

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

"EVALUACION Y ADAPTACION DE RUTINAS PARA LA  
PRODUCCION DE SEMILLA SUELTA DE OSTION JAPONES  
Crassostrea gigas A NIVEL PILOTO"

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
O C E A N O L O G O  
PRESENTA:  
LEWIS SAMSON McANALLY SALAS

ENSENADA, B.C., MARZO DE 1988.

## RESUMEN

Se presentan los resultados de un año de trabajo a nivel piloto en la producción de semilla suelta de ostión japonés Crassostrea gigas en el Laboratorio de Moluscos del Instituto de Investigaciones Oceanológicas, perteneciente a la Universidad Autónoma de Baja California Norte. Se utilizaron como punto de partida la biotécnica propuesta por Breese y Malouf (1975) y las utilizadas con anterioridad en el Laboratorio de Moluscos. Se describen detalladamente los métodos específicos para cada rutina de trabajo y se hace una evaluación de la capacidad de producción del laboratorio según el espacio y la infraestructura instalada. Las técnicas propuestas originalmente fueron cambiando según fué avanzando la temporada de trabajo. Los principales cambios se hicieron en los métodos de fertilización, la rutina de tamizado, la alimentación, el uso del antibiotico y el método de fijación.


En general la velocidad de crecimiento de la larva fué inferior a lo reportado por otros autores lo que fué atribuido a la mala calidad de la microalga Isochrysis aff. galbana var. taithiana. Los resultados de producción de larva veliger "D", pediveliger y ostrilla en base a la infraestructura instalada se consideran adecuados, no así para la producción de postlarva ya que el promedio de fijación fué del 6.8% .

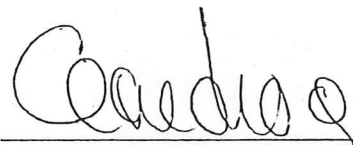
Al final de la temporada se produjeron un total de 306.72 millones de larvas veliger "D", 25.27 millones de larvas pediveliger, 1.40 millones de postlarva y 0.95 millones de ostrilla. En general la producción en el Laboratorio de Moluscos fué marcadamente superior a los reportes de producción de este mismo laboratorio en años anteriores.

"EVALUACION Y ADAPTACION DE RUTINAS PARA LA  
PRODUCCION DE SEMILLA SUELTA DEL OSTION JAPONES  
Crassostrea gigas A NIVEL PILOTO"

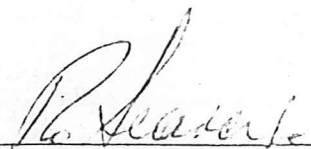
T E S I S  
QUE PRESENTA:  
LEWIS SAMSON McANALLY SALAS

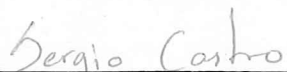
Aprobada por:

  
\_\_\_\_\_  
Presidente del Jurado  
Oc. Fernando Garcia Pamanes

  
\_\_\_\_\_  
Sinodal Propietario  
Oc. Victor Gendrop Funes

  
\_\_\_\_\_  
Sinodal Suplente  
Oc. Alfredo Salas Garza

  
\_\_\_\_\_  
Sinodal Propietario  
M.C. Ricardo Searcy Bernal

  
\_\_\_\_\_  
Sinodal Suplente  
Oc. Antonio Silva Loera

## AGRADECIMIENTOS

Existe mucha gente que de una u otra manera a intervenido en la realizaciòn de este trabajo. Sin embargo cabe hacer menciòn de personas sin las cuales no se hubiera podido "sacar" la gran cantidad de trabajo que se generò durante un aõo de trabajo. En primer lugar a P.O. Enrique Valenzuela por el suministro tan oportuno del alimento, en segundo lugar al ejercito de Servicios Sociales que desfilaron por el laboratorio, hubo algunos mejores que otros, pero a todos ellos les estoy muy agradecido.

Tambièn es importante mencionar el apoyo y direcciòn del Oc. Fernando Garcia Pàmames en el analisis y redacciòn del trabajo; a los sinodales Oc. Victor Gendrop al M.C. Ricardo Bernal, al Oc. Antonio Silva Loera y al Oc. Alfredo Salas Garza por sus valiosas sugerencias para el mejoramiento del trabajo y el tiempo dedicado a la correcciòn.

Por ùltimo, me gustaria hacer un reconocimiento al M.C. Romàn Lizàrraga, director del Instituto de Investigaciones Oceanològicas durante la realizaciòn del estudio, por el apoyo incondicional a los trabajos realizados

## CONTENIDO

1	INTRODUCCION .....	1
1.1	<u>ORIGEN Y EVOLUCION DE LAS TECNICAS BASICAS</u> .....	1
1.2	<u>TRABAJOS EN EL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLOGICAS</u> .....	12
2	OBJETIVOS .....	19
2.1	<u>GENERALES</u> .....	19
2.2	<u>PARTICULARES</u> .....	19
3	MATERIALES Y METODOS .....	20
3.1	<u>DESCRIPCION GENERAL DEL LABORATORIO</u> .....	20
3.1.1	Secciones principales .....	20
3.1.2	Sistemas básicos .....	21
3.2	<u>DESCRIPCION PARTICULAR DE SECCIONES Y SERVICIOS</u> .....	23
3.2.1	Sección seca .....	23
3.2.2	Sección húmeda de larvas .....	25
3.2.3	Sección húmeda de semilla .....	26
3.2.4	Sección húmeda de microalgas .....	29
3.2.5	Cuarto de máquinas .....	31
3.2.6	Almacén .....	31
3.2.7	Exteriores .....	32
3.3	<u>RUTINAS GENERALES DE TRABAJO</u> .....	32
3.3.1	Colecta de sementales .....	32
3.3.2	Desove .....	34
3.3.3	Fertilización .....	38
3.3.4	Manejo y mantenimiento de larvas .....	40
a.	Cambios de agua.....	40
b.	Tamizado .....	41
c.	Enjuage .....	42
d.	Conteo (sobrevivencia) .....	43
e.	Antibiótico .....	44
f.	Redistribución (densidad) .....	45
g.	Alimentación .....	45
h.	Medición (crecimiento) .....	46
i.	Temperatura .....	49
3.3.5	Fijación .....	49
3.3.6	Manejo y mantenimiento de semilla .....	52

3.4	<u>CULTIVO DE MICROALGAS</u> .....	55
3.4.1	Preparación del medio de cultivo .....	54
a.	Nutrientes mayores .....	56
b.	Nutrientes menores .....	57
c.	Vitaminas .....	57
3.4.2	Esterilización y desinfección .....	58
a.	Esterilización física .....	58
b.	Desinfección química .....	58
3.4.3	Suministro del medio de cultivo .....	59
a.	Niveles inferiores .....	59
b.	Niveles intermedios .....	59
c.	Niveles masivos .....	59
3.4.4	Suministro del alimento .....	60
a.	Cuantificación .....	60
b.	Suministro .....	60
3.5	<u>ASPECTOS GENERALES DE LIMPIEZA</u> .....	61
3.5.1	Utensilios en general .....	61
3.6	<u>DETERMINACION DE LA CAPACIDAD DE PRODUCCION DEL LABORATORIO</u> .....	62
4	<u>RESULTADOS</u> .....	66
4.1	<u>DESOVES OBTENIDOS</u> .....	66
4.2	<u>LARVAS PRODUCIDAS</u> .....	69
4.2.1	Sobrevivencia .....	71
4.2.2	Densidad .....	74
4.2.3	Crecimiento .....	76
4.3	<u>PRODUCCION DE LARVAS PEDIVELIGER</u> .....	85
4.4	<u>PRODUCCION DE POSTLARVAS</u> .....	89
4.5	<u>PRODUCCION DE OSTRILLA</u> .....	93
4.6	<u>PRODUCCION DE MICROALGAS</u> .....	97
4.7	<u>CAPACIDAD DE PRODUCCION DEL LABORATORIO DE MOLUSCOS</u> .....	99
4.7.1	Producción de microalgas .....	99
4.7.2	Producción de larvas .....	101
4.7.3	Fijación de pediveliger .....	102
4.7.4	Mantenimiento de semilla .....	103
4.7.5	Producción total .....	105
5	<u>DISCUSION</u> .....	108

5.1	<u>DESOVES OBTENIDOS</u>	108
5.2	<u>LARVAS PRODUCIDAS</u>	112
5.2.1	Sobrevivencia	113
5.2.2	Densidad	115
5.2.3	Crecimiento	116
5.3	<u>PRODUCCION DE LARVAS PEDIVELIGER</u>	120
5.4	<u>PRODUCCION DE POSTLARVAS</u>	121
5.5	<u>PRODUCCION DE OSTRILLAS</u>	123
5.6	<u>PRODUCCION DE MICROALGAS</u>	125
5.7	<u>REACONDICIONAMIENTO DEL LABORATORIO DE MOLUSCOS</u>	125
6	<u>CONCLUSIONES</u>	128
6.1	<u>DE LOS RESULTADOS</u>	128
6.2	<u>DE LAS TECNICAS</u>	130
7	<u>LITERATURA CITADA</u>	132

## LISTA DE TABLAS

Tabla I.- Secciones dentro del Laboratorio de Moluscos y el àrea (m <sup>2</sup> ) que ocupan.....	20
Tabla II.- Tamaños de luz de malla (µm) recomendados en diferentes biotècnias.....	42
Tabla III.- Raciòn diaria de alimento/semana segùn Breese y Malouf, 1975.....	47
Tabla IV.- Nùmero de ostrillas por cm <sup>2</sup> dependiendo de su tamaño segùn lo recomendado por Walne (1974) y Mercer (1981) utilizado para determinar la capacidad de producciòn.....	65
TABLA V.- Informaciòn de los resultados de algunos de los desoves. Nùmero promedio de larvas/hembra dado en millones.....	67
TABLA VI- Larvas iniciales por desove y larvas presentes al inicio de la fijaciòn (x 10 <sup>6</sup> ), ademàs del porcentaje de mortalidad (Z).....	73
TABLA VII.- Densidades de larvas/ml al inicio del cultivo y al inicio del periodo de fijaciòn.....	77
TABLA VIII.- Pendientes de crecimiento de los ocho esoves con los intervalos de confianza al 95%. Se muestran los dos grupos de pendientes no significativamente diferentes entre si al 95%. ....	83
TABLA IX.- Dia en el que iniciò la fijaciòn junto con el porcentaje cosechado en cada dia. Tambien se muestra el porcentajetotal puestas a fijar y los días transcurridos para terminar de colocar las larvas a fijar.....	87
TABLA X.- Informaciòn sobre las larvas puestas a fijar.....	88
TABLA XI.- Comparacion entre la producciòn de larvas pediveliger, postlarvas y ostrillas en base al volumen de cultivo y el àrea utilizada.....	90

TABLA XII.- Información sobre la larva fijada.....	93
TABLA XIII.- Información sobre la semilla salida del laboratorio para su comercialización o donación.....	97
TABLA XIV.- Producción de la microalga <u>Isochrysis</u> aff. <u>galbana</u> var. <u>Taithiana</u> , total de tanques, concentración promedio y total de litros acumulados.....	103
TABLA XV.- Total de semilla por marco de crecimiento (600 cm <sup>2</sup> ) y en el sistema, calculado según Walne (1974).....	106
TABLA XVI.- Area y litros de alimento requeridos por 1 millón de semilla a diferentes tallas, calculados con la dieta recomendada por Langton y McKay (1976).....	106
TABLA XVII.- Litros de alimento requeridos para mantener larva y/o semilla en sus diferentes etapas de desarrollo considerando la dieta de Breese y Malouf (1975), y la recomendada en este trabajo. Se considera la utilización de seis tanques.....	107
TABLA XVIII.- Litros de alimento requeridos para mantener larvas y/o semilla en sus diferentes etapas de desarrollo considerando la dieta de Breese y Malouf (1975), y la recomendada en este trabajo. Se considera la utilización de tres tanques.....	108
TABLA XIX.- Litros de alimento según el tamaño y la cantidad de ostrilla.....	109
TABLA XIX.- Litros de alimento según el tamaño y la cantidad de ostrilla.....	109

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.- Método "Wells-Glancy", dependiendo enteramente del alimento natural suministrado con el agua.....	7
Figura 2.- Método "Loosanoff y Davies", utilizando alimento cultivado en laboratorio.....	8
Figura 3.- Método utilizado comunmente entre laboratorios de producción comercial. Consiste en el suministro de alimento natural con alimento cultivado como suplemento.....	9
Figura 4.- Vista de planta del Laboratorio de Moluscos mostrando la distribución de las diferentes áreas de trabajo.....	20
Figura 5.- Vista lateral y de frente del sistema de preengorda de ostrillas.....	28
Figura 6.- Vista lateral del sistema de surgencia.....	30
Figura 7.- Vista de planta y lateral del serpentín o caja de desove.....	36
Figura 8.- Planos de medición de la larva en sus diferentes etapas de desarrollo.....	48
Figura 9.- Producción de larvas veliger "D" por desove y acumulada.....	70
Figura 10.- Graficas características de sobrevivencia.....	72
Figura 11.- Graficas características de densidad de larvas/ml.....	75
Figura 12-15.- Crecimiento en largo y ancho de los desoves durante la temporada de trabajo....	77-80
Figura 16.- Producción de larva pediveliger por desove y acumulada.....	87
Figura 17.- Producción de postlarva por desove y acumulada.....	91

Figura 18.- Producción de ostrillas por desove y acumulada.....	94
Figura 19.- Crecimiento característico de la microalga <u>Isochrysis</u> aff. <u>galbana</u> var. <u>taithiana</u> .....	98
Figura 20.- Densidades promedio alcanzadas por los cultivos de <u>Isochrysis</u> aff. <u>galbana</u> var. <u>taithiana</u> a lo largo de once meses, mostrando los límites de confianza al 95% .....	100

## 1 INTRODUCCION

### 1.1 ORIGEN Y EVOLUCION DE LAS TECNICAS BASICAS

Para finales del siglo XIX, en Europa se utilizaban pozas ò estanques para cultivar ostiones. Fue Moore en 1898 quien vislumbro la posibilidad de utilizar pozas similares, que mediante modificaciones adecuadas podrian ser utilizadas para la produccion de semilla (Loosanoff y Davies, 1963a;1963b; Loosanoff, 1969;1972;- Clark y Langmo, 1979; Korringa, 1976a;1976b).

( Los primeros intentos en este sentido se llevaron a cabo en Virginia, E.U. por Moore (1898), quien fertilizò òvulos artificialmente y los colocò en un estanque practicamente cerrado. Aunque el èxito que alcanzò fue muy relativo, lo màs importante es que demostrò la posibilidad de obtener semillas de ostiòn en pozas cerradas mediante una fertilizaciòn artificial de òvulos (Loosanoff, 1969).

A pesar de la posibilidad real de criar larvas de ostiòn en pequeñas pozas, es casi imposible tener bajo control todos los elementos que influyen sobre las larvas. No es de extrañar entonces, que el camino logico a seguir haya sido el de utilizar recipientes especial-

es bajo condiciones controladas. Aún así, el avance en esta área fue casi nulo por varias décadas, los intentos de criar las larvas hasta la metamorfosis fueron infructuosos por investigadores como Brooks (1880), Ryder (1883), Winslow (1884) y muchos otros que sin lugar a duda nunca reportaron sus infructuosos esfuerzos.

Debido a lo anterior, en 1920 Churchill -considerado uno de los principales expertos en EUA- dictaminaba la imposibilidad de cultivar larvas de ostión a una escala lo suficientemente grande para tener aplicaciones prácticas en la industria ostrícola (Loosanoff y Davies, 1963a; Loosanoff, 1969).

Curiosamente, mientras Churchill (1920) publicaba su artículo que desacreditaba el cultivo artificial de ostiones, un joven biólogo W.F. Wells, estaba preparando una publicación con su primer reporte exitoso en el cultivo de larvas del ostión americano Crassostrea virginica. El trabajo abarcaba desde la fecundación artificial, hasta su etapa de asentamiento bajo condiciones de laboratorio (Wells, 1920). Simultáneamente con Wells, Prytherch, trabajaba en Milford, Connecticut EUA, cultivando larvas de ostión con dos principales diferencias en el método.

A diferencia de Wells que disectaba los ostiones para obtener las gametas, Prytherch los indujo al desove incrementando la temperatura del agua. La segunda diferencia se aparta substancialmente del método de Wells, ya que Prytherch coloca las larvas en tanques con un flujo continuo y Wells utiliza tanques con agua estática (Prytherch, 1924; Loosanoff, 1969).

En Europa, específicamente en Conway, Norte de Gales, los principales trabajos se realizaron a finales de la década de los treinta por Cole (1937;1939) con el ostión Ostrea edulis. Utilizaron grandes tanques al aire libre cultivando un gran número de larvas de ostión hasta la metamorfosis. Los experimentos fueron continuados por Huges (1940) y Wilson (1941), pero no lograron controlar la cantidad y calidad del alimento, por lo que aún en 1940 no se contaba con un método para producir abundante semilla de ostión (Loosanoff, 1969).

A pesar de los contratiempos encontrados por los europeos en los cultivos de larvas al aire libre, fueron probablemente Bruce, Knigth y Parke quienes en 1940 desarrollaron un método funcional para el cultivo de O.edulis en laboratorio. Su principal acierto fue alimentar las larvas con flagelados cultivados, de un tamaño de 1.5 a 7.0 micras (Loosanoff, 1969).

En Inglaterra, uno de los investigadores que ha aportado más al cultivo de larvas de ostión es sin lugar a dudas P.R. Walne. Él continuó los trabajos de Cole (1939) y Bruce et al. (1940), y dedicó gran parte de sus trabajos a determinar el valor alimenticio de varias especies de fitoplancton para la larva de O.edulis (Loosanoff, 1969; 1972).

Una de las limitaciones principales para el conocimiento de los requerimientos larvales y para el desarrollo de laboratorios criadores de ostión, era el periodo tan corto -8 a 10 semanas- en el que se podían encontrar organismos listos para desovar.

Esta limitación fue superada por Loosanoff en 1945, mediante su método para mantener maduros los ostiones fuera de su periodo natural. Junto con lo anterior, la identificación de algunas especies de microalgas de valores nutritivos altos, cambió la perspectiva para el cultivo exitoso de larvas de ostión (Davies y Guillard, 1958; Loosanoff, 1972).

Posiblemente el trabajo más relevante sobre cultivo de moluscos bivalvos escrito en la década de los 60's, fue el de Loosanoff y Davies en 1963. Vino a ser conocido como el "Método Milford" o el método de "Loosanoff y

Davies" por la mayoría de los investigadores en el ramo.

A partir de la publicación del "Método Milford", la cantidad de información publicada sobre el tema se volvió muy abundante. Esta información repercutió directamente en el desarrollo de laboratorios comerciales para la producción de semilla de moluscos bivalvos. Siguiendo este método, Breese y Malouf (1975) publicaron un manual práctico para la producción de semilla de ostión japonés.

A pesar del pesimismo mostrado por Churchill (1920), actualmente los laboratorios comerciales de producción de moluscos tienen un impacto muy significativo en la industria ostrícola mundial. No solo como surtidores de semilla para los cultivos comerciales, sino como surtidores de semilla para la repoblación de bancos naturales. Estos se encuentran en franco deterioro por el impacto de la pesquería tradicional de ostión (Loosanoff, 1963; Clark y Langmo, 1979; Krantz, 1982).

( Actualmente se podría decir que se cuenta con dos métodos básicos para la obtención de larvas de bivalvos aparte de un tercero que sería una combinación de los dos primeros. El primero de ellos es el método

"Wells-Glancy", desarrollado por Wells (1920, 1926, 1927). Depende enteramente de los microorganismos presentes en el cuerpo de agua como alimento a las larvas (figura 1). El segundo es el método "Loosanoff y Davies", que incluye como diferencia principal una alimentación a las larvas con microalgas cultivadas (figura 2). El tercer método es el que se utiliza comunmente en laboratorios comerciales de Europa (De Pauw, 1981) y Estados Unidos, principalmente en Long Island (figura 3). *combinación de los dos anteriores*

A finales de los años 60's y principios de los 70's, en la costa del Pacífico de EUA, la industria ostrícola ya consideraba seriamente los laboratorios criadores (Lipovshy, 1984).

Originalmente, el producto final de estos métodos era un número variado de pequeñas ostrillas cementadas a una concha madre que se colocaban en áreas de engorda.- Ya fuera directamente sobre el fondo marino o en algún sistema de suspensión.

Posteriormente se popularizó el cultivo de semilla suelta, es decir, ostrillas cementadas en fragmentos de concha u otros sustratos que permiten obtener ostiones en forma individual (Clark y Langmo, 1979).

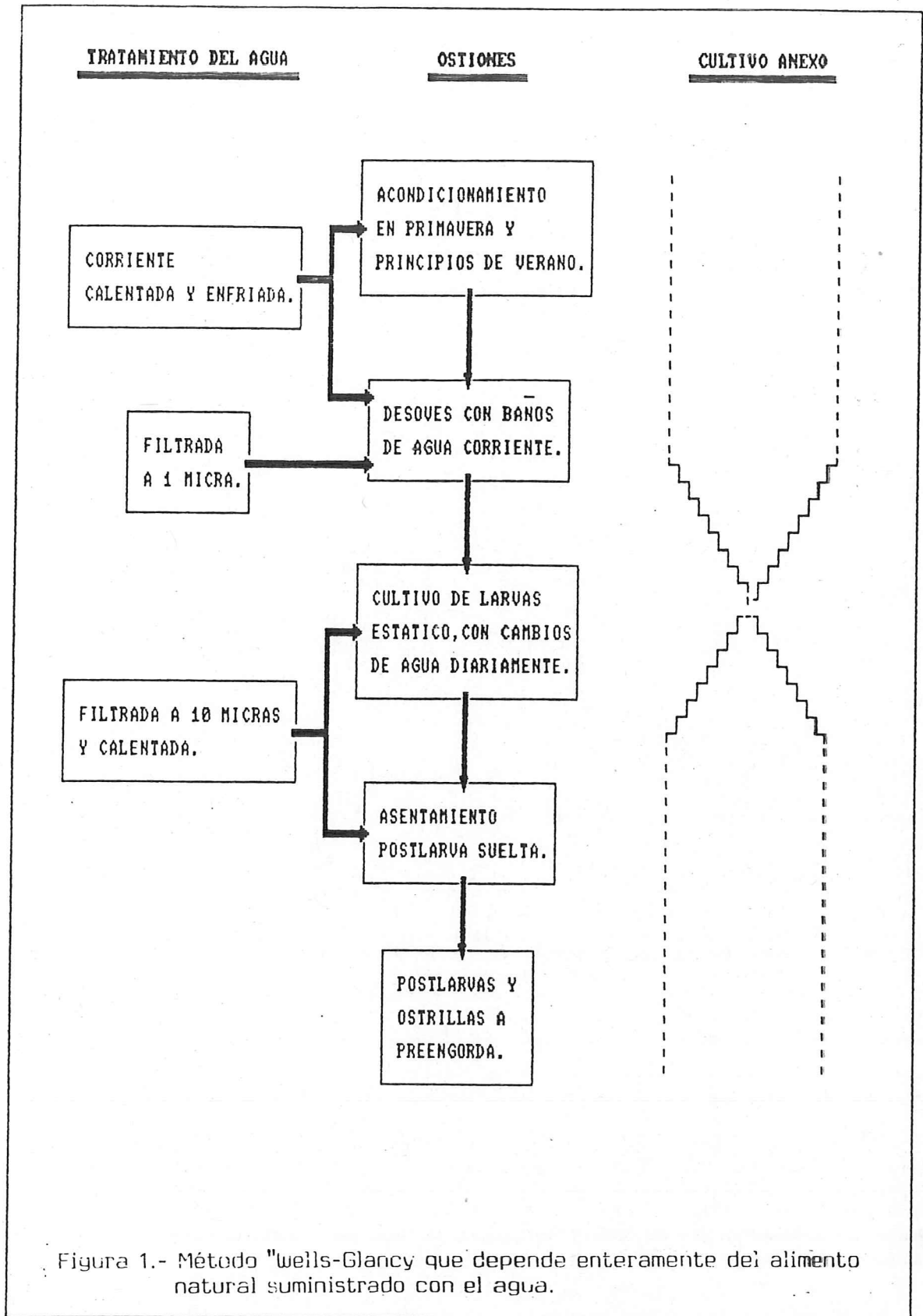


Figura 1.- Método "wells-Glancy" que depende enteramente del alimento natural suministrado con el agua.

