

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA



FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS



"EFECTO DE LA MICROALGA *Monochrysis lutheri* CULTIVADA CON FERTILIZANTES AGRICOLAS EN EL CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA DE LARVAS Y POSTLARVAS DEL MEJILLON *Mytilus edulis* (L)"



T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
O C E A N O L O G O

PRESENTA

FRANCISCO JACOB OCAMPO ARANDA


ENSENADA, B. C.

SEPTIEMBRE DE 1990.

"EFECTO DE LA MICROALGA *Monochrysis lutheri*
CULTIVADA CON FERTILIZANTES AGRICOLAS
EN EL CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA DE
LARVAS Y POSTLARVAS DEL MEJILLON
Mytilus edulis (L)"

TESIS QUE PRESENTA
Francisco Jacob Ocampo Aranda

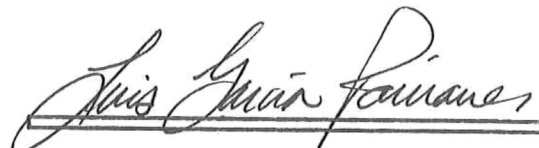
APROBADA POR:



PRESIDENTE DEL JURADO
Oc. Lewis McAnally Salas



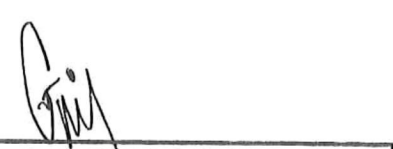
SINODAL PROPIETARIO
Oc. Carlos Granados Machuca



SINODAL PROPIETARIO
Oc. Luis García Pámanes



SINODAL SUPLENTE
Oc. Enrique Valenzuela Espinoza



SINODAL SUPLENTE
Oc. Griselda Pares Sierra

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO) por el apoyo brindado y permitirme realizar este trabajo dentro de sus instalaciones.

Es necesario mencionar el apoyo y dirección del Dc. Lewis Samson McAnally Salas en el análisis y redacción del trabajo; además le doy las gracias por la confianza depositada en mí para trabajar con una de sus ideas.

Al Dc. Enrique Valenzuela Espinoza por facilitarme un área en el laboratorio que está a su cargo además de instruirme en el cultivo de microalgas.

Al Dc. Luis García Pámanes por permitirme trabajar con una especie asignada a su proyecto, además de la ayuda brindada para la obtención de los sementales, los cuales fueron donados por la compañía Martesano, S.A. de C.V..

A cada uno de los sinodales principalmente a aquellos que ayudaron a mejorar el trabajo, con sus acertadas críticas y sugerencias y sobre todo al tiempo dedicado para mejorar el presente escrito.

A todas aquellas personas que de alguna manera me facilitaron y/o me sugirieron cierta literatura.

A los Oceanólogos Griselda Parés S. y Luis García P. por permitirme el acceso a su computadora particular.

Al Dc. Salvador Galindo por facilitarme la computadora que está a su cargo.

Al departamento de geología del (IIO) por facilitarme una Balanza analítica.

Al departamento de acuicultura del (IIO) por contar con computadoras asignadas a sus proyectos lo cual en realidad me fue de gran utilidad; aunque fue para la última fase del escrito.

Mi más sincero reconocimiento a mis amigos con los cuales compartí momentos muy especiales y sobre todo para aquellos que de alguna u otra manera fueron compañeros en el buceo libre, cuya colecta de organismos marinos fue de tipo depredador, con la finalidad de amortiguar los tiempos de estudiambre o simplemente mejorar nuestra dieta o hacer algunas pequeñas variaciones en la misma al menos por algunos días.

A ellas por prometedoras...?

```

      ****
      **
      **   ***   *****   ****   **
      **       **  **  **   **  **   *****
      **   *****  **       **  **   **  **
**  **  **  **  **  **  **  **  **  **  **
      ****   ***  **   *****   ****   **  **

```

DEDICATORIA

A MIS PADRES

MARIA TERESA ARANDA Y FIDEL OCAMPO

A ella que me enseñó y me llevo por el buen camino, además de motivarme día a día para mi superación y sobre todo por enseñarme a valorarme, además me enseñó a amar al prójimo como a mi mismo, en fin todo lo bueno de mi ser se lo debo a mi madre.

Mamá gracias por confiar en mi y por el gran apoyo que en ningún momento deje de percibir, te amo.

A cada uno de los miembros de mi GRAN FAMILIA de la cual estoy muy orgulloso, a todos, mi amor completo. Para aquellos que luchan y saben que necesariamente para obtener algo hay que depender de uno mismo, para ellos mi respeto; además pueden contar conmigo.

A la familia Uribe Uribe por el cariño brindado y por el solo hecho de ser como son gracias, les quiero mucho.



La vida es tanto más hermosa cuanto más espera uno de ella. El que cree que ya lo ha vivido todo; el que piensa que mañana será igual a hoy; el que sostiene que cualquier tiempo fue mejor, ese...no vive, o vive anestesiado por su propia falta de esperanza. Prefiero vivir literalmente convencido de que lo mejor de mi vida no ha llegado todavía.

-J.L. Martín Descalzo, en
Blanco y Negro (España)

LISTA DE TABLAS

PAGINA

Tabla 1.	Porcentaje de larvas pediveliger encontradas por tratamiento: A) con mancha ocular; B) durante el proceso de metamorfosis.....	20
----------	--	----

1.0 INTRODUCCION

{ *Mytilus edulis* se encuentra distribuido en casi todo el mundo, está presente en ambos hemisferios en el nortemericional y surmeridional (Stubbins, 1954). Los mejillones están restringidos a la zona litoral, sobre las costas oeste de Norteamérica, *Mytilus edulis* ocurre comúnmente en aguas quietas semejantes a bahías, esteros, etc, aunque también pueden ocurrir en número considerable sobre costas expuestas y semiexpuestas (Harger, 1970). }

Uno de los principales riesgos para llevar a cabo cultivos a gran escala es el no contar con la cantidad suficiente de semilla para lograr que el cultivo de mejillón sea rentable. Aún, cuando se conozca la época de captación de la semilla, ésta varía notablemente año con año (Waterstrat et al., 1980).

La myticultura se realiza con gran éxito en varios países entre ellos: España, Holanda, Francia, Dinamarca, Inglaterra, Chile, Venezuela, entre otros. El éxito en el cultivo de este molusco bivalvo se debe a la obtención de la semilla del medio natural, debido a los grandes bancos de mejillón existentes en sus costas. Existen cuatro tipos de sistema de cultivo: sobre postes, sobre el fondo y sobre líneas colgantes en long-line y balsas; cada sistema se usa considerando las características geográficas del litoral así como el grado de exposición al oleaje, profundidad, perfil,

tipo de fondo y rango de mareas (Andreu, 1976a; Carvajal, 1976; González, 1973; Glude y Chew, 1982).

Actualmente los problemas que pueden enfrentar algunos países como China, Canadá y E.U.A., entre otros que se dedican al cultivo del mejillón es el no contar con extensos bancos naturales, o bien a la variabilidad e inconsistencia de los asentamientos; como para obtener toda su materia prima del medio ambiente, cuando tal es el caso se ven obligados a producir la semilla en laboratorios de producción logrando así satisfacer un pequeño porcentaje de sus necesidades en cuanto a semilla (Waterstrat *et al.*, 1980; Zhang, 1984).

En la zona noroeste de México durante la última década, las actividades de carácter acuacultural han estado dirigidas principalmente al desarrollo de la producción masiva de juveniles de moluscos bivalvos (ostiones, mejillones y almejas) debido a que el cultivo de estos es el método más eficiente para convertir el fitoplácton marino en un recurso destinado al consumo humano y son preferidos en comparación con otras especies ya que no requieren alimentación artificial y proporcionan una mayor producción por unidad de área que especies de niveles tróficos más altos (Bardach *et al.*, 1972 ; Mason, 1976). Entre estos tres géneros, los mejillones se encuentran entre los organismos de mayor valor nutritivo (Bardach *et al.*, 1972), además, su relación peso-

carne : peso-total es elevado y su crecimiento es muy rápido comparado con otras especies (Incze *et al.*, 1978).]

En 1977 el Instituto de Investigaciones Oceanológicas inició un proyecto con el propósito de estudiar las posibilidades de cultivar comercialmente el mejillón. Se hicieron estudios de fijación de postlarva en colectores artificiales; además se llevo a nivel piloto el cultivo de *Mytilus edulis* y *Mytilus californianus*, cuya semilla se colectó de bancos existentes en el medio natural, se determinó el crecimiento para ambas especies, utilizando long-line como arte de cultivo (Monje Fernandez, 1983). Cancino Franklin, (1985), llevo a cabo experimentos con *Mytilus californianus* utilizando como arte de cultivo cuerdas suspendidas en balsa.

A partir 1983 se realizaron experimentos a nivel laboratorio con progenitores de *Mytilus edulis* y *M. californianus* con la finalidad de mantener sementales maduros todo el año y así poder disponer de gametas viables en el momento necesario (Carpizo Ituarte, 1983; Alvarado Enriquez, 1989). Continuamente se realizaron experimentos buscando el rango óptimo de temperatura y salinidad, así como la concentración de alimento requerido para obtener un mejor crecimiento y sobrevivencia en *M. californianus* Anguiano Beltran, (1989).

Los cultivos masivos en laboratorios de producción de moluscos bivalvos de importancia comercial, implican la producción de volúmenes sustanciales de algas microscópicas

apropiadas para su alimento (Persoone y Claus, 1980). En laboratorios de producción se le llama cuello de botella a los grandes problemas que enfrenta el acuacultor para llevar a cabo cultivos de fitopláncton a gran escala principalmente en el exterior, ya que el éxito de este depende de las condiciones ambientales y sobre todo que las larvas y/o postlarvas obtengan la cantidad adecuada de alimento para un buen crecimiento y sobrevivencia Guerrero *et al.*, (1981).

Independientemente de la efectividad de los medios de cultivo para la producción de microalgas, uno de los aspectos que requieren la atención sobre todo en las granjas comerciales de filtroalimentadores, es la obtención de medios de cultivo más económicos, para la producción masiva de fitopláncton, ya que, por lo general, los medios tradicionales de cultivo se preparan enriqueciendo el agua de mar con sales nutritivas de grado reactivo que se obtienen en casas comerciales a precios elevados (Granados Machuca y Buckle Ramírez, 1984), lo cual repercute fuertemente en los costos de producción de larvas y semilla de moluscos bivalvos.

1.1 ANTECEDENTES

Se han realizado diversos estudios para conocer el comportamiento de las microalgas cultivadas con diferentes medios de cultivo, entre ellos los fertilizantes agrícolas (Loosanoff y Engle, 1942) y gran variedad de harinas (de

pescado, girasol, algodón, por mencionar algunas) De la Cruz y Alfonso, (1975); De la Cruz, (1985). Así como digeridos de macroalgas, excrementos de aves y ganado (Granados Machuca y Buckle Ramírez, 1984). En la actualidad las fuentes de nitrógeno y/o fósforo que han tenido mayor auge, las podemos encontrar en los fertilizantes, ya que, por su modo de preparación son más prácticos y sencillos, además de ser económicos.

