiales para los organismos, porque contribuyen a dar forma y estructura a las células. Además, contienen importantes ácidos grasos poliinsaturados ω-3 y ω-6, también minerales como calcio, fosforo, cobre, potasio, fierro, magnesio y zinc, para lograr un buen crecimiento, de quienes los consuman. Finalmente las hojas de moringa contienen una importante cantidad en fibra que mejora la función intestinal, adicionalmente vitamina A, vitaminas del complejo B (B1, B2 y B3) y Vitamina C (Fahey, 2005).

3. CAPÍTULO II. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Lugar de la investigación, proceso de traslado y aclimatación de pre-semillas de *Pteria sterna*

El estudio se realizó en el laboratorio de Acuicultura del Instituto Superior Tecnológico "Luis Arboleda Martínez" (ISTLAM), del Cantón Jaramijó, provincia de Manabí, Ecuador (Fig.9), ubicado en las siguientes coordenadas (0°56´57.11" S; 80°37´52.0" W).

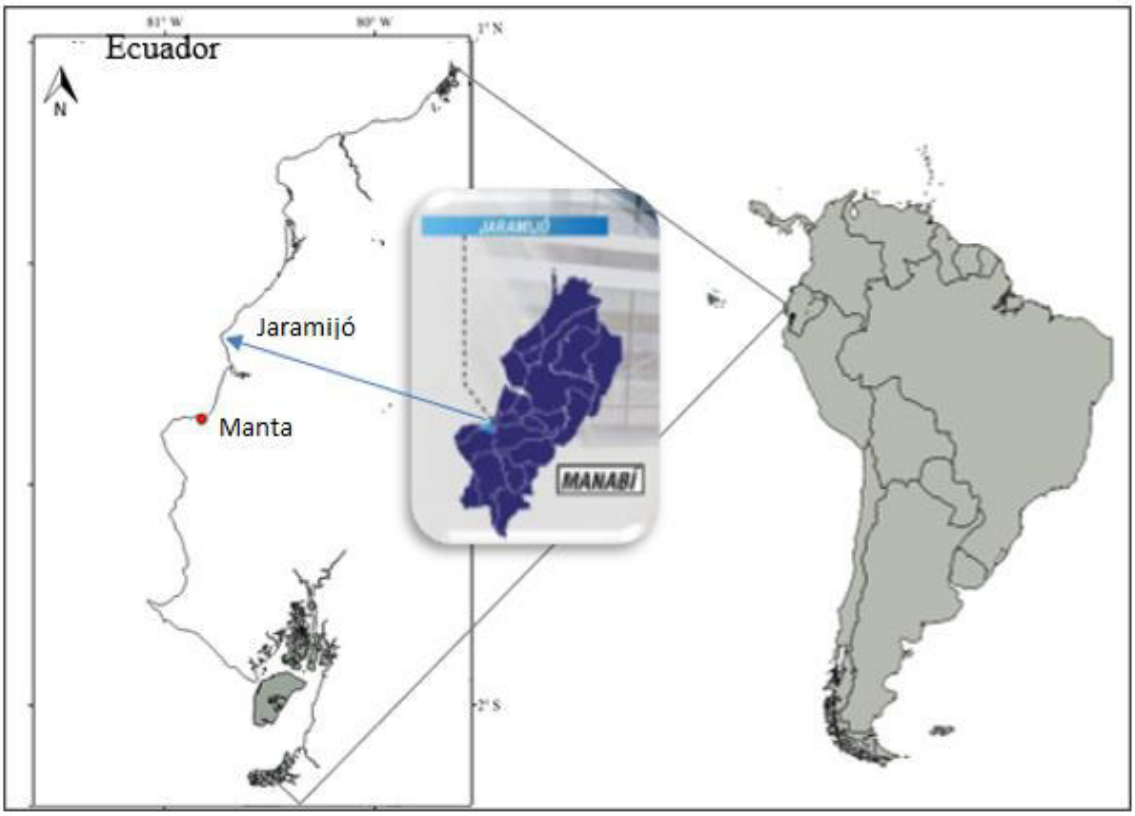

Figura 9.-Ubicación geográfica del Laboratorio del Instituto Superior Tecnológico "Luis Arboleda Martínez", en Jaramijó, Manabí, Ecuador.

Las pre-semillas de *Pteria sterna* provienen de colectores artificiales ubicados en la localidad de Ayangue, y fueron donadas por Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (CENAIM-ESPOL) ubicado en San Pedro, provincia de Santa Elena. Una vez concluido su traslado y recepción, se seleccionaron para homogenizar tallas y se aclimataron durante un período de 7 días.

En el laboratorio, se acondicionaron inicialmente 2 estanques rectangulares con capacidad volumétrica de 2 t para la recepción y aclimatación de las pre-semillas, ubicándolas en canastos rectangulares plásticos de 60 x 40 x 15 cm, con aireación constante y flujo continuo de agua de mar filtrada a temperatura ambiente (~24°C).

3.2. Bioensayo

La presente investigación comprendió dos fases o etapas experimentales, la primera en el laboratorio y la segunda en el mar. La primera fase se realizó en el ISTLAM; tuvo una duración de 30 días, y su objetivo fue evaluar tratamientos experimentales (dietas naturales, artificiales, y naturales/artificiales), durante la pre-engorda (*nursery*) en ambiente controlado, de pre-semillas. Con este propósito se estableció un diseño experimental consistente en 6 tratamientos dietéticos, c/u con 3 réplicas (acuarios). La segunda fase tuvo una duración de 50 días y su objetivo fue evaluar el desempeño de las pre-semillas resultantes de la fase1, durante su cultivo intermedio inicial en el mar (Fase 2), dando seguimiento a los tratamientos y réplicas del diseño experimental establecidos en la Fase 1.

La segunda fase de la investigación (F2) se desarrolló en el muelle privado de la empresa Puerto Atún S.A., localizado en Punta Blanca, Jaramijó. El desarrollo de las dos fases de cultivo fue secuencial, resultando un total acumulado de 80 días al concluir la fase 2, y se realizó durante los meses de septiembre de 2019 a enero de 2020. El estudio quedó temporalmente distribuido de la siguiente forma (Tabla 1).

Tabla 1. Fases, etapas y temporalidad del diseño experimental

Fase	Etapas	Tiempo acumulado (días)
1	Pre-semillas inicio	0
	Pre-semillas quincena	15
	Pre-semillas final	30
2	Cultivo intermedio inicial en el mar	80

3.2.1 Fase 1: Pre- semillas en condiciones controladas

Se utilizaron pre-semillas de la ostra perla *Pteria sterna* con longitud de concha antero-posterior de (6-8 mm) y que fueron cultivados en canastos (V = 10 cm alto x 25 cm

largo x 20 cm ancho), ubicados individualmente en 18 acuarios rectangulares de 22 L útiles, con flujo continuo de agua de mar (0,2 L/min) y aireación constante (Fig. 10a). En cada acuario se sembraron inicialmente 42 individuos distribuidos al azar para comparar su respuesta en términos de crecimiento y supervivencia, asociada a su alimentación con seis dietas o tratamientos experimentales por triplicado (Fig. 10b).

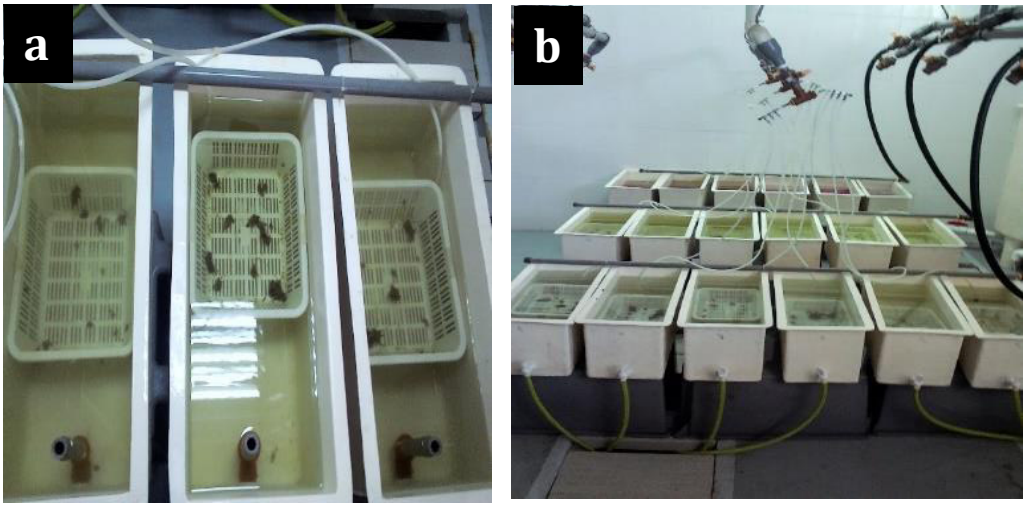

Figura 10.-Sistema experimental utilizado mostrando acuarios con canastos por triplicado (a) y conjunto experimental que incluyó 18 acuarios con flujo continuo de agua y aireación constante (b).

3.2.2 Dietas

Las dietas suministradas se formularon para determinar el efecto de mono-dietas y dietas combinadas formuladas a partir de dos dietas artificiales (harina de hojas de *Moringa oleifera* y fécula de maíz, Maicena®), y una dieta natural (microalgas cultivadas), en la alimentación de pre-semillas de *Pteria sterna* durante su manejo controlado en condiciones de laboratorio (Fase 1) y durante su cultivo intermedio inicial en el mar (Fase 2), definiendo como variables de respuesta el crecimiento y supervivencia de las pre-semillas.

Se han reportado resultados positivos en términos biológicos y económicos, relacionados con el crecimiento de juveniles de moluscos bivalvos alimentados con dietas naturales (microalgas) suplementadas con fécula de maíz (Mazón-Suástegui, 2008). Con este

antecedente se formularon dietas que incluyeron este componente, usándose el producto comercial maicena ® y además, la harina de hojas deshidratada de moringa. Todos los suplementos o aditivos se adicionaron en proporción de 5% de la dieta suministrada, de tal manera que la ración diaria por molusco, fue equivalente al 8% del peso total seco de sus tejidos blandos (masa, carne), quedando establecidas las dietas como se indica en la tabla 2.

3.2.2.1 Composición, preparación de dietas y raciones

Tabla 2. Tratamientos con las diferentes dietas suministradas en la experiencia

Ítem	***Tratamientos experimentales***	***Composición de la dieta***	***Adición del suplemento artificial (%)***
1	Tratamiento 1	100% mezcla de microalgas*:* MM	
2	Tratamiento 2	MM + Fécula de maíz	5% Fécula maíz
3	Tratamiento 3	MM + Moringa	5% moringa
4	Tratamiento 4	MM + Fécula maíz + Moringa	2,5% Fécula maíz y 2,5% Moringa
5	Tratamiento 5	100% Moringa	5% Moringa
6	Tratamiento 6	100% Fécula maíz	5% Fécula maíz

% =: Porcentaje de inclusión en cada dieta suministrada. MM = Mezcla microalgas: *Tetraselmis suecica* y *Chaetoceros gracilis* (1:1).

Las dietas artificiales fueron suministradas a manera de emulsiones, y para su preparación, se utilizaron diferentes métodos dependiendo de la característica del suplemento. La emulsión de fécula de maíz se preparó en medio acuoso, y a temperatura ~70°C, disolviendo primeramente el producto (maicena®) en agua destilada fría y después agregando lentamente en agua caliente y agitando continuamente en plancha térmica hasta obtener una emulsión consistente (Mazón-Suástegui, 2008).

En el caso de la emulsión de moringa, se utilizó una harina deshidratada pulverizada de hojas de moringa, en base a los porcentajes planteados en los distintos tratamientos. Esta suspensión se preparó con carboximetilcelulosa (CMC) como gelificante sin valor nutricional, en un porcentaje de 0,5 %. El CMC se disolvió en 100 ml de agua destilada y se calentó en una plancha térmica hasta 60°C, hasta lograr la consistencia deseada, se agregó la cantidad requerida de polvo de moringa agitando mecánicamente hasta homogenizar la

mezcla (Fig.11). Posteriormente, la suspensión obtenida se enfrió a temperatura ambiente y se agregó a los grupos de organismos experimentales (tratamientos) respectivos en la proporción previamente establecida (Tabla 2).

Figura 11.-Preparación de la dieta 3 con *Moringa oleífera*.

La ración diaria de alimento de la dieta con 100% de microalgas (considerada como un tratamiento control) se calculó en función del peso de la masa seca de las microalgas y dietas propuestas. Entregando diariamente una ración aproximada de 8% de la masa seca total de los bivalvos a cada unidad experimental (acuario), es decir, a las tres réplicas de cada uno de los seis tratamientos experimentales. Esta ración fue consumida de acuerdo al suministro total del alimento en períodos de 2 h de consumo (Fig.12). Los organismos fueron alimentados una vez al día los primeros 15 días y dos veces al día los siguientes 15 días del estudio, durante la etapa de investigación en el laboratorio (Fase 1).

Figura 12.-Dietas preparadas y raciones para entrega diaria en tratamientos

Para la estimación de ración de la dieta 1, mezcla de microalgas *Chaetoceros gracilis* y *Tetraselmis suecica,* se utilizaron valores de la masa celular seca correspondientes a 62 pg y 166 pg, respectivamente (Tabla 3), datos determinados por Rodríguez et al. (2020) con las mismas cepas de microalgas.

Tabla 3. Características biométricas (promedio + DE, n = 30) de las microalgas utilizadas en la dieta-tratamiento 1

Clase	**Especie**	**Tamaño celular (µm)**	**Tamaño apéndice/flagelo (µm)**	**Masa celular seca (pg)**
Clorophyceae	*Tetraselmis suecica*	8,9 ± 1,30	12,1 ± 0,93	166
Bacillariophyceae	*Chaetoceros gracilis*	6,6 ± 0,76	15,1 ± 1,58	62

Fuente: Rodríguez et al. (2020).

3.2.2.2 Análisis nutricional

Se evaluó la harina de hojas deshidratadas de *Moringa oleifera*, de producción ecuatoriana (ecotipo nacional) y proveedor localizado en la provincia del Guayas, Ecuador. La harina se obtuvo en presentación DOY PACK de 200 g, envase metalizado para alimentos con sello superior, permitiendo un óptimo mantenimiento y duración. Las muestras fueron

extraídas con una espátula de acero inoxidable y se pesaron utilizando una balanza analítica (precisión de 0,001g) y se distribuyó 1 g de producto en envases herméticos. Para el análisis del perfil lipídico y aminoacídico, las muestras de harina fueron evaluadas por triplicado, procedentes de 3 paquetes comerciales. Los análisis de perfil lipídico y aminoacídico se realizaron en el servicio de seguridad alimentaria y desarrollo sostenible del Centro de Apoyo Científico-Tecnológico de Investigación (CACTI) de la Universidad de Vigo, España.

Los análisis correspondientes a las microalgas fueron realizados mediante cooperación con CENAIM-ESPOL, de la provincia de Santa Elena, institución de origen de las cepas microalgales utilizadas en el presente estudio.

Análisis de ácidos grasos

La composición de ácidos grasos se determinó mediante la metodología previamente descrita por Barros et al. (2013) utilizándose un cromatógrafo de gases marca AGILENT 7820A acoplado a un detector de ionización de llama (GC-FID, DANI modelo GC 1000, Contone, Suiza). Las muestras fueron previamente sometidas a extracción sólido-líquido, metilación de sus ácidos grasos y filtración. Posteriormente se identificaron los ácidos grasos comparando los tiempos de retención relativos de los picos de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) de las muestras con estándares comerciales.

Análisis de aminoácidos y proteínas totales

El análisis aminoacídico fue realizado mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en equipo Waters 2695 Alliance, utilizándose digestión ácida y tratamiento posterior para determinar los aminoácidos. Se detectó su contenido proteico mediante método Dumas código 990.03 de la Asociación de Colaboración Analítica Oficial (AOAC, 2005).

3.2.2.3 Evaluación de la condición de los organismos

En el laboratorio (Fase 1), se realizaron las mediciones biométricas de las ostras,

registrándose la longitud antero-posterior de la concha, utilizando un calibrador tipo vernier con un grado de precisión de 0,05 mm. Adicionalmente, se realizó fotometría de las muestras, mediante programa Image J (Fig. 13). La biomasa de los individuos se determinó en base al peso de la concha y tejidos blandos con una balanza electrónica con precisión de 0,001 g. para ello los organismos se disecaron y deshidrataron en estufa a 65°C por 24 h. Un procedimiento biométrico similar se aplicó el cultivo intermedio inicial en mar (Fase 2).

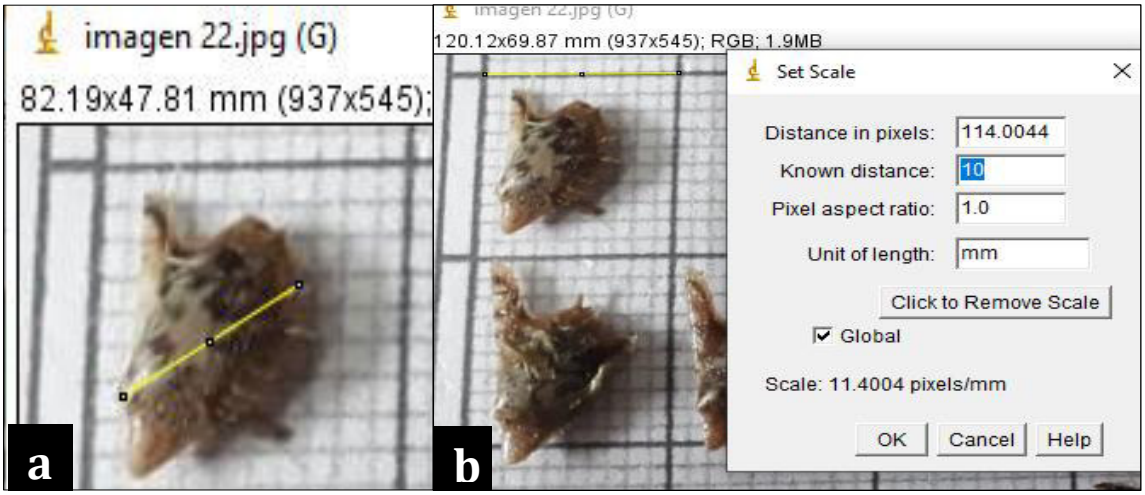

Figura 13.-Mediciones mediante fotometría de altura (a) de pre-semillas *Pteria sterna* con el programa image J

3.2.2.3.1 Crecimiento

Con los resultados de las biometrías realizadas en laboratorio a las pre-semillas de *Pteria sterna* (0, 15 y 30 días) se calcularon los siguientes índices de crecimiento:

Tasa de crecimiento diario en longitud antero-posterior de la concha (mm)

La TCl a-p (mm/día), se calculó mediante la siguiente formula modificada de Mercer et al., (1993).

$$TCl\ a\text{-}p = \frac{Lf - Li}{N°\ días}$$

donde Lf = Longitud concha (antero-posterior) promedio final (mm), Li = Longitud concha

(antero-posterior) promedio inicial (mm).