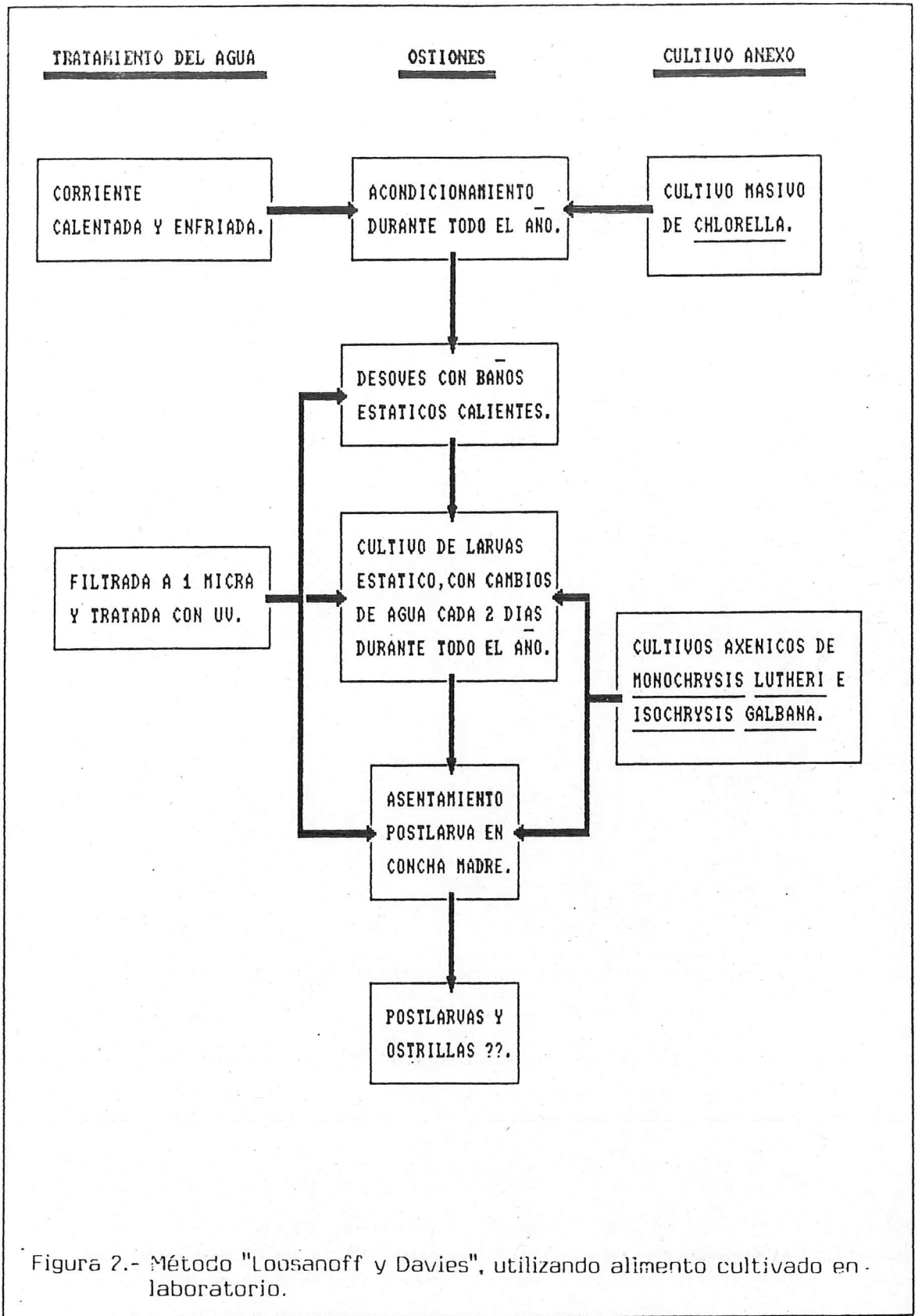


Figura 2.- Método "Loosanoff y Davies", utilizando alimento cultivado en laboratorio.

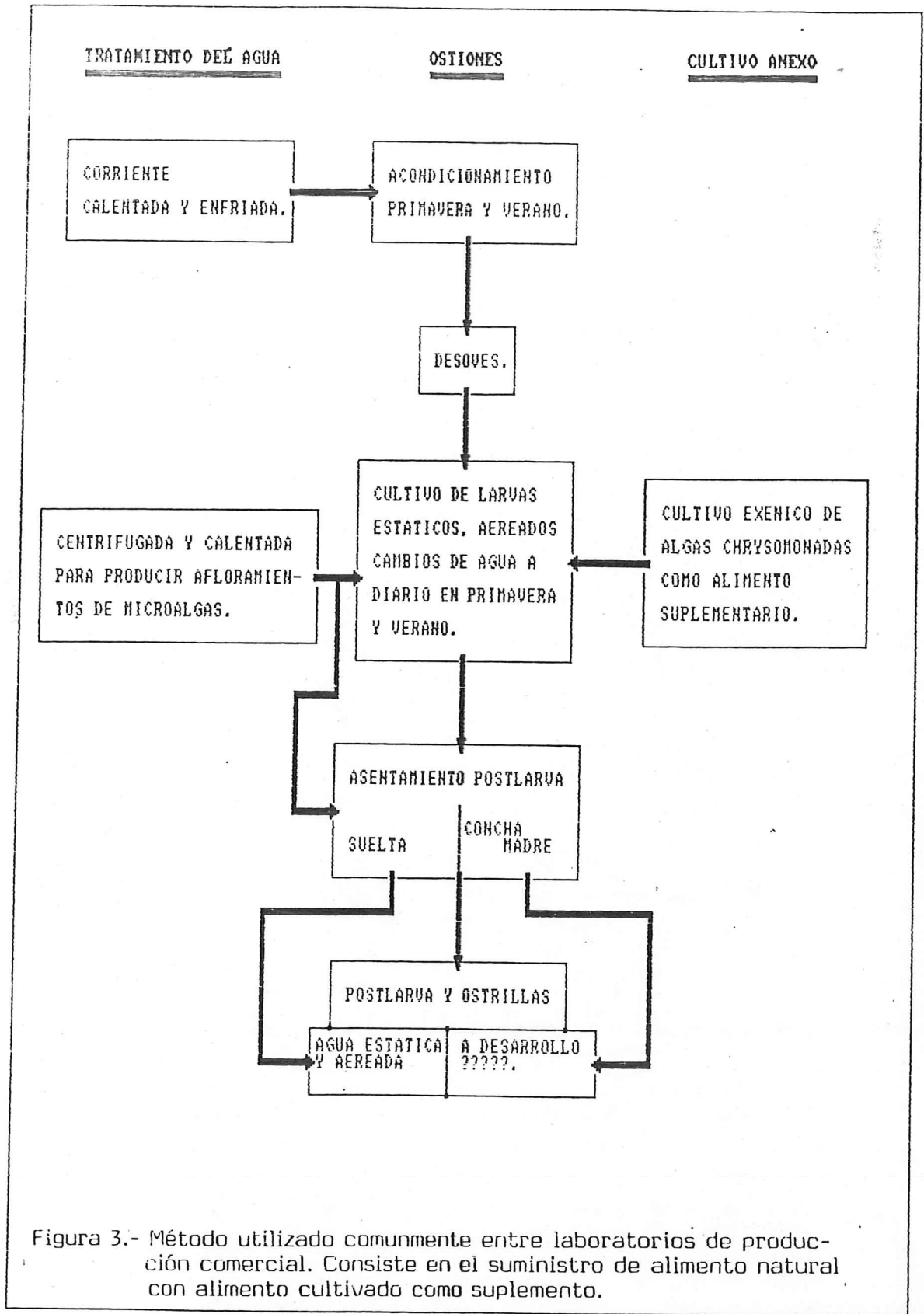


Figura 3.- Método utilizado comúnmente entre laboratorios de producción comercial. Consiste en el suministro de alimento natural con alimento cultivado como suplemento.

( Actualmente, determinar cual de estas alternativas es mejor resulta muy difícil ya que ambos métodos presentan ventajas y desventajas. El éxito o fracaso de cualquiera de los dos métodos está determinado por factores como podrían ser la ubicación del área de cultivo, los sistemas de cultivo, disponibilidad de mano de obra, calidad del producto, niveles de producción, demanda del mercado, etc. (Clark y Langmo, 1979). )

Independientemente del tipo de producto final, los métodos desarrollados son similares en sus conceptos globales. Aunque actualmente existen volúmenes completos sobre investigaciones en el cultivo de ostión, virtualmente no existe información para el establecimiento de laboratorios criadores a nivel comercial (Huguenin, 1974; Krantz, 1982).

( El éxito en experimentos a pequeña escala, normalmente no es suficiente para remover la incredulidad e incertidumbre sobre conceptos acuaculturales a gran escala. La estrategia más adecuada para resolver este problema es mediante la utilización de un laboratorio piloto de producción. Mediante estos laboratorios se puede determinar el comportamiento técnico a gran escala con límites de confianza aceptables (Goodman, 1969; Huguenin, 1974; Krantz, 1982). )

⇒ Así es!

⇒ En un laboratorio (piloto) hay la necesidad de evaluar (y modificar) las técnicas específicas, como acondicionamiento de progenitores, desoves, manejo de larvas, métodos de fijación, producción de alimento y otras que algunos autores han reportado como "técnicas probadas".

Un ejemplo en este caso podría ser el Laboratorio del Medio Ambiente de Horn Point, EUA (HPEL). En tres años de operación, los investigadores encontraron que todos los fenómenos biológicos mostraron mayor variación y menor eficiencia que las reportadas en la literatura científica.

Huguenin (1974) y Krantz (1982) atribuyen estas limitantes a la orientación academista de los biólogos en sus investigaciones y a la renuencia de los cultivadores privados a revelar sus posiciones financieras. Esto deja un hueco en la información necesaria para el diseño de un laboratorio de producción económicamente viable.)

En el caso de México, el desarrollo ostrícola presentado por los estados del noroeste en los últimos años ha sido de un incremento continuo. El impulso inicial de este desarrollo ostrícola, se debió al interés del Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO) de

la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) al iniciar el desarrollo en esta área.

A raíz del descenso en las capturas de las especies tradicionalmente comerciales como langosta, abulón, almeja, etc., y con interés de diversificar la pesquería, el IIO presentó a fines de 1972 un proyecto como alternativa ante la Secretaría de Recursos Hidráulicos y el Instituto Nacional de Pesca.

Dicho proyecto básicamente consistió en la introducción del ostión japonés Crassostrea gigas Thunberg en la Bahía de San Quintín, Baja California Norte (Islas-Olivares, 1975).

#### 1.2 TRABAJOS EN EL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLOGICAS

Aprobado este proyecto, la primera semilla que llegó a Baja California para ser cultivada a nivel experimental, fué producida en concha madre por el personal de la Escuela Superior de Ciencias Marinas de la UABC durante un entrenamiento técnico en el estado de Washington, EUA y transportada para su siembra a Bahía San Quintín, B.C. en octubre de 1973 (Islas-Olivares, 1975). A raíz del éxito obtenido en San Quintín, se planteó

un proyecto a la Organización de Estados Americanos (OEA) denominado "Aprovechamiento de los Recursos Marinos Costeros", aprobado por CONACYT en 1975.

Una vez aprobado este proyecto y con apoyo económico de CAPFCE y la UABC se construyó en 1976 la primera etapa del Laboratorio de Maricultura (actualmente de docencia) en la Unidad de Ciencias Marinas.

Este laboratorio tenía como función dentro del proyecto global, la implementación y/o trasplante de biotecnologías conocidas aplicables a Baja California. Esto traería como consecuencia una etapa de producción a nivel piloto experimental (Aguilar, 1981).

En enero de 1982, se solicitó apoyo económico ante la Secretaría de Educación Pública para reiniciar el programa "Investigaciones Acuiculturales para el Desarrollo de Biotecnias a Nivel Piloto Semicomercial".

Además de tener el apoyo de la UABC, se contaba con una aportación especial de la OEA con lo que se construyó el edificio del Laboratorio de Acuicultura (investigación), además del Laboratorio de Moluscos (laboratorio piloto). Este último con el propósito de trabajar a un nivel semicomercial después de que se concluyeran

los estudios básicos de las especies de interés.

La alta demanda de semilla de ostión japonés, ocasionó que durante 1983, el proyecto realizara los primeros intentos de producción masiva y continua de semilla de ostión japonés (Gendrop e Islas-Olivares, 1983).

De este periodo de trabajo se obtuvieron resultados preliminares en el manejo de larvas, semillas y adultos de ostión japonés.

Se logró de marzo a mayo, un total de siete desoves con un total de 343 millones de óvulos, lográndose al estadio veliger "D" charnela recta un promedio del 55%.

Las larvas que se introdujeron a fijación sumaron un total de 10 millones con un total de 47,390 semillas logradas (Gendrop e Islas-Olivares, 1983).

Los principales problemas que reportan Gendrop e Islas-Olivares (1983) fueron básicamente la proliferación de bacterias y protozoarios parásitos. Apesar de los tratamientos con antibioticos de amplio espectro utilizados, no los lograron controlar satisfactoriamente.

Tuvieron problemas con la calidad del alimento debido al deficiente suministro de agua. Lo anterior y el efecto de los antibióticos, se reportan como causantes del bajo porcentaje en el asentamiento (0.5% y 1.3%) en los dos desoves que produjeron el total de la semilla (Gendrop e Islas-Olivares, 1983).

A partir del verano de 1984 se iniciaron de una manera más consistente las actividades de producción, por disponer de los elementos mínimos necesarios que debe tener cualquier laboratorio de producción de moluscos (Lizàrraga, 1984).

Debido a la demanda del sector cooperativista por semilla de ostión suelta, el trabajo de producción se encaminó a producirla en esta modalidad.

Para este año de actividades Lizàrraga (1984) no reporta la cantidad de desoves que se hicieron, ni el total de larvas producidas, simplemente se reportan un total de 200,000 semillas producidas.

Durante los años que tiene el Laboratorio de Moluscos en funcionamiento, se han escrito dos manuales. Uno fue escrito por el Gendrop (1984) titulado "Manual de operaciones del Laboratorio de Moluscos", y el otro,

escrito por Lizárraga (1984), encargado del laboratorio durante 1984. Aunque este último no es un manual propiamente dicho, describe algunas de las técnicas utilizadas en el laboratorio. Este escrito está comprendido dentro del informe anual de 1984, y se titula "Descripción de las rutinas establecidas en el manejo de operaciones del Laboratorio de producción de Moluscos a niveles de producción".

Gendrop (1984) hace una descripción detallada del mantenimiento a los progenitores de una manera rutinaria y de la manera de obtener el desove.

Para la producción de larvas, recomienda seguir el manual de Breese y Malouf (1975) y complementa con algunas secuencias concernientes a limpieza.

En la sección de fijación y engorda de semilla, describe la secuencia y manera de colocar las larvas en las camas de fijación, alimentación y limpieza correspondiente.

Finalmente en la sección del cuarto de máquinas hace indicaciones sobre el manejo de la caldera y los filtros rápidos de arena.

Lizàrraga (1984) describe la limpieza general en el laboratorio, la producción de larvas con el manual de Breese y Malouf (1975), la secuencia para fijación y el mantenimiento rutinario de la semilla, describiendo además lo referente al cultivo de microalgas.

Para la temporada de trabajo de 1985 en el Laboratorio de Moluscos, se planteó continuar con la producción de semilla suelta de ostión a nivel piloto.

Aunque el laboratorio para este tiempo contaba con todos los servicios básicos, no contaba con una infraestructura y equipamiento que permitiera abarcar un amplio espectro de variaciones posibles en los conceptos de diseño, condiciones de operación y estrategias de manejo. Estas son características esenciales de los laboratorios piloto (Huguenin, 1974).

La imposibilidad de subsanar estas carencias impone limitaciones en la capacidad del laboratorio para cumplir sus objetivos primordiales y funcionar adecuadamente.

Apesar de las limitantes, y en cierto modo debido a las mismas, es importante evaluar y optimizar las técnicas propuestas con anterioridad. Esto permitira conocer sus alcances y posibilidades reales de aplicación

en los sectores productivos.

Para realizar esto es necesario tomar en cuenta no solo criterios como la producción total de semilla, sino también la producción de larva pediveliger, el crecimiento, sobrevivencia y funcionalidad de los métodos.

Al trabajar a nivel piloto, no es posible hacer un diseño experimental para evaluar las técnicas individuales de trabajo. Usualmente las modificaciones se van realizando sobre la marcha del mismo trabajo y son evaluadas en base a los criterios ya determinados.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GENERALES

Implementar la producción de semilla suelta del ostión japonés Crassostrea gigas a nivel piloto de producción, utilizando como punto de partida las rutinas establecidas con anterioridad, realizando los cambios que se consideren pertinentes para incrementar la capacidad del laboratorio.

### 2.2 PARTICULARES

a) Definir de una manera práctica las rutinas de trabajo y el manejo eficiente de la larva de ostión japonés a niveles de producción piloto.

b) Describir las rutinas establecidas en la práctica y evaluarlas en base a las propuestas con anterioridad.

c) Determinar la capacidad de producción de larvas y semilla suelta con la infraestructura instalada.

d) Determinar la capacidad de producción de ~~larvas~~ de ~~semilla suelta~~ de acuerdo a la infraestructura instalada.

e) Rediseñar y/o redistribuir, el Laboratorio de Moluscos para hacerlo más eficiente y funcional.

### 3 MATERIALES Y METODOS

#### 3.1 DESCRIPCION GENERAL DEL LABORATORIO

##### 3.1.1 Secciones principales

El trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Moluscos del Instituto de Investigaciones Oceanológicas dependiente de la Universidad Autónoma de Baja California; dicho laboratorio consta de 150 m<sup>2</sup> de construcción divididos en siete secciones (tabla I).

Tabla I.- Secciones dentro del Laboratorio de Moluscos y el área (m<sup>2</sup>) que ocupan.

Sección	Area
Laboratorio seco	13.30
Lab. húmedo /larvas	43.57
Lab. húmedo /semilla	30.90
Lab. microalgas	22.42
Cuarto máquinas	14.96
Almacén	8.96
Sanitario	2.00

Las actividades dentro de estas secciones se pretende que sean específicas para cada una de ellas, aunque

por lo reducido del espacio disponible esto no siempre fue posible.

Así tenemos que en la sección húmeda para el cultivo de larvas se tiene destinada una área para el desove de los progenitores, así como un área para el lavado de la semilla. En la sección húmeda para la semilla también se destinó una área para el mantenimiento a los progenitores y la fijación de semilla (figura 4).

Cada una de las secciones que se consideran como húmedas cuentan con un canal de desagüe a lo largo del área en cuestión (figura 4).

### 3.1.2 Sistemas básicos

El agua de mar utilizada en el laboratorio, es bombeada de la zona intermareal adyacente a la Facultad de Ciencias Marinas, a una pila de 300,000 litros de capacidad. Mediante gravedad la hace llegar a la bomba exterior del laboratorio la cual a través de un sistema hidroneumático la manda a la distribución interna del laboratorio a una presión de 25 a 30 lbs psi (1.8 a 2.1 kg/cm<sup>2</sup>).

El agua de mar que entra al laboratorio via esta

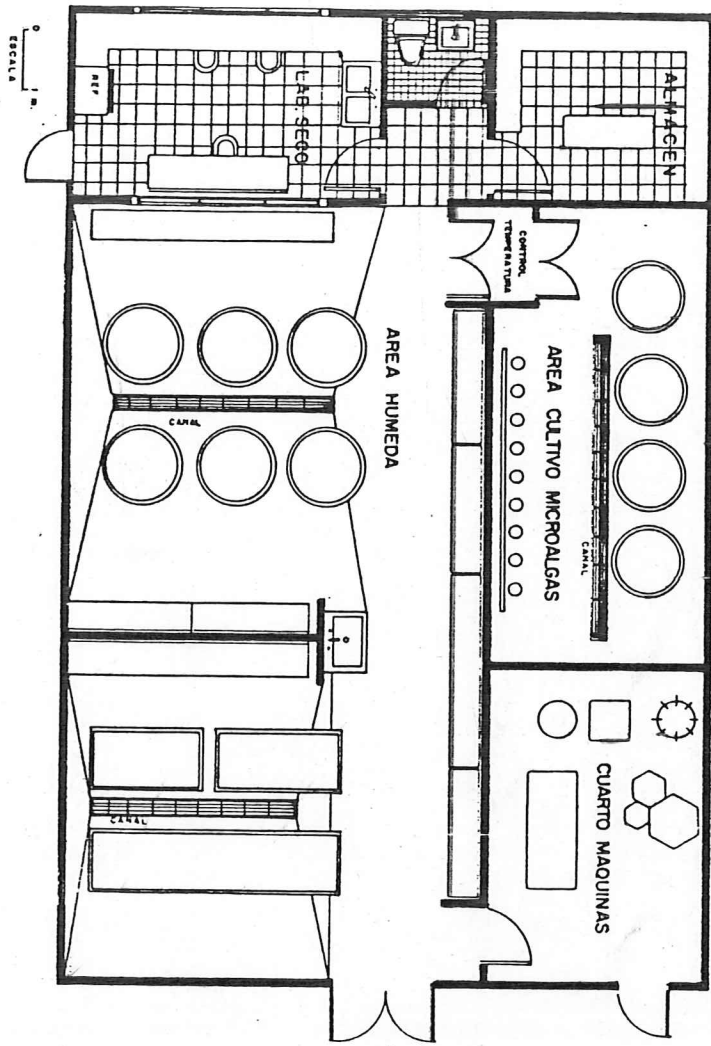


Figura 4.- Vista de planta del laboratorio de Moluscos mostrando la distribución general de las diferentes áreas de trabajo.

bomba, pasa por dos filtros rápidos de arena inmediatamente al entrar al laboratorio. Se cuenta también con agua de mar cruda (sin filtrar), la cual entra al laboratorio por gravedad directamente desde la pila distribuidora.

Inmediatamente después de pasar por el sistema de filtración hay una bifurcación en el sistema de agua. Una línea pasa por un intercambiador de calor que provee al laboratorio con agua caliente, mientras que la otra línea distribuye agua a la temperatura ambiente.

El aire que es utilizado en el laboratorio es suministrado por un compresor CONDE 12 desde el Laboratorio de Acuicultura. Este compresor es compartido por ambos laboratorios, por lo que hubo la necesidad de reforzar el suministro a mediados de junio con un compresor pequeño CONDE-3, instalado en el cuarto de máquinas del Laboratorio de Moluscos.

La tubería que lleva el aire del Laboratorio de Acuicultura al Laboratorio de Moluscos, es de PVC con un diámetro de 1 1/2" (3.8 cm) el cual después de entrar al cuarto de máquinas se continúa al cuarto de cultivo de microalgas, mientras que al entrar al resto del laboratorio se reduce a un diámetro de 3/4" (1.9 cm).

El bombeo poco eficiente desde la toma de agua de mar hacia el tanque distribuidor central, determinaron condiciones muy inestables de suministro durante toda la temporada de trabajo.

### 3.2 DESCRIPCION PARTICULAR DE SECCIONES Y SERVICIOS

#### 3.2.1 Area seca

Comprende 13.30 m<sup>2</sup> y en el se llevan a cabo todas las actividades que son requeridas para el cultivo y/o mantenimiento de microalgas y larvas.

Principalmente es utilizado por el personal de microalgas para hacer los inoculos necesarios, por lo que cuenta con una linea de gas que alimenta dos mecheros instalados para ese proposito. Tambien se utiliza para la preparaci3n del medio de cultivo utilizado y que es guardado en un refrigerador de seis pies c3bicos disponible para este fin.

El personal que se encarga del cultivo de larvas realiza el conteo, medici3n y monitoreo de larvas y semilla en este laboratorio seco, por lo que cuenta con un microscopio compuesto marca BAUSCH-LOMB y un microscopio esterscopico marca AMERICAN OPTICAL.

Debido a que esta àrea cuenta con un lavabo para lavar material, es comùn que no cumpla plenamente su funciòn de ser un laboratorio "seco" (figura 4).

### 3.2.2 Secciòn hùmeda de larvas

Es una àrea que cuenta con 42.57 m<sup>2</sup>, tiene para el mantenimiento de larvas seis tanques de fibra de vidrio, tres de ellos son de 1,000 litros y tres de 1,200 de capacidad ùtil.

Para el llenado de estos tanques cuenta con dos juegos de dos llaves de PVC de 1 1/2" (3.8 cm) que permiten mezclar agua fria con agua caliente. Un par de llaves màs se utiliza para enjuagar larvas y semilla por lo que se encuentra encima de una mesa de trabajo. Existe en esta secciòn otra mesa de trabajo que se utiliza principalmente para efectuar los desoves (figura 4).

Para realizar la desinfecciòn de tamices y tuberia en general, se cuenta con dos recipientes de 150 litros los cuales se llenan con agua dulce a una concentraciòn de 100 partes por millòn (ppM) de hipoclorito de sodio.

Para la esterilizaciòn del agua de mar se cuenta con un aparato irradiador de rayos ultravioleta marca

ULTRAVIOLET TECHNOLOGY modelo L-150. En un inicio se encontraba en el cuarto de máquinas pero en marzo se instaló en esta sección.

También se cuenta con otro aparato de luz ultravioleta modelo H-50 con el propósito de esterilizar el agua dulce que se pudiera requerir para disminuir la salinidad en caso necesario.

La distribución del alimento desde el cuarto de cultivo de microalgas se lleva a cabo mediante una bomba centrífuga "Little giant" marca MARCH modelo 3-MD-SC de 1/12 HP y gasto de 12 GPM (45 LPM).

### 3.2.3 Sección húmeda de semilla

En sus 30.90 m<sup>2</sup>, esta área contiene diversas estructuras utilizadas para mantener progenitores, larvas que están en fijación y semillas.

La estructura para mantener progenitores contiene dos charolas de 2.50 X 0.82 X 0.16 m -300 litros útiles- que reciben un flujo de alimento proveniente de un recipiente que contiene la ración diaria.

En uno de los extremos de las charolas, se encuentra

un tanque de fibra de vidrio que recibe agua de mar sin filtrar y agua de mar caliente. Mediante una mezcla adecuada es posible obtener la temperatura mas propicia para mantener los progenitores porque este tanque alimenta con esta agua las charolas en mención, descargando el agua en el canal de desagüe.

Por falta de espacio en la sección de larvas, la fijación se realiza en dos tanques circulares de 1,200 litros de capacidad útil que se encuentran en esta sección.

Desde septiembre éstos tanques se sustituyeron por una estructura que sostiene dos tanques rectangulares, uno de 2.44 X 0.77 X 0.46 m y otro de 1.80 X 0.94 X 0.60 m de 676 y 846 litros utiles respectivamente.