Tomando en cuenta el aspecto de los costos, la utilización de fertilizantes agrícolas como una opción para el cultivo de microalgas, en la sustitución de los nutrientes químicos tradicionales, es una alternativa necesaria para alcanzar niveles masivos de producción. González Rodríguez y Maestrini (1984) indican que los fertilizantes agrícolas inorgánicos que no presentan nitrógeno y/o fósforo son incapaces de mantener crecimientos unialgales adecuados.

Herrera Treviño (1988), realizó cultivos de *Tetraselmis suecica* en tanques externos con 90 litros de cultivo. Utilizó como medio sulfato de amonio y f/2 donde no encontró diferencias significativas en densidad poblacional al comparar los dos medios.

Guerrero *et al.*, (1981), realizaron experimentos al aire libre de microalgas a grandes volúmenes utilizando fertilizantes agrícolas y realizaron bioensayos con semilla de dos bivalvos, obteniendo buenos resultados para: la almeja *Venerupis decussata* y el ostión europeo *Ostrea edulis*. La

almeja *Venerupis decussata* mostró aumentos en peso de 0.048 g a 0.28 g durante cuatro meses en cultivo con una mortalidad del 10.7%, mientras que *Ostrea edulis* incrementó su peso de 0.1 g a 0.26 g durante 5 meses de cultivo obteniendo una mortalidad de 12.4%. Igualmente Riva y Lelong (1981), utilizaron microalgas cultivadas con fertilizantes agrícolas nitrato de amonio y sulfato de calcio en tanques externos de 35 m³ con las cuales alimentaron dos especies de almeja: *Ruditapes philippinarum* y *Ruditapes decussata*, encontrando resultados satisfactorios.

Aunque los resultados reportados para semilla de bivalvos son buenos al utilizar fertilizantes para la producción de alimento, no se han encontrado reportes donde se haya evaluado su utilización en la alimentación de larvas. La importancia de realizar este tipo de bioensayos estriba nuevamente en el abaratamiento de los costos a nivel laboratorio en la obtención de postlarva y/o semilla. Del mismo modo, la simplificación de las técnicas de producción de microalgas para la alimentación de larvas y semilla en laboratorios rústicos, apoya al sector productivo brindándoles alternativas para el desarrollo de proyectos acuaculturales.

Tomando en cuenta lo anterior, se planteó la realización de bioensayos sobre el cultivo de larvas y postlarvas de *Mytilus edulis* dándoles *Monochrysis lutheri* cultivada con fertilizantes agrícolas.

La microalga *Monochrysis lutheri* seleccionada para este experimento es considerada como una especie de alto valor nutritivo (por su composición química) además es consumida en cada fase importante del desarrollo para una amplia variedad de larvas y juveniles de moluscos bivalvos (Parson *et al.*, 1961; Bayne, 1965; Chanley, 1975; Winter, 1978; De Pauw, 1981).

1.2 OBJETIVO

Determinar el efecto en el crecimiento y sobrevivencia de larvas y postlarvas del mejillón *Mytilus edulis* alimentadas con *Monochrysis lutheri* cultivada con dos fertilizantes agrícolas como fuente de nitrógeno; sulfato de amonio y urea.

2.0 MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de producción de microalgas del Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO) de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC).

Se cultivo *Monochrysis lutheri* con tres medios de cultivo, dos preparados con los fertilizantes agrícolas; sulfato de amonio y urea y el tercero con el medio f/2 de Guillard (1975) que se utilizó como testigo.

Los experimentos con larvas de *Mytilus edulis* se llevaron a cabo por triplicado mediante nueve cubetas aforadas a 15 litros y para evitar el problema de la pseudoreplicación fueron distribuidas azarosamente en el área de cultivo dentro del mismo laboratorio de producción.

2.1 CULTIVO DE MICROALGAS

En el cuarto de cultivo de microalgas la temperatura se mantuvo con un sistema de aire acondicionado entre 19-20 \pm 1°C. El agua de mar utilizada se filtro previamente a una micra y se desinfectó mediante un sistema de luz ultravioleta (UV).

Los cultivos unialgales se trabajaron desde, el primer nivel en matraz de 250 ml, con un volumen de 100 ml en cultivo, con tres de ellos, a la semana se inoculó un garrafón de 20 litros con un volumen en cultivo de 16 litros, que después de 12 días se transfirió a un tanque de 400 litros en cultivo. Cada semana se utilizaron tres garrafones concentrados para inocular tres tanques de fibra de vidrio con capacidad de 400 litros. Las cosechas se hicieron durante la fase de crecimiento exponencial y los primeros días de la fase estacionaria del cultivo.

El medio f/2 de Guillard (1975), se utilizó en todos los niveles mientras que, los fertilizantes solo se utilizaron en los tanques de 400 litros.

En los tanques de 400 litros se tomaron registros diarios de temperatura, concentraciones de amonio, concentraciones de microalgas y pH. La temperatura fue medida mediante un termómetro (ERTCO) con una precisión de 0.1°C; las concentraciones de amonio se determinaron semicuantitativamente con varillas indicadoras EM Quant las cuales se contrastaron por color en una escala de 0-400 mg/l de amonio; las concentraciones de microalgas se cuantificaron mediante densidad óptica a 675 nanómetros, utilizando un espectrofotómetro Hatch DR-2 y una curva de calibración elaborada previamente; el pH se registró con un potenciómetro Fisher mod 156.

Para preparar las soluciones stock de los fertilizantes agrícolas, el fertilizante se peso proporcionalmente para que tuviera 882.143 µg at.N/l equivalente a la misma cantidad de nitrógeno que el medio f/2 (Wilburn González, 1990). De tal manera, según sea el caso, se disuelven en un matraz de aforación volumétrico de un litro, 26.46 gr/l de urea ó 58.22 gr/l de sulfato de amonio en agua destilada con la ayuda de una plancha de agitación y un agitador magnético. De esta solución se utiliza un mililitro por litro de cultivo. El medio f/2 se preparó según la formula y procedimientos descritos por Guillard (1975).

2.2 CULTIVO DE LARVAS

Los mejillones se colectaron de las balsas de cultivo comercial (Martesano, S.A. de C. V.) localizadas en la región de Punta Banda, de la Bahía Todos Santos, Baja California.

En Marzo de 1989 se colectaron 80 organismos con una talla promedio de 7.0-8.0 cm de largo los cuales fueron transportados en seco al laboratorio en donde fueron limpiados de epibiontes existentes y lavados con agua dulce. Posteriormente se colocaron en cuatro canastas de plástico y se metieron en un sistema cerrado manteniendo la temperatura constante a 7°C con un enfriador Frigid Units durante 24 horas.

El método de desove consistió en una combinación de dos estímulos: físico (cambio de temperatura) y biológico (presencia de esperma). Para provocar el estímulo físico después de 24 horas de haber permanecido a 7°C se colocaron en la cama de desove con agua circulando a temperatura ambiente, (17°C) (Iwata, 1951), como el desove no se produjo durante la primera hora se incrementó la temperatura del agua a 23°C. Para provocar el estímulo biológico, al primer organismo que desovó (macho) se le permitió que arrojara sus gametas durante unos minutos en la cama del desove para que los demás mejillones detectaran la presencia de esperma en el ambiente.

Según fueron desovando, se retiraron de la cama del desove colocandose por separado machos y hembras. Una vez que se dió por terminado el desove, los sementales se enjuagaron y las gametas se tamizaron para eliminar la basura. Tomando tres muestras de un mililitro los ovulos fueron cuantificados utilizando, una cámara de conteo Sedwick-Rafter y un microscópio compuesto. La fertilización se llevó a cabo en una cubeta aforada a 15 litros, se utilizaron 60 mililitros de esperma activo concentrado para fecundar 14.115 millones de ovulos, una vez de agregadas las gametas femeninas y masculinas en la cubeta el contenido de ella se homogenizó con un agitador plástico y se dejaron 40 minutos para que se realizara la fertilización, posteriormente se filtraron por un tamiz de 35 μm para eliminar el esperma sobrante y retener los ovulos fertilizados los cuales se pasaron a un tanque de fibra de vidrio de 1000 litros de capacidad con agua de mar a temperatura ambiente (17°C), y sin aereación.

Después de permanecer 48 horas en reposo se hizo pasar el drenado del tanque por un tamiz de 35 μm para retener su contenido, el cual se aforó a 10 lt., se agitó vigorosamente con un agitador plástico, se tomaron tres muestras de un mililitro y con la ayuda de una cámara Sedwich-Rafter y un microscópio compuesto se cuantificaron 10.91 millones de larvas en estadio D; usando un tamiz de 70 μm se procedió a seleccionar larva más grande, reteniendo así una población homogénea para el inicio del bioensayo. La larva se dis-

tribuyó en las nueve cubetas experimentales a una densidad aproximada de 10 larvas/ml. Para la segunda y tercera semana la cantidad de larvas en cultivo se ajustó a una densidad aproximada de 5 y 3 larvas/ml respectivamente.

Los cambios de agua para cada cubeta se realizaron cada dos días, se utilizó durante todo el experimento el tamiz de 70 μm para evitar la pérdida de larvas más pequeñas y sobreestimar el crecimiento. Ya en el tamiz las larvas se enjuagaron con agua de mar clorinada a 4 ppm como medida de profilaxis.

Como medida preventiva para evitar la proliferación de bacterias en el estadio larvario, se le agregó 50 mg/l de sulfametazina de sodio, al nuevo cambio de agua realizado cada 48 horas (Hrs Brenko y Calabrase 1969).

Durante los cambios de agua las larvas para su conteo, se concentraron en un vaso de precipitado aforado a un litro, se homogenizó el contenido con un agitador plástico y se tomaron aleatoriamente dos unidades de muestra de un mililitro cada una usando una pipeta automática. Con cada muestra se llenó una cámara de conteo Sedwick-Rafter y se agregaron unas gotas de formol para fijar las larvas y poderlas contar con ayuda de un microscopio y un contador manual. Con el fin de saber el porcentaje de sobrevivencia total durante el desarrollo larvario se obtuvo un promedio de sobrevivencia para cada una de las tres semanas. Las lar-

vas se colectaron de la cámara de conteo y se preservaron en un vial con formol al 4% para su posterior medición.