Tasa de crecimiento relativo en longitud antero-posterior de la concha (%)

$$TCrt(\%) = \left(\frac{L\,f - L\,i}{L\,i}\right) * 100$$

Tasa de crecimiento diario en masa de la concha seca TCmc (mg/día)

La TCmc (mg/día), se calculó mediante la siguiente formula modificada de Mercer et al., (1993).

$$TC\,mc = \frac{Pf - P\,i}{N°\,días}$$

donde Pf = Peso promedio concha seca final (mg) y Pi = Peso promedio concha seca inicial (mg)

Tasa de crecimiento relativo en masa de la concha seca TCcr (%)

$$TCcr(\%) = \left(\frac{Pf - P\,i}{Peso\,i}\right) * 100$$

Tasa de crecimiento diario en masa de tejido seco TCmt (mg)

La TCmt (mg/día), se calculó mediante la siguiente formula modificada de Mercer et al., (1993).

$$\mathrm{TC\,mt} = (\mathrm{Pf} - \mathrm{Pi}) \,/\, (\mathrm{N°\,días})$$

donde Pf = Peso promedio tejido seco final (mg) y Pi = Peso promedio tejido seco inicial (mg)

Tasa de crecimiento relativo de masa de tejido seco TCtr (%)

$$\mathrm{TCtr}(\%) = \left(\frac{\mathrm{Pf} - \mathrm{Pi}}{\mathrm{Pi}}\right) * 100$$

3.2.2.3.2 Supervivencia

En cada grupo experimental de laboratorio (Fase 1) se registró semanalmente la mortalidad retirando las ostras muertas para evitar contaminación. Para determinar la supervivencia se utilizó la siguiente formula:

$$S\% = Nf / Ni * 100$$

Donde Nf = Número final de pre-semillas, Ni = Número inicial de pre-semillas

3.2.2 Parámetros ambientales

En laboratorio (Fase 1), se realizó el registro diario de oxígeno disuelto (Fig. 14a), salinidad, temperatura y pH, en todas las unidades experimentales (acuarios) utilizando equipos portátiles marca Hanna (Fig. 14b), para asegurar iguales condiciones ambientales en los tratamientos y sus correspondientes réplicas. El agua de mar utilizada en laboratorio fue filtrada a 1 µm y esterilizada con luz ultravioleta para garantizar su calidad.

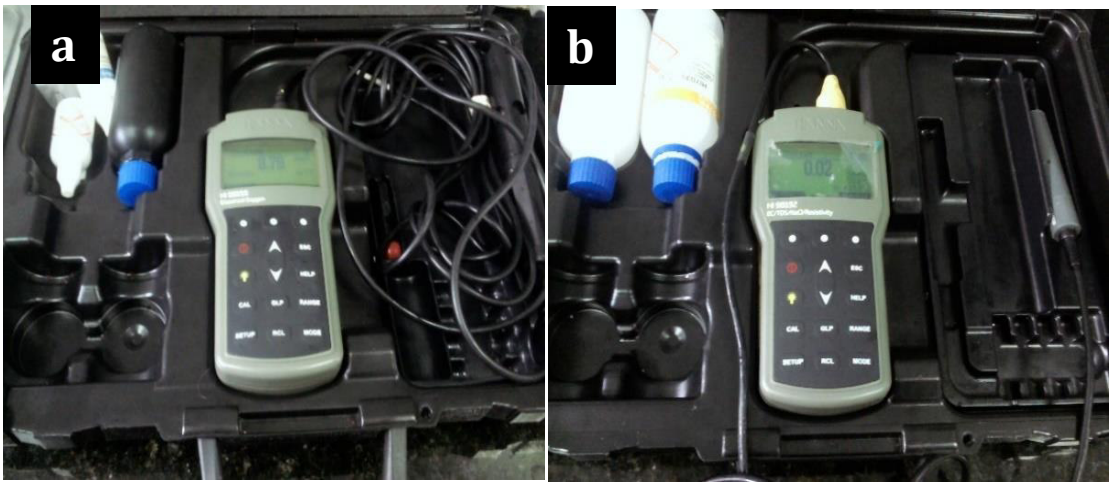

Figura 14.-Equipos de medición parámetros ambientales (a) equipo Oxígeno disuelto y temperatura (b) salinidad.

3.2.2 Fase 2: Cultivo intermedio suspendido en mar

Concluida la fase 1 con sus etapas realizadas en ambiente controlado hasta los 30 días, la experiencia continuó desarrollándose en el campo (Fase 2), con el fin de valorar crecimiento, supervivencia y desempeño general (calidad) de las pre-semillas procedentes de los tratamientos aplicados en el laboratorio. Las ostras provenientes de cada tratamiento y sus réplicas fueron sembradas en los respectivos pisos (3) de las linternas disponibles (5). Las unidades de cultivo suspendido, fueron mantenidas en el mar durante un período de 50 días, acumulándose 80 días de cultivo al concluir esta etapa de la investigación (Fase 2).

.

3.2.2.1 Evaluación

Durante la fase 2 del bioensayo, las semillas de *Pteria sterna* de todos los tratamientos en evaluación, excepto los del tratamiento 5 (que no sobrevivieron), fueron sembradas en el mar en sistemas de cultivo suspendido (linternas de 3 pisos), manteniendo triplicados por tratamiento (Fig.15). Para la medición de las variables biométricas de los individuos, longitud de concha (antero-posterior) y biomasa, se utilizó el mismo protocolo de muestreo señalado en la evaluación de condiciones realizado en la fase 1.

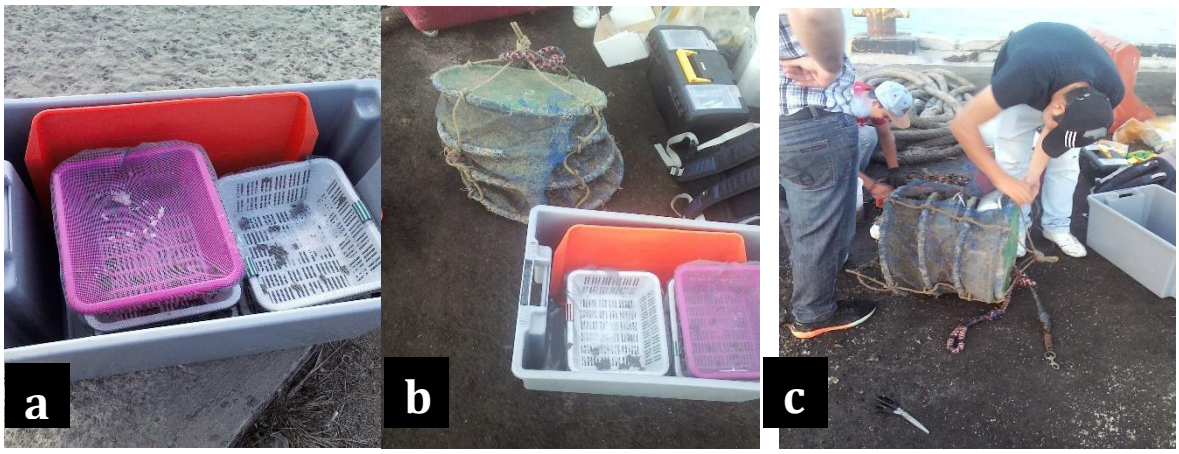

Figura 15.-Siembra de semillas (30 días) en canastas individuales (a), preparación de linterna siembra (b), cierre de linterna (c)

3.2.2.2 Crecimiento de *Pteria sterna* en mar

A partir de los resultados obtenidos durante las últimas biometrías en laboratorio (día 30) y la biometría final del período de cultivo intermedio inicial en el mar (día 50) con 80 días acumulados en ambas fases, se calcularon las siguientes tasas de crecimiento, aplicando las mismas formulas utilizadas en la fase 1 del bioensayo:

Tasa de crecimiento diario en longitud antero-posterior de la concha (mm)
Tasa de crecimiento relativo en longitud antero-posterior de la concha (%)
Tasa de crecimiento diario en masa seca de la concha TCmc (mg/día)
Tasa de crecimiento relativo en masa de la concha TCcr (%)
Tasa de crecimiento diario en masa tejido seco TCmt (mg/día)
Tasa de crecimiento relativo en masa tejido seco TCtr (%)

3.2.2.3 Supervivencia

En cada grupo experimental de cultivo en el mar (Fase 2) se registró la mortalidad retirando las ostras muertas para evitar contaminación en la canasta correspondiente y se registró la mortalidad acumulada al final del estudio. Para determinar la supervivencia se utilizó la siguiente formula:

$$Tasa\ S\% = \frac{Nf}{Ni} * \ 100$$

Donde Nf = Número de semillas finales, Ni = Número inicial de semillas

3.2.3 Parámetros ambientales

Durante toda la fase 2 de cultivo intermedio inicial en mar se midió temperatura del agua con un termógrafo de registro diario (Fig.16) incorporado a la unidad (linterna) de cultivo.

Figura 16.-Termógrafo instalado en linterna durante la fase 2, cultivo intermedio en mar

3.3. Análisis Estadísticos

Inicialmente se determinó la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk y homogeneidad de las varianzas mediante la prueba de Barlett. Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía y una prueba *a posteriori* de LSD (Least Significant Difference) , para determinar si existían diferencias significativas ($p<0.05$) entre los valores de crecimiento por efecto de las dietas, entre los diferentes tratamientos. La comparación de la supervivencia en los distintos tratamientos, se realizó mediante una prueba ANOVA simple. Los análisis se realizaron con el programa estadístico STATGRAPHICS CENTURION v. XIX (Statgraphics.net).

4 CAPÍTULO III. RESULTADOS

4.1 Análisis nutricional de *Moringa oleifera*

4.1.1 Componentes del perfil de lípidos

El análisis específico del perfil lipídico de las hojas de *Moringa oleifera* mostró la presencia de ácido α-linolénico 13,9 mg/g (equivalente a 33,6 ± 4,79% de la materia seca); ácido palmítico con 9,33 mg/g. (22,55 ± 1,35%), seguido de, ácido linoléico con 3,13 mg/g (7,57 ± 0,69%) además de, ácido esteárico con 3 mg/g (7,25%), ácido lignocérico, ácido mirístico y ácido oleico con ~1,5 mg/g y en menor cantidad el ácido tridecanoico, ácido behénico, ácido palmitoleico, ácido eicosatrienoico, ácido araquídico, ácido láurico, ácido hexanoico, ácido heptadecanoico y ácido tricosanoico, con promedios que fluctuaron entre ~1 y 0,5 mg/g (Tabla 4).

Tabla 4. Perfil de ácidos grasos de la harina de hojas de *Moringa oleifera*, expresado en mg/g. de la materia seca y su porcentaje

Nomenclatura	Ácido graso	Promedio (mg/g)	I.C. (mg/g)	Promedio (%)	IC. (%)
C18:3 n3	Ácido α Linolénico	13,9	1,98	33,60	4,79
C16:0	Ácido Palmítico	9,33	0,56	22,55	1,35
C18:2 cis	Ácido Linoléico	3,13	0,28	7,57	0,69
C18:0	Ácido Esteárico	3,0	0	7,25	0
C24:0	Ácido Lignocérico	1,57	0,07	3,80	0,16
C14:0	Ácido Mirístico	1,53	0,07	3,71	0,16
C18:1 cis	Ácido Oleico	1,53	0,17	3,71	0,42
C13:0	Ácido Tridecanoico	0,97	0,07	2,34	0,16
C22:0	Ácido Behenico	0,93	0,13	2,26	0,32
C16:1	Ácido Palmitoleico	0,83	0,07	2,01	0,16
C20:3 n6	cis-8,11,14- ácido Eicosatrienoico	0,77	0,21	1,85	0,57
C20:0	Ácido Araquídico	0,73	0,13	1,77	0,32
C12:0	Ácido Láurico	0,63	0,13	1,53	0,32
C6:0	Ácido Hexanoico	0,5	0	1,21	0
C17:0	Ácido Heptadecanoico	0,5	0	1,21	0
C23:0	Ácido Tricosanoico	0,5	0	1,21	0
C15:0	Ácido Pentadecanoico	0,37	0,07	0,89	0,16
C20:4	cis-5,8,11,14- Ácido Eicosatetraenoico	0,35	0,08	0,85	0,19
C14:1	Ácido Miristoleico	0,3	0	0,73	0

Notas: cis = ácido graso insaturado que posee sustituyentes en el mismo lado de un doble enlace. IC = intervalo de confianza a 95 %.

4.1.2 Aminoácidos

El porcentaje de proteínas de la harina de hojas de *Moringa oleifera* fue de un 29,51 + 0,21%, con un perfil compuesto por 17 aminoácidos, 9 de los cuales son esenciales, entre éstos, la leucina presentó el mayor porcentaje (7,9 ± 0,17%) y treonina, arginina, lisina, fenilalanina, valina con valores entre 3-5% y el resto, tirosina, histidina y metionina con valores < 3% (Tabla 5).

Tabla 5. Análisis cromatográfico del perfil de aminoácidos de harina de hojas deshidratadas de *Moringa oleifera*, expresado en porcentaje (%) del peso molecular

Aminoácido	Cantidad (Promedio %)	IC (%)
Alanina	13,1	1,28
Glicina	11	0,60
Ácido Glutámico	10,17	0,47
Ácido Aspártico	9,33	0,35
Leucina *	7,9	0,20
Serina	6,43	0,07
Cisteína	5,93	0,52
Prolina	5,2	0,11
Treonina *	4,93	0,13
Arginina	4,8	0,23
Lisina *	4,43	0,13
Fenilalanina *	4,33	0,36
Valina *	3,9	0,23
Isoleucina *	2,9	0,11
Tirosina *	2,83	0,26
Histidina *	1,63	0,07
Metionina *	1,17	0,13

*aminoácidos esenciales, % = porcentaje peso molecular y IC = intervalo de confianza a 95%

4.2 Crecimiento

4.2.1 Crecimiento comparativo en longitud antero-posterior de la concha de juveniles de *Pteria sterna*

Fase 1:

Al realizar un análisis comparativo del crecimiento en longitud (antero-posterior) de la concha de juveniles de *Pteria sterna* alimentados con distintas dietas, a los 15 días en pre-semillas (Fase 1), la prueba de análisis de varianza, arrojó que no existen diferencias significativas ($p > 0,05$) entre dietas. Posteriormente, al finalizar esta fase de alimentación a

los 30 días de cultivo, las pre-semillas presentaron leves variaciones en el crecimiento en longitud antero-posterior de la concha (Fig.17), entre las dietas suministradas, sin encontrarse diferencias significativas entre ellas (ANOVA, F =1,94; p = 0,1130).

Las pre-semillas presentaron una longitud antero-posterior de la concha de 7,18 ± 0,59 mm al iniciarse los seis ensayos dietéticos. El crecimiento analizado en las pres-semillas, cultivadas bajo condiciones controladas y con diferentes dietas (30 días), mostró diferencias en las tasas de crecimiento en longitud antero-posterior de la concha de *Pteria sterna*. Se observó un crecimiento de 77 µm/día con la dieta 4 (microalgas, fécula de maíz y moringa) y de 52 µm/día con la dieta 6 (fécula de maíz) (Tabla 6). Este crecimiento diario de las pre-semillas alimentadas con la dieta 4 fue ~1,5 veces mayor que el crecimiento diario de las pre-semillas alimentadas con la dieta 6.

La tasa de crecimiento porcentual relativo analizada hasta los 30 días de cultivo en laboratorio, reflejó un índice de ~32 % en las pre-semillas alimentadas con la dieta 4 y de ~22% en las alimentadas con la dieta 1 (mezcla de microalgas) (Tabla 6).

Tabla 6. Tasas de crecimiento diario y crecimiento porcentual relativo en longitud antero-posterior de la concha en pre-semillas de *Pteria sterna* alimentados con seis dietas-tratamiento (30 días), en ambiente controlado de laboratorio (Fase 1).

Fase 1	**Cultivo de pre-semillas en laboratorio (30 días)**		
Dietas/ tratamientos	**Longitud a-p (mm)**	**Tasa crecimiento long. a-p (µm/día)**	**Tasa crecimiento relativo long. a-p (%)**
1	9,22	68	28,4
2	9,27	70	29,1
3	9,35	72	30,2
4	9,5	77	32,3
5	-	-	-
6	8,74	52	21,7

Fase 2:

El crecimiento analizado al finalizar la fase de cultivo intermedio inicial suspendido en mar (80 días acumulados de cultivo), mostró que las tasas de crecimiento en longitud

antero-posterior de la concha de las semillas de *Pteria sterna* alimentadas previamente con las distintas dietas, reflejó índices de 148 µm/día y 143 µm/día con la dieta 3 (microalgas y moringa) y con la dieta 4 (microalgas, fécula maíz y moringa), respectivamente, en comparación con los índices de 83 µm/día obtenidos con la dieta 1 (microalgas) (Tabla 7). Este crecimiento diario de las semillas alimentadas con la dieta 3 fue ~1,8 veces mayor que el crecimiento diario de las semillas alimentadas con la dieta 1.