La estructura que propiamente es para engordar semilla, consiste en una estructura de tres niveles que sostiene tres canales de fibra de vidrio de 2.30 X 0.30 X 0.30 m -150 litros utiles- y un tanque rectangular de 2.44 X 0.76 X 0.46 m equivalente a 667 litros utiles (figura 5).

Posteriormente se utilizò en combinación con estos tanques, barriles de plástico de 200 litros partidos

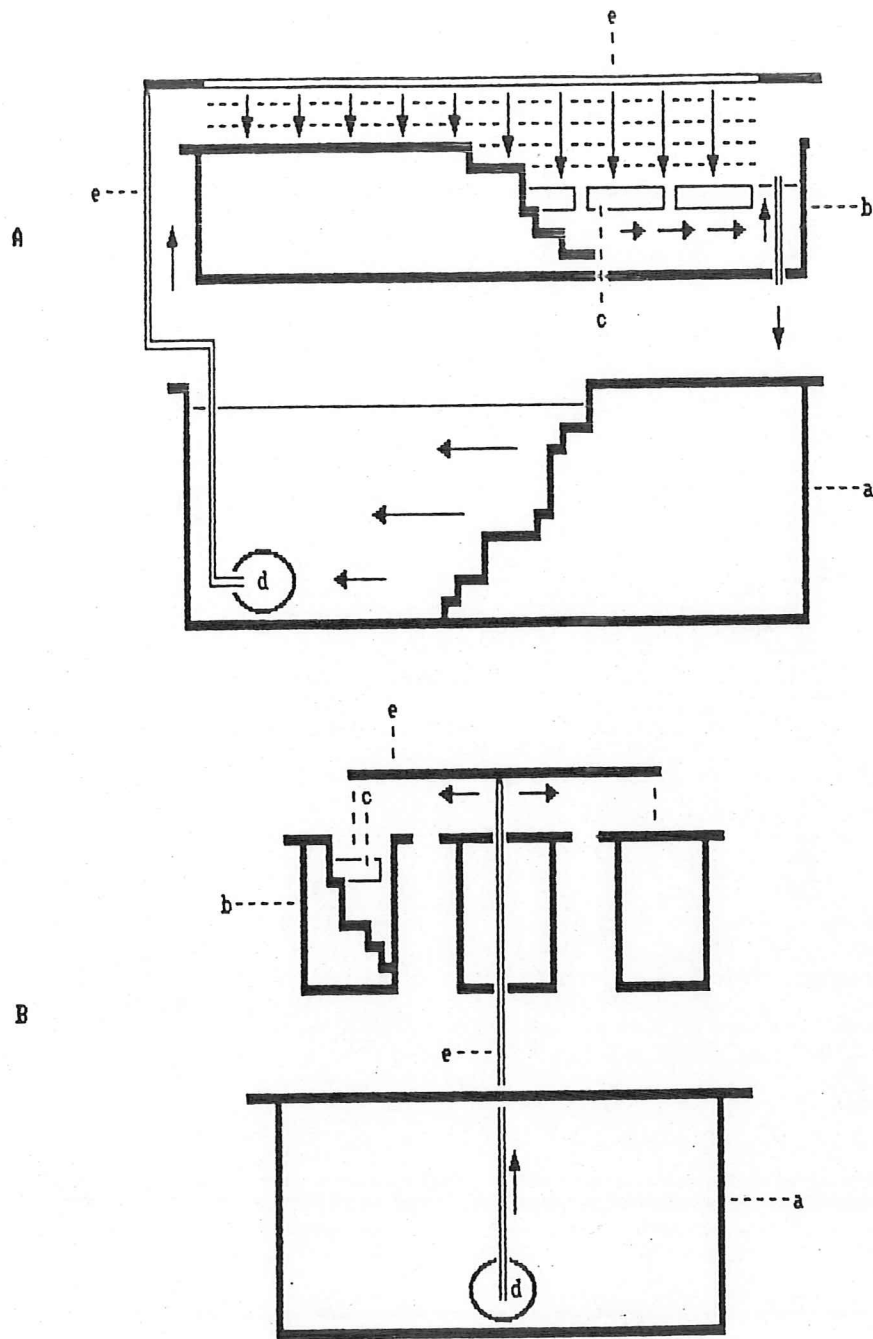


Figura 5.- Vista lateral (A) y de frente (B) del sistema de preengorda de ostrillas, compuesto de a) un tanque inferior; b) tres canales que contienen los marcos de preengorda c); d) la bomba centrífuga y e) la tubería de distribución.

en dos para hacer observaciones preliminares sobre este nuevo sistema de "surgencia" (Claus,1981) que tiene como objeto preengordar la semilla (figura 6).

Para el suministro de agua a todas estas estructuras se cuenta con un juego de dos llaves de PVC de 1 1/2" (3.8 cm) colocada en el centro de esta sección.

#### 3.2.4 Sección húmeda de microalgas

El cultivo de microalgas se lleva a cabo basicamente en 22.42 m<sup>2</sup>, sus estructuras esenciales consisten en una que soportan ocho tanques de 380 litros de capacidad util, otra más con 16 garrafones de 20 litros y por último, una estructura utilizada para colocar un número variado de recipientes Erlenmeyer y Fernbach.

La iluminación es uno de los factores más importantes que intervienen en el cultivo de microalgas, Esta iluminación es llevada a cabo por ocho lamparas de 500 watts de arco metalico para los tanques de 380 litros. Es necesario un total de ocho lamparas de 8 pies (2.4 m) de luz blanca de 75 watts y ocho lamparas de 4 pies (1.2 m) de luz blanca de 40 watts para garrafones y el resto de recipientes de cultivo.

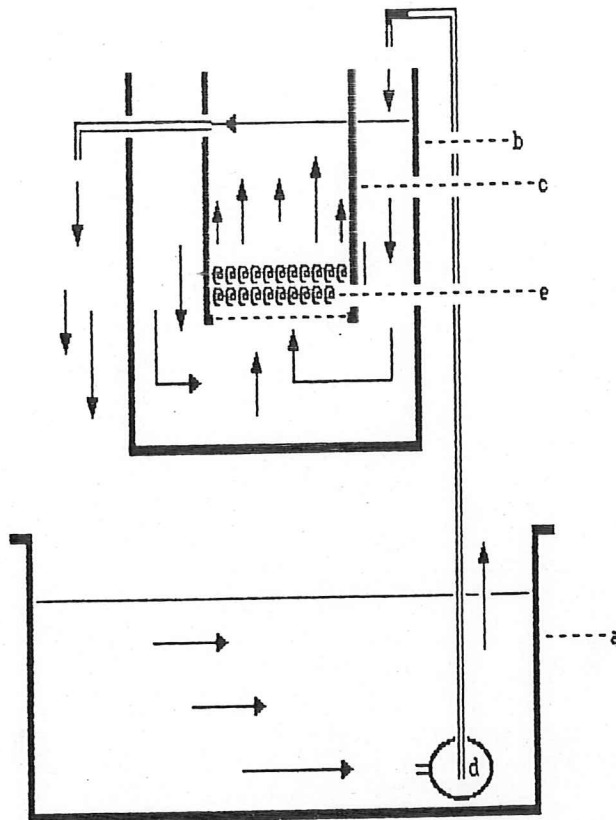


Figura 6.- Vista lateral del sistema de surgencia utilizado, se compone de a) un tanque distribuidor; b) un tanque receptor; c) el recipiente contenedor de semilla; y d) la bomba de circulación. Las flechas indican la circulación de agua que es forzada a pasar por las capas de semilla e).

Se cuenta con un sistema de agua de mar filtrada y agua dulce que puede ser pasada por un esterilizador de luz ultravioleta modelo H-50.

El sistema de aire cuenta con una trampa de humedad y dos filtros GAMMA-12 antes de pasar a los garrafones de cultivo. Los recipientes de cultivo menores no cuentan con aereación.

### 3.2.5 Cuarto de máquinas

Su extensión es de 14.96 m<sup>2</sup>, y contiene el sistema de filtros rápidos de arena, la caldera con el intercambiador de calor, el compresor de aire y un desmineralizador de agua. Posteriormente en este cuarto se colocó un compresor de aire CONDE-3 (motor de 3/4 HP) como se mencionó anteriormente.

El sistema de filtros se compone de dos filtros TRITON de 60 GPM (227 LPM). La caldera es marca BELL-GOSSETT de 68 galones (257 l) de capacidad.

### 3.2.6 Almacén

En los 8.96 m<sup>2</sup> con los que cuenta se acomodaron tres estantes metálicos que permiten guardar y almacenar

el material que posteriormente se utilizará en las diferentes funciones del laboratorio.

Para congelar esperma de ostión y reactivos químicos se cuenta con un congelador de 12 pies cúbicos de capacidad.

### 3.2.7 Exteriores

A la altura del cuarto de máquinas se encuentra instalada la bomba que suministra agua al Laboratorio de Moluscos y al Laboratorio de Acuicultura. Esta bomba es marca STA-RITE de 3/4 HP y está conectada a un cilindro de presión de fibra de vidrio que completa el sistema hidroneumático. Esto permite suministrar el agua a una presión de 25 a 30 libras psi (1.7 a 2.1 kg/cm<sup>2</sup>).

Junto a la bomba se encuentra el depósito de diesel que alimenta de combustible a la caldera.

## 3.3 RUTINAS GENERALES DE TRABAJO

### 3.3.1 Colecta de sementales

El Instituto de Investigaciones Oceanológicas cuenta en Bahía San Quintín, B.C. con una balsa de cultivo

que es utilizada para apovar los proyectos de investigación.

Los sementales que son utilizados en el Laboratorio de Moluscos provienen de esta bahia por lo que es muy conveniente mantenerlos en dicha balsa.

Originalmente se compraron un total de 300 organismos en el mes de febrero que se escogieron entre los más grandes y bien formados para ser utilizados a lo largo del año.

Estos ostiones no fueron de utilidad por no encontrarse con un indice de condición adecuado para los primeros desoves de la temporada por lo que se desecharon definitivamente.

Se optò por buscar organismos con una mejor condicion en otros lotes o localidades, aparte de los que se tenían destinados específicamente para este proposito.

Se trajeron lotes desde Puerto Peñasco, Son., y Bahía de San Luis Gonzaga, B.C., encontrando al principio del año, solamente un lote de ostiones maduros de los que fueron traídos de Puerto Peñasco.

Todos los demás organismos utilizados como progenitores durante la temporada de trabajo fueron cultivados en Bahía San Quintín, B.C.

Después de ser seleccionados, se transportaban al laboratorio en donde eran enjuagados con agua dulce y limpiados de epibiontes con la ayuda de cepillo y cuchillo.

Si no eran sometidos a desove inmediatamente, se colocaban en las charolas con agua corriente y alimento.

### 3.3.2 Desoves

Durante los primeros cuatro desoves, la realización del próximo desove lo determinaba la disponibilidad de tanques vacíos. A partir del quinto desove, se intentó programar un desove cada 15 días. De esta manera se podría programar la eliminación de larvas del desove en proceso, para dar paso a larvas de un nuevo desove. Así, para el día 20 se tendría la mitad de los tanques con larvas de 20 días y la otra mitad con larvas de 5 días.

Los sementales escogidos se lavaban con agua dulce y se limpiaban con un cepillo antes de someterlos al

proceso de desove.

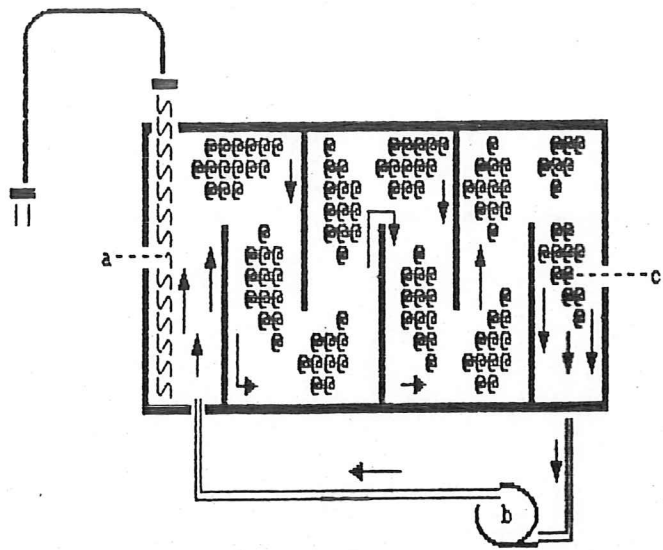
El método normalmente consiste en una combinación de dos estímulos, físico (cambio de temperatura) y biológico (presencia de esperma).

El desove se lograba mediante la utilización de una caja de acrílico con divisiones en su interior que semejan un laberinto o serpentín. Esta caja o serpentín de desove, tiene en sus extremos unos aditamentos para conectar una pequeña bomba centrífuga de 1/40 HP en la salida y una ranura para sostener la manguera de entrada de agua. Esto tiene como función recircular el agua dentro del serpentín de desove, homogenizar la temperatura y crear una corriente que estimule el desove.

La temperatura se incrementa mediante una resistencia de 1000 watts que se coloca en la entrada del agua que circula (figura 7).

Dependiendo del tamaño de los organismos es posible colocar de 20 a 30 ostiones en este serpentín, después de lo cual se les deja con el agua recirculando de 10 a 15 minutos a la temperatura ambiente..

A



B

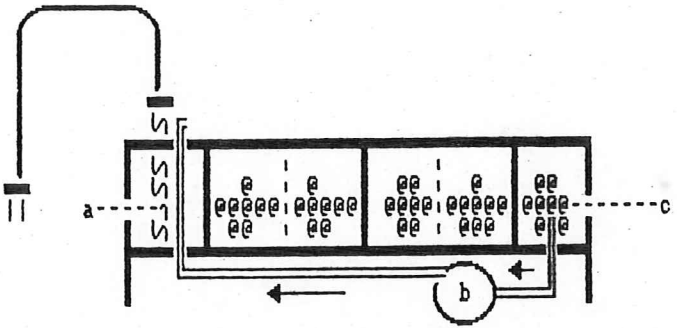


Figura 7.- Vista de planta (A) y lateral (B) del serpentín de acrílico utilizado para los desoves; a) resistencia de 1000 watts; b) bomba centrífuga; c) ostiones.

Mediante la resistencia se incrementa la temperatura hasta alcanzar los 25°C, manteniéndose a esta temperatura por aproximadamente 30 minutos. Comúnmente el desove se obtiene alrededor de los 29°C, por lo que se enciende de nuevo la resistencia hasta alcanzar esta temperatura.

Si después de 45 a 60 minutos no hay resultados positivos, se drena completamente el serpentín y se dejan en seco por 30 minutos para reiniciar el proceso.

Durante la época en que los ostiones están maduros, el desove no tarda más de 30 minutos después de haberlos dejado en seco por primera vez.

Cuando los organismos están iniciando su temporada de desove o al final de la misma, es recomendable utilizar esperma -congelado con anterioridad- para ayudar en el estímulo. De hecho si no hay limitante en el esperma congelado, puede aplicarse como una rutina normal en los desoves a lo largo de todo el año.

Después de que alguno de los ostiones inicia el desove -generalmente un macho-, se les deja en el serpentín por unos momentos para que las gametas liberadas sirvan como un estímulo adicional para los demás organismos.

Cuando se extrae del serpentín se coloca en un recipiente con agua a 29°C. El tipo de recipiente usado dependerá del sexo del desovante.

Para los machos, el recipiente debe ser pequeño, (aprox. 2 l) para evitar que el esperma se diluya demasiado. Las hembras es recomendable colocarlas todas juntas en un recipiente grande.

Para tratar de evitar que las hembras detengan el desove, resulta efectivo colocar este recipiente sobre una plancha de agitación con un agitador magnético, con el propósito de seguir creando una corriente de agua que continúe el estímulo de desove.

### 3.3.3 Fertilización

Cuando las hembras ya han terminado de desovar o cuando ya se considera que se tiene un número suficiente de óvulos, las hembras son sacadas del recipiente donde desovarón y enjuagadas.

Con el propósito de eliminar basura y desechos orgánicos que se encuentren en la cubeta junto con los óvulos se procede a tamizar los óvulos. Se pasan a través de un tamiz de 80  $\mu\text{m}$  y son retenidos en uno de 30  $\mu\text{m}$ .

Después de haberlos enjuagado se resuspenden en 15 litros en una cubeta de 20 litros.

En el caso de los machos, es común que continúen desovando por un tiempo más prolongado que las hembras, por lo que para la fertilización se utilizó el esperma expulsado más recientemente de no menos de tres machos, procurando que el mismo esté concentrado.

Para el proceso de la fertilización en lugar de utilizar de 2 a 4 ml de "esperma denso" por millón de óvulos como lo recomienda Breese y Malouf (1975), se utilizó de 10 a 60 ml de "esperma denso", para fertilizar los óvulos presentes en 15 litros.

Inmediatamente después de colocado el esperma se homogeniza la mezcla con la ayuda de un agitador de plexiglas y se dejan 15 minutos en reposo. Después de este tiempo se observa una muestra al microscopio para evaluar empíricamente la proporción de fertilización y dar por concluido el proceso de fertilización o darle un poco más de tiempo.

Después de la fertilización, los huevos se diluyen en un tanque de cultivo de 1,000 a 1,200 litros, con la intención de que no queden a una densidad mayor

de 200 por mililitro (Breese y Malouf, 1975).

Durante esta etapa del cultivo no se les suministra aereación ni alimento, de acuerdo con lo recomendado por Breese y Malouf (1975).

Debido al interés de obtener el mayor número de óvulos posible, el tiempo desde el inicio del desove de las hembras hasta el momento de la fecundación normalmente no es menor de dos horas.

#### 3.3.4 Manejo y mantenimiento de larvas

##### a.- Cambios de agua

Dependiendo de la temperatura del agua, los embriones transformados en larvas veliger "D" charnela recta, están listas para su primer cambio de agua a las 24 ó 48 horas de iniciada la fecundación. En los meses de verano se tamizan a las 24 horas y en los meses de invierno a las 48 horas.

El drenado del tanque con larvas se lleva a cabo mediante la utilización de dos sifones contruidos con tubo de PVC y manguera de 1" (2.5 cm) de diámetro. Estos sifones drenan sobre tamices de 12" (30.5 cm) de diámetro con luz de malla que se varia según las

tallas de las larvas.

Cuando el sifón se "corta" es común que queden algunos centímetros del tanque con agua, por lo que se utiliza la llave de bola de PVC de 3/4" (1.9 cm) que tiene en el fondo el tanque para drenarlo completamente sobre el tamiz, ó bien, eliminar las larvas sedimentadas.

b.- Tamizado

Precediendo al drenado del tanque, en caso necesario, las larvas pueden ser separadas por tamaños con la ayuda de tamices adecuados.

En la tabla II, se encuentran resumidos la luz de malla de los tamices propuestos por Breese y Malouf (1975), Gendrop (1984) y Lizàrraga (1984).

En vista de que Gendrop y Lizàrraga proponen como base el manual de Breese y Malouf (1975), se iniciaron los trabajos tratando de ajustarse a lo recomendado por estos últimos.

Para los últimos cuatro desoves realizados, se determinó un método diferente al descrito por Breese y Malouf (1975). La utilización de mallas de mayor tamaño se determinó no por semana, sino por la proporción

-estimada a ojo- de larvas retenidas en los dos tamices utilizados. Cuando la proporción de larvas retenida en el tamiz más pequeño era mínima, en el próximo cambio de agua, este tamiz no era utilizado, y se incorporaba al cambio de agua un tamiz mayor.

Tabla II.- Tamaños de luz de malla ( $\mu\text{m}$ ) recomendados en diferentes biotecnias.

DIAS	LIZARRAGA (1984)	GENDROP (1984)	BREESE Y MALOUF (1975)	EN ESTE TRABAJO
0	55 - 60	43		< 40
1 - 7	75 - 120	43	40 - 60	53 - 70
8 - 14	130 - 200	45 - 64	40 - 80	70 - 153
15 - 21	200 - 300	75	80 - 120	153 - 205
> 21		220	120 - 210	205 - 314

Otra diferencia son los tamaños de las mallas utilizadas. Durante este trabajo se utilizaron mallas de 53, 70, 83, 153, 170, 205 y 314  $\mu\text{m}$ . Una secuencia aproximada de las mallas utilizadas con respecto a los días también se muestra en la tabla II.

#### c.- Enjuage

Después del drenado, las larvas son enjuagadas utilizando agua de mar con una concentración de 4 ppm

de hipoclorito de sodio proveniente de un tanque plastico de 200 litros preparado para este fin.

Este enjuage se aprovecha para realizar la separación por tallas en caso requerido. Aunque esta separación no sea necesaria, es importante enjuagar abundantemente las larvas, para separa la basura acumulada desde el último cambio de agua.

d.- Conteo (sobrevivencia)

Despuès de enjuagadas, las larvas son resuspendidas en un volumen de agua conocido -normalmente 15 litros- para ser cuantificadas.

La cuantificación se lleva a cabo mediante la toma de una muestra aleatoria de dos unidades de muestra de 1 ml c/u de la cubeta de 15 litros.

La homogenización de las larvas en la cubeta se realiza con un agitador de plexiglas, y la toma de la muestra mediante una pipeta automática de volumen ajustable.

La muestea se coloca en una camara de conteo SEDWICK-RAFTER de 1 ml de capacidad junto con unas gotas de formól al 5%.

El conteo se lleva a cabo mediante el uso de un microscopio compuesto y un contador mecánico. Antes de agregar el formól se revisa el estado general de las larvas.

La cuantificación en sí, se lleva a cabo multiplicando el promedio de larvas por mililitro, por el número total de mililitros en los que están el total de larvas.

Después de la cuantificación, las larvas se recogen de la cámara de conteo con una pipeta Pasteur y son colocadas en un vial para su posterior medición.

e.- Antibiótico

En los primeros dos desoves se utilizó sulfametazina sódica en los tanques de cultivo durante todo el desarrollo a una concentración final de 50 ppm según lo recomienda Breese y Malouf (1975).

A partir del tercer desove no se utilizó lo recomendado por Breese y Malouf (1975) y se buscó suprimir el uso rutinario del SULMET.

En el tercer desove, se utilizó SULMET solo desde el día 29 en adelante. En el cuarto y quinto desove no se utilizó SULMET en ningún caso.

Ya del sexto al último desove, se utilizó a la misma concentración que al principio pero solo mientras permanecían en la cubeta de conteo.

f.- Redistribución (densidad)

Después de que el total de larvas era estimado, se procedía a hacer la distribución a la densidad deseada en los tanques disponibles.

Al inicio la densidad no debe ser mayor de 10 larvas/ml, y a través del tiempo Breese y Malouf (1975) indican que esta densidad se disminuya hasta alcanzar 5 larvas/ml.

A lo largo del trabajo no se consideró práctico llevar estrictamente esta rutina y la densidad en el cultivo varió de acuerdo a la evolución del mismo y los requerimientos de espacio.

Como ocurre en algunos laboratorios de producción, siempre se trató de terminar con una densidad entre 1.5 a 2 larvas/ml (Im y Langmo, 1977) apesar de no llevar un control estricto sobre la densidad.

g.- Alimentación

La alimentación consistió en la microalga Isochrysis

aff. galbana var. taithiana, y durante el primer y segundo desove, la ración diaria variò de acuerdo con lo recomendado por Bresse y Malouf (1975).

Despuès del primer cambio de agua, durante la primera semana se les suministra 30,000 celulas por mililitro (cel/ml) a los tanques de cultivo. Durante la segunda semana la ración aumenta a 50,000 cel/ml dos veces al dia y en la cuarta semana se aumenta a 80,000 cel/ml, tambien dos veces cada 24 Horas (tabla III).

Del tercer al quinto desove, se realizò la primera de dos modificaciones a la ración diaria recomendada por Breese y Malouf (1975). En èstos desoves se mantuvieron las mismas concentraciones de alimento, pero solamente se suministrò una vez al dia.

La segunda modificaciòn fuè del sexto al octavo desove ya que se suministrò lo correspondiente al volumen de alimento proporcionado por una bomba centrífuga por un minuto, que correspondia a una ración aproximada de 25,000 - 30,000 cel/ml.

#### h.- Medición (crecimiento)

La medición de las larvas se hacia mediante una reglilla micrométrica calibrada previamente y colocada en el

ocular del microscopio compuesto.

Tabla III.- Ración diaria de alimento/semana según Breese y Malouf, 1975.

Semana	Celulas/mililitro
Primera	30,000
Segunda	50,000 X 2
Tercera	80,000 X 2

Nunca se midieron menos de 30 organismos por muestra. Las mediciones de longitud se hicieron tomando el eje antero-posterior de la larva, mientras que las mediciones de anchura se hicieron sobre el eje ventro-dorsal de la larva como se muestra en la figura 8.

Para ser consistentes con las mediciones, los ejes de largo y ancho originales, no variaron a pesar de los cambios morfológicos sufridos por la larva en su desarrollo. Con estos datos, se generaron las curvas de crecimiento reportadas para los desoves correspondientes.