Para la medición se usó una reglilla micrométrica calibrada previamente y colocada en el ocular del microscópio compuesto. En el estadio larvario se midieron 45 organismos por muestra, las mediciones de longitud se realizaron tomando el eje anteroposterior de la larva mientras que las mediciones de anchura se realizaron sobre el eje dorsoventral de la misma. Para el caso de la semilla se midieron entre 75 y 105 organismos, las mediciones de longitud se hicieron tomando el eje anteroposterior de la semilla, mientras que las mediciones de anchura se realizaron sobre el eje dorsoventral.

Las raciones diarias utilizadas para la alimentación de las larvas fue la recomendada por McAnally Salas (1988); 30,000 cél/ml durante las dos primeras semanas y 50,000 cél/ml de la tercera semana al final del desarrollo. Durante la metamorfosis se les proporcionó 100,000 cél/ml y consecutivamente cada semana se realizaron incrementos en la dieta de 50,000 cél/ml.

Se llevaron registros de aparición de la mancha ocular y su incremento para cada tratamiento conforme el tiempo, cuando aproximadamente el 75% de la población presentó la mancha ocular se consideraron listas para su fijación.

Para una mejor evaluación de la metamorfosis, no se proporcionó sustrato alguno para la fijación, se dejó que la larva se fijara en las paredes del recipiente de cultivo, debido a esto, durante los cambios de agua, las cubetas solo se enjuagaron con agua dulce filtrada a una micra y desinfectada por UV.

Para evaluar el proceso de metamorfosis cada cuatro días se determinó el número de larvas pediveliger existentes en cada cubeta, en el momento en que existió solo postlarva en las cubetas, se esperó una semana más para llevar a cabo su evaluación de cantidad y crecimiento.

El total de la semilla por cubeta se determinó mediante una relación entre el número de organismos encontrados en cada muestra y su peso correspondiente al total encontrado en cada recipiente.

El total de semilla por cubeta, se colocó sobre una maya de 240 μm y debajo de esta papel secante, para eliminar el exceso de agua, posteriormente se peso y de este total, aleatoriamente se tomaron tres muestras las cuales se pesaron y cuantificaron por separado. Para facilitar la cuantificación en cada muestra se disolvieron los bisos mediante un tratamiento con hipoclorito de sodio comercial al 6% durante dos minutos. Los pesos se realizaron usando una balanza analítica Mettler modelo H31AR con una diezmilésima de precisión.

Para determinar el efecto de los tratamientos utilizados, siempre que fue posible se utilizó ANOVA de dos vías, ANOVA simple y pruebas de comparación múltiple en los casos que existan diferencias significativas.

Para todos los casos se aplicaron pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov) y homogeneidad de varianza (Hartley, 1950) como requisito para poder manejar las pruebas paramétricas.

Los porcentajes de sobrevivencia de las larvas, se transformaron previamente al ARC SEN de la raíz de p , donde p es la proporción de 0 a 1 del porcentaje (Sokal y Rohlf, 1981).

El análisis estadístico se realizó con ayuda de los paquetes estadísticos Statgraphics y Systat.

3.0 RESULTADOS

Las concentraciones de amonio en los tanques de cultivo de microalgas fueron menores a 10 mg/l (ppm); la temperatura fluctuó entre 21.45 ± 2.75 °C; el pH en los cultivos tuvo un promedio de 8.8, un mínimo de 8.0 y 9.6 como máximo.

Del total de ovulos fecundados 48 horas después el 77.3% correspondió a larvas en estadio D con una longitud de 124 μm , el 20.9%, fueron larvas trocófora, el restante al 100% correspondió a ovulos no fecundados. La temperatura du-

durante el cultivo de larvas y semilla de *Mytilus edulis* tuvo un promedio de 18.1 ± 1.7 °C.

A pesar de que los datos de crecimiento obtenidos durante los estadios larvarios solo el 47.6% fueron normales (Kolmogorov-Smirnov), el 100% de ellos, tanto en el porcentaje de sobrevivencia, como en el crecimiento larval, resultaron con varianza homogénea (Hartley, 1950). De los datos de crecimiento de la semilla el 66.66% cumplieron con la normalidad y el 100% con la prueba de homogeneidad de varianza. Debido a lo anterior y a que no se encontraron resultados diferentes al utilizar pruebas no paramétricas se decidió utilizar las pruebas estadísticas paramétricas propuestas originalmente.

3.1 CRECIMIENTO DE LAS LARVAS

El crecimiento poblacional de las larvas es muy similar para el f/2 y el sulfato de amonio, en el caso de las larvas tratadas con urea su crecimiento fue más lento en la mayor parte del tiempo, (fig. 1).

El ANOVA de dos vías y la comparación múltiple realizadas para cada muestreo (apéndice I y II), nos indican que para la mayor parte del desarrollo larval, los tratamientos f/2 y sulfato de amonio tuvieron un efecto similar sobre el crecimiento con excepción de los días seis y diez (tabla 1 y 3 en el apéndice II). El tratamiento con

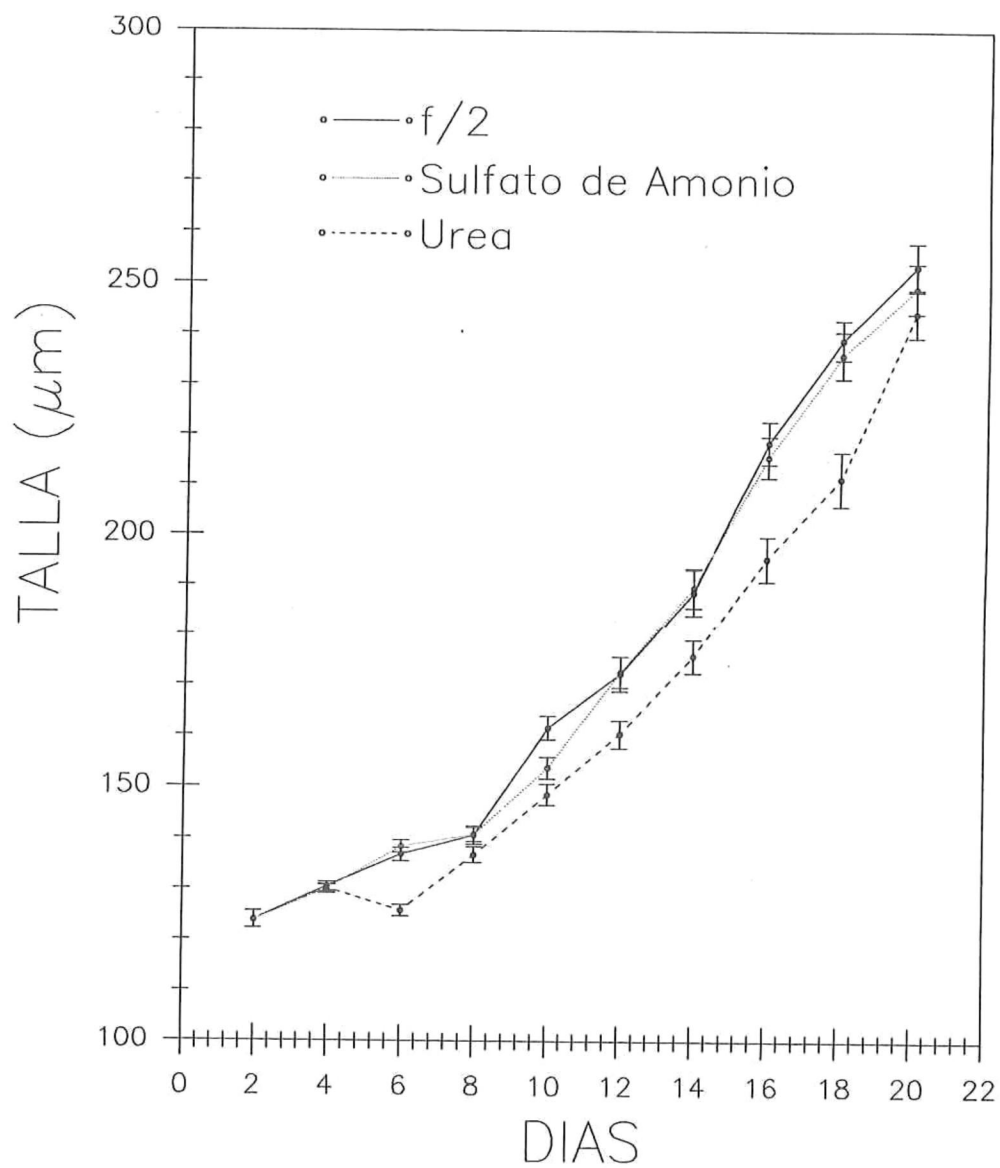


Figura 1. Crecimiento de *Mytilus edulis* en el estadio larvario durante 20 días de cultivo, mostrando los límites de confianza al 95%.

urea fue diferente de los otros dos medios durante la mayor parte del crecimiento con excepción del día cuatro que es igual a los otros dos tratamientos y del día 20 que es igual solo al tratamiento con sulfato de amonio (tabla 8 en el apéndice II).

La mancha ocular apareció primero en el medio f/2; figura 2. La tabla I(A) nos muestra los porcentajes encontrados y su incremento en cada muestreo. Para los 18 días de edad el análisis de varianza de una vía nos indicó que la aparición de la mancha ocular es diferente en los tres medios donde al f/2 le correspondió el 74.2%, con menores porcentajes, le siguen el sulfato de amonio con 50.2% y urea con 24.0%. Para el último muestreo (día 20) el análisis de dos vías nos muestra que el único medio que presentó diferencias significativas fue el f/2 con 83.7%, mientras que, el sulfato de amonio y urea registraron el 75.0 y 73.2% respectivamente (tabla I(A); figura 2).

3.2 SOBREVIVENCIA DE LAS LARVAS

Los análisis de varianza aplicados a todos los muestreos, nos indican que no hubo diferencias significativas en el porcentaje de sobrevivencia entre tratamientos y entre un muestreo y otro, por lo que, se utilizaron los promedios para realizar las gráficas.