La tasa de crecimiento porcentual relativo en el mar (Fase 2) presentó un índice de 71 % en los juveniles alimentados previamente con la dieta 3 y de ~40% en las semillas alimentadas con la dieta 1 formulada al 100% con microalgas (Tabla 7).

Tabla 7. Tasas de crecimiento diario y crecimiento porcentual relativo de longitud antero-posterior de la concha en juveniles de *Pteria sterna*, durante su cultivo intermedio inicial en mar por un período de 50 días y un total acumulado de 80 días (Fase 2).

Fases	**Cultivo intermedio mar (50 días)**		
Dietas/ tratamientos	**Longitud a-p (mm)**	**Tasa crecimiento long. a-p (µm/día)**	**Tasa crecimiento relativo long. a-p (%)**
1	12,94	83 [c]	40,3
2	14,24	110 [b]	53,6
3	15,99	148 [a]	71,0
4	15,94	143 [a]	67,8
5	-	-	-
6	14,21	122 [b]	62,6

Las letras distintas indican diferencias significativas entre los valores medios ($p < 0,05$)

En el análisis realizado a los 80 días acumulados de cultivo intermedio inicial en mar, comparando el crecimiento en la longitud antero-posterior de la concha de los juveniles alimentados con distintas dietas, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (ANOVA, $F_{=}$ 14,52; $p < 0, 05$). La prueba *a posteriori* de LSD, confirmó que existieron diferencias significativas entre tres grupos que fueron homogéneos: Dietas (3 y 4) > Dietas (2 y 6) > Dieta 1, con mezcla de microalgas (Fig. 17).

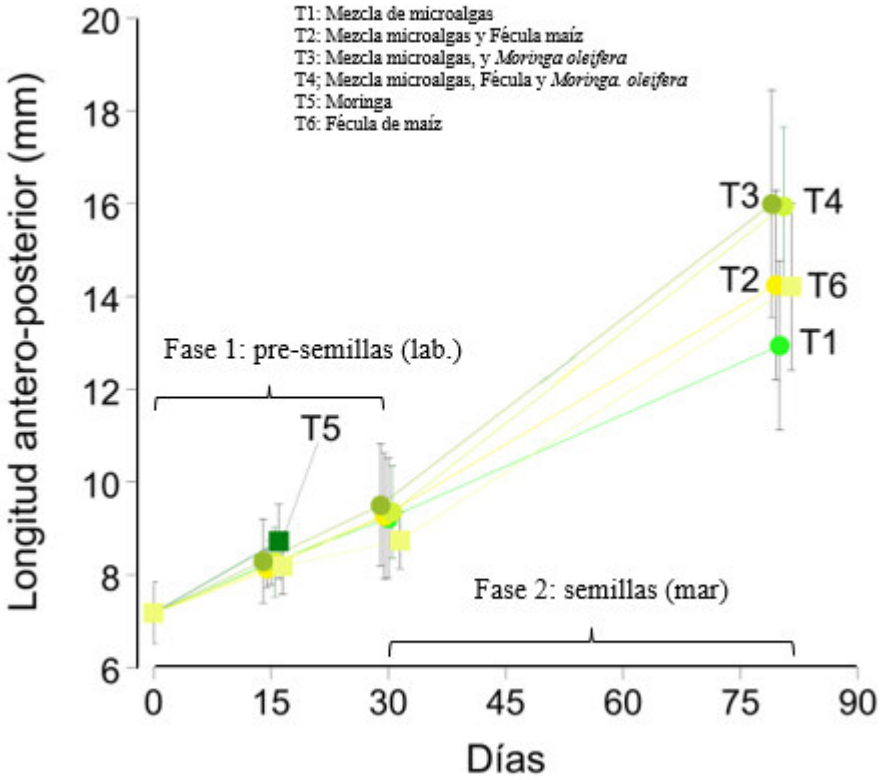

Figura 17.-Crecimiento comparativo en longitud antero-posterior de la concha (mm) de juveniles de *Pteria sterna* alimentados con seis dietas suministradas durante su pre-engorda (nursery) en ambiente controlado de laboratorio (Fase 1) previo a la siembra y cultivo intermedio inicial en mar (Fase 2). Líneas verticales indican el intervalo de confianza al 95%

4.2.2 Crecimiento comparativo de la masa de la concha seca de juveniles de *Pteria sterna*

Fase 1:

Relativo al análisis del crecimiento en masa de la concha seca durante la etapa de pre-engorda realizado a los 15 días de cultivo en ambiente controlado, se apreciaron diferencias significativas entre los tratamientos (ANOVA, $F = 3{,}14$; $p < 0{,}05$). En el test a *posteriori* de LSD, se confirmó que existieron diferencias significativas entre dos grupos que fueron homogéneos: Dieta (5, 4, 6 y 3) > Dieta (2 y 1).

A los 30 días de cultivo se mantuvieron esas diferencias significativas (ANOVA, F= 3,87; p < 0,05) para el crecimiento en masa de la concha seca. En el test a *posteriori* de LSD se confirmó que existieron diferencias significativas entre dos grupos que fueron homogéneos: Dietas (3, 4 y 2) > Dietas (1 y 6) (Fig.18).

Las tasas de crecimiento diario y porcentual relativo en masa de la concha seca determinado para este estudio, en fase 1 pre-semillas de *Pteria sterna* alimentadas con seis dietas experimentales, dentro de los primeros 30 días de análisis en ambiente controlado, mostraron que las dietas 3 (microalgas y moringa), 4 (microalgas, fécula de maíz y moringa) y 2 (microalgas y fécula de maíz) fueron ~1,27 veces mayor la dieta 1 (microalgas) y ~1,6 veces mayor que la dieta 6 (fécula de maíz) en laboratorio (Tabla 8).

Tabla 8. Tasas de crecimiento diario y crecimiento porcentual relativo en masa de la concha seca, en pre-semillas de *Pteria sterna* alimentadas bajo condiciones controladas de laboratorio durante 30 días (Fase 1).

Fase 1:	**Cultivo pre-semillas en laboratorio (30 días)**		
Dietas/ tratamiento	**Masa concha seca (mg)**	**Tasa crecimiento masa concha seca diario (mg)**	**Tasa crecimiento relativo masa concha seca (%)**
1	165,2	4,85 [b]	742,9
2	194,4	5,82 [a]	891,8
3	214,5	6,49 [a]	994,4
4	201,4	6,06 [a]	927,6
5	-	-	
6	136,2	3,88 [b]	594,9

Las letras distintas indican diferencias significativas (p < 0,05)

Fase 2:

Las tasas de crecimiento diario y porcentual relativo en la masa de la concha seca determinado para este estudio, en fase 2 en cultivo intermedio de semillas de *Pteria sterna* en mar alimentadas naturalmente, desde los 30 días hasta los 80 días, mostró que los organismos alimentados previamente con la dieta 4 generaron los mejores resultados de estos índices con un ~1,8 y 1,6 veces mayor que las semillas alimentadas con las dietas 3 y 2, respectivamente. Además, la dieta 4 generó ~3,9 y ~6,6 veces mejores índices que las dietas 1 y 6, respectivamente (Tabla 9).

Tabla 9. Tasas de crecimiento diario y crecimiento porcentual relativo de masa de la concha seca de semillas de *Pteria sterna* durante su cultivo intermedio inicial en mar (50 días) y un acumulado de 80 días al concluir la Fase 2.

Fase 2	**Cultivo intermedio inicial mar (50 días)**		
Dietas/ tratamiento	**Masa concha seca (mg)**	**Tasa crecimiento masa concha seca diario (mg)**	**Tasa crecimiento relativo masa concha seca (%)**
1	466,5	6,14 [c]	182,4
2	816,7	12,7 [b]	320,1
3	920,5	14,40 [b]	329,1
4	1374	23,93 [a]	582,2
5	-	-	
6	313	3,60 [d]	129,8

Las letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Después de 50 días de cultivo en el mar y 80 días acumulados del bioensayo, la comparación de los crecimientos de juveniles de *Pteria sterna* en masa de la concha seca presentó diferencias significativas (ANOVA, $F_{=}$ 65,78; $p < 0,05$). En el test a *posteriori* de LSD, se confirmó que existieron diferencias significativas entre cuatro grupos de dietas que fueron homogéneos: Dieta 4 > Dieta (3 y 2) > Dieta 1 > Dieta 6 (Tabla 9), siendo entonces la dieta 4 la que mejor crecimiento en masa de la concha seca pudo expresarse en juveniles de *P. sterna*. (Fig. 18).

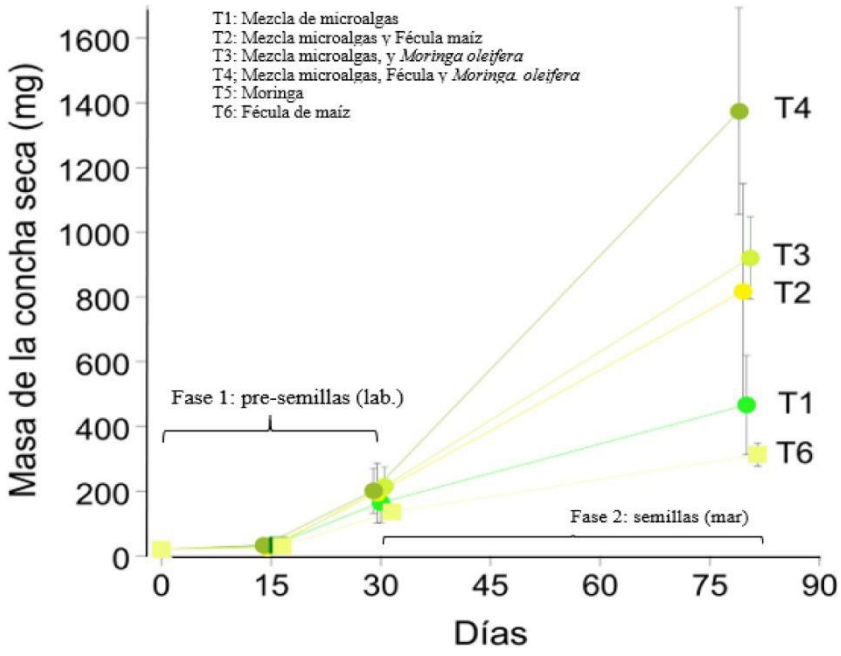

Figura 18.-Crecimiento comparativo en masa de la concha seca de juveniles de *Pteria sterna* cultivados en sistema intermedio inicial en el mar (Fase 2) y alimentados previamente con seis dietas experimentales suministradas en condiciones de laboratorio (Fase 1). Líneas verticales indican el intervalo de confianza al 95%.

4.2.3 Crecimiento comparativo en la masa de tejido seco de juveniles de *Pteria sterna*

Fase 1

Al comparar el crecimiento en la masa tejido seco de pre-semillas de *Pteria sterna*, alimentados en fase 1, con las distintas dietas, se apreció que a los 15 días de cultivo no existieron diferencias significativas entre dietas (ANOVA, $F= 0,89$, $p= 0,4911$). Sin embargo, a los 30 días de cultivo se apreciaron diferencias significativas entre dietas en cuanto a la masa de tejido seco (ANOVA, $F= 6,11$; $p < 0,05$). En el test a *posteriori* de LSD se confirmó que existieron diferencias significativas entre dos grupos de dietas que fueron homogéneos: Dietas (2, 3, 4 y 6) > Dieta 1, siendo la mezcla de microalgas la que menos crecimiento expresó en las pre-semillas a los 30 días de cultivo en ambiente controlado (Fig.19).

El crecimiento analizado a los 30 d de cultivo, en condiciones controladas (Fase 1), mostró que las tasas de crecimiento diario en masa de tejido seco de *Pteria sterna* reflejó un índice de 0,55 mg/día en pre-semillas alimentadas con la dieta 4 (microalgas, fécula maíz y moringa) y un 0,14 mg/día con las alimentadas con la dieta 1 (microalgas) (Tabla 10). Este crecimiento diario de las pre-semillas alimentadas con la dieta 4 fue 3,9 veces mayor que el crecimiento diario de las pre-semillas alimentadas con la dieta 1, considerada control.

La tasa de crecimiento relativo de esta fase tuvo un índice de ~169 % en las pre-semillas alimentadas con la dieta 4 y de ~44% en los juveniles alimentados con la dieta 1 control (microalgas) (Tabla 10).

Tabla 10. Tasas de crecimiento diario y crecimiento porcentual relativo en masa de tejido seco en pre-semillas de *Pteria sterna* alimentadas bajo condiciones controladas de laboratorio (durante 30 días), con seis dietas-tratamiento (Fase 1).

Fase 1:	**Cultivo de pre-semillas en laboratorio (30 días)**		
Dietas/ tratamiento	**Masa tejido seco m(g)**	**Tasa crecimiento masa tej. seco diario (mg)**	**Tasa crecimiento relativo masa tej. seco (%)**
1	14	0,14 [b]	44,3
2	22,9	0,44 [a]	136,1
3	22,8	0,44 [a]	135,1
4	26,1	0,55 [a]	169,1
5	-	-	-
6	22,8	0,44 [a]	135,1

Las letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Fase 2

El crecimiento analizado en la fase 2 de cultivo intermedio en mar a los 50 días de cultivo y 80 días acumulados, reflejó que las tasas de crecimiento diario en masa de tejido seco de semillas de *Pteria sterna*, fue 9,69 mg/día con la dieta 4 (microalgas, fécula maíz y moringa) y 3,69 mg/día con la dieta 1 (Tabla 11). Este crecimiento diario de las semillas alimentadas previamente con la dieta 4 fue ~2,6 veces mayor que el crecimiento diario de las pre-semillas alimentadas con la dieta 1 (mezcla microalgas).

La tasa de crecimiento porcentual relativo de esta fase 2 tuvo un índice de ~1670 % en las semillas alimentadas previamente con la dieta 4 y de 1185 % en las alimentadas con la dieta 1 control (mezcla de microalgas) (Tabla 11).

Tabla 11. Tasas de crecimiento diario y crecimiento porcentual relativo en masa de tejido seco de semillas de *Pteria sterna* cultivadas durante 50 días (Fase 2), en el mar.

Fase 2:	**Cultivo intermedio inicial en el mar (50 días)**		
Dietas/ tratamiento	**Masa tejido seco (mg)**	**Tasa crecimiento masa tejido seco diario (mg)**	**Tasa crecimiento relativo (%)**
1	179,9	3,69 [c]	1185
2	294,1	6,02 [b]	1184,3
3	266,7	5,42 [b]	1069,7
4	461,9	9,69 [a]	1669,7
5	-	-	-
6	92,9	1,55 [d]	307,5

Las letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

A los 50 días de cultivo intermedio inicial en el mar y 80 días acumulados de bioensayo, se aprecian también diferencias significativas de la masa tejido seco ($F = 68, 08$; $p < 0,05$). En el análisis de múltiples variables, utilizando un test a *posteriori* de LSD, se confirmó que existieron diferencias significativas entre cuatro grupos de dietas que fueron homogéneos: Dieta 4 > Dieta (2 y 3) > Dieta 1 > Dieta 6 (Tabla 11). Los juveniles previamente alimentados en el laboratorio con la dieta T4 durante 30 días, presentaron el mayor crecimiento final en esta experiencia, expresado en la curva de masa tejido seco (Fig. 19).

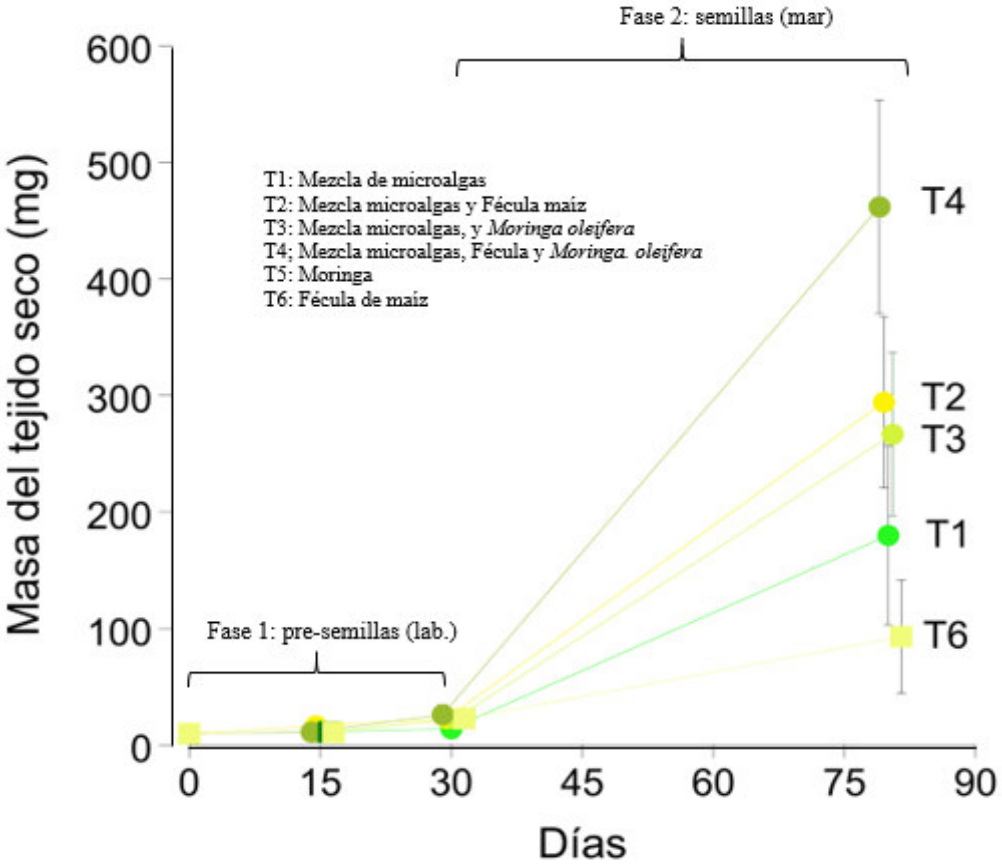

Figura 19.-Crecimiento comparativo en masa de tejido seco de juveniles de *Pteria sterna* cultivados en sistema intermedio inicial en el mar (Fase 2) y alimentadas previamente con seis dietas experimentales suministradas en el laboratorio (Fase 1). Líneas verticales indican el intervalo de confianza al 95%.