Para tener una estimación del crecimiento, se ajustó una recta por mínimos cuadrados obteniendo la ecuación

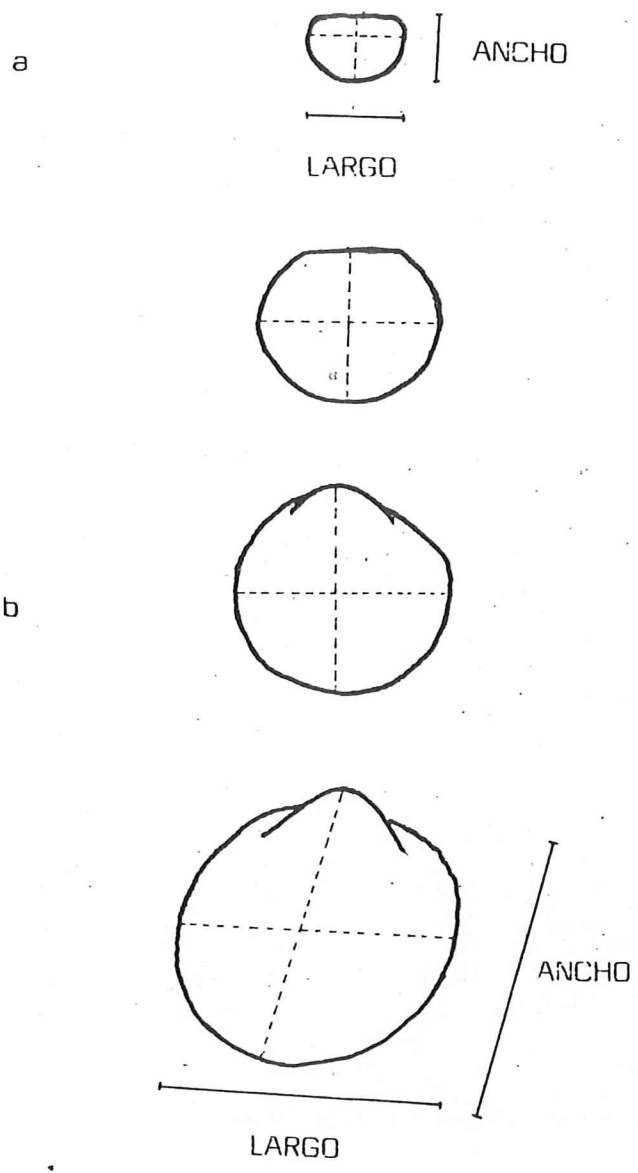


Figura 8.- Planos de medición de la larva en sus diferentes etapas de desarrollo; a) veliger "D" y b) pediveliger.

que define la tendencia de crecimiento.

Para compensar el efecto causado por la eliminación de larvas pequeñas y cosecha de larvas de 314  $\mu\text{m}$  y mayores, solo se tomaron en cuenta los diez valores de longitud más grandes para cada muestra (Sprung, 1984) y se eliminaron los datos de la época de fijación.

#### i.- Temperatura

Para el primer desove se utilizó la caldera para elevar la temperatura del agua a un promedio de 26°C, y del desove segundo en adelante se dejaron los cultivos a la temperatura ambiente.

Como no se llevó un registro continuo de la temperatura, siempre que fué posible se utilizaron los datos de temperatura máxima del agua en el medio ambiente como una aproximación a las temperaturas en el interior del laboratorio.

#### 3.3.5 Fijación

Durante el primer y segundo desove, las larvas obtenidas fueron puestas a fijación cuando se retuvieron en el tamiz de 254 y 261  $\mu\text{m}$  respectivamente según el método de Breese y Malouf (1975).

Observaciones al microscopio de la mancha ocular y el pie en estado avanzado de desarrollo, permitían suponer que estaban lo suficientemente maduras para alcanzar la fijación.

La experiencia con estos dos desoves obligó a cambiar el criterio para determinar el momento más adecuado para iniciar el proceso de fijación.

Desde el tercer desove - en adelante se pasaron a los módulos de fijación solamente las larvas retenidas en el tamiz de 314  $\mu\text{m}$ , independientemente del porcentaje de pediveligers observado a tallas menores.

Después de separadas con tamices y enjuagadas, se colocaban no más de un millón de larvas en una cama de fijación, con fragmentos de concha como sustrato para la fijación.

La cama de fijación consistía en un marco de 0.35 x 0.40 m de tubo de PVC de 1 1/2" (3.8 cm), equivalente a 1,400  $\text{cm}^2$  de área utilizable con un fondo de malla nitex con aberturas de 253  $\mu\text{m}$ .

Los fragmentos de concha se obtenían moliendo concha de ostra en un molino de mano, separando la fracción

entre 264  $\mu\text{m}$  y 314  $\mu\text{m}$ . Se esterilizaban en una autoclave a 121°C con 15 lbs psi (1 kg/cm<sup>2</sup>) por 15 minutos.

Las larvas en la cama de fijación, se colocaban en los tanques con un sistema de circulación de agua. La circulación en los tanques circulares en el primer sistema utilizado hasta septiembre, se llevaba a cabo mediante bombas elevadoras de aire ("air lifts").

En el segundo sistema -de tanques rectangulares-, utilizado hasta el final, la circulación se mejoró mediante la utilización de una bomba centrífuga de 1/40 HP.

La alimentación consistió solamente de Isochrysis aff. galbana var. taithiana, y en noviembre se complementó con Monochrysis lutheri.

La cantidad suministrada no fué registrada, pero siempre se pretendió que no alcanzaran a consumir el total de la ración de un día para otro.

Se trató de efectuar cambios de agua tres veces por semana, pero esto no fué posible debido a la limitación en el suministro de agua, ya que el sistema de agua del laboratorio distribuye agua al Laboratorio de

Acuicultura (de investigación) y en ocasiones al Laboratorio de Maricultura (docencia).

Las camas de fijación, se enjuagaban en agua con 100 ppm de cloro minimamente dos veces por semana y se tamizaban una vez por semana para separar las semillas presentes. Durante este enjuague se observaba el estado general de las larvas en fijación.

Dependiendo de la cantidad de semilla separada, las larvas restantes se colocan en la misma cama de fijación o se juntan las larvas de dos camas en una sola.

#### 4.3.6 Manejo y mantenimiento de semilla

Para la separación de la semilla de las camas de fijación, se utilizó una brocha de cerda de 3" (7.6 cm). El contenido total de la cama de fijación se pasaba por los tamices de 480 y 252  $\mu$ m, reteniéndose la semilla en la malla de 480  $\mu$ m. Se dejaba la semilla menor en las camas de fijación para que creciera lo suficiente y ser separada del sustrato suministrado.

Para manipular semilla de mayor tamaño se utilizó una escobeta de cerdas duras de 5 cm de longitud.

Para dañar minimamente la semilla durante la separación de las camas de fijación o marcos de engorda, se sumergían parcialmente en agua y mediante la brocha o escobeta, se tallaba la malla en donde se encontraban fijadas las semillas.

Originalmente se planteaba la utilización del manejo de semilla propuesto por Lizárraga (1984) en base a los días transcurridos desde la fijación. Cada cinco días se tamizan las semillas con tamices de luz de malla cada vez mayores. En la práctica, este método de manejo no se pudo llevarlo a cabo al encontrarlo inconsistente.

Se optó por separar la semilla por tamaños aproximadamente cada dos semanas, utilizando arbitrariamente las mallas de 480, 900, 1500 y 3000  $\mu\text{m}$ .

Durante todo el año se utilizó principalmente el sistema descrito por Walne (1974), para mantener la semilla. Por falta de espacio las densidades recomendadas para este sistema no se respetaron, sobrecargando con ostrillas las camas de preengorda. El sistema consiste simplemente de marcos de madera o PVC con un fondo de malla de tamaño variado en los cuales se coloca

una capa de semilla. Esta recibe por la parte superior un flujo de agua con alimento. Este flujo puede ser provocado por bombas elevadoras de aire, o como en este caso por una bomba centrifuga de 1/40 HP con un gasto aproximado de 10 GPM (38 LPM).

Como ya fuè descrito, se cuenta con una estructura con tres canales en donde se colocan los marcos de preengorda y un tanque de donde se distribuye agua y alimento (figura 5).

A partir de septiembre se utilizò con el sistema antes descrito un sistema de "surgencia" (Claus, 1981) para hacer observaciones preliminares (figura 6). Este sistema consiste basicamente en suministrar el agua con alimento a la semilla mediante un flujo forzado de "abajo hacia arriba".

Se pretendia hacer los cambios de agua a la semilla minimamente dos veces por semana, pero por los factores explicados anteriormente no fuè posible hacerlo, y en ocasiones solo se pudo renovar el agua del tanque distribuidor, que es el de mayor volumen.

La medicion de la semilla se hacia mediante una reglilla calibrada puesta en el ocular del microscopio

compuesto. Cuando la semilla era mayor de 1 mm se utilizò el microscopio esteroscòpico colocando un papel milimètrico bajo una caja de petri que contenia la muestra a medir.

La cuantificación por peso se hacia cuando la semilla tenia 1.5 mm ò mas, mediante la utilización de una balanza anàlitica, en la cual se pesaban no menos de tres muestras y el total de la semilla a cuantificar. Con la ayuda del microscopio compuesto se contaban las muestras, se promediaban, y mediante una regla de tres se obtenia la cantidad total.

La semilla muy pequeña -menor de 1,5 mm- se contò mediante el mètodo volumètrico para zooplàncton propuesta por Persoone (1971), y fuè aplicado solamente para cuantificar las postlarvas del ùltimo desove.

#### 3.4 CULTIVO DE MICROALGAS

Para la producción de alimento, se utilizò el mètodo de cultivos estàticos, inoculando de volùmenes pequeños a volùmenes cada vez mayores. Para llegar a los niveles de 500 litros que requerimos, es necesario pasar por tres niveles previos.

El primer nivel es mediante Erlenmeyers de 250 ml, el segundo nivel con Fernbach de 2,800 ml, y el tercer nivel mediante garrafones utilizados para agua potable de 20 litros de capacidad. Las inoculaciones de los primeros tres niveles se llevan a cabo entre dos mecheros para evitar la contaminación.

El medio de cultivo utilizado fue el de Matthiessen y Torner (1966). Dependiendo del nivel de que se trate se utiliza agua de mar filtrada, esterilizada con autoclave y/o irradiada con luz ultravioleta.

Al principio de los trabajos se cultivaron las microalgas a la salinidad a la que se había estado cultivando anteriormente en el laboratorio, a 28 partes por mil (ppm ó %). Debido a problemas en el suministro de agua dulce para hacer las diluciones, se decidió cultivarlas a 34 partes por mil, ya que las larvas también se cultivaron a dicha salinidad.

#### 3.4.1 Preparación del medio de cultivo

##### a).- NUTRIENTES MAYORES -Solución stock-

NaNO <sub>3</sub>	-----	150 g/l	Agua destilada
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	-----	10 g/l	" "

Se utiliza un mililitro por cada litro de agua de mar a preparar.

b).- NUTRIENTES MENORES -Solución stock primaria-

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	-----	1.96 g/l	Agua destilada
$\text{ZnSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	-----	4.40 g/l	" "
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	-----	2.00 g/l	" "
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	-----	36.00 g/l	" "
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	-----	1.26 g/l	" "

Para completar la Solución stock, utilizamos EDTA y Cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ). Disolvemos 3.15 g de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  y 4.36 g de EDTA ( $\text{Na}_2$ ) en 900 ml de agua destilada, agregamos un mililitro de cada una de las soluciones stock primarias de metales traza, se afora a 1 litro, y bajamos el pH a 2.0 con ácido clorhídrico en caso necesario. Utilizamos un mililitro de esta solución por cada litro de agua de mar a preparar.

c).- VITAMINAS -Solución stock primaria-

Biotina cristalina	---	1 mg/l	Agua destilada
Vitamina B 12 cristalina	---	1 mg/l	" "
Tiamina hidroclorehidrica	----	200 mg/l	" "

Estas soluciones se colocan en tubos de ensayo con rosca para ser esterilizadas después de ser

acidificadas. De estas soluciones se utiliza un mililitro por litro de agua de mar a preparar.

### 3.4.2 Esterilización y desinfección

#### a).- Esterilización física

Se realizó mediante una autoclave, manteniendo el material a esterilizar y el medio de cultivo a  $121^{\circ}\text{C}$  con 15 lbs psi ( $1 \text{ kg/cm}^2$ ) durante 15 minutos (Hamilton,- 1973).

Así mismo, se utilizó un irradiador de rayos ultravioleta fabricado por Ultraviolet Technology modelo H-50.

#### b).- Desinfección química

Mediante la utilización de una solución stock preparada con cloro comercial (al 6%) para desinfectar y una solución stock de tiosulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) para neutralizar el cloro en agua de mar.

Para preparar las soluciones stocks, se utilizan 416 ml de cloro y se aforan a 1000 ml, y 248.1 g de tiosulfato de sodio aforado a 1000 ml con agua destilada previamente hervida.

De la solución stock con cloro se utiliza 0.25 ml/litro de agua de mar y se deja en reposo por 12 horas. Para neutralizarlo se añade 0.1 ml/l de la solución stock de tiosulfato de sodio y se deja reposar una hora con aereación (Hamilton, 1973).

### 3.4.3 Suministro del medio de cultivo

#### a.- Niveles inferiores

Para los primeros dos niveles, Erlenmeyer y Fernbach, se colocan los nutrientes mayores y menores directamente en los recipientes antes de ser esterilizados en la autoclave. Las vitaminas se añaden posteriormente cerca de dos mecheros que se utilizan para inocular y evitar la contaminación de los medios de cultivo.

#### b.- Niveles intermedios

En el tercer nivel, debido a que los garrafones no toleran la esterilización mediante la autoclave, se desinfectan químicamente. Los nutrientes son esterilizados en la autoclave utilizando botellas de suero, de donde se suministran al garrafón junto con las vitaminas una vez que este esté desinfectado.

#### c.- Niveles masivos

Para el caso de los tanques -cuarto nivel-, no se

esterilizo ni el medio de cultivo, ni las vitaminas. Se utiliza unicamente el aparato de ultravioleta cuando se llenan los tanques.

#### 3.4.4 Suministro del alimento

##### a.- Cuantificación

Antes de añadir el alimento a los tanques de cultivo de larvas, se cuantifican mediante la utilización de un espectrofotometro HACH modelo DR-EL/4. Con él, se determina la transmitancia del cultivo, que esta relacionada con la cantidad de células por mililitro.

Para conocer esta relación se utiliza la ecuación de la regresión lineal obtenida con anterioridad para la especie. Mediante este sistema es fácil la cuantificación diaria de todos los tanques en producción.

##### b.- Suministro

Como ya ha sido mencionado, para el suministro del alimento, se utiliza una bomba centrifuga de 1/12 HP de un gasto aproximado de 12 GPM (45 LPM).

Conociendo el gasto de la bomba y la concentración de microalgas, es posible calcular el tiempo de suministro a los tanques con larvas para alcanzar la densidad

el alimento requerida.

### 3.5 ASPECTOS GENERALES DE LIMPIEZA

#### 3.4.1 Utensilios en general

Todos los utensilios que de una u otra manera intervienen en el manejo de adultos, semillas, larvas y microalgas, reciben una limpieza muy cuidadosa.

Las cubetas, marcos de fijación, tanques de cultivo, pipetas, etc., son lavadas con una solución jabonosa de Alconox con hipoclorito de sodio y un cepillo ancho de cerdas plasticas.

Otro tipo de utensilios, como tamices, mallas y filtros de cartucho se sumergen en un recipiente con agua a 100 ppM de hipoclorito de sodio.

Las diferentes mangueras utilizadas, que no pueden ser lavadas con cepillo y son muy largas para ser colocadas en el recipiente con cloro, se lavan y desinfectan mediante la utilización de la bomba centrifuga.

Con esta bomba y mangueras se arregla un sistema

cerrado por el cual circula agua con cloro. Este mismo sistema se utiliza para desinfectar dentro de lo posible la tubería principal del laboratorio. Esto se realizó tres veces para la tubería principal durante el tiempo de trabajo y cuatro veces para las mangueras en el mismo tiempo.

Para el retrolavado de los filtros rápidos de arena, se inició retrolavándolos una vez por mes, pero posteriormente fué necesario hacer un retrolavado minimamente cada vez que se hacía un cambio de agua a las larvas, normalmente cada tercer día.

### 3.6 DETERMINACION DE LA CAPACIDAD DE PRODUCCION

De enero a noviembre de 1985, se estableció una rutina de producción de microalgas, desde el primer nivel de 250 ml, hasta una producción sostenida en el cuarto nivel que corresponde a los 380 litros.

Durante este tiempo se obtuvo la información necesaria para determinar la capacidad de producción de microalgas. Esta información fué la base para determinar la capacidad total del laboratorio en los sistemas de producción de larvas y semilla.

Los factores que determinan en mayor medida la capacidad de producción de un laboratorio son el espacio e infraestructura instalada además del alimento disponible.

Tomando esto en cuenta, y para determinar la capacidad de producción del Laboratorio de Moluscos, se consideraron dos aspectos; la producción de acuerdo a la infraestructura instalada sin limitación en el alimento, y la capacidad de producción según la producción de alimento sin considerar el espacio e infraestructura como limitante.

Para determinar la capacidad de mantenimiento de larvas según el alimento disponible, se utilizaron las dietas recomendadas por Breese y Malouf (1975) y la considerada más práctica y adecuada al final de la temporada en este trabajo.

La densidad de larvas iniciales se estableció en 10 larvas/ml y la densidad final en 1 larva/ml.

Para calcular la capacidad de fijación de la larva, se utilizaron dos métodos contrastantes en la densidad de larvas/cm<sup>2</sup>.

Uno es el recomendado por Gendrop (1984) y Lizarraga (1984) correspondiente a 5,555 larvas/cm<sup>2</sup> y el otro el recomendado por O'Sullivan y Wilson (1976) equivalente a 333 larvas/cm<sup>2</sup>.

Debido a que es un método de preengorda descrito al detalle y abarca desde la fijación hasta los 4 mm se utilizó la técnica aplicada por Walne (1974) para ostrillas de Ostrea edulis. Aparte de estas ventajas, es aplicable en cuanto al manejo de semilla a Crassostrea gigas (Mercer, 1981) (tabla IV).

Para determinar la dieta que da mejor crecimiento a ostrillas de C.gigas se seleccionó y modificó la técnica descrita por Langton y McKay (1976). Ellos obtienen resultados óptimos a 180,000 cel/ml/día en un régimen de alimentación discontinua en periodos de 6 hrs en un volumen de agua de 50 ostrillas/litro.

La modificación realizada a la técnica se deriva de los resultados que ellos mismos obtuvieron (Langton y McKay, 1976), en donde reconocen que la semilla menor a 3 mm no alcanza a terminarse el alimento a la concentración de 180,000 cel/ml/día, y no encuentran diferencia en el crecimiento si se alimentan con 120,000 cel/ml/día hasta tener 3 mm.

Tabla IV.- Número de ostrillas por cm<sup>2</sup> dependiendo de su tamaño según lo recomendado por Walne (1974) y Mercer (1981) utilizado para determinar la capacidad de producción.

TALLA EN mm.	OSTRILLAS/cm <sup>2</sup>
0.4	25
1	21.25
2	15
3	8.75
4	2.5

Tomando lo anterior en cuenta, la dieta seleccionada como óptima es de 120,000 cel/ml/día desde postlarva -0.4 mm- a semilla menor de 3 mm, y de 180,000 cel/ml/día para ostrillas de 3 a 4 mm.

Para conocer el total de litros requeridos se calcularon los litros de alimento requerido cuando se utilizan tres ó seis tanques con larvas junto con los requerimientos para otras etapas del proceso como sería la fijación y diferentes tamaños de semilla.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 DESOVES OBTENIDOS

Desde febrero de 1985 se trajeron lotes de ostiones de Bahía San Quintín para dar inicio con los estímulos de desove. No fue sino hasta principios de abril cuando se logró tener éxito en la obtención de gametas.

A partir de abril se realizaron un total de ocho desoves. El último desove se realizó la segunda quincena de octubre.

El número de organismos que respondieron al estímulo solo se registró para los desoves uno, cinco, seis, siete, y ocho (tabla V).

La cantidad de ostiones que se pusieron a desovar fluctuó de 19 a 35 organismos, aunque el tamaño de los mismos fue similar.

El éxito en los desoves varió de un 25.7% a un 100%. - Así, mientras la cantidad de machos que desovaron varió de 5 a 15, la cantidad de hembras fue de 1 a 12 (tabla V).

Es notorio la menor cantidad de hembras que desovaron con respecto a los machos. Aunque al no sacrificar los organismos que no desovaron para conocer su sexo, no es posible determinar la relación macho:hembra y por lo tanto no se puede hablar del porcentaje de hembras y machos desovantes (solo se puede determinar el porciento total).

TABLA V.- Información de los resultados de algunos de los desoves. Número promedio de larvas/hembra dado en millones.

	TOTAL OSTIONES A DESOVE	MACHOS DESO- VANTES	HEMBRAS DESO- VANTES	% DE DESO- VANTES	X DE LARVAS/ HEMBRA
DESOVE 1 8 ABRIL	20	8	12	100	1.03
DESOVE 5 20 AGOSTO	27	5	4	33.3	15.24
DESOVE 6 2 SEPT.	29	15	5	69.0	25.34
DESOVE 7 17 SEPT.	35	8	1	25.7	50.02
DESOVE 8 15 OCT.	19	11	4	79.0	34.43

En el unico desove donde se pudo determinar la relación hembra:macho fuè en el primero, en el cual desovaron el 100% de los ostiones. Aquí la relación es de 1.5:1 favorable a las hembras ya que desovaròn 12 hembras y 8 machos.

Es importante resaltar que durante el primer desove, el periodo de estímulo a los organismos fuè muy superior -màs de 24 hr- al aplicado a los demas desoves.

No podemos hablar de gametas totales ò promedio debido a que se interrumpieron los desoves o continuaron desovando en la charola de mantenimiento.

Aùn asi, asumiendo que autores como Hidu (1969) y O'Sullivan y Wilson (1976) tuvieran razòn al reportar una diferencia del 0 al 30% de òvulos fecundados a larvas veliger "D" charnela recta, el nùmero de òvulos promedio por hembra -considerando un 30% de diferencia- seria de 1.34 millones en el primer desove, se incrementaria hacia el sèptimo desove alcanzando un màximo de 65.03 millones para disminuir posteriormente en el ultimo desove a 44.76 millones de òvulos promedio por hembra.

La cantidad de esperma que se puso en contacto con los òvulos (10 a 60 ml por 15 l), aparentemente no tuvo un efecto negativo sobre el desarrollo de las larvas. Las observaciones que se hicieron durante el primer cambio de agua no mostraron embriones o larvas deformes.

#### 4.2 LARVAS PRODUCIDAS

A pesar de haber intentado desoves desde el mes de febrero, no fué hasta abril que se logro tener éxito, obteniendo un promedio de larvas "D" por hembra de 1.03 millones.

A medida que avanzaba la temporada de trabajo -y de madurez de los ostiones-, la tendencia de producción de larvas por hembra se fué incrementando a 15.24 millones en agosto, llegando a un máximo de 50.02 millones en septiembre para volver a decrecer en octubre a 34.43 millones (tabla V).

Del total de larvas obtenidas en los desoves, solamente en el desove seis y ocho, tuvieron que ser eliminadas algunas larvas desde un inicio debido al manejo del espacio, no permitiendo retenerlas en su totalidad para su cria. De un total de 126.71 y 137.70 millones de larvas de dichos desoves, solo se retuvieron 37.34 y 40.24 millones larvas respectivamente (figura 9).

En el periodo en el cual el próximo desove lo determino el espacio disponible -primeros cuatro desoves-, se retuvieron para la cria 118.16 millones de larvas "D". Cuando se programaron los desoves cada 15 días -últimos

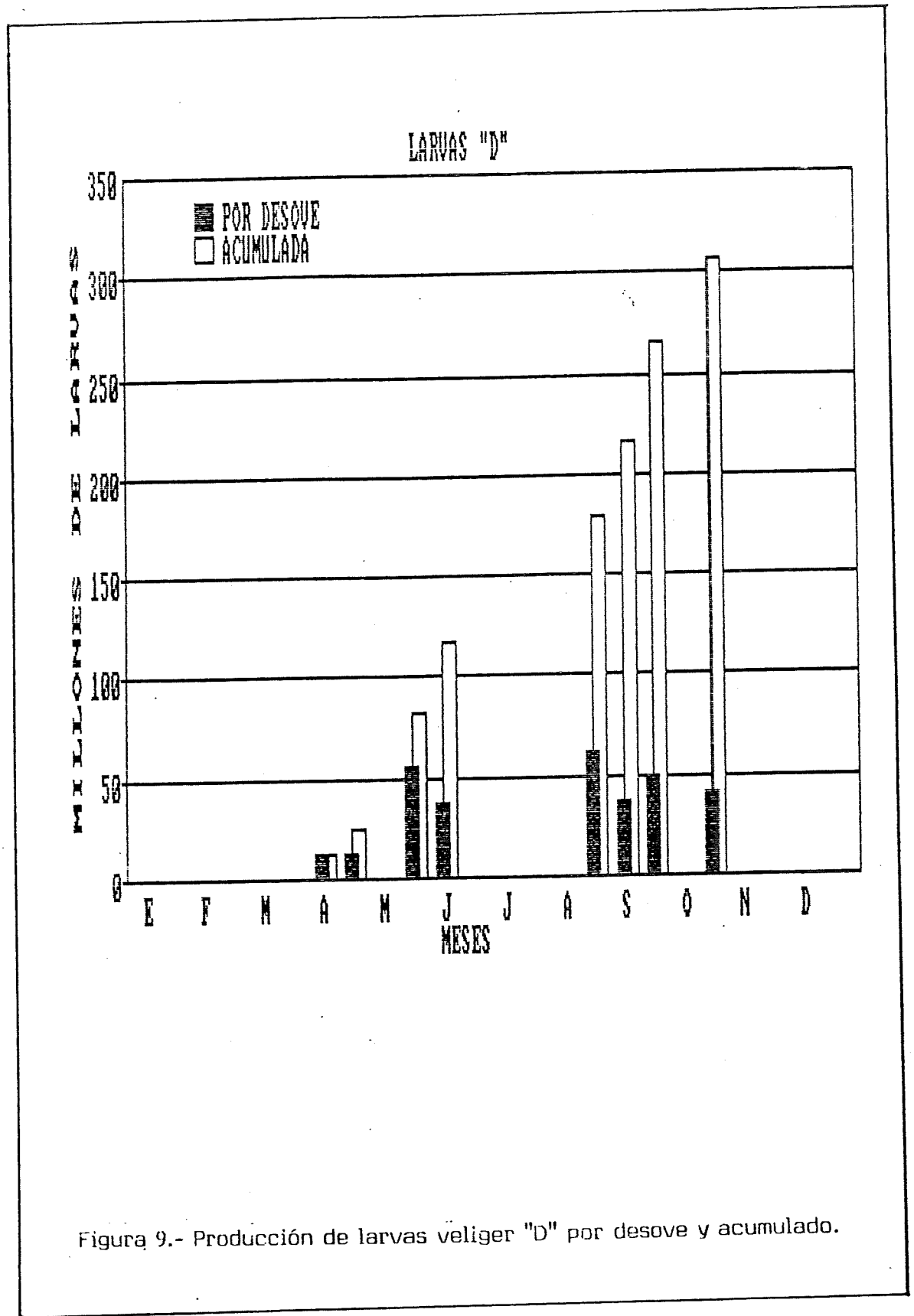


Figura 9.- Producción de larvas veliger "D" por desove y acumulado.

cuatro desoves-, se retuvieron 188.58 millones de larvas. Esto representa un incremento del 60.4% con respecto a los primeros cuatro desoves.