En general la sobrevivencia larval entre muestreos estuvo por encima del 85.0% (figura 3); mientras que, el

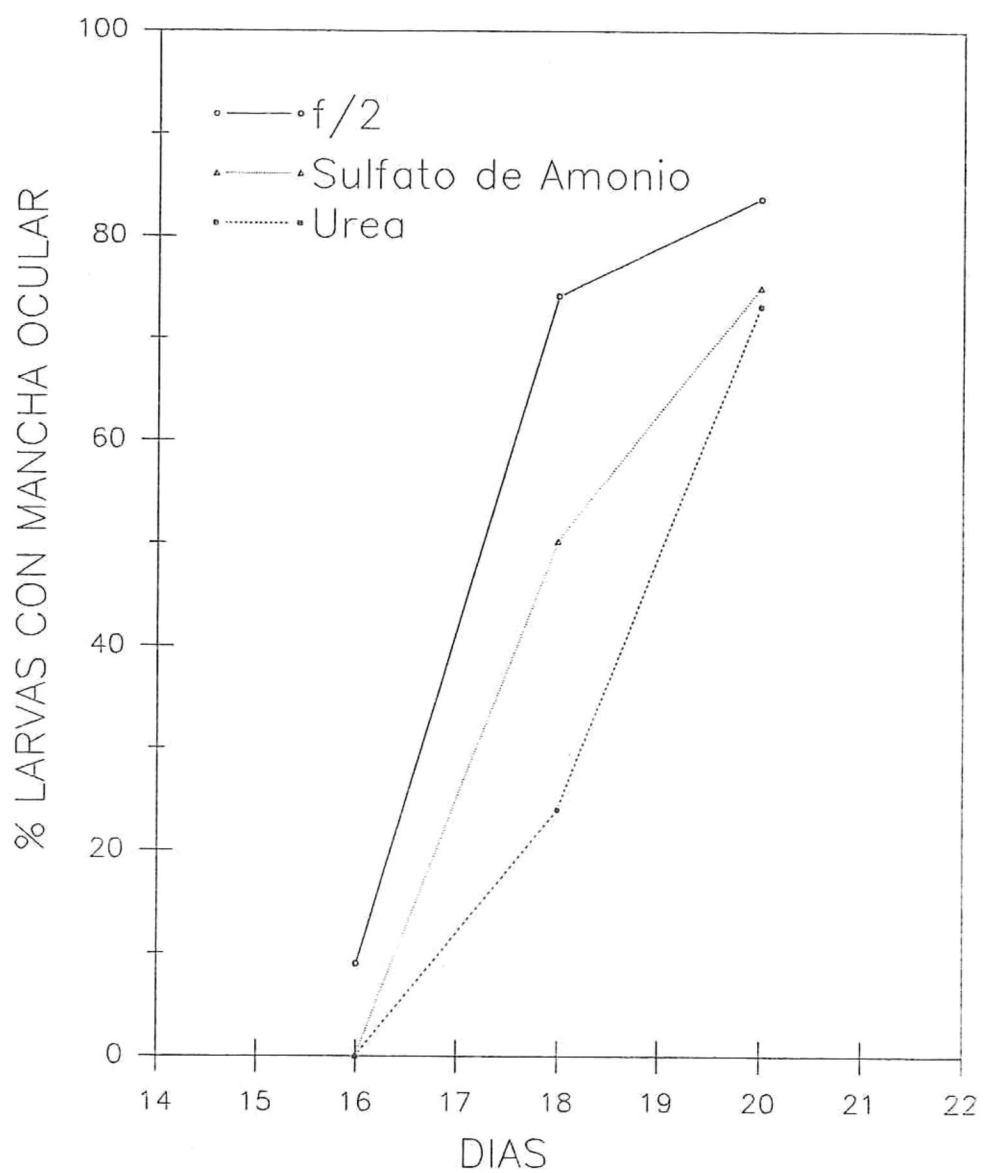


Figura 2.

Incremento en el porcentaje de larvas con mancha ocular en los tres últimos muestreos del desarrollo larvario de *Mytilus edulis*.

TABLA I. Porcentaje de larvas pediveliger encontradas por tratamiento: A) con mancha ocular; B) durante el proceso de metamorfosis.

A

EDAD (DIAS)	MEDIO		
	f/2	UREA	SULFATO DE AMONIO
16	9.0	---	---
18	74.2	24.0	50.2
20	83.7	73.2	75.0

B

EDAD (DIAS)	MEDIO		
	f/2	UREA	SULFATO DE AMONIO
26	36.0	84.3	---
30	5.5	21.2	8.7
34	---	2.1	1.4

promedio entre tratamientos fue superior al 92.0%. Para el caso de urea la sobrevivencia bajó en el día 14 donde obtuvo el 74.4%, mientras que en los demás muestreos fue superior al 86.64%, en cambio para el sulfato de amonio la sobrevivencia entre muestreos se encontró por encima del 88.37%, durante todo el estadio larvario a excepción del último muestreo día 20 que bajó al 78.95% (figura 3). La figura 4 nos indica el número total de organismos por muestreo, además de especificar el promedio en la sobrevivencia, para cada una de las tres semanas que duro el desarrollo larvario; mientras tanto, el porcentaje de sobrevivencia total a partir del estadio D hasta pediveliger se obtuvo al promediar los tres valores correspondientes a cada tratamiento, así tenemos que para el f/2, urea y sulfato de amonio le corresponden un 88.95, 88.88 y 87.03% respectivamente.

Se obtuvo un número total de larvas muy similar antes del asentamiento para los medios f/2 y urea, con 43,745 y 44,492 organismos respectivamente, mientras que, con el sulfato de amonio se obtuvo un promedio menor con 37,740 organismos. Sin embargo, el ANOVA indicó que no hay diferencias significativas en cuanto al número de organismos entre un tratamiento y otro al nivel del 95%.

3.3 METAMORFOSIS Y SEMILLA

Los conteos de larvas pediveliger, durante el proceso de metamorfosis se muestran en la tabla I(B). En el primer conteo, a los 26 días de edad se eliminaron los datos

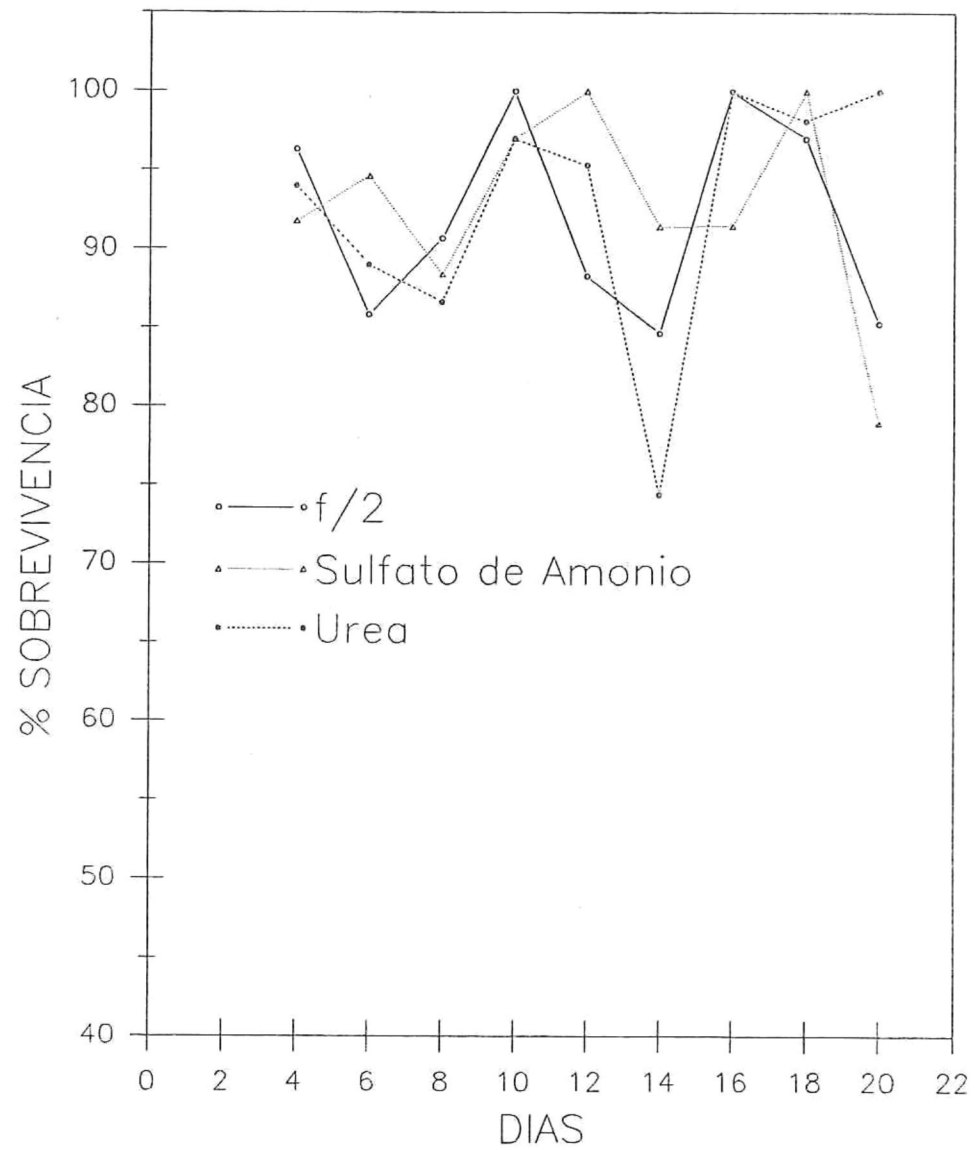


Figura 3.

Porcentajes de sobrevivencia de las larvas de *Mytilus edulis* para cada muestreo durante 20 días de cultivo.