4.3 Supervivencia de juveniles de *Pteria sterna* alimentados con diferentes dietas durante la fase 1 pre-semillas (*nursery*) y en fase 2 cultivo intermedio suspendido en mar

Fase 1:

La supervivencia durante la aclimatación fue de 100% hasta el inicio del bioensayo (día 0), cuando se inició la alimentación con las distintas dietas-tratamientos suministradas.

A los 15 días de cultivo en fase 1 pre-semillas (*nursery*), se evidenció que existieron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos (ANOVA, $F = 21,72$; $p = 0,001$).

En el test a *posteriori* de LSD se confirmó que existieron diferencias significativas entre dos grupos de tratamientos que fueron homogéneos: Dietas (1,3,6,4 y 2) > Dieta 5. En ese tiempo de cultivo, la supervivencia de las pre-semillas alimentadas con la dieta 5 (moringa) disminuyó a 60,3% (Fig. 16).

La supervivencia al finalizar la fase pre-semillas (*nursery*) a los 30 días de estudio presentó diferencias significativas entre los tratamientos (ANOVA, $F = 2464,57$; $p < 0,05$). En el test a *posteriori* de LSD, se determinó que existieron diferencias significativas entre tres grupos de tratamientos que fueron homogéneos: Dietas (3,4,1 y 6) > Dieta 2 > Dieta 5. En ese tiempo de cultivo, la supervivencia de las pre-semillas alimentadas con la dieta 5 (sólo moringa) disminuyó a 0% (Fig. 16).

Fase 2:

La supervivencia al finalizar la fase 2 de cultivo intermedio suspendido en mar, hasta los 80 días acumulados de estudio, evidenció diferencias significativas entre los tratamientos (ANOVA, $F = 1115,34$; $p < 0,05$). En el test a *posteriori* de LSD, se confirmó que existieron diferencias significativas en las supervivencias entre tres grupos que fueron homogéneos: Dietas (4, 3, 1y 6) > Dieta 2 > Dieta 5. (Fig. 20).

A los 80 días acumulados de estudio y 50 días en fase cultivo intermedio inicial en mar (Fase 2), la supervivencia de los juveniles de *Pteria sterna* alimentados previamente con la dieta 3 (microalgas y moringa) y dieta 4 (microalgas, fécula de maíz y moringa) presentaron la mayor supervivencia con 97,6% (Fig. 20).

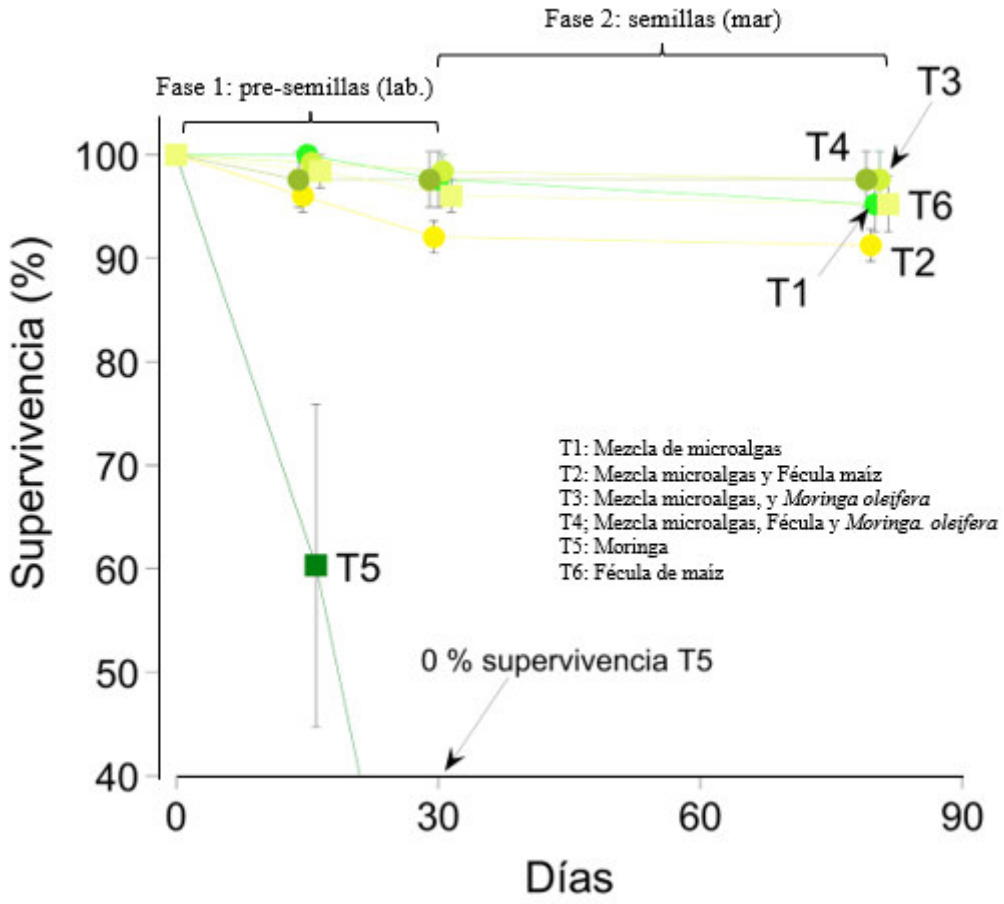

Figura 20.-Variación de la supervivencia de juveniles de *Pteria sterna* alimentados con distintas dietas/tratamiento durante su pre-engorda en el laboratorio (Fase 1), previo a su siembra y cultivo intermedio inicial en el mar (Fase 2). Media ± IC. (IC = Intervalo de confianza al 95%).

4.4 Supervivencia acumulada de juveniles de *Pteria sterna* finalizada la fase 2 cultivo intermedio suspendido en mar

La supervivencia acumulada al finalizar la fase de cultivo intermedio suspendido en mar, hasta los 80 días de estudio, evidenció diferencias significativas entre las dietas-tratamiento (ANOVA, F= 4,74; $p < 0,05$). En el test a *posteriori* de LSD, se confirmó que existieron diferencias significativas en las supervivencias entre dos grupos de tratamientos que fueron homogéneos: Dietas (3, 4, 1 y 6) > Dieta 2. Las supervivencias acumuladas de los juveniles de *P. sterna*, alimentados con las dietas 3, 4 y 1, tuvieron los mayores valores registrados ~95% y ~93%, respectivamente, seguido de las semillas alimentadas con la dieta

6 con una supervivencia acumulada de ~90% y finalmente las semillas alimentadas previamente con la dieta 2, presentaron la menor supervivencia acumulada de ~80% (Fig. 21).

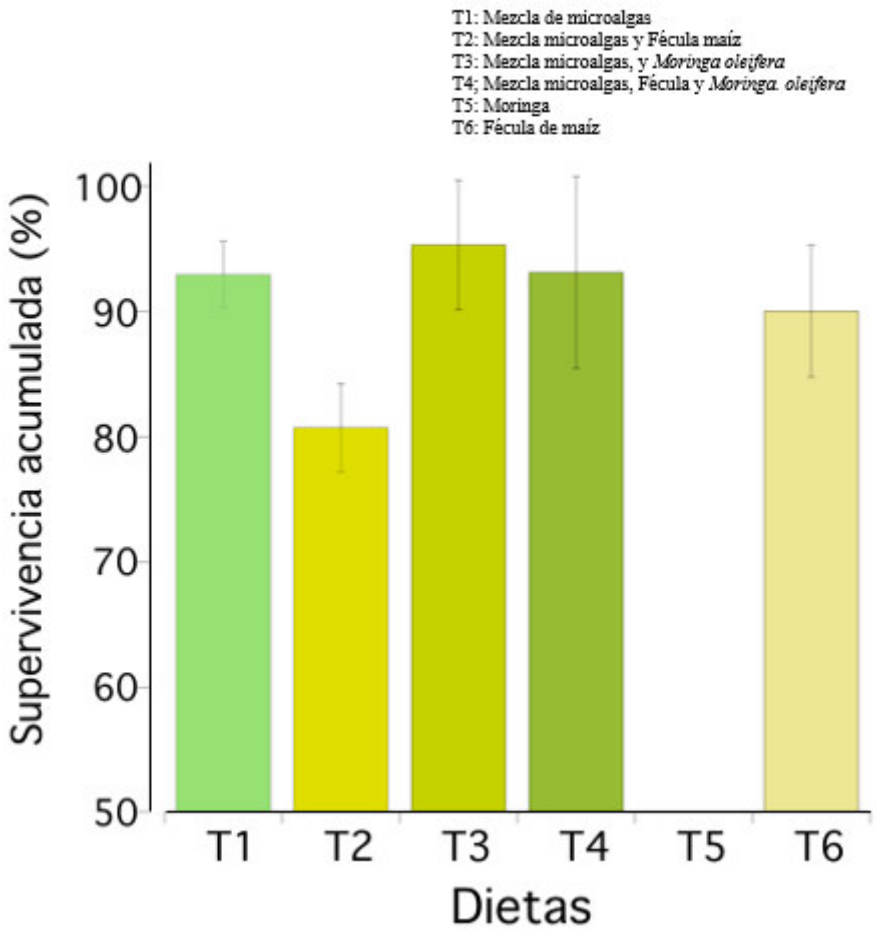

Figura 21.-Supervivencia acumulada (%) de juveniles *Pteria sterna* evaluado desde el inicio hasta la conclusión del bioensayo en el laboratorio y en el mar durante un período acumulado de 80 días de bioensayo. Media ± IC. (IC = Intervalo de confianza al 95%).

4.5 Parámetros ambientales

Fase 1:

Los datos registrados de los parámetros ambientales en Laboratorio durante la fase 1 de pre-semillas, fueron valores estables de temperatura, oxígeno disuelto, salinidad y pH, para todos los tratamientos desarrollados en ambiente controlado (Tabla 12).

Fase 2:

En la fase 2 de cultivo intermedio suspendido en mar se registraron valores diarios de temperatura donde la fluctuación diaria registrada no sobrepaso valores de 1°C, y la temperatura fluctuó entre ~25 y 26°C (Tabla 12). Los otros parámetros no fueron registrados en campo debido a que sólo se pudo instalar un equipo termógrafo para la medición de temperatura.

Tabla 12. Parámetros ambientales **del agua de cultivo** registrados durante **la pre-engorda de pre-**semillas e**n laboratorio (Fase 1) y durante el** cultivo intermedio **inicial** en mar **(Fase 2)**,

Parámetro ambiental	**Fase 1: pre-engorda en laboratorio (Días 0 -30)**	**Fase 2: Cultivo intermedio inicial en el mar (Días 31-80)**
Temperatura °C	24,07 ± 0,12	25,77 ± 0,36
Oxígeno disuelto (ppm)	7,02 ± 0,15	-
Salinidad (UPS)	34,87 ± 0,17	-
pH	8,1 ± 0,14	-

Valores de medias y su desviación estándar, n = 90 en laboratorio, n = 350.

5 CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN

Aunque la ostra perla *Pteria sterna* es una especie que no se cultiva aun productivamente en Ecuador, los estudios experimentales realizados en sistemas de cultivo suspendidos en el mar han determinado que este molusco posee un interesante potencial de desarrollo, debido a que puede desarrollar una importante cantidad de carne, pudiendo llegar a producir hasta 6 g de masa de tejido seco en un período de 10 meses de cultivo, considerándose la especie como "emergente" para la acuicultura y su diversificación (Lodeiros et al., 2017). Debido a ello es imperativo realizar estudios para optimizar su cultivo en el país.

El análisis del bioensayo de esta investigación reveló que hubo una influencia de las dietas suministradas (Fase 1) en ambiente controlado, sobre el desarrollo y supervivencia de pre-semillas de la ostra *Pteria sterna,* y que posteriormente se expresó, potenciando una respuesta de crecimiento y calidad de semillas en cultivo intermedio en el mar (Fase 2*)*. Esto sugiere un efecto nutricional de las dietas prestablecidas, que generaron una mayor calidad y rendimiento en el cultivo intermedio inicial de *P. sterna*.

En la Fase 1 de este estudio se analizó la tasa de crecimiento diario en la longitud antero-posterior de la concha de *Pteria sterna* calculada para los primeros 30 días de cultivo en ambiente controlado, presentando un valor de 68 µm/día en las pre-semillas alimentadas con la dieta 1 (microalgas). Esta cifra fue levemente menor a la obtenida con una dieta similar (microalgas) en pre-semillas $\geq$ 3 mm de *Pteria sterna* (71 µm/día) cultivadas en *hatchery* en Bahía Kino, Sonora, México (Hoyos-Chairez et al., 2020). Sin embargo, la dieta 4 (microalgas, fécula de maíz y moringa) mostró valores superiores a todas las dietas, incluyendo las de Bahía Kino, Sonora, México.

En la etapa de cultivo intermedio inicial de *Pteria hirundo* una especie similar en tamaño a *Pteria sterna*, cultivada en linternas, en Santa Catarina, Brasil, se obtuvo una tasa de crecimiento diario de 110 µm/día en longitud antero-posterior de la concha, calculada desde los valores de crecimiento e incremento (Alburquerque et al., 2012). Esta tasa de crecimiento diaria fue 32,5% mayor que la tasa de crecimiento diario de 83 µm/día en

longitud antero-posterior de semillas de *Pteria sterna* alimentadas previamente con la dieta 1 (microalgas) durante la etapa de cultivo intermedio inicial de este estudio (Fase 2). Se evidenció también una tasa de crecimiento igual de 110 µm/día, al compararla con semillas alimentadas previamente con la dieta 2 (microalgas y fécula de maíz). En cambio, al comparar este índice de crecimiento obtenido en Santa Catarina, con las semillas alimentadas previamente con la dieta 3 (microalgas y moringa) con una tasa de crecimiento diario en longitud antero-posterior de la concha de 148 µm/día y la dieta 4 (microalgas, fécula de maíz y moringa) con 143 µm/día, éstas fueron un 34,5% y 30% superiores respectivamente, infiriéndose que las dietas suministradas en la fase 1 y que contienen moringa y microalgas generan una tasa de crecimiento en longitud antero-posterior de la concha, mayor en la fase 2 (cultivo intermedio inicial), ya que con la dieta 2 y 6 donde estuvo incluida la fécula de maíz, sus tasas de crecimiento en longitud antero-posterior de la concha fueron inferiores y similares a lo evaluado por Alburquerque et al (2012), en *Pteria hirundo*, donde se utilizó una dieta trialgal de microalgas vivas.

Las dietas microalgales vivas para moluscos bivalvos se pueden fortificar con diversos aditivos nutricionales complementarios, de diversas calidades. La fécula de maíz es uno de estos aditivos el cual está compuesto particularmente por carbohidratos y se ha utilizado como aditivo en dietas para acondicionamiento gonádico de reproductores de *Argopecten ventricosus*, *Modiolus capax*, *Pinctada mazatlanica* y *Pteria sterna* (Mazón-Suástegui, 1988) y en juveniles de especies de ostras, en ambiente controlado (Mazón-Suástegui and Avilés-Quevedo, 1988; Mazón-Suástegui et al., 2008; Mazón-Suástegui et al., 2019).

En nuestra experiencia, en el bioensayo de laboratorio (Fase1) se suministró fécula de maíz, en 3 dietas, siendo sus tasas de crecimiento en longitud (antero-posterior) de la concha, evaluadas en fase 2 de cultivo intermedio inicial, las que evidenciaron que las semillas alimentadas con este componente ya sea mezclado o sólo, producen crecimientos superiores al control (mezcla de microalgas) y además las semillas lograron una supervivencia $\geq$ 80%, lo que es un parámetro interesante, considerando el bajo valor económico de este producto y que su preparación e inclusión en las dietas son factibles de realizar en laboratorio.

La fécula de maíz (maicena®) en su composición bioquímica posee un 94% de carbohidratos, 0% de proteínas y 0% de lípidos (Mazón-Suástegui et al., 2019). Este suplemento compuesto de carbohidrato en forma de glicógeno se puede digerir fácilmente y ser transformado en otros sustratos como proteínas y lípidos que pueden ser utilizados por los bivalvos juveniles para su desarrollo (Gabott, 1975, en Mazón-Suástegui et al., 2008).

El suplemento elaborado en base de hojas deshidratadas de *Moringa oleifera*, en este estudio, se suministró también en 3 dietas durante la fase 1 del bioensayo. En semillas alimentadas previamente con las dietas 3 y 4, las tasas de crecimiento en longitud antero-posterior de la concha, evaluadas en fase 2 de cultivo intermedio, fueron >30% mayores, con respecto a la tasa de crecimiento de semillas alimentadas con la dieta trialgal de Alburquerque et al (2012). La dieta 5 suministrada a pre-semillas con un 100% de moringa, presentó un 100% de mortalidad a los 30 días de cultivo en laboratorio (Fase 1).

Entonces, en este estudio, al comparar las tasas de crecimiento en longitud antero-posterior de la concha (Fase 2) entre las semillas alimentadas previamente con fécula de maíz y moringa, excepto la dieta 5, se puede establecer que las dietas que incluyeron moringa se manifestó un crecimiento ~25% mayor que en semillas alimentadas previamente con dietas que incluyeron fécula de maíz en su composición. Este crecimiento mayor de las semillas alimentadas con moringa fue en dietas mezcladas, asumiéndose que las microalgas presentes en las dietas con moringa, fueron totalmente necesarias y sinérgicas en esta etapa crítica de crecimiento, coincidiendo con lo planteado por Mazón-Suástegui et al (2008), ya que en la dieta 5 que se suministró sólo moringa, las semillas de *Pteria sterna* no sobrevivieron al final de la fase 1 (30 días).