Así, durante la temporada de trabajo, el total de larvas retenidas por desove para la cría, fueron de 12.41 millones a 60.98 millones de larvas, sumando un total de 306.72 millones para todos los desoves, con un promedio por desove de 36.34 millones.

El cultivo de las larvas del primer desove se llevó a cabo a una temperatura de  $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , mientras que el promedio de las temperaturas máximas en el medio ambiente para los desoves siete y ocho descendieron de  $24.5$  a  $15.0^{\circ}\text{C}$  con un promedio de  $21.4$  y  $18.70^{\circ}\text{C}$  respectivamente.

#### 4.2.1 Sobrevivencia

La tendencia de sobrevivencia de los primeros dos desoves está representada por el desove dos, mientras que la tendencia más general, característica de los demás desoves por el desove ocho (figura 10).

La mayoría de los desoves, del tercero al octavo, mostraron curvas de sobrevivencia características, con una gran pendiente al inicio de los desoves y una

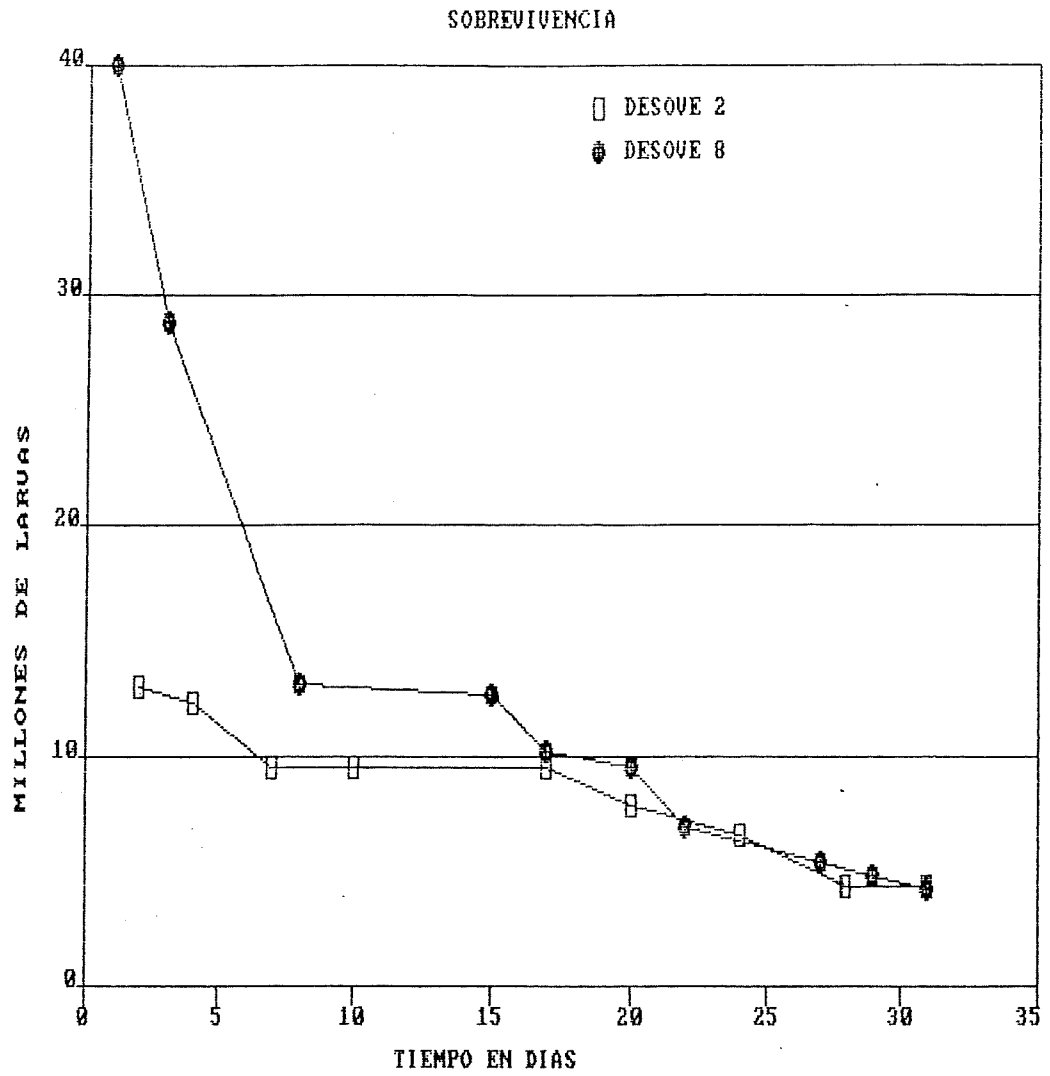


Figura 10.- Graficas características de sobrevivencia de los desoves durante la temporada de trabajo.

tendencia a disminuir dicha pendiente al transcurso del tiempo. Los dos primeros desoves, no muestran la gran pendiente inicial, sino que se ven más estables (figura 10).

Los porcentajes de mortalidad hasta que las primeras larvas iniciaron el periodo de fijación, fluctúan de 70.9% el mínimo a 99.9% el máximo (tabla VI).

TABLA VI- Larvas iniciales por desove y larvas presentes al inicio de la fijación ( $\times 10^6$ ), además del porcentaje de mortalidad (Z).

DESOVE	No.LARVAS INICIALES	No.LARVAS AL INICIO FIJACION	% Z
1	12.410	3.212	74.1 +
2	13.020	3.428	73.7 +
3	56.085	14.110*	74.8
4	36.628	10.642*	70.9
5	60.982	0.075	99.9
6	37.342	2.902	92.2 ++
7	50.018	10.141	79.7 ++
8	40.238	4.215	89.5 ++

\* = Sufrieron mortalidad del 100% en días subsecuentes.

+ = Recibieron tratamiento con SULMET según Breese y Maoluf (1975).

++ = Recibieron tratamiento con SULMET solo durante el proceso de cuantificación.

Aunque los desoves tres y cuatro tuvieron algunos de los porcentajes más bajos de mortalidad hasta el inicio de la fijación, 74.8% y 70.9% respectivamente, en los días subsecuentes se registraron una mortalidad del 100% para los dos casos, causada, al menos en el cuarto desove, por bacterias patógenas.

Las bacterias fueron determinadas por el laboratorio de bacteriología del IIO como Pseudomona diminuta. En el caso del desove tres, no se analizaron muestras para bacterias, pero era evidente la presencia de gran número de ellas.

#### 4.2.2 Densidad

La figura 11 muestra los tres tipos de curvas que caracterizaron la densidad en el periodo de trabajo presentando el caso más extremo en la variación de la densidad. Como se muestra en la figura, la densidad para cada desove no siempre fue en disminución como cabría esperar por la mortalidad, sino que varió constantemente debido a la redistribución de larvas.

Se observaron fluctuaciones similares al desove seis principalmente en los desoves tres y cinco. Y similares al desove ocho en los desoves uno, cuatro y siete. En

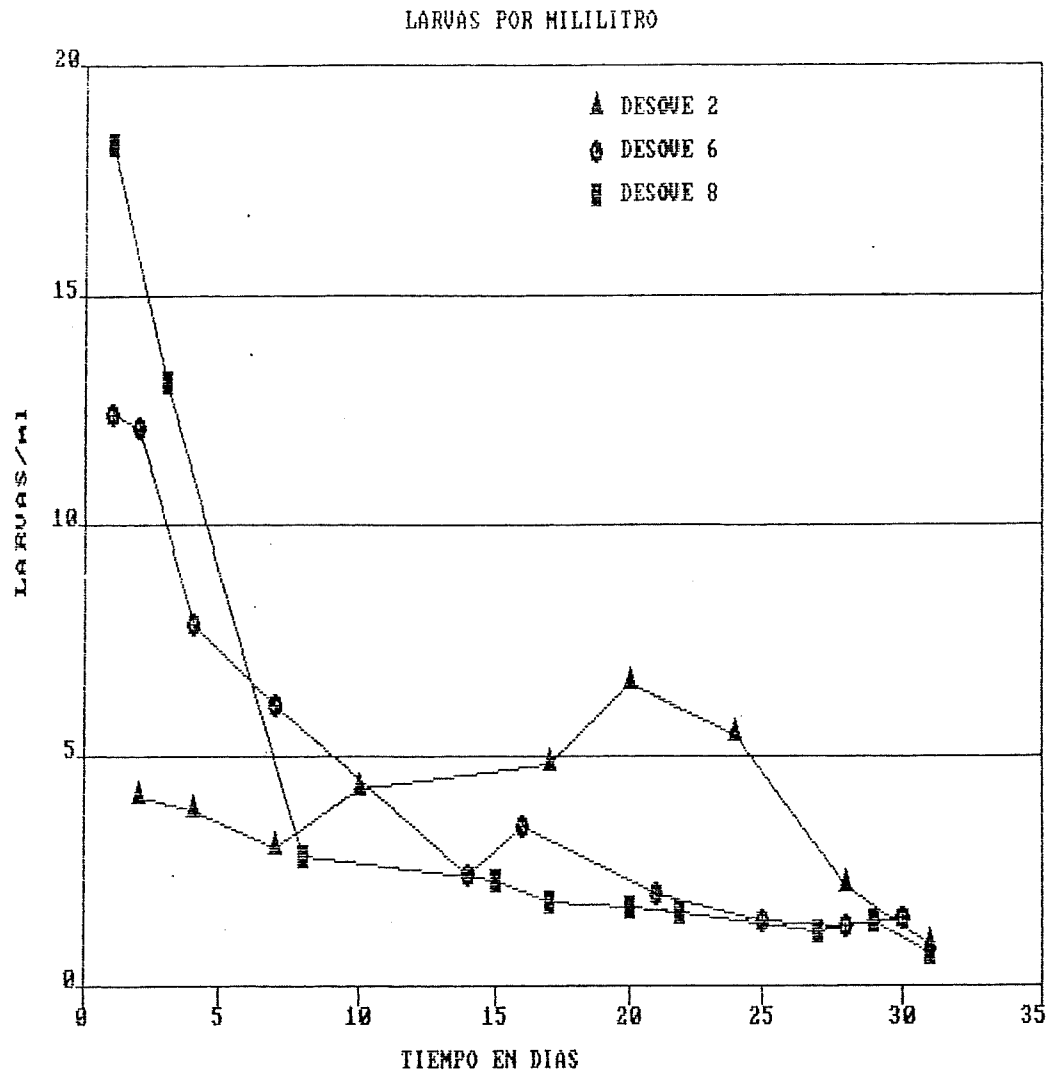


Figura 11.- Graficas características de densidad de larvas/ml durante la temporada de trabajo.

el segundo desove tenemos el ejemplo más extremo, en el día siete se tenía una densidad de 3 larvas/ml, y en el día 20 se tenían 6.6 por mililitro.

Las densidades iniciales variaron de 4.1 larvas/ml en el segundo desove a un máximo en el octavo de 18.3 larvas/ml. Las densidades manejadas al momento de pasarse a las unidades de fijación fueron de 0.2 larvas/ml en el desove cinco como la más baja, y a 2.2 larvas/ml en el desove tres como la más alta (tabla VII).

Para el momento de la fijación se planteó originalmente terminar con densidades de 1.5 a 2 larvas/ml, lo cual solo el tercer desoves se alejó apreciablemente del rango propuesto (tabla VII).

#### 4.2.3 Crecimiento

El crecimiento presentado en largo y ancho de las larvas de los diferentes desoves, (a excepción del tercer desove del cual carecemos de datos), se muestra graficamente en las figuras 12 a 15. Las líneas de longitud y anchura se intersectan en un tiempo promedio de seis días, correspondiendo a una talla promedio de 101  $\mu\text{m}$ , similar a lo reportado por Loosanoff y colaboradores (1966) para esta especie.

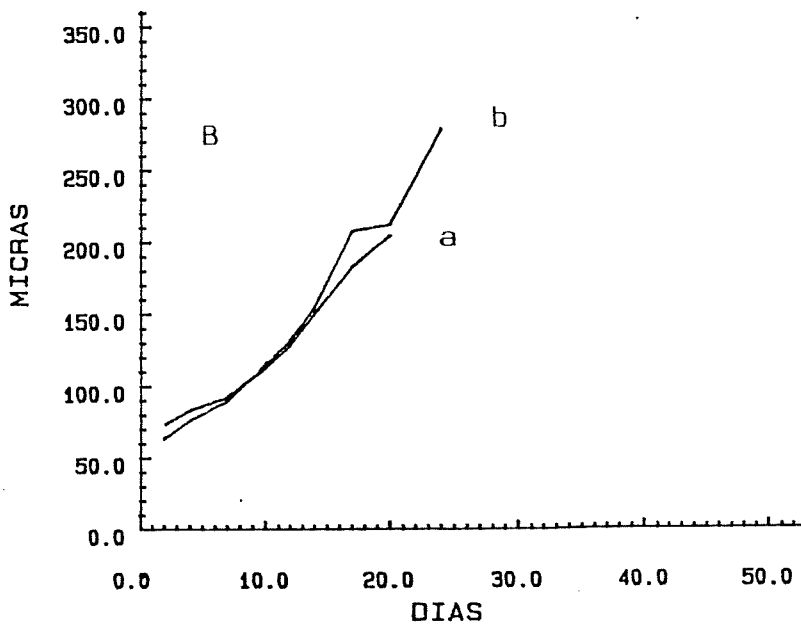
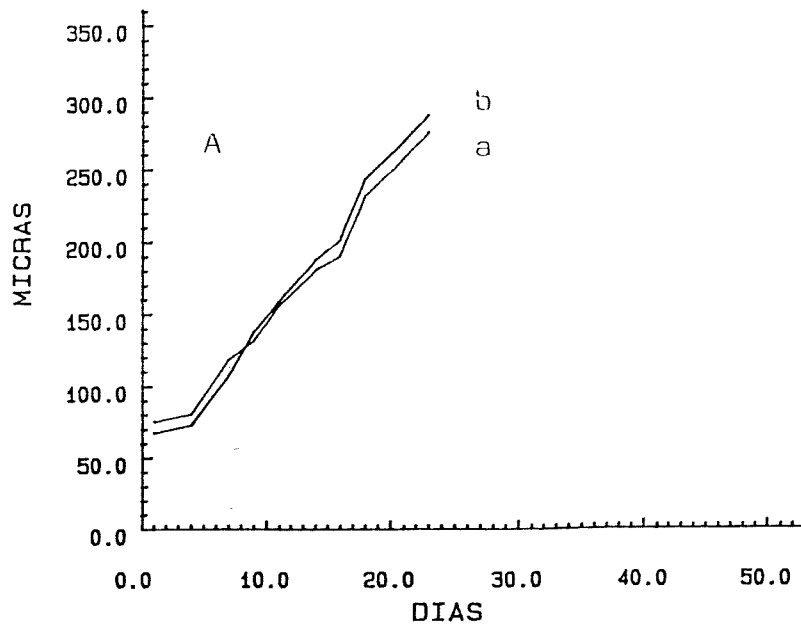


Figura 12.- Crecimiento en largo (a) y ancho (b) de las larvas de los de-soves 1 (A) y 2 (B).

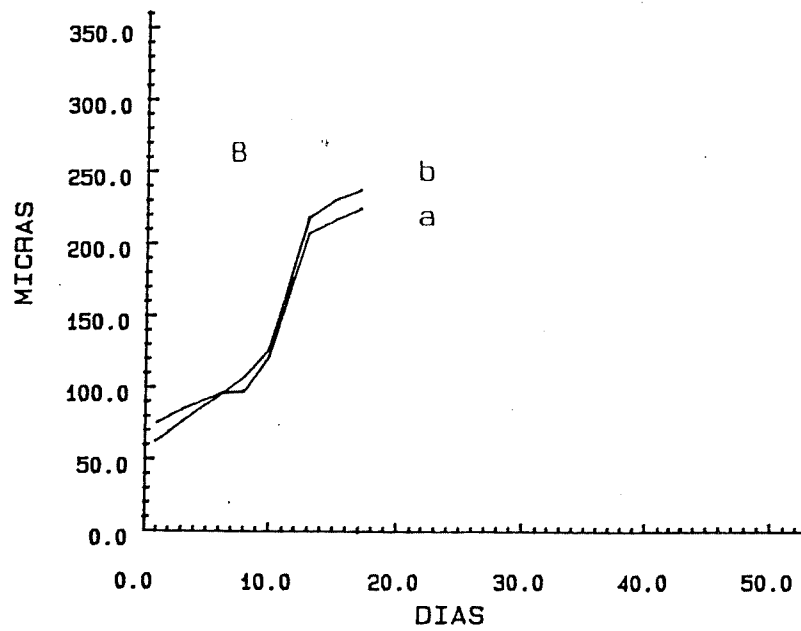
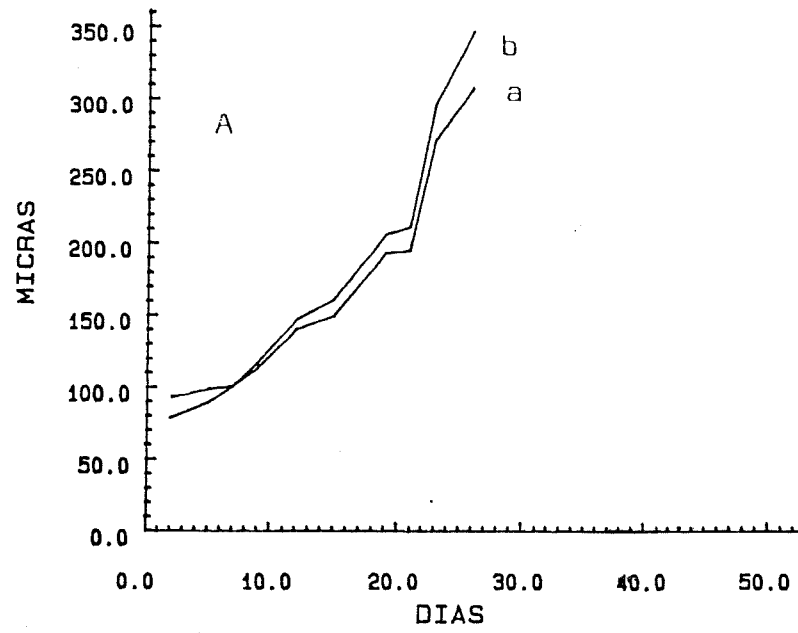


Figura 13.- Crecimiento en largo (a) y ancho (b) de las larvas de los desoves 4 (A) y 5 (B).

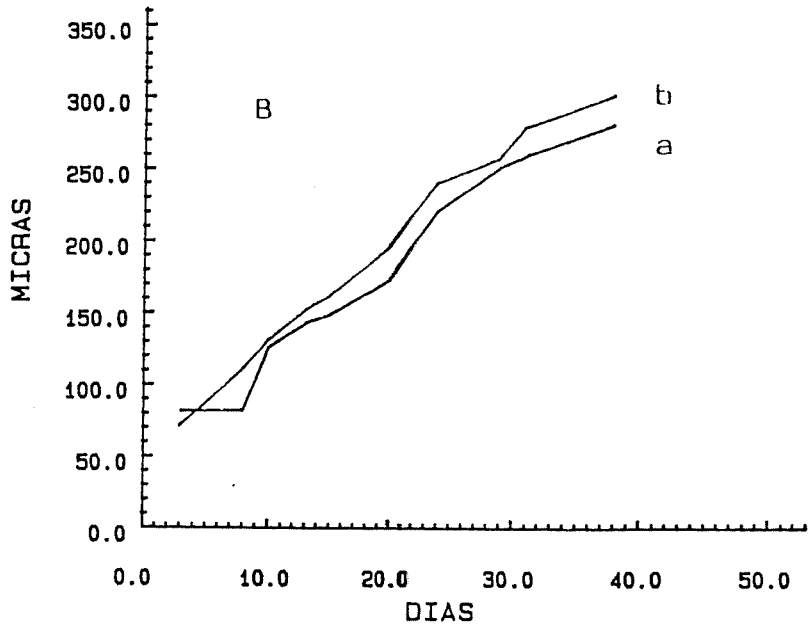
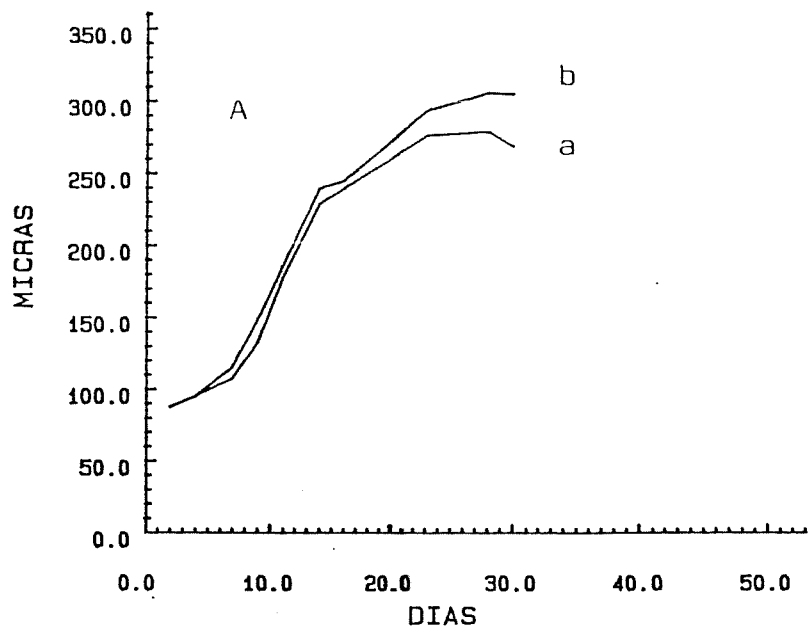


Figura 14.- Crecimiento en largo (a) y ancho (b) de las larvas de los devos 6 (A) y 7 (B).

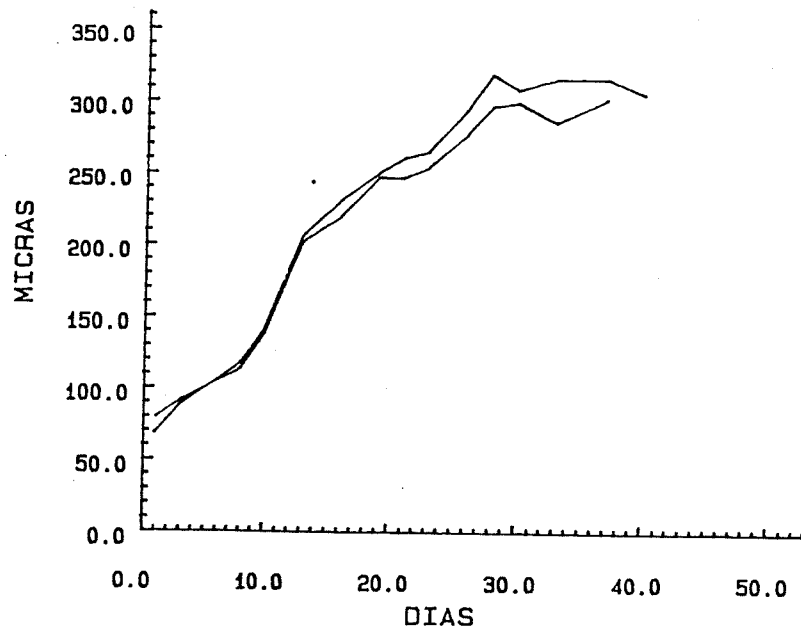


Figura 15.- Crecimiento en largo (a) y ancho (b) de las larvas del desarrollo 8.

TABLA VII.- Densidades de larvas/ml al inicio del cultivo y al inicio del periodo de fijación.

DESOVE	LARVAS/ML	LARVAS/ML
	AL INICIO DEL CULTIVO	AL INICIO DE LA FIJACION
1	6.1	0.8
2	4.1	1.1
3	10.4	2.2
4	10.9	1.4
5	8.1	0.2
6	12.4	1.3
7	12.3	1.2
8	18.3	0.7

En las curvas de crecimiento se observa unas disminuciones aparentes en el tamaño de las larvas a finales del sexto y octavo desove (figura 14 A y 15).