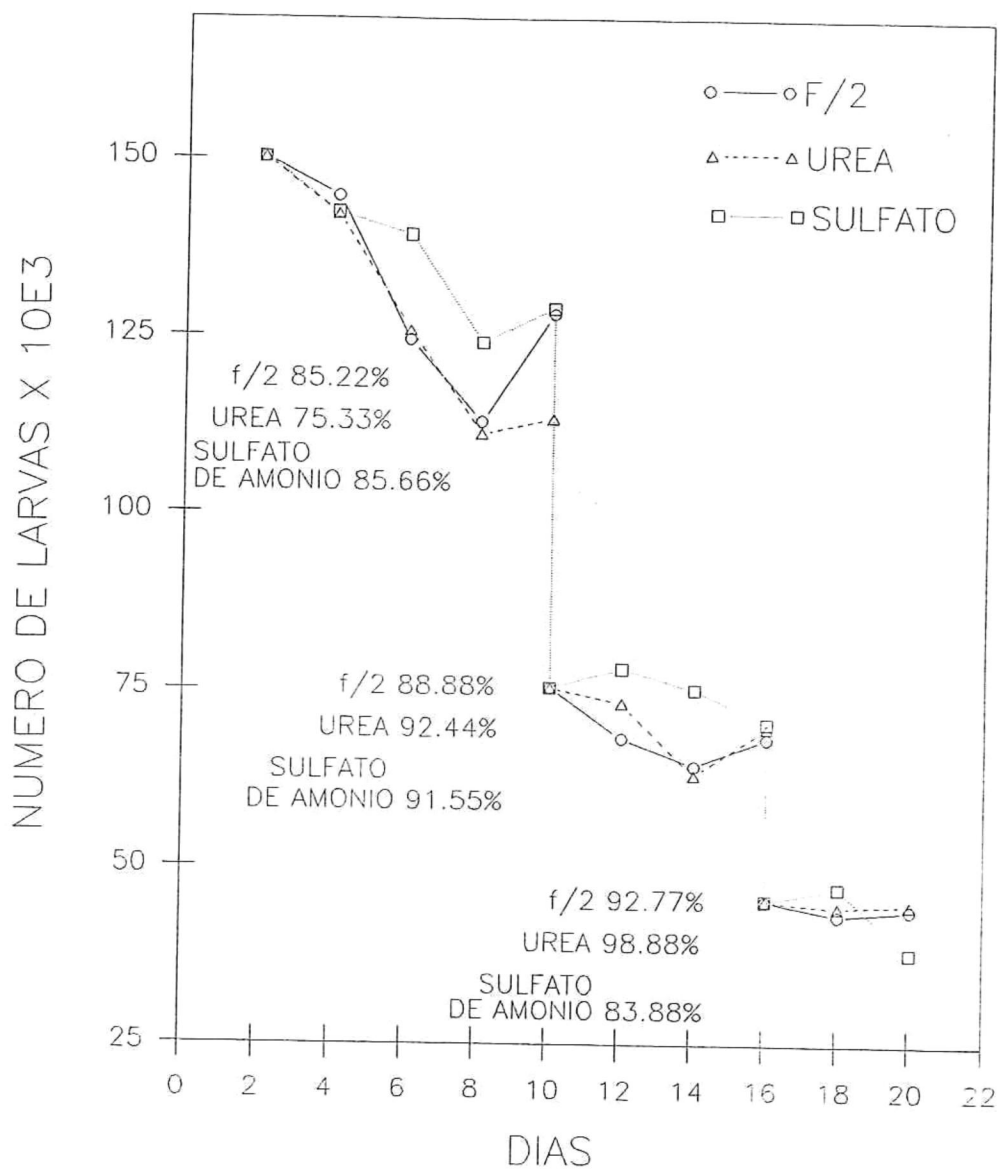


Figura 4.

Larvas totales de *Mytilus edulis* para cada muestreo, indicandose el porcentaje promedio de sobrevivencia durante las tres semanas del desarrollo larvario.

obtenidos para el sulfato de amonio por presentar agrupamiento de organismos, y el análisis de varianza de una vía indicó que los dos medios f/2 y urea son diferentes a favor del f/2. El siguiente muestreo se realizó a los 30 días, donde el análisis de una vía y la comparación múltiple mostraron que en el medio urea se encontró el mayor porcentaje de larvas pediveliger en comparación con los otros dos medios. A los 34 días de edad se realizó el tercer muestreo en el cual no se encontraron larvas pediveliger en el medio f/2, mientras que, entre urea y sulfato de amonio no se encontraron diferencias significativas (tabla I(B) y figura 5).

El ANOVA (tabla 10 en el apéndice I) realizado para evaluar el crecimiento de la semilla mostró que existen diferencias entre los medios, mientras que, la prueba de comparación múltiple (tabla 9 en el apéndice II), indicó que el único medio diferente es el sulfato de amonio, en donde los organismos alcanzan una talla mayor en comparación con los otros dos medios (figura 6).

Con los datos del total de semilla cosechada a los 41 días de edad, la prueba ANOVA (tabla 11 en el apéndice I) indicó que existen diferencias significativas en los medios. Mientras que, la prueba de comparación múltiple (tabla 10 en el apéndice II) indicó que el medio urea produjo más semilla con 40,751 organismos, siguiéndole el sulfato de amonio con

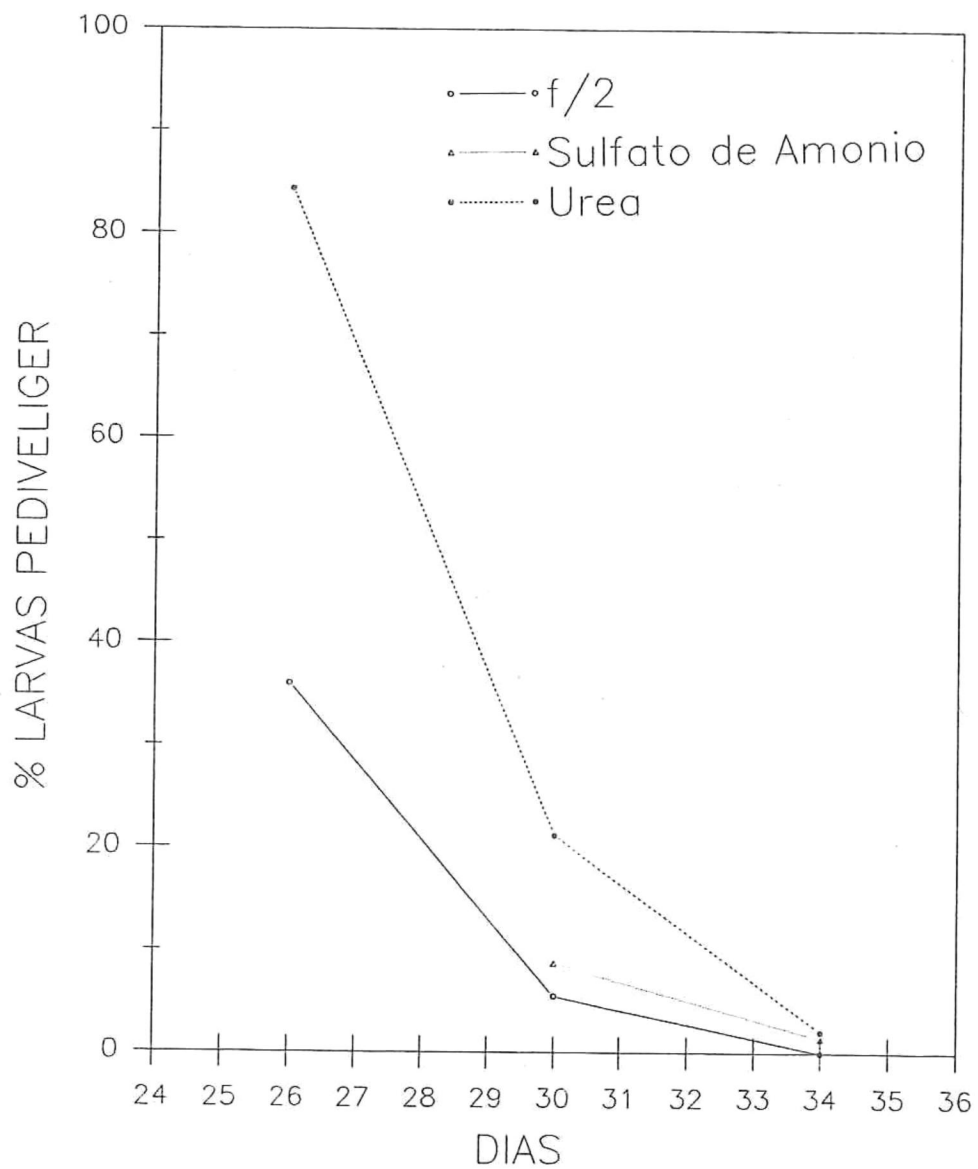


Figura 5.

Disminución en el porcentaje de larvas pediveliger de *Mytilus edulis* durante el proceso de metamorfosis.

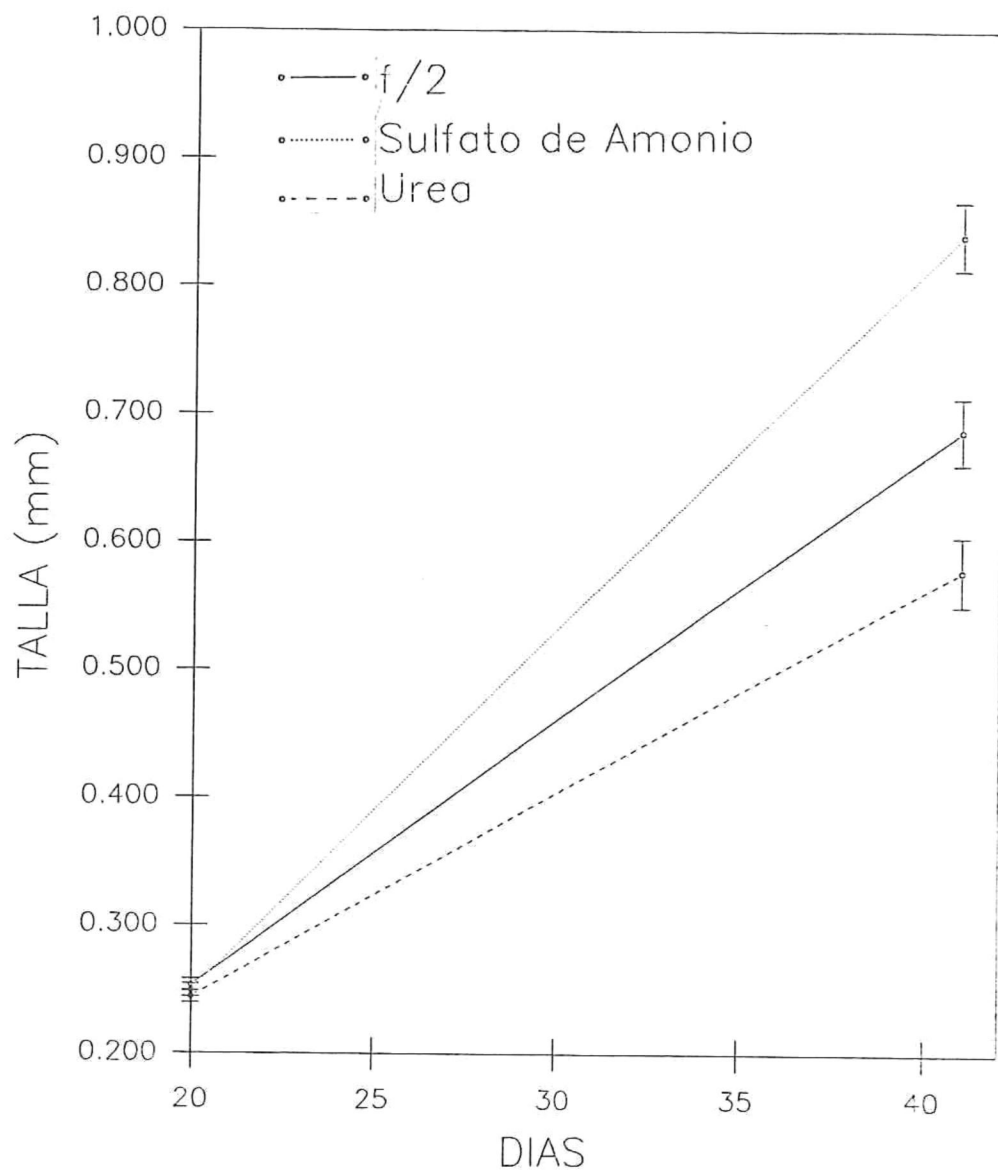


Figura 6.

Crecimiento de *Mytilus edulis* de la fase de metamorfosis a semilla, mostrando los límites de confianza al 95%.