El crecimiento de la masa de la concha seca y la masa del tejido seco evaluado en este estudio, en fase 2 del cultivo intermedio inicial en mar, reveló que las semillas de *Pteria sterna* alimentadas previamente con la dieta 4 (microalgas, fécula de maíz y moringa) tuvieron una mayor tasa de crecimiento (tanto en concha como en tejido) en relación a las tasas de crecimiento de masa seca adquiridas por las semillas alimentadas con las otras dietas suministradas en la experiencia, en fase 1. Este crecimiento estuvo seguido de las semillas alimentadas con la dieta 3 (microalgas y moringa), la dieta 2 (microalgas y fécula de maíz), dieta 1 (mezcla de microalgas) y finalmente la dieta 6 (sólo fécula de maíz). Este aspecto

de la información, no pudo ser confrontado con otros estudios previos, debido a que no existen antecedentes referidos a masa seca comparables en los mismos tiempos y fases de cultivo.

En el análisis de supervivencia en cultivo en ambiente controlado (Fase 1) de *Pteria sterna* obtenida en el presente estudio con la dieta 1 (mezcla de microalgas) y dieta 4 (microalgas, fécula de maíz y moringa) fue de ~95% y ~97% de supervivencia, respectivamente. Estos porcentajes fueron mayores al comparar con pre-semillas de *Pteria sterna* > 4,5 mm, que presentaron una tasa de supervivencia de 80% (Hoyos-Chairez et al.,2020). Esta comparación puede ser inadecuada debido a que las pre-semillas del presente estudio no fueron obtenidas en el laboratorio, sino recolectadas del medio natural, pero debido a la poca información disponible sobre dietas evaluadas en período de pre-semillas, resulta un dato de referencia muy valioso para la comparación con los resultados de la presente investigación.

En otros estudios analizados sobre el cultivo suspendido de juveniles de la ostra perlífera *Pinctada imbricata*, esta presentó en sus primeros meses de cultivo en mar un 80% de supervivencia y después descendió fuertemente hasta 40% (Márquez et al., 2011).

El cultivo intermedio en especies de la familia Pteriidae, del género *Pteria* y *Pinctada*, particularmente de individuos con una longitud antero-posterior de su concha de > 4,5 mm, cultivadas en sistemas suspendidos (*linternas*) en el mar, tiene riesgos importantes, ya que es la etapa en la que pueden presentarse los mayores porcentajes de mortalidad debido a factores ambientales adversos, adaptación al sistema de cultivo, alimentación y estrés asociado al manejo (Alburquerque et al., 2012).

Las ostras perleras del Pacífico, como es el caso de *Pteria sterna* en México, pueden ser cultivadas principalmente para la industria de producción de perlas, pero antes de ello es indispensable disponer de larvas y/o semillas. Por esta razón es importante estabilizar la supervivencia después de las fases larvarias, ya que es durante el proceso de metamorfosis, cuando ocurren las mayores mortalidades. Una alimentación nutritiva y reforzada es necesaria para que las larvas puedan, posteriormente, aumentar su supervivencia y transformarse en pre-semillas competentes (Hoyos-Chairez et al., 2020).

En este sentido, existen pocos antecedentes sobre el crecimiento y supervivencia de pre-semillas, como las utilizadas en el presente estudio, pues las investigaciones se han orientado mayormente al desarrollo de desoves y cultivo larvario. Por ello, los estudios deberían orientarse también al cultivo intermedio en mar, donde se han probado diversas metodologías con distintos resultados.

Los resultados obtenidos con moringa como aditivo dietético de pre-semillas de *Pteria sterna*, nos indican que en la debida proporción porcentual éste es un buen complemento. Su calidad nutricional y su composición química son relevantes para favorecer el crecimiento y la supervivencia de juveniles de la especie, lo que justifica su análisis proximal buscando dilucidar esta inferencia.

En el análisis del perfil lipídico realizado a la harina de hojas deshidratadas de *Moringa oleífera,* se encontró la presencia importante de ácido α-linolénico y de ácido linoleico, característico de nutrientes de origen vegetal. El ácido α-linolénico (C18:3) es un ácido graso de cadena larga y omega-3, el cual mediante vías enzimáticas de desaturasas y elongasas, puede transformarse en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) como el ácido eicosapentaenoico EPA (C20:5) y posteriormente en ácido docosahexaenoico DHA (C22:6) (Calder, 2006; Wanten and Calder, 2007). Estos ácidos grasos esenciales ejercen importantes acciones en el metabolismo celular (Serhan and Chiang, 2008) y en especial el ácido linoleico, que podría ser incorporado estructuralmente a las membranas celulares en moluscos bivalvos (Farías, 2008).

Durante el presente estudio, la cuantificación de la proporción de ácido linolénico en las hojas de *M. oleifera*, reveló ser más baja (33,6%) que la determinada (44,57%) por Moyo et al. (2011), pero la cuantificación del ácido linoleico mostró una proporción similar (7,57%) a la determinada (7,44%) por estos autores. Por otra parte, la proporción de ácido palmítico en el presente estudio (22,5%) duplicó a la determinada (11,78%) por dichos autores.

Las especies de microalgas que presentan ácidos grasos saturados en su composición, son más nutritivas para los bivalvos, debido a la mayor facilidad para la liberación de energía en comparación con los ácidos grasos poliinsaturados (Thompson et al., 1993). En base a la afirmación anterior y comparado con lo obtenido en las microalgas estudiadas por Rodríguez

et al (2020), en el presente estudio los ácidos grasos saturados de mayor valor en *M. oleifera* fueron el ácido palmítico (22,55%), cuya proporción resultó ser similar a la observada en *Ch. gracilis* (21,73%) y *Tetraselmis suecica* (21,08%). El ácido mirístico (3,7%) en *M. oleifera* fue menor en proporción a lo observado en *Ch. gracilis* (20,26%), y no fue encontrado en *T. suecica.* Además, se determinó que la proporción de ácido esteárico (7,25%) en *M. oleifera*, fue mayor a la encontrada en *Ch. gracilis* (4.35%) y en *T. suecica* (2,96%). También, se detectó la presencia del ácido araquídico (1,76%) en *M. oleifera* y en *T. suecica* (3,68%).

Estos ácidos grasos saturados presentes en las microalgas podrían ser nutricionalmente muy importantes, relevantes y necesarios para el desarrollo de las pre-semillas de *Pteria sterna.* El hecho de estar ausentes las microalgas en la alimentación de las pre-semillas en dos de las dietas utilizadas, coincidió con una mortalidad total en el tratamiento 5, con una dieta constituida 100% por moringa, y con un bajo rendimiento productivo en el tratamiento 6, con una dieta compuesta sólo por fécula de maíz. Esto puede interpretarse en el sentido de que ambas dietas artificiales tienen un efecto sinérgico entre sí, y con las microalgas suministradas, pero no son efectivas como mono-dietas.

En relación al análisis de las microalgas *Ch. gracilis* y *T. suecica,* Rodríguez et al. (2020) determinaron que ésta última microalga contiene ácido α-linolénico (C18:3), por lo que su ausencia en la mono-dieta-tratamiento 5, pudiera relacionarse con el hecho de que este ácido graso no haya sido metabolizado desde la moringa, ya que en este tratamiento la mortalidad aumentó drásticamente en las pre-semillas alimentadas al 100% con este aditivo o complemento vegetal deshidratado.

En estudios sobre el contenido de lípidos en la dieta de moluscos bivalvos, como por ejemplo en *Crassostrea virginica* y *Ostrea edulis*, se reportó que el contenido más importante en las dietas microalgales fue el ácido linolénico. Sin embargo, éste no fue detectado en los tejidos analizados de estos bivalvos, lo cual podría sugerir una rápida movilización metabólica de este ácido graso en *Pteria sterna* (Watanabe and Ackman, 1974).

Al realizar la comparación entre los perfiles de ácidos grasos de *Moringa oleifera* de este estudio y *Tetraselmis suecica,* se apreció una concentración similar y relevante de ácido linolénico (~33%). En relación a *Chaetoceros gracilis,* se encontraron también concentraciones similares de ácido palmítico (~22%) y ácido linoleico (~7,5), lo cual no fue evidente en el estudio realizado por Rodríguez et al (2020). Adicionalmente, *Ch. gracilis* presentó concentraciones relevantes de ácido graso eicosapentanoico (5%) y de ácido linolénico (8,44%).

En el análisis de proteínas se determinó que la harina de hojas deshidratadas de *Moringa oleifera* utilizada durante la presente investigación, presentó una elevada proporción de proteínas (~30%). Este resultado es comparable al obtenido en otros estudios, por autores que reportaron una proporción proteica de 30,3% en la moringa de África (Moyo et al., 2011), pero mayor a la encontrada en la moringa de Pakistán (27,1%) por Dhakar et al (2011) y en la moringa de Nicaragua (25,1 %) por Makkar and Becker (1996).

En cuanto al análisis proteico de *Moringa oleifera*, el perfil aminoacídico analizado en este estudio reveló que contiene 17 aminoácidos, 9 de los cuales son esenciales (Tabla 5). Esto procura una calidad relevante, ya que los aminoácidos presentan importancia en variadas funciones fisiológicas en los seres vivos, incluyendo funciones de diseño e inmunológicas (Martínez and Martínez, 2006; Reeds, 2000).

En la comparación de los diferentes ecotipos de moringa analizados en otros estudios, se puede mencionar que se encontraron similares cantidades de aminoácidos totales (16 a 19 aminoácidos), incluyendo aminoácidos esenciales como leucina, isoleucina, treonina, lisina, fenilalanina, valina, tirosina, histidina, triptófano y metionina (Makkar and Becker, 1996; Sánchez-Machado et al., 2010, Moyo et al., 2011). Sin embargo, en las hojas deshidratadas de moringa utilizadas en este estudio, la concentración porcentual total de aminoácidos esenciales fue 2,5 veces superior a la reportada por Moyo et al (2011) y 1,4 veces menor que la determinada por Sánchez-Machado et al (2010).

En el análisis comparativo de perfiles aminoacídicos de la harina de hojas deshidratadas de *Moringa oleifera* y de las microalgas *Tetraselmis suecica* y *Chaetoceros* sp., se observó que la primera presentó valores mayores de aminoácidos que los reportados

para las microalgas analizadas por Derrien et al (1998), pero se destacaron las concentraciones de ácido aspártico (27,8%) y leucina (24,3%) en *Chaetoceros* sp, como también los altos valores de arginina (21,9%) e isoleucina (13,7%) en *Tetraselmis suecica*.

6 CONCLUSIONES

1.- La inclusión, en la debida proporción, de harina de hojas deshidratadas de *Moringa oleifera* en la dieta de pre-semillas de *Pteria sterna*, se relaciona con una mejor condición de los individuos durante las primeras etapas de crecimiento en laboratorio (Fase1) (< 5-10 mm) y posterior a ella durante la etapa de cultivo intermedio inicial en el mar (Fase 2). Ello puede estar relacionado por la calidad nutricional adicionada a las semillas dada por la moringa que presenta una elevada proporción los ácidos linolénico y linoleico, los cuales son precursores metabólicos de ácidos grasos esenciales poliinsaturados (ω-3), como el ácido Eicosapentanoico (EPA) y el ácido Docosahexanoico (DHA), así como también de ácidos grasos poliinsaturados (ω-6).

2.- El crecimiento, expresado en longitud antero-posterior de la concha (mm), en masa de la concha seca (mg) y en masa de tejido seco (mg) de *Pteria sterna,* fue mayor en los juveniles alimentados con la dieta-tratamiento 4, constituida por la mezcla de las microalgas *Chaetoceros gracilis*, *Tetraselmis suecica*, fécula de maíz y *Moringa oleifera* . Esto sugiere un efecto nutricional aditivo y/o complementario entre sus componentes individuales y demuestra la factibilidad de usar esta dieta durante la pre-engorda de semillas de la ostra perlera *Pteria sterna*, en condiciones de ambiente controlado (Fase 1), como estrategia para producir semillas con mayor condición fisiológica y mejor adaptación para la posterior fase de cultivo intermedio inicial en el mar (Fase 2). Estos resultados, muestran un efecto sinérgico positivo de los componentes de la dieta 4, lo cual fue reflejado con la obtención de semillas más resistentes/competentes, una vez transferidas a sistema de cultivo suspendido en el mar. Por lo expuesto se asume que la dieta 4 tiene potencial aplicación productiva durante la pre-engorda de semillas de *Pteria sterna* y posiblemente de otras especies de moluscos bivalvos de interés comercial.

3.- La mayor supervivencia registrada durante la presente investigación (97,6%) se obtuvo en juveniles de *Pteria sterna* alimentados con la dieta-tratamiento 4 (*Chaetoceros gracilis*, *Tetraselmis suecica*, fécula de maíz y *Moringa oleifera*), por lo que se establece la factibilidad de lograr una mayor eficiencia biológica (mayor crecimiento y supervivencia) y una mayor rentabilidad económica (complementos artificiales de bajo costo), al utilizar dietas combinadas (naturales y artificiales) durante la fase de pre-engorda de pre-semillas

(*nursery*) bajo condiciones controladas, ya que podría mejorarse el crecimiento, reducirse el riesgo de mortalidad y así obtener semillas más resistentes y competentes para la siembra y cultivo en el mar.

4.- La utilización de *M. oleifera* como dieta única para alimentar pre-semillas de *Pteria sterna* no es una alternativa nutricionalmente viable, ya que los juveniles de *P. sterna* que fueron alimentados con esta mono-dieta-tratamiento 5, murieron en su totalidad a los 30 días del estudio. Esto confirma la necesidad de disponer de microalgas cultivadas en el laboratorio (*Hatchery, Nursery*) como alimento natural, para el sostenimiento de los cultivos iniciales de *P. sterna*, e igualmente confirma, que las microalgas son la dieta natural por excelencia para los moluscos bivalvos.

7 RECOMENDACIONES

1.- Se recomienda el uso de la dieta 4 (*Chaetoceros gracilis*, *Tetraselmis suecica*, fécula de maíz y *Moringa oleifera*) para el cultivo en ambiente controlado (Fase 1) de pre-semillas de la ostra *Pteria sterna,* pudiéndose probar sus beneficios en otras especies de ostras de interés comercial.

2.- Se sugiere realizar un análisis cromatográfico y bromatológico de los tejidos de *Pteria sterna* para contrastarlo con el análisis integral de las dietas suministradas y así identificar el efecto de dichas formulaciones dietéticas naturales y/o artificiales sobre el perfil aminoacídico y lipídico de las ostras.

3.- Es conveniente realizar una evaluación económica costo/beneficio, enfocada a la sustitución parcial de microalgas cultivadas con las dietas artificiales complementarias evaluadas, como la harina de hojas deshidratadas de *Moringa oleifera* y fécula de maíz (Maicena®).

4.- Se sugiere replicar y validar la dieta combinada 4 (*Chaetoceros gracilis*, *Tetraselmis suecica*, fécula de maíz y *Moringa oleifera*) utilizada para *Pteria sterna*, realizando un análisis de crecimiento y supervivencia en otra especie de reconocida importancia comercial, como la ostra del Pacífico, *Crassostrea gigas*, originaria de Japón y hoy cultivada a nivel mundial.

8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Al-Dubakel, A. & Taher, M. (2020). Use of moringa, *Moringa oleifera* leaf meal as partial replacement of soybean meal in common carp feed. *Iraqi J. Aquacult*. 17(2), 103-115.

Alburquerque, M., Alves, R., Zanandrea, A., Ferreira, J., Melo, C. & Magalhaes, A. (2012). Growth and survival of the pearl oyster *Pteria hirundo* (L., 1758) in an intermediate stage of culture in Santa Catarina, Brazil. Braz. J. Biol., vol. 72, no. 1, p. 175-180.

Álvarez, R., Cobo, L., Sonnenholzner, S. & Stern, S. (2008). Estado actual de la acuicultura de moluscos bivalvos en Ecuador. In: Lovatelli, A., Farías, A. & Uriarte, I. (Eds.). Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. Taller Técnico Regional de la FAO. 20-24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. FAO Actas de Pesca y Acuicultura, 12: 129-133.

AOAC, (2005). Association of Analytical Chemists. Official Methods of Analysis In: W. Horowitz, Editor, Official methods of analysis (17th ed.), AOAC, Gaithersburg, MD.

Barros, L., Pereira, E., Calhelha, R.C., Dueñas, M., Carvalho, A.M., Santos-Buelga, C. & Ferreira, I.C.F.R. (2013). Bioactivity and chemical characterization in hydrophilic and lipophilic compounds of *Chenopodium ambrosioides* L. *J. Funct. Foods*, 5, 1732–1740. DOI: 10.1016/j.jff.2013.07.019.

Brett, M. and Müller-Navarra, D. (1997). The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic foodweb processes. *Freshwater Biology* 38(3), 483-499.

Brown, M., Jeffrey, S., Volkman, J., & Dunstan, G. (1997). Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*, 151, 315-331. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01501-3

Calder, P. (2006) n-3 Polyunsaturated fatty acid, inflammation, and inflammatory disease. *Am J Clin Nutr*; 83(suppl 6):1505S-19S. DOI: 10.1093/ajcn/83.6.1505S.

Cartier, L. & Krzemnicki, M. (2013). New developments in cultured pearl production: use of organic and baroque shell nuclei. The Australian Gemmologist. Volumen 25, N°1: 6-13.

Coan, E. & Valentich-Scott, P. (2012). Bivalve Seashells of Tropical West America. Marine Bivalve Mollusks from Baja California to Northern Peru. Santa Barbara Museum of Natural History, Monographs Number 6 Studies in Biodiversity Number 4. 1223 pp.

Coutteau, P., & Sorgeloos, P. (1992). The use of algal substitutes and the requirement for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs: an international survey. *J. Shellfish Research* ll(2), 467-476. http://hdl.handle.net/1854/LU-240467.

Dhakar, R., Maurya, S., Pooniya, B., Bairwa, N. & Sanwarmal,M. (2011). Moringa: the herbal gold to combat malnutrition. Chron. Young Scient., 2(3), 119-125. DOI:10.4103/2229-5186.90887.

Dalsgaard, J., St. John, G. Kattner, Müller-Navarra, D. & Hagen, W. (2003). Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment. *Advances in Marine Biology*, Academic. Press. 46, 225-340.