En el quinto desove a partir del día 13 se tuvieron problemas con bacterias lo que disminuye notablemente el crecimiento hasta una mortalidad total para el día 17.

Las pendientes tuvieron una variación de 7.23 como valor mínimo en el séptimo desove y 13.12 como máximo en la pendiente del quinto (tabla VIII). Los índices

de correlación estuvieron arriba de 0.9, con 0.951 en el desove cinco y 0.99 en el primero.

La pendiente más baja se obtuvo en el séptimo desove que se inició a mediados de septiembre, periodo en el cual se registro una disminución de 24.5 a 21.1°C en la temperatura del agua. Esta disminución en la temperatura coincide con la baja en el crecimiento a partir del día 15 en el desove seis.

Mediante el análisis de homogeneidad de pendientes se agruparon los desoves con pendientes iguales a un nivel de significancia del 95%. Con esto se formaron dos grupos que son diferentes entre si. Los desoves uno, dos, cuatro, cinco y seis hacen el primer grupo y los desoves siete y ocho el segundo (tabla VIII).

Durante el primer y quinto desove, las larvas pasaron a fijación a las 254 y 261  $\mu\text{m}$  respectivamente, mientras que en los demás desoves a las 314  $\mu\text{m}$ .

Sin tomar en cuenta estos dos desoves, los días transcurridos desde el inicio de los desoves hasta el inicio de la fijación encontro su mínimo con 23 días durante el cuarto desove, mientras que fuè hasta el día 31 cuando iniciaron su fijación las larvas del

desove dos y ocho (tabla IX). A este mismo desove que tardo los 23 días para iniciar la fijación, le corresponde la mayor pendiente.

TABLA VIII.- Pendientes del crecimiento de los ocho desoves con los intervalos de confianza al 95%. Se muestran los dos grupos de pendientes no significativamente diferentes entre sí al 95%.

DESOVE	PENDIENTE	INTER.CONF. AL 95%.	PRUEBA "t"
1	12.35	1.44	ns 1 1
2	10.45	2.17	ns 1 1
4	12.68	2.28	ns 1--J 1 1
5	13.12	3.81	ns 1 1 1 1... *
6	10.87	2.55	ns 1 1 1
7	7.23	1.53	ns 1 1 1--J
8	8.24	1.04	ns 1

\* = Grupos significativamente diferencia al 95%

Si se eliminan los datos del primer y quinto desove, por haberse puesto a fijar más pequeñas que las demás, se nota más claramente una disminución en los días requeridos para iniciar la fijación hacia el desove cuatro, para irse incrementando hacia el desove ocho (tabla IX).

TABLA IX.- Dia en el que inicio la fijación junto con el porcentaje cosechado en cada dia. Tambien se muestra el porcentaje total puestas a fijar y los dias transcurridos para terminar de colocar las larvas a fijar.

DIA	DESOVES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
22	100 a							
23	-----			30.1				
24	-----							100 b
25								
26	-----			2.5				
27	-----		ñ	-----			22.2	
28	-----					74.3		
29	-----			1.1	-----		8.8	
30	-----					13.8		
31	---- *	-----					11.0	58.9
32								
33								
34	-----		21.3	-----				5.7
35								
36	-----		18.5	-----			17.4	
37	-----							7.8
38	-----						1.2	
39								
40								
41	-----						3.5	3.0
42								
43	-----							1.4
Total	100		39.8	33.7	100	86.1	65.5	75.4
Periodo de cosecha			10	7		3	17	11

a .- Larvas de 254  $\mu$ m

b .- Larvas de 261  $\mu$ m

\* .- Sin datos, iniciò la fijación.

ñ .- Venta de larva pediveliger.

Periodo l El periodo requerido para que el  
de l= total de las larvas entraran a  
cosecha l fijacion.

El lapso de tiempo que se requirió para terminàr de poner el total de la larva a fijaciòn desde que se iniciò esta, fuè de 3 en el desove seis a 17 días en el sèptimo segùn se puede observar en la tabla IX.

Tambien en la tabla IX se encuentran los porcentajes de larvas que se cosecharon para ponerlas en fijaciòn con respecto a los días. Todos los desoves iniciaron la fijaciòn con los porcentajes màs altos y la tendencia posterior fuè a disminuir el porcentaje cosechado a fijaciòn.

En el sexto desove en solo dos cosechas -3 días-, entrò a fijaciòn el 86.1%, mientras que el sèptimo necesitò siete cosechas -17 días- para pasar a fijaciòn el 65.5%.

El desove en el que se obtuvo el menor porcentaje de larvas para fijaciòn fuè el cuarto con 33.7% en tres cosechas -7 días- (tabla IX).

#### 4.3 PRODUCCION DE LARVA PEDIVELIGER

Dentro de los desoves, el que resulto màs productivo fuè el sèptimo con un total de 6.63 millones de larvas pediveliger, y el menos productivo fuè el quinto con

solo 75 mil larvas a fijación (tabla X).

El total de larvas pediveliger que entraron a fijación en el laboratorio fuè de 25.28 millones (tabla X). El promedio de larvas producidas por desove fuè de 3.2 millones.

La figura 16 muestra el histograma que representa la producción total en forma acumulativa y por desove. En esta figura, a diferencia de la tabla anterior, los datos incluyen 3 millones de larva pediveliger del tercer desove que se vendieron para fijación, por lo que la producción real del desove tres fuè de 5.61 millones y la producción total real de 28.28 millones.

En cuanto al porcentaje de larvas que se pusieron a fijar respecto al número inicial, el quinto desove es el que tiene el porcentaje de 0.1% como menor y el segundo el mayor con un 26.3% de larvas a fijar. Los promedios del porcentaje de larvas a fijación es de 11.8% (tabla X).

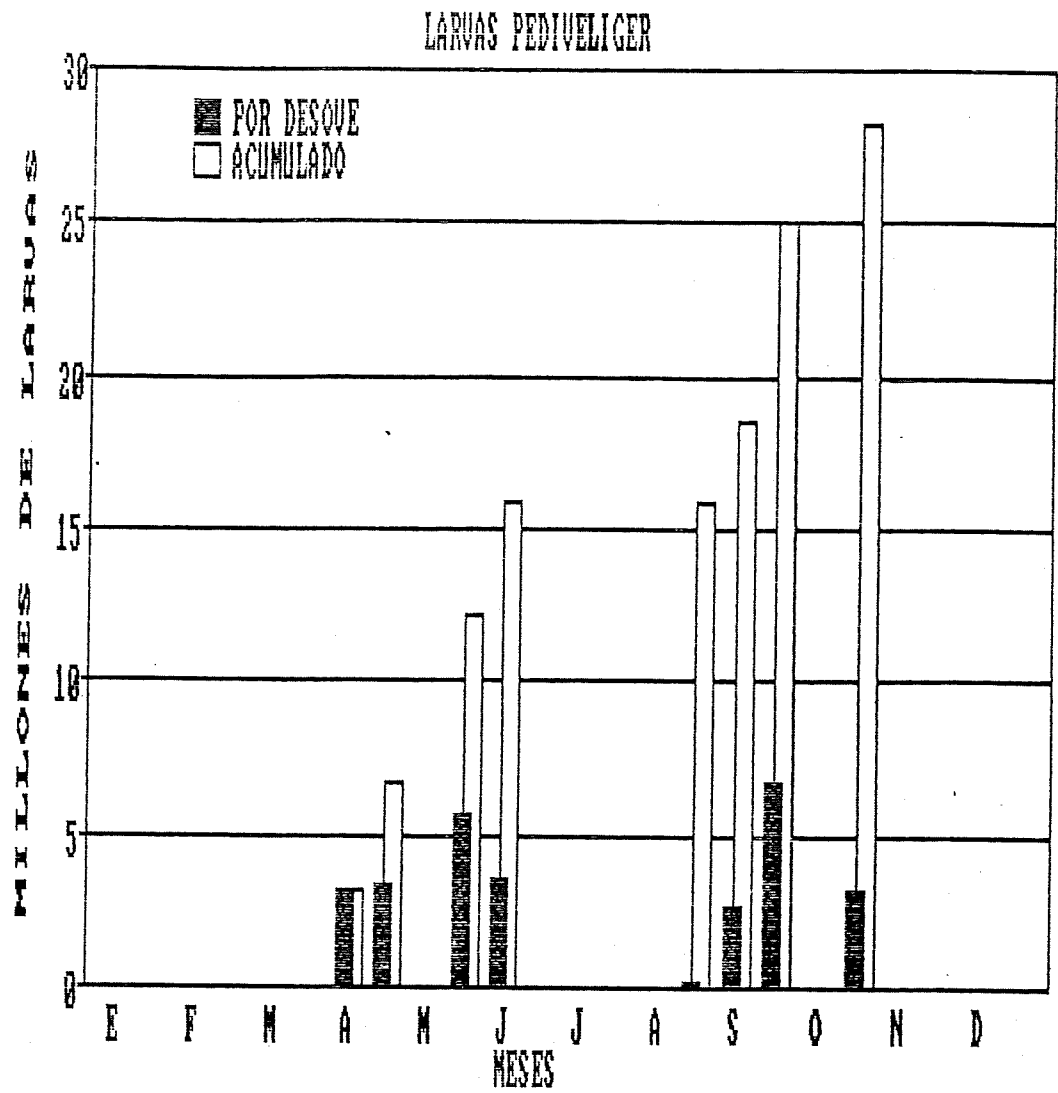


Figura 16.- Producción de larva pediveliger por desove y acumulado.

TABLA X.- Información sobre las larvas puestas a fijar.

DESOVE	LARVAS TOTALES A FIJAR (x 10 <sup>6</sup> )	% LARVAS A FIJAR RES- PECTO AL NUMERO INICIAL	% APOORTE AL TOTAL DE POSTLARVAS
1	3.212	25.9	26.03
2	3.428	26.3	9.38
3	2.610	4.6	-----
4	3.582	9.8	-----
5	0.075	0.1	0.07
6	2.556	6.8	10.20
7	6.632	13.3	27.48
8	3.180	7.9	16.84
TOTALES	25.275	-----	-----
PROMEDIO/ DESOVE	3.200	11.8	-----

El porcentaje de larvas pediveliger obtenidas en este trabajo es un poco superior al rango de 4 a 10.8% que reporta Krantz (1982) para el HPEL. Gendrop (1983) reporta un porcentaje promedio de 16.11%, ligeramente superior al encontrado en este trabajo. Apesar de todo, estos resultados no corresponden a lo estimado por Hidu (1970) quien asume una sobrevivencia del 70%.

Con respecto al porcentaje de aportación a las postlarvas obtenidas, el séptimo desove, que produjo 6.6 millones de larvas pediveliger, aportó el 27.48% mientras que el desove cinco solo contribuyó al total de fijaciones en un 0.07% (tabla X). Como es de esperarse hay una correlación, de 0.87, entre el número de larvas a fijar y su contribución al total de fijaciones.

De acuerdo a la infraestructura instalada, en este trabajo se obtuvieron 3,625 larvas/1,000 litros (tabla XI).

Por metro cuadrado utilizado, HPEL fluctúa en un rango de 40 a 874 millares de larvas/m<sup>2</sup>, Gendrop reporta 161 millares mientras que aquí se reportan 649 millares (tabla XI).

Según estos datos, en 1985, en el Laboratorio de Moluscos se utilizó el volumen de cultivo de 3 a 100 veces más eficientemente que HPEL y 2.09 veces que el Laboratorio de Moluscos en su temporada de 1983.

El espacio se utilizó de una manera más similar entre HPEL y en este trabajo. Solo en su mejor año, 1977, en HPEL se utilizó mejor el espacio 1.3 veces, y en su peor año, nuestra utilización de espacio es mejor

16.2 veces. Para la temporada de 1985, el espacio se utilizò 2.7 veces mejor que lo reportado para la temporada de 1983 por Gendrop.

#### 4.4 PRODUCCION DE POSTLARVA

Los datos de producción postlarva -larva recién fijada-, se reportan de dos maneras; los datos que se refieren al total de desoves sin tomar en cuenta que algunos no aportaron semilla a la producción total, y los datos que hacen referencia unicamente a los desoves efectivos en la producción de semilla.

TABLA XI.- Comparacion entre la producción de larvas pediveliger, postlarvas y ostrillas en base al volumen de cultivo y el área utilizada.

	PEDIVELIGER POR 1,000 lts.	PEDIVELIGER x 10 3/m <sup>2</sup>	POSTLARVA x 10 3/m <sup>2</sup>	OSTRILLA x10-3/m <sup>2</sup>
ESTE TRABAJO	3,625	649	45.41	30.82
KRANTZ	30 -	40 -	399.48-	15.32-
HPEL	798	874	1,642	557.85
GENDROP EN 1983	1,166	161	1.53	-----
LIZARRAGA EN 1984	-----	-----	6.47	-----

El desove más productivo en postlarvas fuè el sèptimo con 385,590 siguiéndole el primer desove con 365,235 organismos. El desove menos productivo fuè el quinto del cual, por la poca cantidad de postlarvas, solo se pudieron cuantificar 1,000 semillas cuando estuvieron más grandes, por lo que se toma este valor como el mínimo total de postlarvas para este desove (tabla XII, Figura 17). Como se muestra la producción total de postlarvas fuè de 1'403,211 (figura 17).

La producción promedio de los desoves efectivos fuè de 233,870 organismos, pero si se toman en cuenta todos los desoves efectuados, el promedio por desove es solo de 175,400 postlarvas.

Es muy amplio el rango de porcentajes de pediveligers fijadas en HPEL, de 3 a 69.3%, el valor encontrado en este trabajo està en el rango inferior, con un promedio por desove de 6.8% mientras Gendrop en 1983 obtuvo un promedio por desove de 0.9%.

Estos resultados no concuerdan con Hidu (1970) que asume un èxito de fijación de un 50 a 70%. Tomando en cuenta la producción total de fijaciones con respecto al total de larva pediveliger que entrò a fijación, la conversión es del orden del 5.55% (tabla XII).

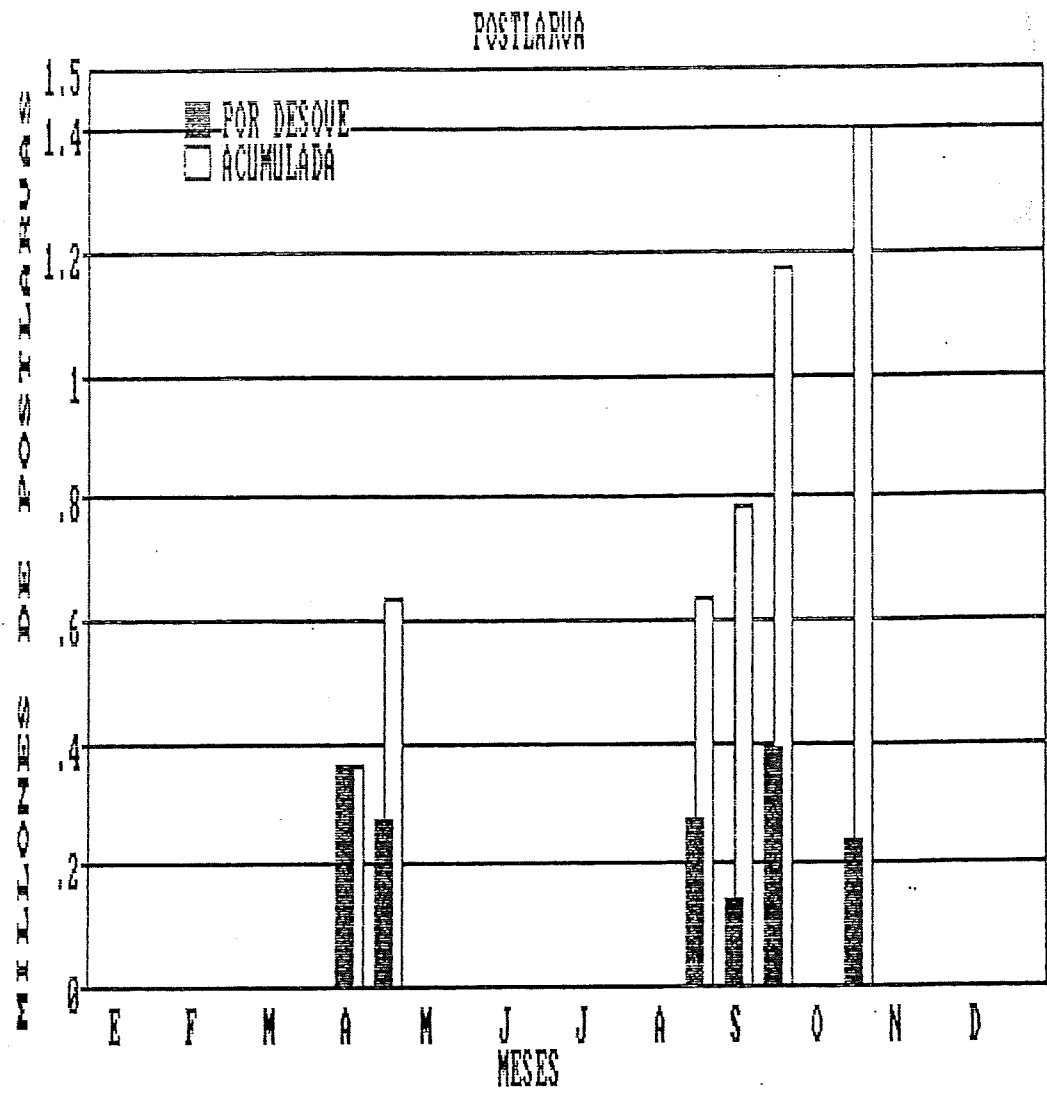


Figura 17.- Producción de postlarva por desove y acumulado.

TABLA XII.- Información sobre la larva fijada.

DESOVE	POSTLARVAS OBTENIDAS (x10 3)	% OBTENIDO PEDIVELIGER/ POSTLARVA	% CONTRIBUCION AL TOTAL DE LA SALIDA DEL LAB.
1	365.235	11.37	
2	271.984	7.93	42.81 *
5	(1.000)+	1.33	0.10
6	143.167	5.60	11.05
7	385.590	5.81	21.38
8	236.235	7.43	24.64
TOTAL	1,403.211	5.55	-----
PROMEDIO EFECTIVO	233,870	6.80	
PROMEDIO TOTAL	175,400	5.10	

\* Desove 1 y 2 juntos.  
+ Valor subestimado.

El último desove es el que más contribuyó al total de semilla producida al final de la temporada.

La producción tomando en cuenta el espacio disponible reportada por Krantz (1982) para HPEL, varía de 339,484 a 1'642,258 fijaciones/m<sup>2</sup> de 1977 a 1979. Gendrop en 1983 reporta 1,533 y Lizárraga en 1984 obtuvo 6,472 fijaciones/m<sup>2</sup> mientras que en 1985, en el presente

trabajo se registrò un total de 45,411 fijaciones/m<sup>2</sup> de àrea disponible (tabla XI), lo que equivale a un promedio de 7,569 fijaciones/m<sup>2</sup>/desove. De aquì que està de 8.8 a 36.2 veces por debajo de la producciòn por àrea obtenida por HPEL pero se mejorò 29.6 veces la producciòn de 1983 y 7 veces la de 1984 en el Laboratorio de Moluscos.

#### 4.5 PRODUCCION DE OSTRILLAS

La semilla que saliò del laboratorio para su cultivo posterior sumò un total de 952,401. El promedio de semilla por desove efectivo fuè de 158,730 y por desoves totales de 119,050 (figura 18, tabla XIII).

El octavo desove fuè el que màs contribuyò al total de semilla con 234,723, representando el 24.64%, mientras que el quinto desove aportò 1,000 ostrillas equivalente al 0.1% del total (tabla XIII).

Por haberse mezclado la semilla de los primeros dos desoves, su contribuciòn al total es del 42.81%, por lo que es difìcil la comparaciòn con los demas, aunque para fines comparativos podriamos asumir un promedio de 21.4% para estos desoves.

# OSTRILLAS

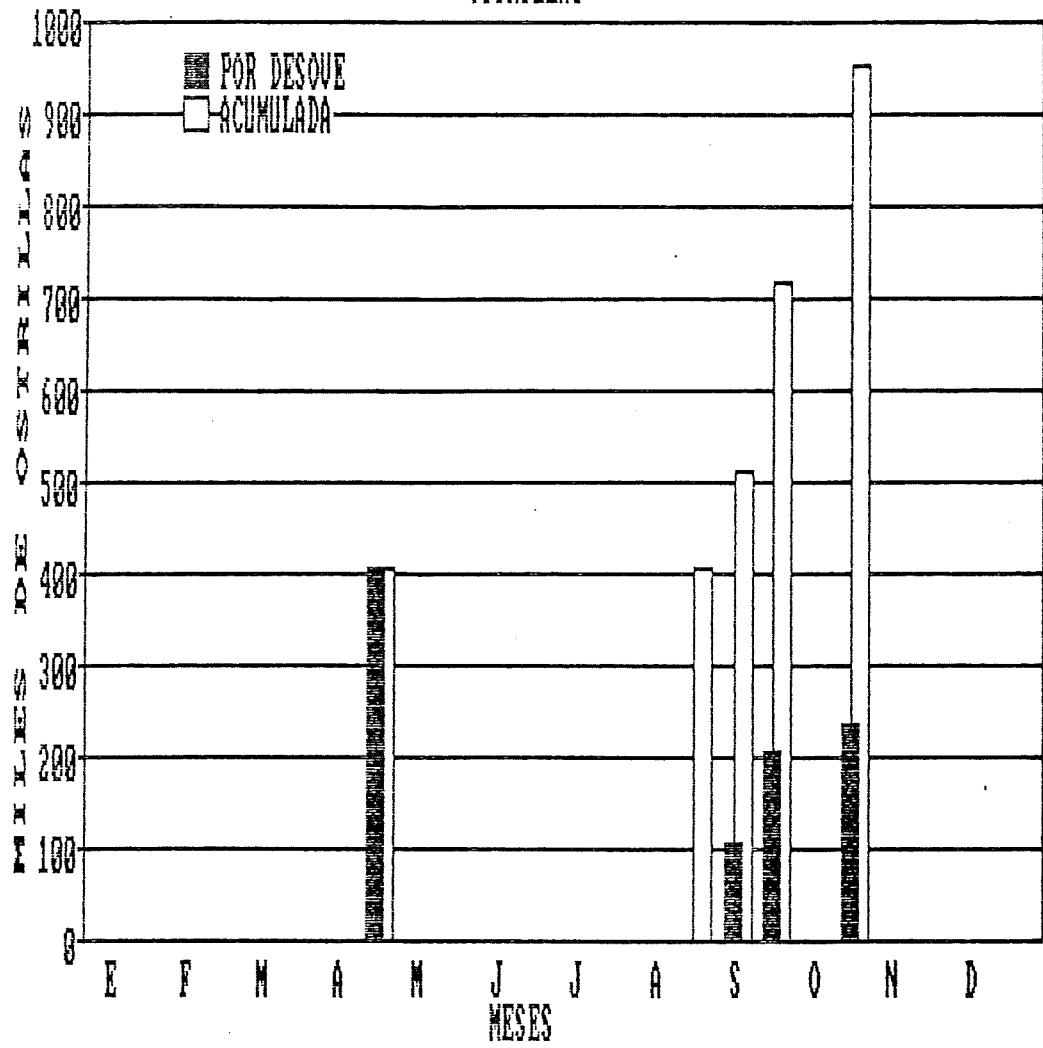


Figura 18.- Producción de ostrillas por desove y acumulado.

El porcentaje de pediveliger que llegó a salir del laboratorio como semilla por cada desove se encuentra en la tabla XIII, teniendo el porcentaje más alto para el octavo desove con un 7.38% y el más bajo para el quinto con 1.33%.

El promedio de los porcentajes en base a todos los desoves fue de 3.15% y de 4.4 los desoves efectivos. Tomando en cuenta el total de larvas que se metieron a fijar y el total de la semilla que salió del laboratorio, el porcentaje es del orden de 4.99%.

La mortalidad desde postlarvas hasta la salida del laboratorio tuvo un promedio de 13.78% para desoves totales y de 18.38 para desoves efectivos. La mortalidad más baja la sufrió el desove ocho con 0.64% y la más alta el séptimo con 47.18%.

La mortalidad total sin promediar es del 32.30% (tabla XIII). En general Krantz (1984) para tres años en el HPEL reporta mortalidades en un rango de 34 a 93%.

Mientras que HPEL tiene un rango de 15,323 a 557,849 semillas/m<sup>2</sup> en tres temporadas de producción, en este trabajo se obtuvo un valor de 30,822 ostrillas/m<sup>2</sup> en la temporada de 1985. Esto coloca los resultados

encontrados más bien en el rango inferior de lo reportado para HPEL (tabla XI). La semilla "plantable" obtenida en promedio/desove/m<sup>2</sup> fuè de 5,137.

TABLA XIII.- Información sobre la semilla salida del laboratorio para su comercialización o donación.

	DESOVE OSTRILLA DE 2-3 mm (x 10 <sup>3</sup> )	% PEDIVELIGER A OSTRILLA 2-3mm.	% MORTALIDAD POSTLARVA A OSTRILLA 2-3mm
1-2	407.744	6.14	36.00
5	1.000	1.33	SD
6	105.287	4.12	26.46
7	203.647	3.07	47.18
8	234.723	7.38	0.64
TOTAL	952.401	4.99	32.30
PROMEDIO EFECTIVO	158.730	4.40	18.38
PROMEDIO TOTALES	119.050	3.15	13.78
SD .- Sin datos			

Aunque no se llevó un registro de la velocidad de crecimiento de la semilla, siempre fuè notorio un crecimiento lento.