36,733 y finalmente el f/2 con 32,248 existiendo diferencias significativas al 95% de confianza para los tres medios.

La larva pediveliger puesta a fijar se tomó como el 100% y de este porcentaje, los organismos que alcanzaron la metamorfosis al final del experimento fue de 75.92% para el medio f/2, el 91.59% para la urea y el mayor porcentaje para el sulfato de amonio con 97.33%.

4.0 DISCUSIONES

Se han realizado una infinidad de experimentos en cultivos de microalgas, utilizando como fuente de nitrógeno gran variedad de compuestos (Guerrero *et al.*, 1981; Riva y Lelong 1981; Granados Machuca y Buckle Ramirez 1984; González Rodríguez y Maestrini, 1984; Herrera Treviño, 1988, por citar algunos). Así mismo, se ha demostrado que la composición bioquímica de las microalgas puede variar debido a las condiciones de cultivo y a las diferentes fases de crecimiento (Webb y Chu 1982; Fabregas *et al.*, 1985). La presente investigación se basó en tres fuentes de nitrógeno: urea, sulfato de amonio y nitrato de sodio (medio f/2) donde cada una de ellas provee sal de un solo tipo, ya sea, orgánico, inorgánico e inorgánico de grado reactivo respectivamente.

4.1 CRECIMIENTO DE LAS LARVAS

El manejo de los recipientes de cultivo, la cantidad y la calidad del alimento, junto con los factores fisicoquímicos, son factores que modifican el buen crecimiento y sobrevivencia de larvas y semilla de bivalvos (Lucas, 1979). Durante la realización de este trabajo los recipientes de cultivo tuvieron un manejo idéntico por lo que las diferencias encontradas no podrían ser atribuidas al manejo; de igual manera, la temperatura en los tres medios fluctuó dentro del intervalo óptimo para un buen crecimiento y sobrevivencia de larvas de mejillón *Mytilus edulis* (Lough, 1974) y *M. californianus* (Falmagne, 1984; Anguiano Beltran, 1989); por lo tanto, es posible asumir que el efecto producido en el crecimiento, sobrevivencia y porcentaje de fijación sobre las larvas y semilla de *Mytilus edulis* es debido solamente a la fuente de alimento y sobre todo a las diferencias en la composición bioquímica del mismo al ser cultivado con diferentes fuentes de nitrógeno.

Muy poco se conoce acerca de los nutrientes específicos requeridos en cada fase del desarrollo de los moluscos bivalvos. Bayne (1975), reporta el contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos para larvas de *Mytilus edulis* en promedios de 8.6, 1.9 y 0.9% respectivamente, Enright *et al.*, (1986), mencionan que los carbohidratos y lípidos son los componentes bioquímicos más importantes en la dieta de los moluscos bivalvos, y otros autores como Webb y Chu

(1982), piensan que la importancia del alimento dado a larvas y juveniles de bivalvos dependen más de otros nutrientes como ácidos grasos, aminoácidos, monosacáridos, minerales y vitaminas, que del grueso de la composición bioquímica.

Análisis bioquímicos han demostrado que al cultivar *Chlorella* sp con urea, ésta carece de cantidades suficientes de dos aminoácidos metionina y cisteina (Geldenhuis *et al.*, 1988). De igual manera se sabe que *Isochrysis galbana* y *Chlorella* sp, entre otras microalgas, al ser cultivadas con diferentes fuentes de nitrógeno como urea, amonio y nitratos, tienen una composición bioquímica muy similar bajo condiciones óptimas de cultivo, (Eppley *et al.*, 1971; Dortch *et al.*, 1984; Geldenhuis *et al.*, 1988).

En base a lo anterior y debido a que *Isochrysis galbana* y *Monochrysis lutheri* tienen requerimientos y composición similar (Fernández Reiriz *et al.*, 1989), podemos inferir que *M. lutheri* cultivada con medio orgánico urea como fuente de nitrógeno, también carece de cantidades suficientes de estos dos aminoácidos, metionina y cisteina. Esta carencia al menos en cantidades requeridas por la larva de *Mytilus edulis*, al ser alimentada con *Monochrysis lutheri* cultivada con urea bien podría ser la causante del menor crecimiento registrado hasta antes del estadio pediveliger.

Bayne (1965), menciona que los moluscos bivalvos, tanto los juveniles como los adultos, tienen los mismos requeri-

mientos nutricionales. Malek (1977), encontró que de 15 aminoácidos presentes en el músculo de *Mytilus edulis* la metionina se encuentra en cantidades suficientes, Slabyj (1980) reporta para la misma especie cantidades similares de metionina en mejillones cultivados como del medio ambiente, para considerarlo importante dentro de los requerimientos nutricionales.

El incremento en el crecimiento de las larvas tratadas con urea al final del desarrollo larvario, pudiera sugerir que: los requerimientos de la larva durante su desarrollo van cambiando cualitativa y/o cuantitativamente; que en el estadio pediveliger la larva de *Mytilus edulis* adquiera la capacidad de suplir la falta de metionina y cisteína con otros compuestos que estén contenidos en *Monochrysis lutheri* cultivada con urea; o bien a la preparación de las larvas para su metamorfosis. Es bien sabido que la metamorfosis en *Mytilus edulis* se presenta entre las 240 y 260 micras (Bayne, 1965); así mismo, a este proceso se le anteponen dos estados sucesivos: a) una fase de alimentación y almacenamiento en la cual la larva deja de crecer, porque se prepara almacenando como energía todo el alimento ingerido (condición fisiológica) (Lucas *et al.*, 1986; Aldana Aranda, 1988), y b) una fase de no alimentación debido a los cambios en su sistema de ingestión, en donde el velo es reabsorbido y la metamorfosis da origen a las branquias.

Esta disminución en el crecimiento de las larvas tratadas con f/2 y sulfato de amonio al prepararse a la metamorfosis, pudo ser suficiente para permitir que las larvas en el tratamiento con urea, todavía en etapa de crecimiento, alcanzaron en tamaño a las del tratamiento con sulfato de amonio en el último muestreo. Así mismo, se puede pensar en la interacción de las tres razones expuestas anteriormente.

Aunque la composición de *Monochrysis lutheri* cultivada con urea es limitante del crecimiento hasta antes del estadio pediveliger, no se descarta la posibilidad de utilizarlo en laboratorios de producción, a partir de este estadio, ya que, esta fuente de nitrógeno parece contener los nutrientes necesarios o mínimos requeridos para el estadio pediveliger en adelante; además de no presentar un efecto negativo en la sobrevivencia durante el desarrollo larval y el proceso de metamorfosis.

El comportamiento similar en el crecimiento de las larvas tratadas con f/2 y sulfato de amonio es un indicador de que las larvas durante todo su desarrollo encontraron en *Monochrysis lutheri* buenas cantidades de sus requerimientos esenciales para un buen crecimiento; lo que indica que el sulfato de amonio es un buen sustituto para abaratar costos y obtener buenos rendimientos en laboratorios de producción al menos para el mejillón *Mytilus edulis*.

La aparición de la mancha ocular, al parecer también estuvo influenciada por el contenido nutricional de *Monochrysis lutheri* al ser cultivada con tres diferentes fuentes de nitrógeno. Para el f/2 la aparición de la mancha ocular fue más temprana en comparación con los otros dos medios (tabla I-A). Al analizar la misma tabla y comparando solo fertilizantes agrícolas a los 18 días de edad se encontró un mayor porcentaje de larvas con mancha ocular para el tratamiento con sulfato de amonio, considerandose hasta este momento un mejor alimento con respecto a urea, en cambio a los 20 días de edad el porcentaje de larvas con mancha ocular fue significativamente igual para los dos fertilizantes, lo cual puede explicar que la larva pediveliger tratada con urea, haya sido capaz de suplir sus requerimientos al menos en cantidades mínimas necesarias por otros nutrimentos contenidos en *Monochrysis lutheri*; o bien que los requerimientos nutricionales en el estadio pediveliger hayan cambiado en cantidad y/o calidad. Así mismo, se puede pensar en la interacción de las dos razones expuestas anteriormente.

4.2 SOBREVIVENCIA DE LAS LARVAS

El porcentaje de sobrevivencia total obtenido en este experimento desde el estadio D a larva pediveliger fue de 88.95, 88.88 y 87.03% respectivamente para el f/2, urea y sulfato de amonio, estos resultados son muy superiores a lo reportado por Zhang (1984), en primavera de 1981 y verano de 1982 con 34 y 30% respectivamente, cabe mencionar que uti-

lizaron tanques de 3 y 5 m³; mientras que Waterstrat *et al.*, (1980) reporta una sobrevivencia del 0.4% desde los ovulos fecundados hasta pediveliger.

Cabe mencionar que el haber obtenido una sobrevivencia superior al 87% en los tres tratamientos, tan solo para el desarrollo larvario de *Mytilus edulis*; puede ser atribuible: a la selección de la larva al inicio del experimento, así mismo a las diferencias en el volumen y manejo de los recipientes de cultivo (3 y 5 m³), con los cuales se compararon los datos; el manejar volumen grande en cultivo causa cierta stress en los organismos ocasionando bajas sobrevivencias (Lucas, 1979).

4.3 SOBREVIVENCIA DE LA SEMILLA

El porcentaje de sobrevivencia obtenido durante la metamorfosis fue significativamente igual tanto para la urea (91.59%) y sulfato de amonio (97.33%) los cuales fueron diferentes al f/2 con 75.92%. Valores similares a este último han sido reportados por otros autores como Waterstrat *et al.*, (1980); quiénes reportan 75.6% de sobrevivencia en la metamorfosis y Zhang (1984) reporta el 82.1 y 72.4% para otoño(1981) y primavera(1982) respectivamente. En general los porcentajes de sobrevivencia obtenidos en este experimento durante el proceso de la metamorfosis fueron muy similares a lo reportado por otros autores, existiendo una sobrevivencia ligeramente mayor en el presente bioensayo con fertilizantes agrícolas.

4.4 CRECIMIENTO DE LA SEMILLA

Durante la metamorfosis las postlarvas tratadas con el sulfato de amonio presentaron una distribución homogénea en el fondo de los recipientes de cultivo. Mientras que, la semilla tratada con el f/2 y urea presentaron aglomeraciones de organismos. Esto pudo ser el factor que permitió, que los organismos tratados con sulfato de amonio tuvieran un mayor crecimiento (fig. 6), ya que, esta aglomeración de la semilla origina que exista una competencia por alimento y espacio, ocasionando un menor crecimiento en los organismos (Walne, 1965). Sin embargo, no se puede descartar la posibilidad de que el sulfato de amonio realmente sea un mejor alimento para la semilla en comparación con los otros dos medios. Así mismo, se puede pensar en la interacción de las dos razones expuestas anteriormente.