Derrien, A., Coinffard, L., Coinffard, C.& De Roeck- Holtzhauer, Y. (1998). Free amino acid analysis of five microalgae. *Journal of Applied Phycology* 10, 131–134 https://doi.org/10.1023/A:1008003016458

Díaz, A. & Bückle Ramírez, L. (1996). Ciclo gonádico de *Pteria sterna* (Gould, 1851) (Mollusca, Bivalvia) en Baja California, México. *Ciencias Marinas*, 22(4), 495–509. https://doi.org/10.7773/cm.v22i4.868

Espinoza, J. (2014). Uso de alimento microencapsulado en la etapa larvaria de especies cultivadas. Retrieved from: Universidad de Ciencias y artes de Chiapas. Instituto de Ciencias Biológicas.

FAOa (2020). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020*. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible. Roma. Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

FAOb [2020]. Estadisticas de pesca y acuicultura. Produccion mundial por origen de produccion 1950-2017 (FishstatJ). In: FAO Departamento de Pesca y Acuicultura [en linea]. Roma. Actualizacion 2020. (www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/es).

FAOc (2020). *Cultivos tradicionales Moringa*. Recuperado desde: http://www.fao.org/traditional-crops/moringa/es/

Fahey J. (2005) *Moringa oleifera*: a review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. Part I. *Trees Life J*., 1-5. DOI:10.1201/9781420039078.ch12.

Farías, A. (2008). Nutrición y alimentación en moluscos bivalvos. En A. Lovatelli, A. Farias e I. Uriarte (Eds). Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. Taller Técnico Regional de la FAO. 20-24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile (297–308 pp.). Actas de Pesca y Acuicultura. No. 12. Roma, Italia: FAO.

Freites, L., Jara, F., Gregori M., Marquez, A., Saucedo, P., Lodeiros C. (2020). Performance of the winged pearl oyster Pteria sterna (GOULD, 1851), implanted for half-pearl (mabé) production in two size groups. *Aquaculture* 524: 735267. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735267

Gabbott, P. (1975). Storage cycles in marine bivalve molluscs: a hypothesis concerning the relationship between glycogen metabolism and gametogenesis. In: Barnes, H.(Ed.), Proc. 9th Eur. Mar. Biol. Symp. Aberdeen Univ. Press, Scotland, pp. 191–211.

Gervis, M., & Sims, N. (1992). The biology and culture of pearl oyster (Bivalvia:Pteriidae) ICLARM Stud. Rev. 21, 49 pp.

Gómez, C. (2013). "Estudio de tres biomarcadores para describir el estado de salud de la población de *Pteria sterna* (Gould, 1851) en condiciones de cultivo en la bahía de La paz, Baja california Sur, México". Universidad Autónoma de Baja California Sur. Tesis de Maestría. La Paz, Baja California, México. 57 pp.

Gómez-Robles, E., Mazón-Suástegui, J., Acosta-Salmón, H., Hawkyns-Martínez, M., & Saucedo, P. (2013). Internal nutrient management associated with gonad quality and successful reproduction in the winged pearl *Pteria sterna*. *Aquaculture*, 412-413: 45-51.

Gopalakrishnan, L., Doriya, K., & Santosh Kumar, D. (2016). *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. *Food Science and Human Wellness* 5, 49–56. DOI: 10.1016/j.fshw.2016.04.001

Guerra-Lima, Z.(2008). Adaptación Tecnológica para el cultivo de la ostra Crassotrea gigas (Thunberg, 1873) en la Finca camaronera Los Azules, Provincia de Coclé, Panamá. Autoridad de los Recursos Acuáticos de Panamá. Dirección Nacional de Investigación y Desarrollo. Estación de Maricultura del Pacífico. Centro de Investigaciones del Noroeste de México. Farallon Aquaculture S.A. 20pp

Guzmán- Maldonado S., Zamarripa-Colmenares, A., & Hernández-Durán, L. (2015). Nutraceutical and nutritional quality of moringa leaf from trees of different height. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6(2), 15.

Hawkyns-Martínez, M., Saucedo, P. E., Carreón-Palau, L., Gómez-Robles, E. & Acosta-Salmón, H. (2014). Accumulation of docosapolyenoic fatty acids in developing oocytes of the winged pearl oyster *Pteria sterna*. *Aquaculture*, 432, 74-79.

Helm, M.M, Bourne, N, & Lovatelli, A. (2006) *Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual practico*. FAO Documento Técnico de Pesca. No. 471. Roma, FAO. 2006. 182 pp.

Hernández, L. (2003). Ciclo reproductivo de la ostra perlera *Pteria sterna* (Gould, 1851) (MOLLUSCA: PTERIIDAE) en laguna ojo de liebre, B.C.S., México. IPN-CICIMAR. Tesis para optar a titulo de maestro en ciencias. La Paz, B.C.S. México. 80pp.

Holland, D. (1978). Lipid reserves and energy metabolism in the larvae of benthic marine invertebrates. *Biochem. Biophys.Perspect. Mar. Biol*., 4, 85-123.

Hoyos-Chairez, F., Aragón-Noriega, E. & Chávez-Villalba, J. (2020). Modelling early growth of the pearl oyster Pteria sterna under pilot-commercial production. Aquaculture Research. 51(12), 5106-5117. DOI: 10.1111/are.14849

.Lodeiros, C. (2013). *Los Recursos Marinos, a donde van? La acuicultura parte de la solucion.* XIII Expociencia y Expotecnologia Colombia, ACAC, Bogota, Colombia.

Lodeiros, C., Freites, L., Márquez, A., Glem, M., Guevara, M. & Saucedo P. (2016). Comparative growth and survival of spat of the caribbean pearl oyster, *Pinctada imbricata*, cultivated indoor with microalgae diets and outdoor with natural diets. *Aquaculture Nutrition*, 23(3), 511-522. Doi: 10.1111/anu.12419.

Lodeiros, C., Rodríguez-Pesantes, D., Márquez, A., Revilla, J., Freites, L., Lodeiros-Chacón, C. & Sonnenholzner, S. (2018). Growth and survival of the winged pearl oyster *Pteria sterna* (Gould, 1851) in suspended culture in the tropical Eastern Pacific: Influence of environmental factors. *Aquaculture Research*, 49(2), 832-838. DOI: 10.1111/are.13514

Lodeiros, C., Lovatelli, A., coords. (2019). *Producción de semillas de la ostra perla Pinctada imbricata. Un manual práctico.*FAO Documento técnico de pesca y acuicultura. No. 636. Roma, FAO. 88 pp.

Loor, A., Ortega, D., Lodeiros, C., & Sonnenholzner, S. (2016). Early life cycle and effects of microalgal diets on larval development of the spiny rock-scallop, *Spondylus limbatus* (Sowerby II, 1847). *Aquaculture*, 450, 328-334.

Lovatelli, A., Farías, A. & Uriarte I. (2008). *Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyeccion futura: factores que afectan su sustentabilidad en America Latina*. Taller Tecnico Regional de la FAO. 20-24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. FAO Actas de Pesca y Acuicultura. No. 12. Roma, FAO. 359 pp. http://www.fao.org/3/i0444s/i0444s01.pdf.

Maeda-Martinez, A., Saucedo, P., Mazón-Suástegui, J., Acosta-Salmon, H., & Romero-Melendez, Z. (2016). Scope for growth of juvenile Cortez oyster, *Crassostrea corteziensis* fed isocaloric diets prepared with microalgae and cereal flours. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44(4), 845-849.

Makkar, H. P. S., & Becker, K. (1996). Nutrional value and whole and ethanol antinutritional components of extracted *Moringa oleifera* leaves. *Animal Feed Sci Technol*. 63, 211-228. DOI: 10.1016/S0377-8401(96)01023-1.

Marquez, A., Lodeiros, C., Semidey, D., Carpio, M., & Graziani, C. (2011). Crecimiento y supervivencia de la ostra perlífera *Pinctada imbricata* (Röding 1798), bajo diferentes sistemas de confinamiento en cultivo suspendido. *Zootecnia Trop*., 29(3), 337-351.

Martínez-Fernández E., Acosta-Salmón H., & Rangel-Dávalos C. (2004). Ingestion and digestion of 10 species of microalgae by winged pearl oyster *Pteria sterna* (Gould, 1851) larvae. *Aquaculture*, 230, 417-423.

Martínez-Fernández, E., Acosta-Salmón, H. and Southgate P. (2006). The nutritional value of seven species of tropical microalgae for black-lip pearl oyster (*Pinctada margaritifera*, L.) larvae. *Aquaculture,* 257, 491–503.

Martínez A., and Martínez V. (2006). Proteínas y péptidos en nutrición enteral. *Nutr Hosp*, 21, 1-14.

Mazón-Suástegui, J. (1988). Acondicionamiento y desove de cuatro especies de moluscos bivalvos, alimentados con dietas artificiales. Revista Latinoamericana de acuicultura. Lima, Perú, ISSN-0250-2135, N°38: 4-13.

Mazón-Suástegui, J. & Avilés M. (1988). Ensayo preliminar sobre la alimentación de bivalvos juveniles con dietas artificales. Revista Latinoamericana de acuicultura. ISSN-0250-2135, N°36: 56-61.

Mazón-Suástegui, J.M. (2005). "Biología y cultivo de la almeja catarina *Argopecten ventricosus* (Sowerby II, 1842)". Tesis Doctoral. Universitat de Barcelona. Barcelona, España. 217 pp.

Mazón-Suástegui, J., Ruiz-Ruiz, K., Parrales-Haro, A., & Saucedo, P. (2008). Combined effects of diet and stocking density on growth and biochemical composition of spat of the Cortez oyster *Crassostrea corteziensis* at the hatchery. *Aquaculture,* 284, 98–105.

Mazón- Suástegui JM, Leyva-Miranda GA, Arrieche-Galíndez D, Lodeiros-Seijo C, & López- Carvallo, J.A. (2019). Influence of hatchery rich-carbohydrate diet on the oyster *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951). *Aquac. Res*., 50(10), 3078-3081. https ://doi.org/10.1111/are.14263

Mbikay, M. (2012). Therapeutic Potential of *Moringa oleifera* Leaves in Chronic Hyperglycemia and Dyslipidemia: A Review. *Frontiers in Pharmacology*. 3, 1-12. DOI: 10.3389/fphar.2012.00024

Mercer, J., K. Mai & Donlon, J. (1993). Comparative studies on the nutrition of two species of abalone *Haliotis tuberculata* L and *Haliotis discus hannai* Ino. Effects of algal diets on growth and biochemical composition. *Invertebrate Reproduction and Development*, 23, (2-3) 75-88.

Monteforte, M., & Garcia-Gasca, A. (1994).Spat collection studies on pearl oysters *Pinctada mazatlanica* and *Pteria sterna* (Bivalvia, Pteriidae) in Bahia de La Paz, South Baja California, Mexico. *Hydrobiologia*, 291, 21–34. https://doi.org/10.1007/BF00024236

Monteforte, M., Kappelman-Piña, E. & López-Espinoza, B. (1995). Spatfall of Pearl oysters *Pinctada mazatlanica* and *Pteria sterna* (Bivalvia:Pteridae) in Bahia de La Paz, South Baja California, Mexico. Aquac. Res. 26, 497-511

Monteforte, M. (2005). Ecología, biología y cultivo extensivo de la madreperla de calafia, *Pinctada mazatlanica* (Hanley 1856), y la concha nácar arcoíris *Pteria sterna* (Gould 1852) en Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. Retrieved from Tesis para optar el grado de Doctor en Ciencias Biológicas. Universidad de La Habana. Cuba.

Morse, D., Hooker, N., Duncan, H. & Jensen, L. (1979). γ-Aminobutyric Acid, a Neurotransmitter, Induces Planktonic Abalone Larvae to Settle and Begin Metamorphosis. Science 204(4391), 407-410. DOI: 10.1126/science.204.4391.407-410.

Moyo, B., Masika, P., Hugo, A., & Muchenje, V. (2011). Nutritional characterization of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *African Journal of Biotechnology,* 10(60), 12925-12933. DOI:10.5897/ajb10.1599

Oyeyinka, A., Oyeyinka, S. (2018). *Moringa oleifera* as a food fortificant: Recent trends and prospects. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 17, 127–136. DOI: 10.1016/j.jssas.2016.02.002

Reeds, P. J. (2000). Dispensable and Indispensable Amino Acids for Humans. *The Journal of Nutrition*, 130(7), 1835S–1840S. doi:10.1093/jn/130.7.1835s

Richter, N., Siddhuraju, P. y Becker, K. (2003). Evaluation of nutritional quality of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves as alternative protein source for tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture*, 217, 599-61. DOI:10.1016/S0044-8486(02)00497-0

Rivas-Vega M., López-Pereira J., Miranda-Baeza A & Sandoval-Muy M. (2012). Sustitución parcial de harina de sardina con *Moringa oleifera* en alimentos balanceados para juveniles de tilapia (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*) cultivada en agua de mar. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, 145(2), 3-10. DOI:10.18633/bt.v14i2.117

Saucedo PE, Acosta-Salmón H, McLaurin-Moreno D, Castillo-Domínguez A, Melgar-Valdés CE, Mazón-Suástegui J. (2021). Freshwater pearl culture in Mexico: Historic context, present status, and future perspectives. Reviews in Aquaculture. Article ID RAQ12527. Article DOI: 10.1111/raq.12527. Internal Article ID: 16970873.

Sánchez-Machado, D. I., Núñez-Gastélum, J. A., Reyes-Moreno, C., Ramírez-Wong, B. & López-Cervantes, J. (2010). Nutritional quality of edible parts of *Moringa oleifera*. *Food Analytical Methods*, 3(3), 175–180. DOI:10.1007/s12161-009-9106-z.

Serhan, C., & Chiang, N. (2008). Endogenous pro-resolving and anti-inflammatory lipid mediators: a new pharmacologic genus. *Br J Pharmacol*, 153(Suppl 1), S200-15.

Serna-Gallo, I., Ruiz-Velasco, J., Acosta-Salmón, H., Peña-Messina, E., Torres-Cepeda, G., & Saucedo, P. (2014). Growth and reproduction patterns of the winged pearl oyster, Pteria sterna, cultivated in tropical environments of Mexico: Implications for pearl farming. Ciencias Marinas, 40(2): 75–88. http://dx.doi.org/10.7773/cm.v40i2.2393

Smaaly, A., Ferrerira J., Grants J., Petersen J., & Strand, Ø. (2019). Goods and Services of Marine Bivalves. *Springer Open*. Switzerland AG. 598pp. https://doi.org/10.1007/978-3-319-96776-9

Southgate P., Beer, A., & Ngaluafe, P. (2016). Hatchery culture of the winged pearl oyster, *Pteria penguin*, without living micro-algae. *Aquaculture,* 451, 121–124.

SRO, (2020). Ley Orgánica para el Desarrollo de la Acuicultura y Pesca. Asamblea Nacional, Republica del Ecuador. Suplemento Registro Oficial N°187, 21 abril 2020.90 pp.

Treviño, L., & Vélez-Falcones, J. (2019). Effects of stocking density in the grow-out cultured of winged pearl oyster *Pteria sterna* (Gould, 1851). *Aquaculture Research*, 50, 964–967. DOI: 10.1111/are.13859

Valero, A., & Caballero, Y. (2003). *Guía Práctica para el cultivo de bivalvos marinos del Caribe Colombiano. Madreperla, concha alada, concha de nacar y ostiones*. Bogota. Cargraphics, 48p.

Vite-García, N.,& Saucedo P. (2008). Energy storage and allocation during reproduction of pacific winged pearl oyster *Pteria sterna* at Bahía de la Paz, Baja California Sur, *Mexico. Journal of Shellfish Research*, 27(2), 375-383.

Wanten, G. & Calder, P. (2007). Immune modulation by parenteral lipid emulsions. *Am J Clin Nutr*; 85, 1171-1184

Thompson, P., Guo, M., & Harrison, P. (1993). The influence of irradiance on the biochemical composition of three phytoplankton species and their nutritional value for larvae of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Mar. Biol*., 117, 259–268.

Wrigth, J. (2020). La influencia de la pandemia de coronavirus en las prioridades de la acuacultura. Global Aquaculture Advocate. (https://www.aquaculturealliance.org)

https://www.aquaculturealliance.org/advocate/la-influencia-de-la-pandemia-de-coronavirus-en-las-prioridades-de-la-acuacultura/?he…

9 ANEXOS

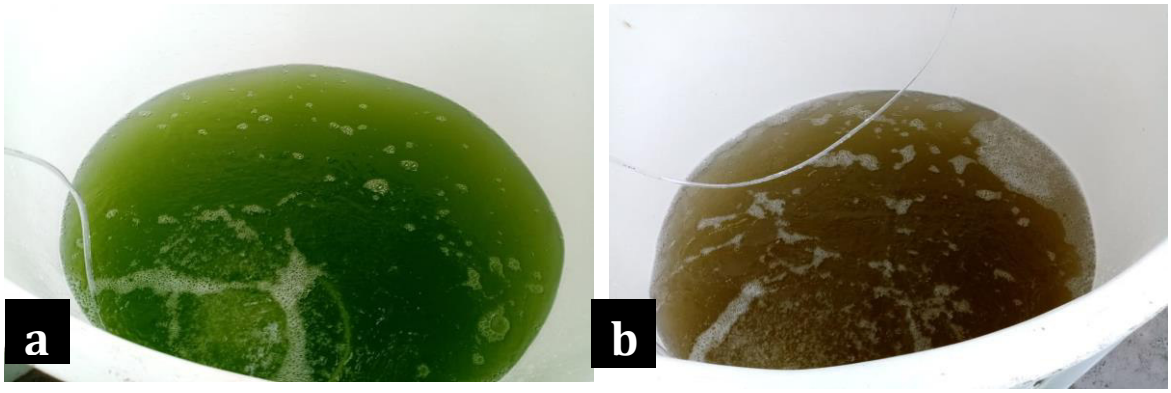

Figura 22.-Cultivo de microalgas masivos de las cepas *Tetraselmis suecica* (a) y *Chaetoceros gracilis* (b), utilizadas en la dieta 1.