El histograma de la figura 18 muestra la cantidad de semilla salida del laboratorio para su cultivo comercial.

#### 4.6 PRODUCCION DE MICROALGAS

La producción total de tanques de 380 litros de cultivo de microalgas fuè de 235 tanques en un periodo de 11 meses, de enero a noviembre de 1985. Esto equivale a un total de 89,300 litros de alimento a una concentración promedio de 1,818,664 cel/ml.

La producción promedio mensual de tanques fuè de 21.36 -8,117 litros- (tabla XIV) y en la producción mensual de tanques se observò un máximo para los meses de junio -28 tanques-, julio -30 tanques-, y agosto -30 tanques-, partiendo de un tanque cosechado en enero. La manera como se incrementa la producción de junio en adelante, se debe no tanto a no tener la capacidad para producir las cantidades de julio y agosto en meses anteriores, sino en la manera como se incrementò la demanda de alimento.

Un crecimiento característico de los cultivos de Isochrysis aff.galbana var. taithiana dentro del laboratorio esta representado en la figura 19 en la cual no

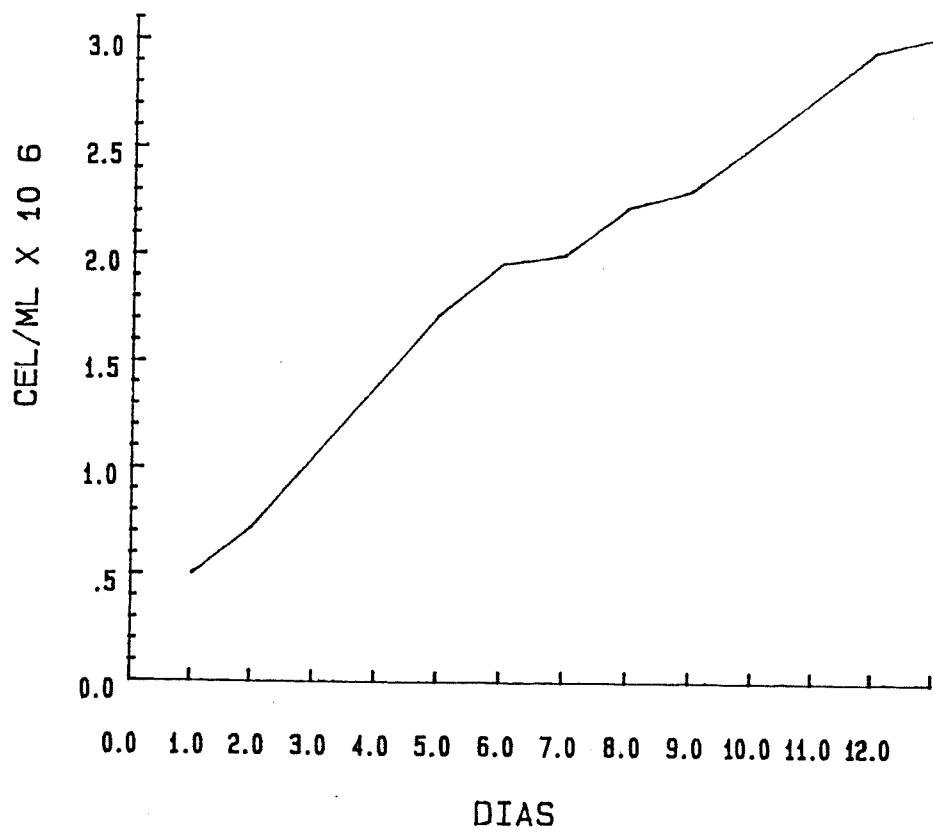


Figura 19.- Crecimiento característico de la microalga *Isochrysis* aff. *galbana* var. *tahiti* obtenido en tanques de 380 litros.

se alcanza a observar las etapas de equilibrio y decaimiento.

En la tabla XIV y figura 20, se muestra el comportamiento de las densidades con los límites de confianza al 95% a lo largo de los 11 meses que durò la producción masiva de microalgas.

Ya en el mes de noviembre se cosecharon los primeros ocho tanques cultivados con la especie Monochrysis lutheri, alcanzando una densidad promedio de 2,251,492 cel/ml. Estos datos no se consideraron aparte sino en la producción total por ser la cantidad de tanques poco importante.

#### 4.7 CAPACIDAD DE PRODUCCION DEL LABORATORIO DE MOLUSCOS

##### 4.7.1 Producción de microalgas

La capacidad real de producción de la microalga Isochrysis aff. galbana var. taithiana del Laboratorio de Moluscos en términos prácticos, es un tanque de 380 litros de lunes a viernes con una densidad promedio de 1'818,664 cel/ml que equivale a un total de  $6.91 \times 10^{11}$  células.

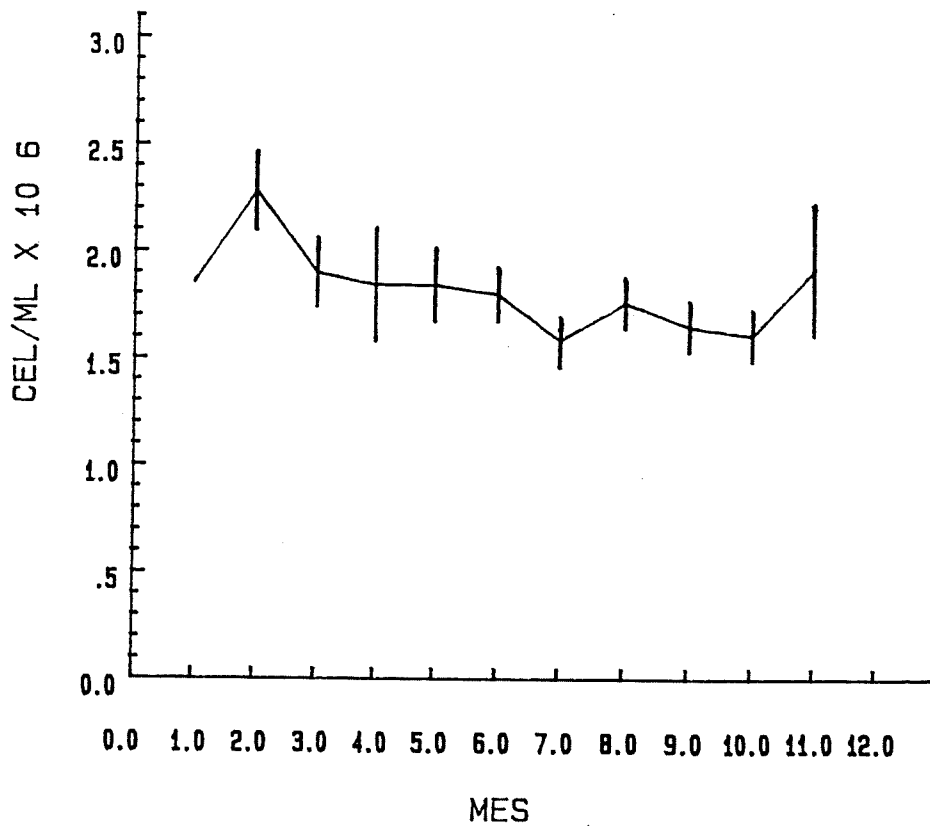


Figura 20.- Densidades promedio alcanzadas por los cultivos de *Isochrysis* aff. *galbana* var. *tahiti* a lo largo de once meses, mostrando los límites de confianza al 95% .

TABLA XIV.- Producción de la microalga Isochrysis aff. galbana var. Taithiana, total de tanques, concentración promedio y total de litros acumulados.

MES	No. TANQUES	CONC. PROMEDIO	LITROS ACUM.
ENERO	1	1,860,000	380
FEBRERO	15	2,278,666	6,080
MARZO	17	1,893,149	12,540
ABRIL	23	1,837,186	21,280
MAYO	22	1,840,177	29,640
JUNIO	28	1,794,341	40,280
JULIO	30	1,581,210	51,680
AGOSTO	30	1,758,381	63,080
SEPT.	25	1,644,690	72,580
OCTUBRE	25	1,603,269	82,080
NOV.	19	1,914,239	89,300
PROMEDIO	21.36	1,818,664	
TOTAL	235		89,300

#### 4.7.2 Producción de larvas

Con tres tanques de 1,000 y tres de 1,200 litros, se tiene una capacidad de mantener 66 millones de larva veliger "D" al inicio del cultivo -a 10 larvas/ml-, para terminar con aproximadamente 6.6 millones de larvas pediveliger en la utilización de los seis tanques

simultaneamente, y 33 y 3.3 millones al inicio y al final respectivamente utilizando solo tres tanques.

#### 4.7.3 Fijación de semilla

Cuando se contaba con solo dos tanques de 1,200 litros, la capacidad de meter a fijar larva era de un total de 6 millones de larvas colocadas en tres camas de fijación de 35 x 50 cm en cada tanque.

A cada cama de fijación se le coloca un millón de larvas -5,555 larvas/cm<sup>2</sup>- según lo recomendado por Gendrop (1985) y Lizàrraga (1985) ó bien 60,000 larvas/cama de fijación -333 larvas/cm<sup>2</sup>- según lo recomendado por O'Sullivan y Wilson (1976), lo que daría un total de 360,000 larvas en los dos tanques de 1,200 litros.

Cuando el sistema se cambio por los tanques rectangulares fuè posible colocar seis camas de fijación por cada tanque, o sea un total de 12 unidades. Esto equivale a tener una capacidad de fijación de 12 millones de larvas con lo recomendado por Gendrop (1985) y Lizàrraga (1985) y de 720,000 según O'Sullivan y Wilson (1976).

#### 4.7.4 Mantenimiento de semilla

En la tabla XV se encuentra la capacidad de mantenimiento de semilla según la infraestructura instalada. Esta consiste en el sistema de tres canales descritos anteriormente y que permiten contener un total de 18 marcos de crecimiento de 600 cm<sup>2</sup> de área útil.

El manejo recomendado por Walne (1974) que se utilizó abarca desde el momento que se colecta la semilla fija -aproximadamente 0.4 mm- hasta una talla de 4 mm. La capacidad disminuye con el incremento en la talla, de 15,000 semillas por marco hasta 1,500, en las tallas de 0.4 y 4 mm respectivamente. Así, se observa una capacidad en el sistema de 270,000 semillas de 0.4 mm ó 27,000 semillas de 4 mm.

Bajo estas recomendaciones, en la tabla XVI se tiene el área requerida para mantener un millón de semillas desde los 0.4 mm hasta los 4 mm, así como la dieta para cada talla recomendada por Langton y McKay (1976). Es muy notorio como el área se incrementa por un factor de diez desde el inicio hasta el final del proceso, ya que va de 40,000 cm<sup>2</sup> para la menor talla, hasta 400,000 cm<sup>2</sup> para semilla de 4 mm. Los requerimientos

de alimento son desde los 1,320 hasta 1,980 litros para la menor y la mayor talla respectivamente.

TABLA XV.- Total de semilla por marco de crecimiento (600 cm<sup>2</sup>) y en el sistema, calculado según Walne (1974).

TALLA (mm)	No./600 cm <sup>2</sup>	No./SISTEMA
0.4	15,000	270,000
1	12,750	229,500
2	9,000	162,000
3	5,250	94,500
4	1,500	27,000

TABLA XVI.- Area y litros de alimento requeridos por 1 millón de semilla a diferentes tallas, calculados con la dieta recomendada por Langton y McKay (1976).

TALLA (mm)	AREA (cm <sup>2</sup> )	DIETA cel/ml	LITROS/DIA
0.4	40,000	120,000	1,320
1	47,000	120,000	1,320
2	66,666	120,000	1,320
3	114,286	180,000	1,980
4	400,000	180,000	1,980

#### 4.7.5 Producción total

De acuerdo a la capacidad instalada de producción de microalgas y a la densidad promedio, la tabla XVII indica en donde se encuentran los límites de mantenimiento si tomamos solamente el alimento como limitante y utilizando las dietas para larvas recomendadas por Breese y Malouf (1975), la dieta considerada más adecuada en este trabajo y la dieta de Langton y McKay (1976) para la semilla.

La dieta recomendada en este trabajo, consiste en darles una densidad de 30,000 cel/ml de lunes a jueves las primeras dos semanas y 50,000 cel/ml las últimas dos semanas de cultivo. Los viernes de las primeras dos semanas la densidad se incrementa a 50,000 cel/ml y durante las dos últimas a 80,000 cel/ml, lo que nos da un promedio diario de lunes a viernes de 34,000 cel/ml y 56,000 cel/ml durante la primera y segunda quincena respectivamente.

Esta tabla (XVII) indica los litros requeridos para cumplir con la demanda de las diversas etapas o combinación de ellas utilizando seis tanques para el cultivo de las larvas.

Tabla XII.- Litros de alimento requerido para mantener larva y/o semilla en sus diferentes etapas de desarrollo considerando la dieta de Breese y Malouf (1975) - sección inferior izquierda-, y la dieta recomendada en este trabajo -sección superior derecha-. La dieta para la semilla es la propuesta por Langton y McKey (1976). Se considera la utilización de seis tanques de larvas.

	LARVA PRIMERA SEMANA	LARVA SEGUNDA SEMANA	LARVA TERCERA SEMANA	LARVA CUARTA SEMANA	LARVA EN FIJACION	OSTRILLAS PRIMERA SEMANA	OSTRILLAS SEGUNDA SEMANA	OSTRILLAS TERCERA SEMANA	OSTRILLAS CUARTA SEMANA	OSTRILLAS QUINTA SEMANA
LARVA PRIMERA SEMANA	117 132				135	473	420	331	304	170
LARVA SEGUNDA SEMANA		339 132			360	695	642	553	526	392
LARVA TERCERA SEMANA			606 210		627	962	909	820	793	659
LARVA CUARTA SEMANA				606 210	627	962	909	820	793	659
LARVA EN FIJACION	153	153	231	231	21	377	324	235	208	74
OSTRILLAS PRIMERA SEMANA	488	488	566	566	337	356	659	570	543	409
OSTRILLAS SEGUNDA SEMANA	435	435	513	513	324	659	303	517	490	356
OSTRILLAS TERCERA SEMANA	346	346	424	424	235	570	517	214	401	267
OSTRILLAS CUARTA SEMANA	319	319	397	397	208	543	490	401	107	240
OSTRILLAS QUINTA SEMANA	185	185	263	263	74	409	356	267	240	53

En la tabla XVIII, se encuentran valores del mismo tipo que en la tabla XVII, solo que esta vez, se considera la posibilidad de utilizar tres tanques. Esto con la intención de utilizar la técnica de mantener dos lotes de larvas de distintas edades, cada uno de ellos ocupando tres tanques.

Según la tabla XVII, teniendo seis tanques de larvas en crecimiento y larvas en fijación, el total máximo de litros requeridos es de 231, por lo que los 149 litros restantes se podrían utilizar para mantener un total de 100,000 semillas menores de 3 mm o bien aproximadamente 75,000 de 3 a 4 mm según se deduce de la tabla XIX.

Asumiendo que no hay limitación de infraestructura en cuanto al sostenimiento de semilla, en la Tabla XIX tenemos la cantidad de alimento requerido según el tamaño y la cantidad de semilla, desde 100,000 hasta 5'000,000 de ostrillas.

Tabla XVIII.- Litros de alimento requeridos para mantener larva y/o semilla de ostión en sus diferentes etapas de desarrollo considerando la dieta de Breese y Malouf (1975) -sección inferior izquierda-, y la dieta recomendada en este trabajo -sección superior derecha-. La dieta para la semilla es la propuesta por Langton y McKey (1976). Se considera la utilización de tres tanques de larvas.

	LARVA PRIMERA SEMANA	LARVA SEGUNDA SEMANA	LARVA TERCERA SEMANA	LARVA CUARTA SEMANA	LARVA EN FIJACION	OSTRILLAS PRIMERA SEMANA	OSTRILLAS SEGUNDA SEMANA	OSTRILLAS TERCERA SEMANA	OSTRILLAS CUARTA SEMANA	OSTRILLAS QUINTA SEMANA
LARVA PRIMERA SEMANA	57	247	368	368	78	413	368	271	244	118
LARVA SEGUNDA SEMANA	66	196	493	493	211	546	493	404	377	243
LARVA TERCERA SEMANA	171	171	383	606	324	659	606	517	498	356
LARVA CUARTA SEMANA	171	171	185	383	324	659	606	517	498	356
LARVA EN FIJACION	87	87	126	126	21	377	324	235	288	74
OSTRILLAS PRIMERA SEMANA	422	422	461	461	337	356	659	578	543	489
OSTRILLAS SEGUNDA SEMANA	369	369	488	488	324	659	383	517	498	356
OSTRILLAS TERCERA SEMANA	288	288	319	319	235	578	517	214	481	267
OSTRILLAS CUARTA SEMANA	253	253	292	292	288	543	498	481	187	248
OSTRILLAS QUINTA SEMANA	119	119	158	158	74	489	356	267	248	53

TABLA XIX.- Litros de alimento según el tamaño y la cantidad de ostrilla.

OSTRILLA x 10 <sup>3</sup>	LITROS	
	-----	
	Talla en mm.	
	0.4 < 3	3 - 4
100	132	198
200	264	396
300	396	594
400	528	792
500	660	990
1,000	1,320	1,980
2,000	2,640	3,960
3,000	3,960	5,940
4,000	5,280	7,920
5,000	6,600	9,900

## 5 DISCUSION

### 5.1 DESOVES OBTENIDOS

Con los resultados obtenidos es posible determinar que el periodo para obtener desoves exitosos inicia en abril y termina en octubre, con posibilidades de extenderse hasta finales ò mediados de noviembre.

La calendarización de los desoves, resulta más conveniente que dejar el desove proximo a la evolución del desove en proceso. Esto permite la programación de otras actividades ligadas a la cria de las larvas permitiendo una producción más sostenida.

Con el método de desove utilizado, es posible suministrar el número de óvulos necesarios para surtir la demanda de cualquier laboratorio productor, sin importar su tamaño.

Para un laboratorio similar a el Laboratorio de Moluscos, seria adecuado utilizar lotes de dos docenas de sementales por desove. Unicamente seria necesario incrementar el número de sementales al inicio de la temporada.

Independiente del número de organismos que respondieron al desove, siempre se observó una respuesta más rápida al estímulo de los machos que de las hembras.

Además de esta característica, la dificultad para lograr el desove solo fué notoria durante el primer desove efectuado en abril, ya que el resto -con ostiones más maduros- no tardaron en iniciar el desove después de haber sido estimulados.

Aparentemente, la duración del estímulo tuvo un papel importante en la cantidad de ostiones que desovaron. En el único desove en donde el estímulo fué prolongado, el 100% de los ostiones respondieron positivamente. Sin embargo no es posible determinar que hubiera pasado si el estímulo para los demás desoves hubiera tenido la misma duración que en el primero.

El método de desove empleado en este trabajo resulto apropiado para lograr el estímulo. La utilización del serpentín o caja de desove fué funcional a lo largo del trabajo.

Aún para laboratorios grandes, donde se requiera estimular grandes cantidades de organismos, es posible la construcción de cajas para desove de mayor capacidad

similares a la utilizada en este trabajo.

La utilización de un volumen aproximadamente diez veces mayor de "esperma denso" que el recomendado por Breese y Malouf (1975) para la fertilización y no haber tenido efectos adversos indica que la los óvulos de Crassostrea gigas no son tan propensos a la poliespermia; al menos bajo las condiciones utilizadas en este trabajo -aproximadamente dos horas después de desovados-. Esto parece estar en concordancia con lo reportado por Culliney et al. (1972) que no reporta poliespermia al añadir a un litro de agua con un millón de óvulos, suficiente esperma para que se vea una solución neblinosa.

Los datos aquí presentados de óvulos promedio por hembra son aproximaciones basadas en los promedios de larvas veliger "D" por hembra. La variabilidad que presenta es de 1.34 a 65.03 millones de óvulos promedio por hembra.

Los datos que reporta Krantz (1982) para 1979 en el Laboratorio del Medio Ambiente en Horn Point (HPEL), muestran casi la misma variación calculada para este trabajo. En el HPEL la cantidad promedio de óvulos por hembra va de 1 a 71.1 millones.

Brooks (1880), Churchil (1920) y Loosanoff y Davies (1963), coinciden con el echo de que la cantidad de óvulos desovados por las hembras es muy variable en sus experimentos u observaciones.

Sin embargo, la variación se atribuye al hecho de que los ostiones no desovan totalmente en un solo momento, sino a lo largo de la temporada y dependiendo de la cantidad de gamentas maduras al momento del desove (Loosanoff y Davies, 1963; Lipovsky, 1984). Desde hace tiempo se reconoce que los estados de desarrollo estacionales en el género Crassostrea son adaptaciones que limitan el desove a las épocas del año cuando el ambiente parece ser propicio para su desarrollo larval (Galtsoff, 1964; Lannan et al., 1980).

El incremento y decremento en el promedio de óvulos por hembra calculados, parece indicar el ciclo normal en la disposición de gametas.

Al iniciarse el incremento de la temperatura en el agua, empieza el proceso de formación de gametas. Es de suponer que el decremento en óvulos por hembra observado en el octavo desove, continuaria según fuera decreciendo la temperatura hasta la reabsorción de las gametas no liberadas (Lipovsky, 1984).

Este proceso no pudo ser observado claramente durante este trabajo debido a que el último desove realizado fue en el mes de octubre, cuando se observó el posible decremento en la producción de gametas.

## 5.2 LARVAS PRODUCIDAS

Durante el periodo de producción, de abril a octubre, solo se dificultó la obtención de larvas durante el primer desove. En el resto de los desoves, no se encontró mayor dificultad para su obtención.

El total de larvas retenidas por desove, no es indicativo de limitaciones en la disponibilidad de gametas. Contando con el número suficiente de progenitores -de mayo a septiembre-, prácticamente se pueden obtener un número "ilimitado" de larvas durante este periodo.

La rutina de realizar desoves cada 15 días, permitió programar más continuamente la producción, lo que posibilitó obtener con el mismo número de desoves y un lapso de tiempo similar -ocho semanas-, un 60.4% más de larvas que con la rutina inicial.

Esta rutina además de mantener una producción de larvas más sostenida, obliga, por razones de manejo,

a la eliminación de las larvas más pequeñas. Loose (1979) y Lipovsky (1984) indican que el proceso de eliminación de larvas de crecimiento lento, mejoran la producción y el desarrollo genético de la población de ostiones haciendo la selección favorable a larvas de alto crecimiento y rápido asentamiento.

#### 5.2.1 Sobrevivencia

Las formas de las curvas de mortalidad están grandemente influenciadas por la densidad de larvas al inicio del desove, ya que a mayor densidad, mayor el número de larvas que se tendrán que eliminar para obtener la densidad deseada.

Una curva con poca densidad al inicio del cultivo está caracterizada por la curva del desove dos, mientras que una curva con alta densidad al inicio tiende a tener las características de la curva del desove ocho (figura 10).

La mortalidad que se obtuvo normalmente hasta el inicio de la fijación -70.9 a 92.2%- está por encima de la recomendación reportada por Lipovsky (1984) para un criadero comercial. El propone eliminar entre un 60 y un 70% de la población original debido a la selección

en el manejo y la mortalidad natural.

Si descartamos los desoves con graves problemas de mortalidad -tercero, cuarto y quinto desoves-, las altas mortalidades reportadas para los desoves seis, siete y ocho, se deben principalmente a la eliminación de larvas durante los ajustes de densidad.

En la rutina de manejo de desoves y tanques establecida en los últimos cuatro desoves se tiene que eliminar un gran número de larvas en buen estado para desocupar algunos tanques para dar cabida a las larvas de un nuevo desove. Por esto, la mortalidad de los desoves seis y siete son difíciles de comparar con lo recomendado por Lipovsky (1984).

El tratamiento de la larva con sulfametazina sódica (SULMET) durante su desarrollo mostró un efecto positivo sobre los cultivos tratados, sin embargo el efecto de los dos métodos de tratamiento -en los tanques de cultivo y durante los cambios de agua-, requeriría una evaluación más detallada tomando en cuenta los costos.

Por las diferentes condiciones de manejo de cada desove y la diferencia en tiempo, es difícil determinar

la ventaja de utilizar un método u otro, aunque no deja de ser aparente una mejor sobrevivencia y producción de postlarvas con la utilización del SULMET durante todo el desarrollo y no solo durante los cambios de agua.

Sin embargo, los resultados muestran también que el enjuague de las larvas con agua de mar con cloro a 4 ppm sin utilizar antibiótico como se hizo durante los desoves tres, cuatro y cinco, podría resultar interesante si se evaluara este método de manejo durante las épocas más frías de la temporada, dejando la utilización de SULMET solo durante la época cálida, propicia para la proliferación de bacterias.

#### 5.2.2 Densidad

Los rangos de larvas utilizados por mililitro no tuvieron efecto alguno en la velocidad de crecimiento, la mortalidad y la producción total. Según los resultados obtenidos, podría manejarse una densidad inicial de 20 larvas/ml, sin un efecto negativo, sin embargo los efectos positivos, no serían más de los obtenidos a 10 larvas/ml.

Lo que podría tener un efecto positivo sería el terminar

a densidades mayores de 2.5 larvas/ml, posiblemente a la densidad de 5 por mililitro recomendada por Breese y Malouf (1975). Para esto habría que evaluar de manera precisa el efecto de la densidad sin utilizar las condiciones de manejo y alimentación recomendadas por ellos.