Los datos obtenidos en este bioensayo indican que existe una mayor eficiencia en el crecimiento y/o sobrevivencia de larvas y postlarvas de *Mytilus edulis* al utilizar *Monochrysis lutheri* como alimento en los casos en que la microalga es cultivada con fuentes de nitrógeno de grado industrial (fertilizantes) en comparación con el de grado reactivo (f/2).

Wilburn González (1990), cultivo *Monochrysis lutheri* con las mismas fuentes de nitrógeno utilizadas en este estudio, y encontró que los costos de producción en base a los reactivos se reducen en un 98.81 y 99.19% para el sulfato de

amonio y urea con respecto al f/2. De acuerdo a lo anterior y a los resultados de este trabajo, se confirma la posibilidad de utilizar los fertilizantes agrícolas mencionados anteriormente en laboratorios de producción, además de presentar alternativas sencillas y económicas en la preparación de medios de cultivo para la producción de alimento de moluscos bivalvos.

5.0 CONCLUSIONES

Monochrysis lutheri cultivada con urea y sulfato de amonio puede ser utilizada como alimento en laboratorios de producción.

El uso de los fertilizantes agrícolas en el alimento no tuvo efecto en la sobrevivencia de las larvas.

Monochrysis lutheri cultivada con sulfato de amonio fue mejor alimento durante el desarrollo larvario de *Mytilus edulis* con respecto al tratamiento urea.

Mytilus edulis durante la metamorfosis tuvo mayor sobrevivencia al utilizar como alimento *M. lutheri* cultivada con urea y sulfato de amonio con respecto al f/2.

Monochrysis lutheri cultivada con sulfato de amonio fue mejor alimento para el desarrollo de postlarvas de *Mytilus edulis*.

6.0 RECOMENDACIONES

Realizar análisis bioquímicos de *Monochrysis lutheri* cultivada con urea, sulfato de amonio, f/2 y otras fuentes de nitrógeno.

Tomando en cuenta que las microalgas cultivadas con el f/2 son consideradas un alimento completo, realizar análisis bioquímicos de los diferentes estadios de *Mytilus edulis* para saber sus posibles requerimientos nutricionales.

Realizar experimentos con semilla de *Mytilus edulis* y otros moluscos bivalvos utilizando como alimento microalgas cultivadas con diferentes fuentes de nitrógeno.

7.6 LITERATURA CITADA

- Aldana Aranda, D., 1984. Croissance et composition chimique élémentaire de larves de *Mytilus edulis* en relation avec la nourriture fournie. *J. Rech. Oceanogr.*, vol.9, pp.153-155.
- Alvarado Enriquez, A.C., 1989. acondicionamiento del mejillón *Mytilus edulis* L: Efecto de la temperatura sobre la producción de gametas. Ensenada, B.C., F.C.M., U.A.B.C., Tesis profesional, 89pp.
- Andreu, B., 1976a. El cultivo del mejillón en Europa. I. Métodos y técnicas utilizadas. *Seminarios de Biología marina. Anais da Academia Brasileira de Ciências.* (47): 11-22.
- Angiano Beltran, C., 1989. Efecto de la temperatura, salinidad y concentración de alimento sobre el desarrollo larval de *Mytilus californianus*. Ensenada, B.C., F.C.M., U.A.B.C., Tesis profesional, 95pp.
- Bardach, J.E., Rither, J.H. y McLarney, W.P., 1972. *Aquaculture*. New York: Interscience, pp868.
- Bayne, B.L., 1975. Reproduction in bivalve molluscs under environmental stress. En: "Physiological Ecology of Estuarine Organisms" (F.J. Vember, ed.), pp. 259-277. Univ. of South Carolina Press, Columbia.
- Bayne, R.L., 1965. Growth and the delay of metamorphosis of larvae of *Mytilus edulis* (L). *Ophelia* 2(1):1-17.
- Cancino Franklin, J.L., 1985. Experimentos sobre el cultivo del mejillón *Mytilus californianus* en la Bahía de Todos Santos, B.C., México. Ensenada, B.C., F.C.M., U.A.B.C., Tesis profesional, 146pp.
- Carpizo Ituarte, E.J., 1983. Acondicionamiento de adultos de *Mytilus californianus* (Mollusca: Bivalvia): alimentación y su efecto en la madurez sexual. Ensenada, B.C., F.C.M., U.A.B.C., Tesis profesional, 67pp.
- Carvajal, J.R., 1969. Fluctuación mensual de las larvas y crecimiento del mejillón *Ferna perna* (L) y las condiciones ambientales de la ensenada de Guatapanare, Edo. Sucre, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Univ. Oriente.* 8:13-20.
- Chanley, P., 1975. Laboratory cultivation of assorted bivalve mollusks. In: W.L. Smith y M.H. Chanleys

- (ed.), Culture of marine Invertebrate animals
Plenum Press, 297-318pp.
- De la Cruz, A., 1985. Crecimiento de fitopláncton en cultivo
bialgal. Univ. de la Habana, Rev. Invest. Mar., 6
(2-3): 109-116.
- De la Cruz, S. y Alfonso E., 1975. Cultivo masivo de algas
planctónicas marinas mediante fertilización. Univ.
de la Habana, Rev. de Invest. Mar., 8(17): 1-25.
- De Pauw, N., 1981. Use and production of microalgae as food
for nursery bivalves. pp. 35-69. En: Nursery
culturing of Bivalve Molluscs. Claus, C.N., De
Pauw, N. y Jaspers, E. (eds.). EMS Special Pub.
No.7. European Mariculture Society, Bredene,
Belgium, 394 pp.
- Dorch, G., Clayton, R.J., Thoresen, S.S., y Ahmed, I.S.,
1984. Species differences in accumulation of nitrogen
pools in phytoplankton. Marine Biology 81, pp.237-
250.
- Enright, C.T., Newkirk, G.F., Craigie, J.S. y Castell, J.D.,
1986. Growth of juvenile *Ostrea edulis* L. fed
Chaetoceros gracilaris. J. Exp. Mar. Biol. Ecol.,
96: 15-26.
- Eppley, R.W., Carlucci, A.F., Holm-Hansen, O., Kiefer, D.,
McCarthy, J.J., Venrick, E., y Williams, P.M.,
1971. Phytoplankton growth and composition in
shipboard cultures supplied with nitrate, ammonium,
or urea as the nitrogen source. Inst. of Mar.
Resources, Univ. of Calif., San Diego., vol. 16(5),
pp.741-751.
- Fabregas, J., Herrero, C., Cabezas, B. y Albalde, J., 1985.
Mass culture and biochemical variability of the
marine microalga *Tetraselmis suecica* Kylin
(Butch.) with high nutrient concentration.
Aquaculture, 49: 231-244.
- Falmagne, C.M., 1984. The combined effect of
temperature/salinity on survival and Growth of
Mytilus californianus larvae (A Response Surface
Analysis). M.S. a thesis. Univ. of Washington.
85pp.
- Fernández Reiriz, M.J., Perez Camacho, A., Ferreiro, M.J.,
Blanco, J., Planas, M., Campos, M.J. y Labarta,
V., 1989. Biomass production and variation in the
biochemical profile (total protein, carbohydrates,
RNA, lipids and fatty acids) of seven species of
marine microalgae. Aquaculture, 83:17-37.

- Geldenhuis, D.J., Walmsley, R.D. y Toerien, D.F., 1988. Quality of algal material produced on a fertilizer-tap water medium in outdoor plastic-enclosed systems. *Aquaculture*, 68:157-164.
- Glude, J.B. y Chew, K.K., 1982. Shellfish aquaculture in the Pacific Northwest. University of Alaska. Alaska Sea Grant Report. January. 82-2:291-304.
- González Rodríguez, E. y Maestrini, S.Y., 1984. The use of some agricultural fertilizers for the mass production of marine algae. *Aquaculture*, 36:245-256.
- González, L., 1973. Comparación entre el sistema español en encordar mitilus y el sistema francés actualmente en experimentación. Circular del Inst. de Fomento Pesquero. Chile. 82:1-10.
- Granados Machuca, C. y Buckle Ramírez, L.F., 1984. Cultivo de las microalgas *Monochrysis lutheri* y *Skeletonema costatum* con nutrientes producidos con estiércoles digeridos. An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México, 11. vol.1, :241-256.
- Guerrero, V.S., Farina T.T. y Silva, A.A., 1981. Large-scale outdoor algal production for rearing seed oysters and clams to juvenile stage. pp. 117-139. En: Nursery Culturing of Bivalve Molluscs. Claus, C.N., De Pauw, N. y Jaspers, E. (eds.). EMS Special Pub. No.7, European Mariculture Society, Bredene, Belgium, 394pp.
- Guillard, R.R.L., 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. pp. 29-60. En: Culture of Marine Invertebrates Animal. Smith, W.L. and Charley, M.H. (eds.). Plenum Publishing Corp., New York, 338 pp.
- Harger, J.R.E., 1970. Comparison Among Growth Characteristics of two Species of Sea Mussel, *Mytilus edulis* y *Mytilus californianus*. In: The Veliger. No.1 vol. 13, : 44-55.
- Herrera Treviño, J.R., 1988. El fertilizante agrícola como alternativa en cultivos externos para la producción masiva de *Tetraselmis suecica* (Kylin) Butch. Ensenada, B.C., F.C.M., U.A.B.C., Tesis profesional, 47pp.