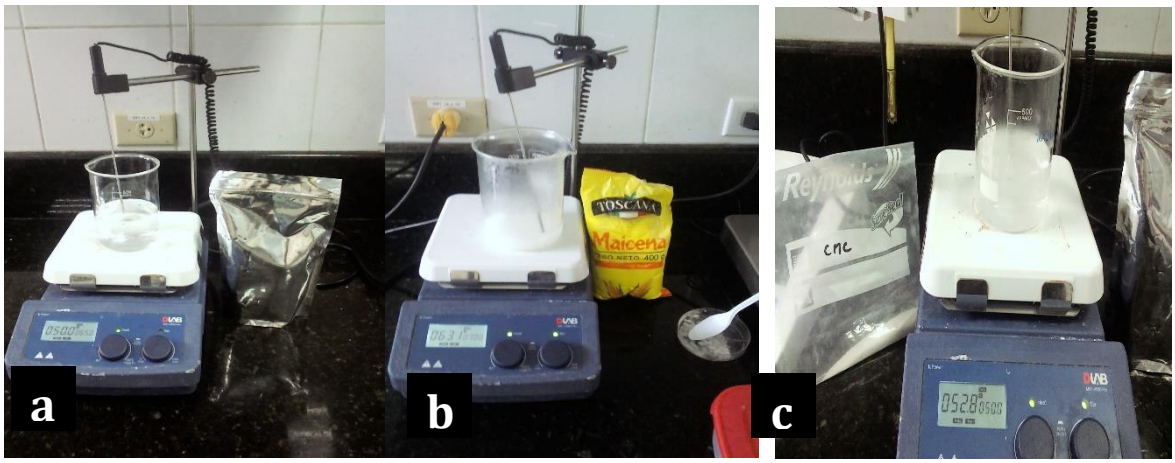

Figura 23.-Preparación de emulsiones en plancha térmica de *Moringa oleifera* (a), Fécula de maíz (b) y mezcla de moringa y carboximetilcelulosa (c)

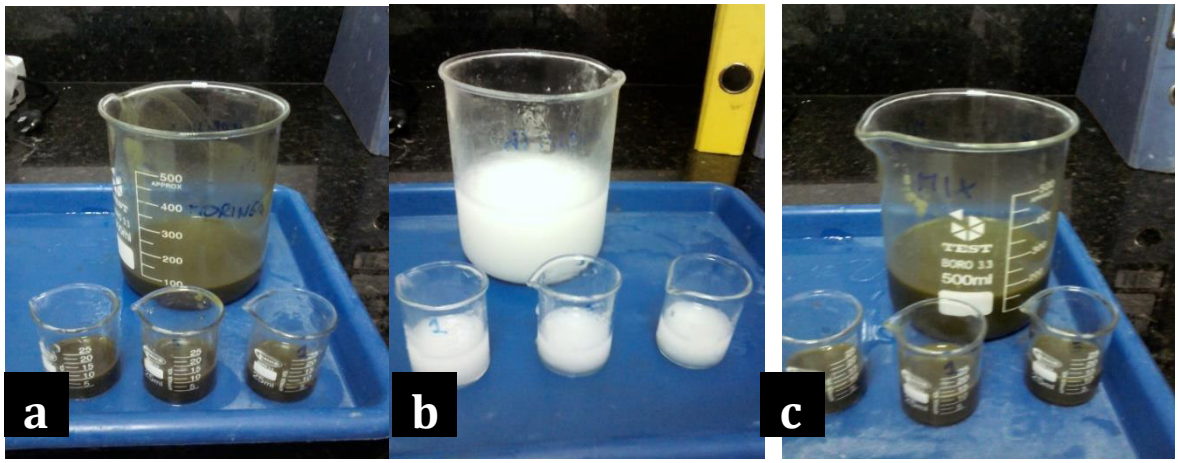

Figura 24.-Emulsiones listas de *Moringa oleifera* (a), Fécula de maíz (b) y Mezcla de moringa y fécula de maíz (c), para alimentación en las distintas dietas.

Figura 25.-Proceso de alimentación en el sistema de cultivo experimental en ambiente controlado.

Figura 26.-Proceso de limpieza de estanques de los tratamientos en el sistema de cultivo experimental en ambiente controlado.

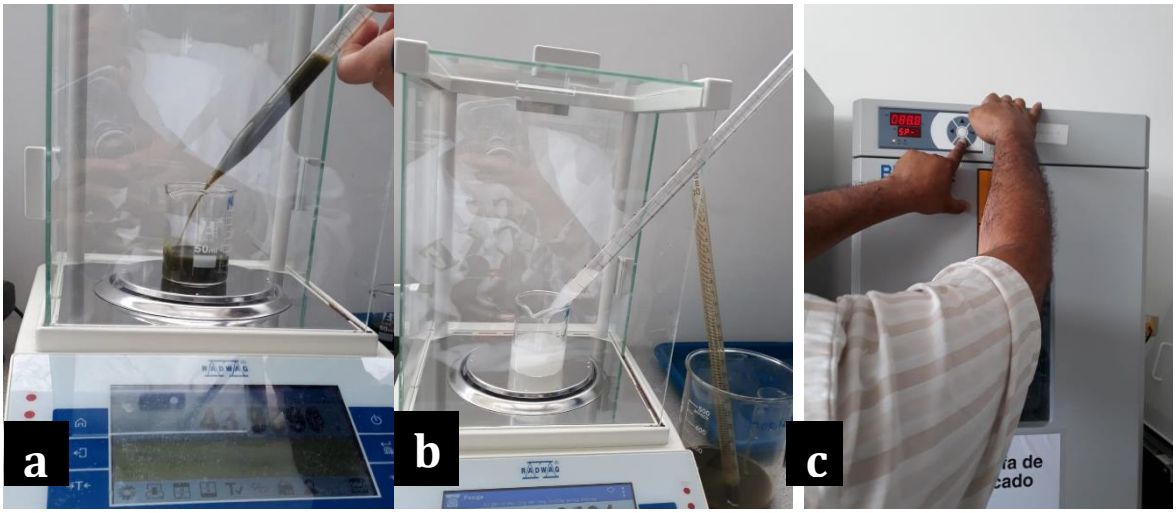

Figura 27.-Pesaje en balanza analítica de emulsiones de *Moringa oleifera* (a), Fécula de maíz (b) Ingreso muestras a estufa para obtener peso masa seca (c).

Figura 28.- Juveniles de *Pteria sterna* en proceso de medición y biometría en laboratorio

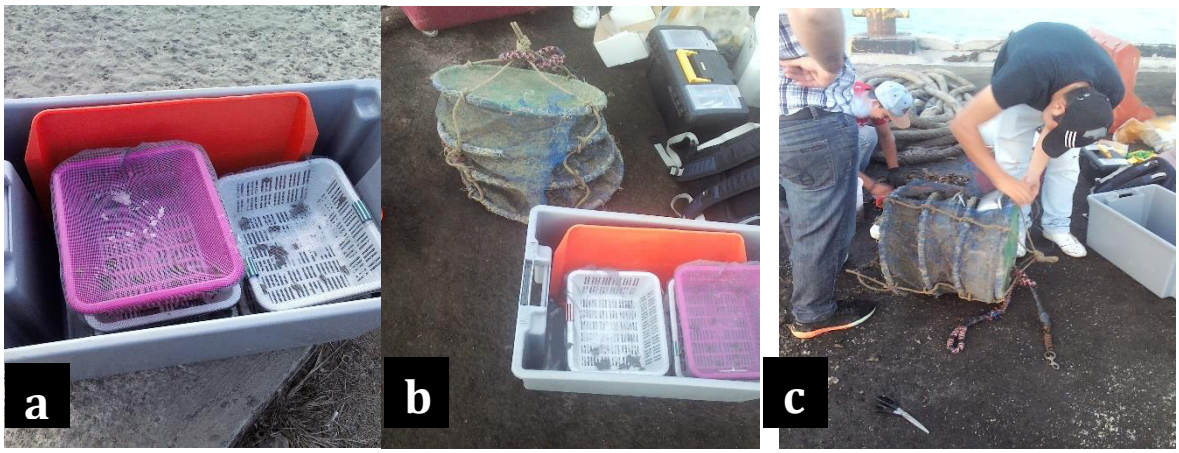

Figura 29.-Siembra de semillas (30 días) en canastas individuales (a), preparación de linterna siembra (b), cierre de linterna y posicionamiento de termógrafo (c)

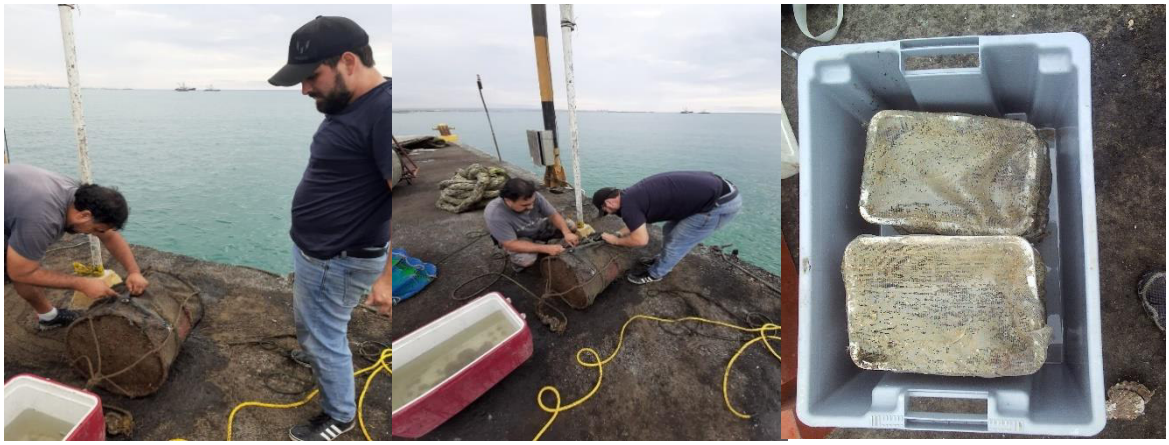

Figura 30.-Cosecha de juveniles (80 días) en canastas individuales (a), preparación de linterna siembra (b), cierre de linterna y posicionamiento de termógrafo (c)

Carta de aceptación de artículo científico en Revista La Técnica

La técnica

REVISTA DE LAS AGROCIENCIAS
ISSN 2477-8982
latecnica@utm.edu.ec

Portoviejo, 26 de abril de 2021

Asunto: Carta de aceptación de artículo.

Ciudadano (a):

César Estay-Moyano

Edgar Zapata Vivenes

José Manuel Mazón-Suastegui

Jesús Sismal-Gándara

César Lodeiros Seijo

Presente. -

Cumplo con informarles que el artículo científico intitulado: "Análisis del perfil lipídico y aminoacídico de hojas deshidratadas de Moringa oleifera (L.) y su potencial como suplemento dietético en acuicultura de moluscos", del cual Ud. es autor, ha sido aceptado para su publicación en la Revista La Técnica: Revista de las Agrociencias, Universidad Técnica de Manabí en su Volumen Especial, año 2021. La Revista La Técnica: Revista de las Agrociencias de la Universidad Técnica de Manabí publicará el contenido del mencionado artículo tal cual como fue aprobado en su versión definitiva, por lo que no se aceptarán cambios de fondo ni de redacción en la versión de galeras ni de publicación de su artículo. El Comité Editorial se reserva el derecho de ajustar el artículo para mantener la uniformidad en el estilo de la Revista.

Sin más a que hacer referencia, se suscribe,

Atentamente,

CARLOS ALFREDO
CEDEÑO PALACIOS

Ing. Carlos Alfredo Cedeño Palacios, Ph D

Editor General

Revista La técnica: Revista de las Agrociencias

Certificación de presentación de tema de tesis en Congreso Nacional

La Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí confiere el presente:

CERTIFICADO

A: **CÉSAR ESTAY MOYANO**

Por haber participado en calidad de **PONENTE** en el **II Congreso de Ciencias del Mar y "V Jornadas de Acuicultura, Pesquerías y Ambiente**", con el trabajo titulado "Evaluación de la Moringa *Moringa oleifera* Lam. como aditivo dietético para el cultivo de semillas de ostra perlera *Pteria sterna* (Gould, 1851) en ambiente controlado.", de los autores Estay Moyano C., Zapata Vívenes E., Mazón Suastegui J., Lodeiros C., realizado del 16 al 20 de noviembre del 2020 de manera virtual.

Manta, Ecuador, noviembre del 2020

Blgo. Jaime Sanchez Moreira, Mg.
Decano de la Facultad de Ciencias del Mar

FACULTAD CIENCIAS DEL MAR ULEAM

Ing. Carmen Mendoza Macias
Secretaria de la Facultad de Ciencias del Mar

Articulo aceptado en la revista La Técnica

La Técnica
REVISTA DE LAS AGROCIENCIAS e-ISSN: 2477-8982

Análisis del perfil lipídico y aminoacídico de hojas deshidratadas de *Moringa oleifera* (L.) y su potencial como suplemento dietético en acuicultura de moluscos

Analyses of the lipid and amino acid profiles of dehydrated leaves of *Moringa oleifera* (L.) and its potential use as a dietary supplement in aquaculture of mollusks

Autores: **César Estay-Moyano**[1,2]
José Manuel Mazón-Suástegui[3]
Edgar Zapata Vivenes[6]
Jesús Simal-Gandara[4]
César Lodeiros Seijo[5]

Dirección para correspondencia: cestaym@gmail.com

Recibido:

Resumen

[1] Maestría de investigación en acuicultura, Instituto de Posgrado, Universidad Técnica de Manabí
[2] Instituto Superior Tecnológico Luís Arboleda Martínez, Carrera Tecnología Superior en Acuicultura, Secretaria de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación. Ext. Jaramijó 132150, Manabí, Ecuador.
[3] Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. Av. I. P. N. No. 195, Colonia Playa Palo de Santa Rita Sur. 23096 La Paz, Baja California Sur, México.
[4] Nutrition and Bromatology Group, Analytical and Food Chemistry Department, Faculty of Food Science and Technology, University of Vigo, Ourense Campus, E32400 Ourense, Spain.
[5] Grupo de Investigación en Biología y Cultivo de Moluscos, Departamento de Acuicultura Pesca y Recursos Naturales Renovables, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Técnica de Manabí, Sede Sucre, Bahía de Caráquez, Manabí, Ecuador
[6] Grupo de Investigación, Biología y Cultivo de Equinodermos, Departamento de Acuicultura, Pesca y Recursos Naturales Renovables, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Técnica de Manabí Bahía de Caráquez, Manabí, Ecuador

La moringa (*Moringa oleifera* L.) es una especie arbórea originaria de la India, adaptable a diversos climas. Esta especie otorga beneficios para la salud humana por ser fuente de vitaminas, minerales y ácidos grasos polinsaturados, aunque su uso acuícola es escaso. En esta investigación se analizó el perfil lipídico y aminoacídico de harina de hojas deshidratadas de moringa, como un insumo viable y de calidad para la acuicultura de moluscos. Los resultados revelaron en el perfil lipídico la presencia de ácido α-linolénico 13,9 mg/g (ω-3) de la materia seca y también en menor grado, ácido linoléico con 3,13 mg/g (ω-6); el ácido α- linolénico es precursor en vía metabólica del ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) con funciones biorreguladoras y el ácido linoléico cumple funciones estructurales en las membranas celulares, siendo considerados insumos esenciales para la nutrición inicial en moluscos. El contenido proteico analizado fue de 29,5% con un total de 17 aminoácidos, de los cuales 9 son esenciales, destacándose entre ellos alanina (13,1%), no esencial y leucina (7,9%) esencial, generando un alimento de alta calidad proteica. Debido a estas cualidades encontradas en la harina de hojas deshidratadas de *M. oleifera*, se sugiere que esta harina podría utilizarse como potencial fitonutriente de alta calidad y suplemento en alimentación de moluscos.

Palabras clave: *Moringa oleifera*; fitonutriente; suplemento vegetal; calidad nutricional; perfil lipídico.

Abstract

Moringa (*Moringa oleifera* L.) is an arboreal species native to India, adaptable to various climates. This species provides benefits for human health as it is a source of vitamins, minerals and polyunsaturated fatty acids, although its use in aquaculture is scarce. In this research, the lipid and amino acid profiles of dehydrated moringa leaf meal was analyzed as a viable and quality input for mollusks aquaculture. The results revealed in the lipid profile the presence of α-linolenic acid 13.9 mg/g (ω-3) of the dry matter and also to a lesser degree, linoleic acid with 3.13 mg/g (ω-6). The α-linolenic acid is a precursor in the metabolic pathway of eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) with bioregulatory functions and linoleic acid fulfills structural functions in cell membranes, being considered essential inputs for initial nutrition in mollusks. The protein content analyzed was 29,5% with a total of 17 amino acids, of which 9 are essential, standing out among them alanine (13,1%), non-essential and leucine (7,9%) essential, generating a food high quality protein. Due to these qualities found in the dehydrated leaf meal of *M. oleifera*, it is suggested that this meal could be used as a potential high-quality phytonutrient and supplements in mollusks feeding.

Keywords: *Moringa oleifera*; phytonutrient; plant supplement; nutritional quality; lipidic profile.

Introducción

La producción acuícola de moluscos a nivel mundial se sustenta principalmente de juveniles o semillas generadas en laboratorios o *hatcheries*. El principal alimento utilizado en *hatchery* de moluscos son microalgas cultivadas, las cuales son soporte principal de nutrición para larvas y semillas (Coutteau y Sorgeloos, 1992). Sin embargo, las microalgas cultivadas pueden presentar fluctuaciones debido a problemas de mantenimiento, contaminación, costos y estacionalidad en las producciones, pudiendo disminuir su calidad.

En busca de nuevas fuentes nutricionales que permitan suplementar la dieta natural en moluscos, surgen algunas alternativas como el uso de plantas con propiedades nutritivas beneficiosas, particularmente *Moringa oleífera.* Esta especie arbórea es procedente de Asia meridional y también es cultivada extensamente en los trópicos (Olson y Fahey, 2011; FAO, 2020). En Ecuador, *M. oleifera* ha sido introducida y adaptado su cultivo, generándose un ecotipo propio.