### 5.2.3 Crecimiento

Las disminuciones en talla de las larvas que se observan al final de los desoves seis y ocho, se deben a la cosecha de larvas de 314  $\mu\text{m}$  que entraban a fijación. Esta cosecha tiende a disminuir el promedio de talla en las muestras de los últimos días. Debido a este proceso de selección, las curvas de crecimiento a partir del inicio de la fijación están subvaluadas.

En el quinto desove a partir del día 13 se tuvieron problemas con bacterias lo que disminuye notablemente el crecimiento hasta una mortalidad total para el día 17. Esta curva de crecimiento tiene características de un cultivo afectado por sustancias tóxicas debido a la disminución de la velocidad de crecimiento (Calabrese y Davies, 1970). Observaciones directas indicaban la presencia de bacterias y un análisis bacteriológico identificó la presencia de bacterias del tipo Pseudomona

diminuta como causante de la mortalidad. Por alguna razón la mortalidad se registrò primariamente en las larvas de mayor tamaño, ocasionando un decremento en los promedios de talla lo que le da a la curva del quinto desove las características mencionadas.

La diferencia significativa encontrada entre las pendientes del sèptimo y octavo desove y todos los demás desoves es posible atribuirla al cambio drástico de temperatura que se registrò durante el sèptimo desove y que continuò durante el resto de año.

Las fluctuaciones de temperatura que pudieron existir durante el desarrollo de los demás desoves no fueron lo suficientemente grandes para influir el crecimiento de una manera significativa.

Segùn datos aquí reportados, la fijación se inicia en un lapso de 23 a 33 días y la población no termina de entrar a fijación hasta después de 3 a 17 días de iniciada esta.

Segùn la experiencia de la mayoría de los autores como Loosanoff y Davies (1963), Calabrese y Davies (1966), Mathiessen y Torner (1966), Hidu y Richmond (1972), Walne (1974), Breese y Malouf (1975), O'Sullivan

y Wilson (1976), Im y Langmo (1977) y Lipovsky (1984) por citar algunos, los resultados obtenidos en este trabajo muestran una velocidad de crecimiento por debajo de sus reportes. La explicación más probable es la mala calidad del alimento utilizado. Helm y Laing (1987) reportan que Isochrysis aff. galbana var. tahitiana es un alimento malo para Crassostrea gigas y Crassostrea rhizophore, ocasionando un crecimiento y desarrollo lento. Ellos sugieren que esta especie de microalga es deficiente en uno o varios componentes vitales para su crecimiento normal y que la larva no puede biosintetizar o tiene una capacidad limitada para hacerlo.

Sin embargo, los resultados de crecimiento obtenidos durante este trabajo son semejantes a los reportados por Davies y Calabrese (1964) al estudiar el efecto de la temperatura en el crecimiento del ostión Crassostrea virginica, si consideramos que la temperatura alcanzada en el Laboratorio de Moluscos no fué mayor a 25°C. Ellos encontraron que los rangos de tiempo para iniciar la fijación van de 36 a 40 días a 20°C y de 24 a 26 a 25°C. También el tiempo que tardan en poner a fijar el total de las larvas varía de 6 a 28 días en el mismo rango de temperatura.

Uno de los puntos críticos para el cultivo exitoso

de moluscos, es la etapa de asentamiento, es decir, el lapso de tiempo desde que la larva tiene la capacidad para alcanzar la metamorfosis y la cementación en sí. Bayne (1965) determina que si la larva pediveliger no recibe el estímulo adecuado, estas pueden retrasar su asentamiento por algunas semanas. Todo parece indicar que el periodo de retraso está relacionado muy estrechamente por la calidad del sustrato proporcionado a la larva plantigrada.

La gran variación en los tiempos de retraso de las larvas que se encontraron de un desove a otro, parecen ser producto de las diferentes condiciones -temperatura, sustrato, cambios de agua, alimento, etc.- a que las larvas estuvieron expuestas durante el periodo de fijación.

La dieta recomendada por Breese y Malouf (1975) resultó poco adecuada por el desperdicio de alimento debido a las altas densidades que recomiendan, sobre todo después de la primera semana. Este evidente desperdicio motivó el cambio en el método de alimentación a partir del tercer desove.

La utilización de la caldera para calentar el agua del cultivo es un factor que tendría que evaluarse

en cuanto al costo-beneficio. Se podrían ganar de ocho a diez días si se utiliza para elevar la temperatura por encima de los 23°C durante todo el año o al menos durante los meses fríos. No habría que olvidar que a los gastos de combustible se aumentarían además los del antibiótico.

### 5.3 PRODUCCION DE LARVA PEDIVELIGER

Aparentemente el tratamiento con SULMET que se siguió al inicio de la temporada en los primeros dos desoves resultó en un incremento de más del doble en el porcentaje de larvas que entraron a fijación con respecto al resto (Tabla X). Sin embargo no se observa ninguna ventaja aparente en la contribución que cada desove hizo al total de postlarvas, teniendo valores de 26.03 y 19.38% para los primeros dos desoves respectivamente, y 27.48% en el séptimo desove que se trató con SULMET solo durante el cambio de agua.

De acuerdo a la infraestructura instalada, y comparando con los valores de 1976 a 1979 que reporta Krantz (1982) para HPEL y Gendrop en 1983 para el Laboratorio de Moluscos, los valores encontrados en este trabajo son superiores. El rango de larvas/1,000 litros obtenido en los cuatro años por HPEL va de 36 a 798, Gendrop

reporta 1,166 larvas/1,000 litros mientras que en este trabajo 3,625 larvas/1,000 litros (tabla XI).

La importancia de la cantidad y calidad del agua es evidente en los datos presentados. Mientras las variaciones tan grandes que Krantz (1982) reporta para 4 años en HPEL las atribuye a la calidad del agua, las diferencias en la producción de larva pediveliger en el Laboratorio de Moluscos en 1983 (Gendrop, 1984) y 1985, en este trabajo, aparentemente es debido a la cantidad de agua disponible.

El que los valores de utilización del espacio sean más similares entre laboratorios que los de utilización del volumen de cultivo, se debe a que en HPEL se utilizan tanques de 14,500 litros de capacidad.

Por los resultados obtenidos en la producción de larva pediveliger, es posible producir con resultados óptimos hasta 6.6 millones de larva por desove -lo máximo obtenido en este trabajo-.

#### 5.4 PRODUCCION DE POSTLARVAS

Aunque el porcentaje promedio de fijación de larvas obtenido de 6.8 se encuentra dentro del rango reportado

para el HPEL por Krantz (1982) se podría decir que es un valor bajo.

Según estudios realizados posteriormente a este trabajo, el bajo rendimiento pediveliger/postlarva se debe a la alta cantidad de pediveliger/cm<sup>2</sup> que se colocó al momento de la fijación. Al disminuir las larvas/cm<sup>2</sup> de 5,555 (Gendrop, 1984; Lizárraga, 1984) a 333 larvas/cm<sup>2</sup> (O'Sullivan y Wilson, 1976) fue posible obtener rendimientos superiores al 30%.

Lo anterior concuerda con los lineamientos expuestos anteriormente, ya que al bajar la densidad de larvas/cm<sup>2</sup> en los sistemas de fijación, se mejoraron las condiciones del sustrato en las camas de fijación ocasionando un incremento en el asentamiento.

Lo más probable es que la sobrecarga del sistema de fijación sea el factor responsable de la gran diferencia entre la producción de postlarva/m<sup>2</sup> encontrada entre los datos del Laboratorio de Moluscos y los reportados para el HPEL que son de 8.8 a 36.2 veces superiores en este último.

Los valores de éxito de fijación que Hidu (1970) asume -50 a 70%-, parecen estar muy sobreestimados

tomando en cuenta los resultados obtenidos. Bajo las metodologías utilizadas comúnmente, no parece probable obtener los valores indicados por Hidu (1970) de una manera sostenida (Lannan, 1980).

La diferencia es debida seguramente a los problemas de escalamiento indicados con anterioridad (Huguenin, 1974; Lannan, 1980; Krantz, 1982; Lipovsky, 1984).

La producción de larvas pediveliger y postlarvas, no se ve afectada negativamente por la rutina que se estableció a mediados de año, de buscar realizar desoves cada 15 días mediante el manejo del espacio, teniendo la mitad de los tanques con larvas de 15 días y otra mitad con larvas menores de 15 días. Por lo anterior, podría establecerse esta como la mejor estrategia.

#### 5.5 PRODUCCION DE OSTRILLAS

No fue posible llevar a cabo el manejo de semilla propuesto por Lizárraga (1984) al encontrar inconsistencias entre los tiempos y tallas indicadas en el método.

La mortalidad de postlarva a ostrilla encontrada en el octavo desove se debe principalmente a que esta

semilla salió del laboratorio poco más pequeña que la anterior, por lo que no registró la mortalidad natural y por manejo que tuvieron las que permanecieron por más tiempo en el laboratorio.

Mientras en este trabajo se reporta una mortalidad del 32.3% de postlarva a ostrilla, Krantz (1984) reporta mortalidades superiores al 33%. El las atribuye principalmente a la mala calidad del agua, en este trabajo principalmente a una sobrecarga de los sistemas de preengorda.

Mientras la capacidad de carga estimada para el sistema con semillas de 3 y 4 mm es de 94,500 y 27,000 respectivamente, normalmente estuvieron funcionando con aproximadamente 200,000 organismos durante la mayor parte de la temporada.

Los datos de ostrilla/m<sup>2</sup> están dentro del rango que reportan en HPEL, pero sin lugar a duda si los sistemas hubieran sido cargados con las estimaciones calculadas, se estaría muy por debajo de los reportes de Krantz (1984), pero se hubieran obtenido mejores crecimientos para la semilla.

Las observaciones preliminares sobre los semilleros de surgencia resultaron prometedores ya que pueden

soportar una capacidades de carga diez veces superior en la misma àrea (Claus, 1981).

#### 5.6 PRODUCCION DE MICROALGAS

El sistema propuesto para la producciòn masiva de microalgas resultò satisfactorio para mantener sostenidamente y sin mayores dificultades la producciòn de alimento requerido en el laboratorio. Sin embargo, es posible eficientizar el sistema mediante la incorporaciòn de métodos semicontinuos, suministro de CO<sub>2</sub> ò bien utilizando recipientes que permitan mejor iluminaciòn y homogenizaciòn del cultivo.

La eficientizaciòn del sistema de cultivo, abriria la posibilidad de incrementar las especies cultivadas simultaneamente, enriqueciendo la dieta y mejorando los resultados.

#### 5.7 REACONDICIONAMIENTO DEL LABORATORIO DE MOLUSCOS

Durante la temporada de trabajo resultaron evidentes algunas mejoras que se podrian hacer al laboratorio sin necesidad de efectuar mayores gastos.

La secciòn seca del laboratorio resulta insuficiente

para los trabajos requeridos por el personal de larvas y microalgas, por lo que se propone acondicionar el área de almacén como un laboratorio seco para microalgas y de esta manera aliviar el congestionamiento de personal en una sola área.

Para lograr esto se requiere que todo el material de almacén sea reacomodado en el cuarto de máquinas con excepción de reactivos y material similar que pudieran sufrir daños por la humedad.

Con una distribución adecuada de los tanques cultivo de larvas, se podrían acomodar tres tanques de 1,000 litros y seis de 1,200 litros, para lo cual se requeriría de reacomodar la tubería que suministra agua y aire a los tanques.

Debido a que el agua pasa por la unidad de luz ultra violeta, para el llenado de los tanques, solo se requiere una salida de agua y no las que se tenían originalmente. Esto permitiría ahorrar tubería ya que no es indispensable que la tubería pase por encima de los tanques a través de todo el laboratorio, basta colocar la salida lo más cerca de los nueve tanques en un lugar que no estorbe la limpieza de los mismos.

Es recomendable colocar las llaves de salida en el cuarto de semilla en un lugar que permita aprovechar mejor el espacio disponible, ya que donde se encuentra actualmente, en el centro de esta sección, resulta poco funcional.

La tubería de aire tiene que ser cambiada por tubería de 1 1/2" (3.8 cm) para un mejor aprovechamiento del compresor, además de cambiar la tubería de salida a 3/4" (1.9 cm), por lo que las llaves reguladoras deberán ser también de 3/4" (1.9 cm).

## 6 CONCLUSIONES

### 6.1 DE LOS RESULTADOS

Es factible obtener ostiones reproductores para desoves de abril a octubre.

La programación de los desoves cada dos semanas permite obtener un mayor control y mayor producción de larva "D".

Los óvulos de Crassostrea gigas son poco propensos a la poliespermia al ser fertilizados bajo las características utilizadas en este trabajo -aproximadamente dos horas después de desovados y minimamente 15 minutos de tiempo de fertilización-.

Aunque la densidad inicial de larvas/ml no parece tener un efecto decisivo -al menos hasta 20 larvas/ml- sobre la producción, si se podría incrementar la producción terminando el cultivo a densidades mayores de 2.5 larvas/ml.

La producción de grandes cantidades de larvas "D" puede llevarse a cabo sin mayores problemas.

En el proceso normal de un cultivo, la sobrevivencia es directamente proporcional al grado de selección durante el tamizado y por la densidad final de larvas/ml que se quiere.

La microalga Isochrysis aff. galbana var. tahitiana resultò un alimento poco adecuado como dieta ùnica para el cultivo de Crassostrea gigas.

Con los resultados obtenidos, es posible esperar producir 6.6 millones de larvas pediveliger/desove.

La cantidad de larvas/cm<sup>2</sup> es determinante en el éxito del asentamiento. La sobrecarga de larva pediveliger en las camas de fijación produjo un bajo porcentaje (6.8%) de postlarvas.

La sobrecarga en los semilleros, ocasionò un crecimiento lento en la postlarva y ostrilla y probablemente repercutiò en el porcentaje de mortalidad.

Tomando en cuenta la infraestructura instalada en el Laboratorio de Moluscos la producción de óvulos, larva "D", larva pediveliger y ostrilla se puede calificar como buena, mientras que en la producción de postlarva se podría calificar de mala.

## 6.2 DE LAS TECNICAS

El método de desove utilizado es satisfactorio para estimular a los reproductores pudiendose obtener una gran cantidad de óvulos.

Para la fertilización se puede utilizar una cantidad de esperma diez veces mayor a la recomendada por Bresse y Malouf (1975) sin efectos negativos.

No fué posible concluir el grado de beneficio de la utilización de SULMET en sus dos métodos de aplicación, por lo que es recomendable evaluarlos con precisión.

El criterio utilizado en el manejo de tamices en este trabajo resultó mas flexible y funcional en contraposición a los demas métodos.

La dieta recomendada por Breese y Maoluf (1975) resultó poco adecuada por las altas cantidades de alimento que propone. Utilizar esta dieta ocasiona un gran desperdicio de alimento. Se recomienda una dieta de 30,000 cel/ml durante las primeras dos semanas y de 50,000 cel/ml de la tercera semana al final del desarrollo.

Para el proceso de asentamiento, la cantidad de larvas

recomendadas por Gendrop (1984) y Lizàrraga (1984) de 5,555 larvas/cm<sup>2</sup> no es adecuada. Se recomienda utilizar 333 larvas/cm<sup>2</sup>, densidad propuesta por O'Sullivan y Wilson (1976).

7 LITERATURA CITADA

- Aguilar, F., 1981. Aprovechamiento de los Recursos Marinos Costeros. Informe Final del Proyecto 1157-B OEA-1975-1980. UCM-UABC, CICESE, UAM-X. Tomo I.
- Bayne, B.L., 1965. Growth and the delay of metamorphosis of the larvae of Mytilus edulis (L.). *Ophelia*, 2:1-47.
- Breese, W.P., y R.E. Malouf, 1975. Hatchery Manual for the Pacific Oyster. Oregon State Univ. Sea Grant College Program. Pub.No. ORESU-H75-002, 22 pp.
- Brooks, W.K., 1880. The development of the American Oyster. Stud. Biol. Lab., John Hopkins Univ. IV, 1-104.
- Bruce, J.R., M. Knight, y M.W. Parke, 1940. The rearing of oyster larvae on an algal diet. *J.Mar.Biol.Assn.U.K.*, 24:337-374.
- Calabrese, A., y H.C. Davies., 1966. The pH tolerance of embryos and larvae of Mercenaria mercenaria and Crassostrea virginica. *Biol.Bull.*13(3):427-436.
- Churchill, E.P.Jr., 1920. The oyster and the oyster industry of the Atlantic and Gulf coasts. U.- S.Bur.Fish.App.8 to Rep.U.S.Comm.Fish., 1-51.
- Clark, J.E., y R.D. Langmo, 1979. Oyster seed hatcheries on the U.S. West Coast: An Overview. *Mar.Fish.Rev.* 41(12):10-16.
- Claus, C., 1981. Trends in nursery rearing of bivalve molluscs. pp. 1-33. In: Nursery Culturing of Bivalve Molluscs. Claus, C.N., N. De Pauw, y E. Jaspers (Eds). EMS Special Pub. No.7. European Mariculture Society, Bredene, Belgium, 394 pp.
- Cole, H.A., 1937. Experiments in the breeding of oysters (Ostrea edulis) in tanks, with special reference to the food of the larvae and spat. *Fish.Invest.*, Min.Agric.Fish., London, Ser. 11, 15:1-28.
- , 1939. Futher experiments in the breeding of oysters (Ostrea edulis) in tanks. *Fish.Invest.*, Min.Agric.Fish., London, Ser. 11, 16:1-47.

- Culliney, J.L., P.J. Boyle y R.D. Turner, 1972. New Approaches and techniques for studying bivalve larvae. In: Culture of Marine Invertebrate Animals, Smith, W.L. y M.H. Chanley (Eds). Plenum Press. New York and London, 338 pp.
- Davies, H.C. y R.R. Guillard, 1958. Relative value of ten genera of micro-organism as food for oyster and clam larvae. U.S. Fish Wildlife Serv., Fish. Bull., 58:293-304.
- , y A. Calabrese., 1964. Combined effects of temperature and salinity on development of eggs and growth of larvae of Mercenaria mercenaria and Crassostrea virginica. Fish. Bull. 63(3):643-655.
- De Pauw, N., 1981. Use and production of microalgae as food for nursery bivalve. p.35-69, In: Nursery Culturing of Bivalve Molluscs. Claus, C.N., N. De Pauw, y E. Jaspers (Eds). EMS Special Pub. No.7. European Mariculture Society, Bredene, Belgium, 394 pp.
- Dupuy, J.L., 1973. Translation of mariculture research into a commercial oyster seed hatchery. Marine Tech. Soc. 9th Annual Conference; 677-685.
- Gendrop, V. y R. Islas-Olivares, 1981. Aprovechamiento de los Recursos Marinos Costeros. Informe Final del Proyecto 1157-B OEA-1975-1980 UCM-UABC, CICESE, UAM-X, Informe I.I.O. Tomo I.
- Gendrop, V., 1983. Investigaciones aciculturales para el desarrollo de biotecnias a nivel piloto semicomercial. Informe anual 1983. IIO-UABC-SEP.
- Gendrop, V. 1984. Manual de operaciones del Laboratorio de Moluscos. Informe interno IIO-UABC.
- Goodman, J.M. 1969. A systems engineering approach to mollusc production. pp. 159-182. In: Proceedings of the Artificial Propagation of Commercially Valuable Shellfish -Oysters-. Price, K.S., and D.L. Maurer (Eds). College of Marine Studies, Univ. of Delaware.- Newark, Delaware 199 pp.
- Hamilton, R.D. 1973. Sterilization. In: Handbook of Phycological Methods. J.R. Stein (Ed). Cambridge University Press, New York, N.Y. 446 pp.

- Helm, M.M. 1987. Preliminary observations on the nutritional value of "Tahiti Isochrysis" to bivalve larvae. *Aquaculture*, 62: 281-288.
- Hidu, H., 1969. The feasibility of oyster hatcheries in the Delaware Chesapeake Bay region. pp.111-132. In: Proceedings of the Artificial Propagation of Commercially Valuable Shellfish-Oysters-. Price, K.S., and D.L. Maurer (Eds). College of Marine Studies, Univ. of Delaware. Newark, Delaware 199 pp.
- , y M.S. Richmond., 1972. Commercial oyster aquaculture in Maine. Dep. of Commerce under Grant. No. NG 40-72 Univ. of Maine at Orono, 51 pp.
- Hughes, E., 1940. The breeding of oysters in tanks. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 24:543-547.
- Huguenin, J.E., 1974. Development of a marine aquaculture complex. Am. Soc. Agricultural Engineers Annual Meeting. Oklahoma State Univ. pp 1-16.
- Im, K.H., y R.D. Langmo., 1977. Hatchery produced pacific oyster seed; economic feasibility on cultch in the Pacific Northwest. Pub.No. ORESU-T-77-010. Oregon State Univ. Sea Grant College Program. 80 pp.
- Islas-Olivares, R., 1975. El ostion japonés (Crassostrea gigas) en Baja California. *Ciencias Marinas (Mèx.)* 2(1):58-59.
- Korringa, P., 1976a. Farming the Cupped Oyster of the Genus Crassostrea. Elsevier Scientific Publishing Co., New York. 224 pp.
- , 1976b. Farming the Flat Oyster of the Genus Ostrea. Elsevier Scientific Publishing Co., New York. 238 pp.
- Krantz, G.E., 1982. Oyster Hatchery Technology Series. University of Maryland -Sea Grant Publication No. UM-SG-MAP-82-01.
- Lannan, J.E., 1980. Broodstock management of Crassostrea gigas. I. Genetic and environmental variation in survival in the larval rearing system. *Aquaculture*, 21:323-336.
- Lannan, J.E., A. Robinson y W.P. Breese., 1980. Broodstock management of Crassostrea gigas. II. Broodstock conditioning to maximize larval survival. *Aquaculture*,

21:337-345.

- Lipovsky, V.P., 1984. Oyster egg development as related to larval production in a commercial hatchery. *Aquaculture*, 39:229-235.
- Lizárraga, S. 1984. Descripción de las rutinas establecidas en el manejo de operaciones del Laboratorio de Moluscos a niveles de producción. Informe Anual 1984 del Laboratorio de Moluscos. IIO-UABC.
- Loosanoff, V.L., 1945. Precocious gonad development in oysters induced in midwinter by high temperature. *Science*, 102:124-125.
- , y H.C. Davies, 1963a. Rearing of bivalve mollusks. pp.1-136. In: Advances in Marine Biology. F.S. Russell (Ed) Vol.I. Academic Press Inc., London and New York.
- , 1963b. Shellfish hatcheries and their future. *Comm.Fish.Rev.*, 25:1-11.
- , y P.E. Chanley, 1966. Dimensions and shapes of larvae of some marine bivalve mollusks. *Malacologia*, 4(2):351-435.
- Loosanoff, V.L., 1969. Development of shellfish culture techniques. pp.9-40. In: Proceedings of the Artificial Propagation of Commercially Valuable Shellfish -Oysters-. Price, K.S., and D.L. Maurer (Eds). College of Marine Studies, Univ. of Delaware. Newark, Delaware 199 pp.
- , 1972. Research requirements for development of molluscan farming in the United States. pp. 165-179. In: Progress in Fishery and Food Science. R.W. Moore (Ed). University of Washington College of Fisheries Fiftieth Anniversary Celebration Symposium. Volumen V. 1972. 223 p.
- Loose, E., 1979. Relationship between larval and spat growth rates in the oyster (Crassostrea virginica). *Aquaculture*, 16:123-126.
- Matthiessen, G.C. y R.C. Torner, 1966. Possible methods of improving the shellfish industry of Martha's Vineyard, Dukes County, Massachusetts. Published by the Marine Research Foundation, Edgartown, Mass.
- Moore, H.F., 1898. Oyster and methods of oyster-culture.

- Rep.U.S.Comm.Fish. for 1897, 23:263-338.
- O'Sullivan,B.W., y J.H. Wilson., 1976. Development of an experimental oyster hatchery. Fish Farming Int.
- Prytherch,H.F., 1924. Experiments in the artificial propagation of oysters. U.S.Bur.Fish.App. 11 to Rep.U.S.Comm.Fish., Fiscal Year 1923, 1-14.
- Ryder,J.A., 1883. Rearing oysters from artificialy fertilized eggs, together with notes on pond culture. Bull.U.S.Fish.Comm., 3:281-294.
- Sprung,M., 1984. Physiological energetics of mussel larvae (Mytilus edulis). I. Shell growth and biomass. Mar.Ecol.Prog.Ser. Vol. 17:283-293.
- Walne,P.R., 1974. Culture of Bivalve Nolluscs: 50 years experience at Conway. Whitefriars Press Ltd., London and Tonbridge. 191 pp.
- , 1981. Culture of shellfish. In: Aquarium Systems. A.D. Hawkins (Ed). Academic Press, New York, 452 pp.
- Wells,W.F., 1920. Growing oysters artificially. -  
Conservationist, 3:151, New York Conserv.Com.
- , 1926. A new chapter in shellfish culture. N.Y. St.Conserv.Comm., Fifteenth annu. Rep., 1-36.
- , 1927. Report of the experimental shellfish station. N.Y.St.Conserv.Dep., Rep. 16:1-22.
- Wilson,D.P., 1941. Oyster rearing on the River Yealm. J.Mar.Biol.Ass.U.K., 25:125-127.
- Winslow,F., 1884. Report of experiments in the artificial propagation of oysters, conducted at Beaufort, N.C., and Fair Haven, Conn., in 1882. Rep.U.S.Comm.Fish. for 1882, 741-761.