- Hrs Brenko, M. y Calabrese, A., 1969. The combined effects of temperature and salinity on larvae of mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology*, 4:224-226.
- Incze, L.S., Porter, B. y Lutz, R.A., 1978. Experimental culture of *Mytilus edulis* (L.) in a northern estuarine gradient: growth, survival, and recruitment. En: proceedings of the ninth annual meeting world mariculture society.
- Iwata, K.S., 1951. Spawning of *Mytilus edulis*. (4) Discharge by KCl injection. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 16:393-394.
- Loosanoff, V.L. y Engle, J.B. (1942). Use of complete fertilizers in cultivation of microorganisms. *Science*, N.J., 95, 487-488.
- Lough, R.G., 1974. A re-evaluation of the combined effects of temperature and salinity on survival and growth of *Mytilus edulis* larvae using response surface techniques. *Proceedings of the National Shellfisheries Association*, vol. 64:73-76.
- Lucas, A., Chebab Chalabi, L. y Beninger, P., 1986. Variation of relative organic matter in *Mytilus edulis* L. larvae y postlarvae. *J. Exp. Mar. Biol.*, Vol. 95, pp 99-103.
- Lucas, R., 1979. Croissance de jeunes palourdes (*Venerupis semidecussata*) en nurserie et en mer, en fonction des conditions d'élevage. *Publi. Sci. Tech. CNEXO, Actes Colloq.* 7:85-104.
- Malek, E.A., 1977. Diets and culture media for mollusks. In: Rechigl, M.Jr., Editorin chief, *CRC Handbook Series in Nutrition and Food*. Section G: Diets, Culture Media, Food Supplements. Vol. II, pp.107-116.
- Mason, J., 1976. Cultivation. En: *Marine Mussels: Their ecology and physiology*. ED. B.L. Bayne, pp. 385-410. Cambridge, Univ. Press. Cambridge.
- McAnally Salas, L.S., 1988. Evaluación y adaptación de rutinas para la producción de semilla suelta de ostión japonés *Crassostrea gigas* a nivel piloto. Ensenada, B.C., F.C.M., U.A.B.C., Tesis profesional, 139pp.
- Monje Fernandez, J., 1983. Experimentos sobre fijación de juveniles del mejillón *Mytilus californianus* en colectores artificiales y estudios de crecimiento para dos especies de mejillón (*M. californianus* y *M. edulis*) en cultivo experimental en la costa del

- ejido Eréndira, Baja California, México. Ensenada, B.C., F.C.M., U.A.B.C., Tesis profesional, 165pp.
- Parson, T.R., Stephens, K. y Strickland, J.D.H., 1961. On the chemical composition of eleven species of marine phytoplankters. *J. Fish. Res. Board Can.*, 18:1001-1016.
- Perscone, G. y Clauss, C. 1980. Mass culture of algae: A bottleneck in the nursery culturing of molluscs. En: Shelef, G. y Soeder, C.J. (Ed.). *Algae Biomass*. Elsevier/North Holland Biomedical Press., Amsterdam, pp. 265-285.
- Riva, A. y Lolong, P., 1981. Growth of juvenile bivalve molluscs associated with continuous cultures of natural marine phytoplankton. pp. 253-268. En: *Nursery Culturing of Bivalve Molluscs*. Claus, C.N., De Pauw, N. y Jaspers, E. (eds.). EMS Special Pub. No.7. European Mariculture Society, Bredone, Belgium, 394 pp.
- Slabyj, B.M., 1980. Storage and Processing of Mussels. pp.247-265. En: *Mussel Culture and Harvest: A North America Perspective*. Lutz, R.A., (ed.). *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, 7.
- Sokal, R.R. y Rohlf, F.J., 1981. *Biometry the principles and practice of Statistics in Biological Research* Second edition, W.H. Freeman and Company (Ed.). pp.859.
- Stubbins, H.G., 1954. Biology of the common mussel in relation to fouling problems. *Research*, London 7: 222-229.
- Waterstrat, P., Chew, K., Johnson, K., y Beattie, J.H., 1980. Mussel Culture: A West Coast Perspective. pp. 141-165. En: *Mussel Culture and Harvest: A North America Perspective*. Lutz, R.A., (ed.). *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, 7.
- Webb, K.L. Y Chu, F.L., 1982. Phytoplankton as a food source for bivalve larvae. En: Pruder, G., Langdon, C.J. y Conklin, D.E.. (Editors), *Proceedings of the Second International Conference on Aquaculture Nutrition: Biochemical and Physiological Approaches y to Shellfish Nutrition*, 2. Louisiana State University, Baton Rouge, LA, pp.272-291.

- Whyte, J.N.C., 1987. Biochemical Composition and energy content of six species of phytoplankton used in mariculture of bivalves. *Aquaculture*, 60, pp.231-141.
- Wilburn González, J.B., 1990. Cultivo masivo de *Faviova lutheri* (DROOP) GREEN. con fertilizantes agrícolas como fuente de nitrógeno y bioxido de carbono. Ensenada, B.C., F.C.M., U.A.B.C., Tesis profesional, 50pp.
- Winter, J., 1978. Fundamental knowledge of suspension-feeding in lamelibranchiate systems. *Aquaculture*. 13:1-33.
- Zhang, F., 1984. Mussel Culture in China. *Aquaculture*, 39: 1-10.

TABLA I. Anova correspondiente al desarrollo larvario de Mytilus edulis a la edad de cuatro días.

FUENTE DE VARIACION	gl	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	F	NIVEL SIGNIF.
TOTAL	4	0.005	0.001	0.975	0.421
MEDIO	2	0.001	0.001	0.455	0.635
CUBETA	2	0.004	0.002	1.496	0.225
MEDIO* CUBETA	4	0.011	0.003	2.001	0.094
ERROR	387	0.535	0.001		

TABLA II. Anova correspondiente al desarrollo larvario de Mytilus edulis a la edad de seis días.

FUENTE DE VARIACION	gl	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	F	NIVEL SIGNIF.
TOTAL	4	0.757	0.189	78.732	0.000
MEDIO	2	0.739	0.369	153.681	0.000
CUBETA	2	0.018	0.009	3.846	0.022
MEDIO* CUBETA	4	0.192	0.048	20.005	0.000
ERROR	395	0.949	0.002		

TABLA III. Anova correspondiente al desarrollo larvario de *Mytilus edulis* a la edad de ocho días.

FUENTE DE VARIACION	gl	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	F	NIVEL SIGNIF.
TOTAL	4	0.109	0.027	5.819	0.000
MEDIO	2	0.072	0.036	7.636	0.000
CUBETA	2	0.037	0.019	4.003	0.019
MEDIO* CUBETA	4	0.048	0.012	2.536	0.040
ERROR	396	1.855	0.005		

TABLA IV. Anova correspondiente al desarrollo larvario de *Mytilus edulis* a la edad de 10 días.

FUENTE DE VARIACION	gl	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	F	NIVEL SIGNIF.
TOTAL	4	0.477	0.119	16.335	0.000
MEDIO	2	0.472	0.235	32.331	0.000
CUBETA	2	0.005	0.002	0.339	0.712
MEDIO* CUBETA	4	0.025	0.006	0.851	0.494
ERROR	396	1.889	0.007		

TABLA IX. Anova correspondiente al desarrollo larvario de *Mytilus edulis* a la edad de 20 días.

FUENTE DE VARIACION	gl	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	F	NIVEL SIGNIF.
TOTAL	4	0.118	0.030	2.065	0.085
MEDIO	2	0.095	0.047	3.307	0.040
CUBETA	2	0.024	0.012	0.823	0.440
MEDIO* CUBETA	4	0.087	0.022	1.521	0.195
ERROR	396	5.678	0.014		

TABLA X. Anova correspondiente al crecimiento de semilla de *Mytilus edulis* a la edad de 41 días.

FUENTE DE VARIACION	gl	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	F	NIVEL SIGNIF.
TOTAL	4	4144.525	1036.131	17.547	0.000
MEDIO	2	4117.190	2058.596	34.863	0.000
CUBETA	2	27.334	13.667	0.231	0.793
MEDIO* CUBETA	4	444.004	111.001	1.880	0.112
ERROR	873	51549.050	59.048		

TABLA XI. Anova correspondiente al numero de semilla de *Mytilus edulis* a la edad de 41 dias.

FUENTE DE VARIACION	gl	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	F	NIVEL SIGNIF.
ENTRE GRUPOS	2	4.099	2.049	3.802	0.0368
DENTRO DE GRUPOS	24	1.294	5.392		
ERROR	26	1.704			

A P E N D I C E

II

TABLA I. Analisis Multiple del crecimiento en base al Medio de cultivo en donde los NIVELES 1, 2 y 3 corresponden al f/2, Urea y Sulfato de Amonio respectivamente, a la edad de seis dias.

NIVEL	SUMA	PROMEDIO	GRUPOS HOMOGENEOS
2	135	125.78	*
1	134	134.88	*
3	135	138.45	*

TABLA II. Analisis Multiple del crecimiento en base al Medio de cultivo en donde los NIVELES 1, 2 y 3 corresponden al f/2, Urea y Sulfato de Amonio respectivamente, a la edad de ocho dias.

NIVEL	SUMA	PROMEDIO	GRUPOS HOMOGENEOS
2	135	136.83	*
1	135	140.65	*
3	135	140.80	*

TABLA III. Analisis Multiple del crecimiento en base al Medio de cultivo en donde los NIVELES 1, 2 y 3 corresponden al f/2, Urea y Sul-fato de Amonio respectivamente, a la edad de 10 dias.

NIVEL	SUMA	PROMEDIO	GRUPOS HOMOGENEOS
2	135	148.57	*
3	135	153.76	*
1	135	161.56	*

TABLA IV. Analisis Multiple del crecimiento en base al Medio de cultivo en donde los NIVELES 1, 2 y 3 corresponden al f/2, Urea y sul-fato de Amonio respectivamente, a la edad de 12 dias.

NIVEL	SUMA	PROMEDIO	GRUPOS HOMOGENEOS
2	134	160.37	*
1	135	172.23	*
3	135	172.59	*

TABLA V. Analisis Multiple del crecimiento en base al Medio de cultivo en donde los NIVELES 1, 2 y 3 corresponden al f/2, Urea y Sul-fato de Amonio respectivamente, a la edad de 14 dias.

NIVEL	SUMA	PROMEDIO	GRUPOS HOMOGENEOS
2	135	175.72	*
1	135	188.82	*
3	135	189.74	*

TABLA VI. Analisis Multiple del crecimiento en base al Medio de cultivo en donde los NIVELES 1, 2 y 3 corresponden al f/2, Urea y Sul-fato de Amonio respectivamente, a la edad de 16 dias.

NIVEL	SUMA	PROMEDIO	GRUPOS HOMOGENEOS
2	135	195.48	*
3	135	215.81	*
1	135	218.61	*

TABLA VII. Analisis Multiple del crecimiento en base al Medio de cultivo en donde los NIVELES 1, 2 y 3 corresponden al f/2, Urea y Sul-fato de Amonio respectivamente, a la edad de 18 dias.

NIVEL	SUMA	PROMEDIO	GRUPOS HOMOGENEOS
2	135	211.48	*
3	135	236.01	*
1	135	239.01	*

TABLA VIII. Analisis Multiple del crecimiento en base al Medio de cultivo en donde los NIVELES 1, 2 y 3 corresponden al f/2, Urea y Sul-fato de Amonio respectivamente, a la edad de 20 dias.

NIVEL	SUMA	PROMEDIO	GRUPOS HOMOGENEOS
2	135	244.25	*
3	135	249.14	* * .
1	135	253.35	*

TABLA IX. Analisis Multiple del crecimiento de semilla en base al Medio de cultivo en donde los NIVELES 1, 2 y 3 corresponden al f/2, Urea y Sulfato de Amonio respectivamente, a la edad de 41 dias.

NIVEL	SUMA	PROMEDIO	GRUPOS HOMOGENEOS
2	342	0.578	*
1	315	0.687	*
3	225	0.840	*

TABLA X. Analisis Multiple del numero total de semilla en base al Medio de cultivo en donde los NIVELES 1, 2 y 3 corresponden al f/2, Urea y Sulfato de Amonio respectivamente, a la edad de 41 dias.

NIVEL	SUMA	PROMEDIO	GRUPOS HOMOGENEOS
1	9	32,248	*
3	9	36,733	*
2	9	40,757	*