De la moringa son usadas sus hojas, raíces, semillas y flores, las cuales se pueden utilizar frescas, secas y pulverizadas como una fuente alimenticia, principalmente para combatir la malnutrición infantil, así como ser utilizada con propósitos medicinales e industriales (Fahey, 2005; Moyo, et al., 2011; Mbikay, 2012; Gopalakrishnan et al., 2016; Oyeyinka y Oyeyinka, 2018; FAO, 2020); sin embargo, el uso de este fitonutriente se ha evaluado escasamente en acuicultura. Existen algunas investigaciones nutricionales en crecimiento de tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) en base a una dieta de moringa como proteína vegetal de reemplazo. En estos ensayos se determinó que es recomendable su inclusión hasta en un 10% para no afectar el balance nutricional en la dieta (Richter et al., 2003), aunque en otro estudio muestra que con una sustitución del 20% de la dieta se logra una digestibilidad de un 89% en híbridos entre *Oreochromis mossambicus* y *O. niloticus* (Rivas-Vega, et al., 2012).

La concentración de aminoácidos juega un papel fundamental en el crecimiento y desarrollo de larvas y juveniles de moluscos bivalvos. La mayoría de las microalgas presentan todos los aminoácidos y además un contenido significativo de ácidos grasos de las familias ω-6 y ω-3, los cuales pueden fluctuar en función de la especie analizada y la productividad por el ambiente del cultivo vegetal (Cerón, 2013); sin embargo, uno de los problemas es la disponibilidad de esta proteína presente en las microalgas, la cual depende de la estabilidad de su cultivo (Farías, 2008). Para poder suplir esta necesidad de calidad nutricional permanente en los *hatcheries* de moluscos bivalvos, se han investigado una serie de alternativas como algas secas, pastas de algas, levaduras, microencapsulados, entre otros (Coutteau y Sorgeloos, 1992).

En esta investigación se evaluó la calidad nutricional de la harina de hojas deshidratadas de *M. oleifera*, de acuerdo a su perfil de ácidos grasos y aminoácidos, para ser propuesto como posible suplemento nutricional vegetal en dietas de moluscos.

Metodología

Se evaluó la harina de hojas deshidratadas de *Moringa oleifera*. La harina es de producción ecuatoriana (ecotipo nacional) y fue conseguida con un proveedor en la provincia del Guayas, Ecuador. La harina se obtuvo en presentación DOY PACK de 200 g, envase metalizado para alimentos con sello superior, permitiendo un óptimo mantenimiento y duración. Las muestras fueron extraídas con una espátula de acero inoxidable y se pesaron utilizando una balanza analítica (precisión de 0,001g) y se distribuyó 1 g de producto en envases herméticos. Para el análisis del perfil lipídico y aminoacídico las muestras de harina fueron evaluadas por triplicado, procedentes de 3 paquetes comerciales.

Ácidos grasos

La composición de ácidos grasos se determinó mediante la metodología previamente descrita por Barros et al. (2013) utilizándose un cromatógrafo de gases marca AGILENT 7820A acoplado a un detector de ionización de llama (GC-FID, DANI modelo GC 1000,

Contone, Suiza). Las muestras fueron previamente sometidas a extracción sólido-líquido, metilación de sus ácidos grasos y filtración. Posteriormente se identificaron los ácidos grasos comparando los tiempos de retención relativos de los picos de FAME de las muestras con estándares comerciales.

Aminoacídico y proteínas totales

El análisis aminoacídico fue realizado mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en equipo Waters 2695 Alliance, utilizándose digestión ácida y tratamiento posterior para determinar los aminoácidos. Se detectó su contenido proteico mediante método Dumas código 990.03 de la Asociación de Colaboración Analítica Oficial (AOAC, 2005).

Los análisis de perfil lipídico, aminoacídico se realizaron en el servicio de seguridad alimentaria y desarrollo sostenible del Centro de Apoyo Científico-Tecnológico de Investigación (CACTI) de la Universidad de Vigo, España.

Resultados

El análisis específico del perfil lipídico de *Moringa oleífera* muestra la presencia de ácido α-linolénico 13,9 mg/g de la materia seca, correspondiente a un 33,6 ± 4,79%; ácido palmítico con 9,33 mg/g correspondiente a 22,55 ± 1,35%, también en menor grado, ácido linoléico con 3,13 mg/g correspondiente a 7,57 ± 0,69% y ácido esteárico con 3 mg/g, el cual corresponde a 7,25% (Tabla 1).

Tabla 1. Perfil de ácidos grasos de polvo de hojas de *Moringa oleifera,* expresado en mg/g. de la materia seca y su porcentaje

Nomenclatura	Ácido graso	Promedio (mg/g)	I.C. (mg/g)	Promedio (%)	IC. (%)
C18:3 n3	Ácido α Linolénico	13,9	1,98	33,60	4,79
C16:0	Ácido Palmítico	9,33	0,56	22,55	1,35
C18:2 cis	Ácido Linoléico	3,13	0,28	7,57	0,69
C18:0	Ácido Esteárico	3,0	0	7,25	0
C24:0	Ácido Lignocérico	1,57	0,07	3,80	0,16
C14:0	Ácido Mirístico	1,53	0,07	3,71	0,16
C18:1 cis	Ácido Oleico	1,53	0,17	3,71	0,42
C13:0	Ácido Tridecanoico	0,97	0,07	2,34	0,16
C22:0	Ácido Behenico	0,93	0,13	2,26	0,32
C16:1	Ácido Palmitoleico	0,83	0,07	2,01	0,16
C20:3 n6	cis-8,11,14- ácido Eicosatrienoico	0,77	0,21	1,85	0,57
C20:0	Ácido Araquídico	0,73	0,13	1,77	0,32
C12:0	Ácido Láurico	0,63	0,13	1,53	0,32
C6:0	Ácido Hexanoico	0,5	0	1,21	0
C17:0	Ácido Heptadecanoico	0,5	0	1,21	0
C23:0	Ácido Tricosanoico	0,5	0	1,21	0
C15:0	Ácido Pentadecanoico	0,37	0,07	0,89	0,16
C20:4	cis-5,8,11,14- Ácido Eicosatetraenoico	0,35	0,08	0,85	0,19
C14:1	Ácido Miristoleico	0,3	0	0,73	0

Nota: cis = ácido graso insaturado que posee sustituyentes en el mismo lado de un doble enlace. IC = intervalo de confianza a 95 %.

El porcentaje de proteínas de la harina de hojas de *M. oleifera* fue de un 29,51 ± 0,21%, con un perfil compuesto por 17 aminoácidos, 9 de los cuales son esenciales, entre éstos, la leucina presentó el mayor porcentaje (7,9 ± 0,2%) y treonina, arginina, lisina, fenilalanina, valina con valores entre 3-5% y el resto tirosina, histidina y metionina con valores ≤ 3% (Tabla 2).

Tabla 2. Análisis cromatográfico del perfil de aminoácidos de harina de hojas deshidratadas de *Moringa oleifera*, expresado en porcentaje (%) del peso molecular

Aminoácido	Cantidad (Promedio %)	IC (%)
Alanina	13,1	1,28
Glicina	11	0,6
Ácido Glutámico	10,17	0,47
Ácido Aspártico	9,33	0,35
Leucina *	7,9	0,2
Serina	6,43	0,07
Cisteína	5,93	0,52
Prolina	5,2	0,11
Treonina *	4,93	0,13
Arginina	4,8	0,23
Lisina *	4,43	0,13
Fenilalanina *	4,33	0,36
Valina *	3,9	0,23
Isoleucina *	2,9	0,11
Tirosina *	2,83	0,26
Histidina *	1,63	0,07
Metionina *	1,17	0,13

*aminoácidos esenciales. % = porcentaje peso molecular y IC = intervalo de confianza a 95%

Discusión

El análisis realizado en harina de hojas de *Moringa oleifera* reveló concentraciones significativas de ácido α-linolénico (33,6%), ácido palmítico (22,55%) y ácido linoléico (7,57%). La presencia en gran proporción del ácido α-linolénico es relevante ya que es un precursor que a través de rutas enzimáticas de desaturasas y elongasas pueden derivar en ácidos grasos polinsaturados (PUFA) de cadenas largas (ω-3) como ácido eicosapentanoico (EPA) y ácido docosahexanoico (DHA) que son importantes biorreguladores en varios procesos celulares (Khotimchenko, 2005; Calder, 2006; Wanten y Calder, 2007). Por otra parte, el ácido linoléico podría ser muy importante por su incorporación estructural a los fosfolípidos de las membranas celulares en moluscos bivalvos (Farías, 2008).

En vista de la gran proporción existente en la harina de moringa de ácido α-linolénico y ác. linoléico (> 40% en el perfil de ac. grasos) se podría proyectar como insumo complementario a microalgas cultivadas y coadyuvar al mejor desempeño en el crecimiento de larvas y juveniles de moluscos bivalvos (Chu y Web, 1984; Farías, 2008), e inclusive para otros organismos bioacuáticos.

Adicional a los ac. grasos encontrados, la moringa proporciona 17 aminoácidos, de los cuales 9 son esenciales, lo cual supone un aporte de calidad proteica importante, ya que posee una elevada proporción de proteínas (~30%), tal como se ha determinado en otros estudios (Makkar y Becker, 1996; Dhakar et al., 2011, Moyo et al., 2011), reafirmando la proyección de su uso dietético complementario para el cultivo de moluscos.

Los componentes nutricionales determinados en este estudio, con el ecotipo ecuatoriano, fue de forma general similar al encontrado en otros ecotipos regionales (una relación comparativa en sus compuestos principales se muestra en la Tabla 3). Aunque existen diferentes cantidades de aminoácidos determinados en los diferentes ecotipos (16 a 19 aminoácidos), se encontraron similares aminoácidos esenciales característicos de la especie tales como leucina, isoleucina, treonina, lisina, fenilalanina, valina, tirosina, histidina, triptófano y metionina (Makkar & Becker, 1996; Sánchez-Machado et al., 2010, Moyo et al, 2011), sin embargo, en nuestro estudio, la concentración total de aminoácidos esenciales (%) fue 2,5 veces superior a Moyo et al. (2011) y 1,4 veces menor que en Sánchez-Machado et al. (2010), en el cual, como en nuestro estudio, no se determinó triptófano.

Tabla 3. Comparación de principales compuestos lipídicos y aminoacídicos realizados en distintas investigaciones sobre hojas secas de *Moringa oleifera*. Expresado en %, obtenido de mg/g de materia seca

Perfil	Compuesto	Este estudio	Moyo et al., 2011	Sánchez-Machado et al., 2010	Saini et al., 2014
Ácidos grasos polinsaturados	Ácidos grasos totales	19	17	14	15
	α-linolénico	33,60	44,57	56,87	54,27
	Linoléico	7,57	7,44	6,11	11,01
Ácidos grasos saturados	Palmítico	22,55	11,79	23,28	18,35
	Esteárico	7,25	2,13	4,08	4,32
	Proteína Bruta (%)	29,51	30,3	22,42	-
Aminoácidos esenciales	N° Aminoácidos totales	17	19	16	-
	N° Aminoácidos esenciales	9	9	9	-
	Leucina	7,90	1,96	10,13	-
	Treonina	4,93	1,35	4,57	-
	Lisina	4,43	1,63	8,85	-
	Fenilalanina	4,33	1,64	5,15	-
	Valina	3,90	1,41	6,54	-
	Isoleucina	2,90	1,17	5,15	-
	Tirosina	2,83	2,65	2,77	-
	Histidina	1,63	0,71	4,86	-
	Metionina	1,17	0,29	0,81	-
	Triptófano	-	0,48	-	-
	Total aa. esenciales	34,02	13,29	48,83	

Los valores son expresados en promedio de porcentaje %, (-) = No determinado, aa.= aminoácidos.

Las diferencias en cuanto a la cantidad proporcional de los componentes nutricionales entre las diferentes ecotipos de *M. oleifera*, pueden ser atribuidos a factores genéticos y particularmente ambientales, como el tipo de suelo (Sánchez-Machado et al., 2010; Moyo et al., 2011).

Conclusiones

Dado la caracterización del perfil lipídico y aminoacídico de harina de hojas deshidratadas de *M. oleifera* con una elevada proporción proteica y cantidad de aminoácidos, entre ellos esenciales y ácidos grasos de importancia estructural y precursores de ácidos grasos de gran relevancia en el desarrollo de moluscos (EPA y DHA), la harina de hojas de moringa podría ser usada como suplemento, fitonutriente en dietas para cultivos de moluscos y otros organismos bioacuáticos, por lo que se recomienda experimentaciones *in vivo* con mezclas de microalgas, en función de determinar tanto su efectividad y dosis.

Agradecimientos

El estudio fue amparado bajo el programa CYTED (Red AquaCibus 318RT0549 "Fortalecimiento de la acuicultura en Iberoamérica: calidad, competitividad y sostenibilidad"). Se agradece también, al Ing. Washington Briones por su donación de moringa deshidratada para este estudio.

Referencias bibliográficas

AOAC. (2005). Association of Analytical Chemists. Official Methods of Analysis In: W. Horowitz, Editor, Official methods of analysis (17th ed.), AOAC, Gaithersburg, MD.

Barros, L., Pereira, E., Calhelha, R.C., Dueñas, M., Carvalho, A.M., Santos-Buelga, C. y Ferreira, I.C.F.R. (2013). Bioactivity and chemical characterization in hydrophilic and lipophilic compounds of *Chenopodium ambrosioides* L. J. Funct. Foods, 5, 1732–1740. DOI: 10.1016/j.jff.2013.07.019.

Calder, P. (2006). n-3 Polyunsaturated fatty acid, inflammation, and inflammatory disease. Am J Clin Nutr, 83 (suppl 6), 1505S-19S.
DOI: 10.1093/ajcn/83.6.1505S.

Cerón, M. (2013). Producción de microalgas con aplicaciones nutricionales para humanos y animales. En Universidad de Almería., CUADERNOS DE ESTUDIOS AGROALIMENTARIOS (87-105)., Almería, España. ISSN 2173-7568.

Chu, F. y Webb, K. (1984). Polyunsaturated fatty acids and neutral lipids in developing larvae of the oyster, *Crassostrea virginica*. Lipids, 9, 815-820. DOI:10.1007/bf02534509.

Coutteau, P. y Sorgeloos, P. (1992). The use of algal substitutes and the requirement for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve mollusks: an international survey. J. Shellfish Research, ll (2), 467-476.

http://hdl.handle.net/1854/LU-240467.

Dhakar, R., Maurya, S., Pooniya, B., Bairwa, N. y Sanwarmal, M. (2011). Moringa: the herbal gold to combat malnutrition. Chron. Young Scient., 2(3),119-125. DOI:10.4103/2229-5186.90887.

FAO, (2020). Cultivos tradicionales Moringa. Recuperado desde: http://www.fao.org/traditional-crops/moringa/es/

Fahey, J. (2005) *Moringa oleifera*: a review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactice properties. Part I. Trees Life J.,1-5. DOI:10.1201/9781420039078.ch12.

Farías, A. (2008). Nutrición y alimentación en moluscos bivalvos. En A. Lovatelli, A. Farias e I. Uriarte (Eds). Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. Taller Técnico Regional de la FAO. 20-24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile (297–308 pp.). Actas de Pesca y Acuicultura. No. 12. Roma, Italia: FAO.

Khotimchenko, S. (2005). Lipids from the marine alga *Gracilaria verruscosa*, Chem. Nat. Compd., 41(3), 285-288. DOI:10.1007/s10600-005-0130-y.

Makkar, H. y Becker, K. (1996). Nutritional value and whole and ethanol antinutritional components of extracted *Moringa oleifera* leaves. Animal Feed Sci. Technol., 63, 211-228. DOI: 10.1016/S0377-8401(96)01023-1.

Mbikay, M. (2012). Therapeutic Potential of *Moringa oleifera* Leaves in Chronic Hyperglycemia and Dyslipidemia: A Review. Frontiers in Pharmacology. DOI: 10.3389/fphar.2012.00024.Source: PubMed.

Moyo, B., Masika, P., Hugo, A. y Muchenje, V. (2011). Nutritional characterization of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. African Journal of Biotechnology Vol. 10(60), 12925-12933. DOI:10.5897/ajb10.1599

Gopalakrishnan, L., Doriya, K. y Kumar, D.S. (2016). *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. Food Science and Human Wellness 5, 49–56. DOI: 10.1016/j.fshw.2016.04.001

Oyeyinka, A. y Oyeyinka, S. (2018). *Moringa oleifera* as a food fortificant: Recent trends and prospects. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. 17(2), 127–136. DOI: 10.1016/j.jssas.2016.02.002

Olson, M. y Fahey, J. (2011). *Moringa oleifera*: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. Rev. Mex. Biod., 82,1071-1082.
DOI: 10.22201/ib.20078706e.2011.4.678

Richter, N., Siddhuraju, P. y Becker, K. (2003). Evaluation of nutritional quality of Moringa *(Moringa oleifera* Lam.) leaves as alternative protein source for tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). Aquaculture, 217, 599-611. DOI:10.1016/S0044-8486(02)00497-0

Rivas-Vega, M., López-Pereira J., Miranda-Baeza A. y Sandoval-Muy M. (2012). Sustitución parcial de harina de sardina con *Moringa oleifera* en alimentos balanceados para juveniles de tilapia (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*) cultivada en agua de mar. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud. Volumen XIV, Número 2, 3-10. DOI:10.18633/bt.v14i2.117

Sánchez-Machado, D., Núñez-Gastélum, J., Reyes-Moreno, C., Ramírez-Wong, B. y López-Cervantes, J. (2010). Nutritional quality of edible parts of *Moringa oleifera*. Food Analytical Methods, 3(3), 175–180. DOI:10.1007/s12161-009-9106-z

Saini, R., Shetty N. y Giridhar, P. (2014). GC-FID/MS analysis of fatty acids in Indian cultivars of *Moringa oleifera*: potential sources of PUFA. J. Am. Oil. Chem. Soc., 91, 1029–1034. DOI:10.1007/s11746-014-2439-9

Wanten, G. y Calder, P. (2007). Immune modulation by parenteral lipid emulsions. The American Journal of Clinical Nutrition, 85(5), 1171–1184. DOI:10.1093/ajcn/85.5.1171