



Universidad Autónoma de
Baja California
Facultad de Ciencias Marinas
Biotecnología en Acuicultura



“Efecto de la densidad en el crecimiento y sobrevivencia larval de la
almeja generosa, *Panopea generosa*, en un sistema de flujo continuo”

Tesis

Que para obtener el título de
Licenciado en Biotecnología en Acuicultura

Presenta

Gabriel Enrique Nava Gómez

Ensenada, Baja California, México. Mayo de 2016



Universidad Autónoma de
Baja California
Facultad de Ciencias Marinas
Biotecnología en Acuicultura



"Efecto de la densidad en el crecimiento y sobrevivencia larval de la
almeja generosa, *Panopea generosa*, en un sistema de flujo continuo"

Tesis

Que para obtener el título de
Licenciado en Biotecnología en Acuicultura

Presenta

Gabriel Enrique Nava Gómez

Aprobado por:

Dr. Zaúl García Ezquivel
Director de tesis

Dra. Tatiana Olivares Bañuelos

Sinodal

Dr. Eugenio de Jesús Carpizo Ituarte

Sinodal

Ensenada, Baja California, México a Mayo de 2016

Resumen

Se diseñó y probó un sistema de flujo abierto para cultivo de larvas de almeja generosa, *Panopea generosa*, utilizando un reservorio colocado por encima de los tanques de cultivo, con el fin de mantener constantes la presión hidrostática y el flujo de agua entrante. Se comparó por triplicado la sobrevivencia y crecimiento de *P. generosa* en tanques de fibra de vidrio de fondo cónico (45L) con 3 densidades distintas (5, 10 y 15 larvas/ml), utilizando flujo continuo de agua con tasa de renovación de 1.5X el volumen del tanque y alimento algal dosificado a concentraciones entre 4,299 y 208,174 cel/ml (dependiendo de la talla) y un flujo constante de 37.5 ml/min. Se utilizó antibiótico cloranfenicol a una concentración de 3mg/L. a partir del segundo día de cultivo. Los resultados mostraron que el sistema implementado permitió mantener constantes en los tanques larvales la temperatura, los flujos de entrada de agua (56.5 ml/min) y el alimento a lo largo de 17 días de experimentación. La sobrevivencia disminuyó linealmente durante los primeros días en todos los tratamientos, alcanzando un mínimo estable de aproximadamente 50% en los tratamientos con menor densidad larval (5 y 10 larvas/ml) y de 20% en los de mayor densidad (15 larvas/ml). No obstante la talla larval promedio al final del experimento (243 ± 1.78 a 270 ± 0.7 $\mu\text{m/d}$) no fue estadísticamente distinta entre tratamientos, aun cuando se observó una tendencia a una mayor tasa de crecimiento (9.5 $\mu\text{m/d}$) en el tratamiento con menor densidad en relación con el resto (8.5 $\mu\text{m/d}$) de los tratamientos experimentales. Con estos resultados se concluye que las larvas de *P. generosa* pueden cultivarse en sistemas abiertos a densidades óptimas de 10 larvas/ml, y que el diseño del

sistema es confiable para mantener el flujo de agua constante en los tanques de cultivo sin necesidad de bombeo.

Dedicatoria

A mis padres, por ser el claro ejemplo de lucha, esfuerzo y responsabilidad. Por ayudarme a conseguir los logros que han ido forjando mi vida con su apoyo incondicional y jamás dejarme perder el rumbo hacia el éxito.

A mi hermana Beatriz, por mostrarme que existía la acuicultura, el campo en el cual inicie mi proyecto de vida. Por ser mi punto de referencia innumerables veces, y por enseñarme que la constancia siempre tiene su recompensa.

A mi hermano Rafael, que siempre será mi hermanito menor, y que espero ser un ejemplo para él, verlo crecer y ser una persona de bien, y lograr lo que el desee siempre con mi apoyo.

A Carolina, por formar parte de mi presente, por darme día a día su apoyo durante este camino y ser mi mejor amiga de toda la vida.

Y también a mí mismo, porque siempre se llega a dudar en el transcurso del camino, y depende de uno abandonar su sueño, o seguir hasta alcanzarlo. Porque soy dueño y arquitecto de mi destino.

Agradecimientos

A todo el personal del Laboratorio de Biotecnología de Moluscos que estuvo presente durante este trabajo y me ayudaron de una forma u otra. Alejandra Ferreira, Sandra Tapia, Itzel Pérez. ¡Muchas gracias!

Al M.C. Marco Aurelio González por apoyarme en la elaboración de mi sistema de experimentación y sus sugerencias durante todo el experimento.

Al profe, Dr. Zaúl García Esquivel, por permitirme formar parte de su equipo de trabajo, por enseñarme una forma de trabajo que me hizo ser un mejor profesionista, por compartir su tiempo y su conocimiento. Le agradezco toda su paciencia y su amistad, y mostrarme que la confianza y constancia son primordiales en el trabajo. Gracias Amigo

A la Dra Tatiana Olivares Bañuelos y al Dr. Eugenio Carpizo por aceptar ser mis sinodales.

Contenido

Resumen	iii
Dedicatoria	v
Agradecimientos	vi
Lista de Figuras	viii
Lista de Tablas	ix
Introducción	1
Objetivos	4
Metodología	5
Sistema continuo	5
Diseño Experimental	7
Condiciones de cultivo	8
Flujos y ración de alimento	8
Evaluaciones	10
Estadística	10
Resultados	11
Variables del sistema de flujo continuo	11
Temperatura y flujo de agua nueva	11
Sobrevivencia y crecimiento larval	13
Sobrevivencia	13
Crecimiento	14
Discusión	16
Conclusiones	20
Referencias	20

Lista de Figuras

- Fig. 1.- Diseño de sistema continuo basado en Sarkis *et. al*(2006). En la imagen se nombra cada elemento que lo conforma. **6**
- Fig. 2.- Temperaturas promedio de los tratamientos durante el experimento. Las barras representan el error estándar. **12**
- Fig. 3.- Flujos promedio de agua entrante a los tanques cónicos de cada tratamiento. Las barras representan el error estándar. **12**
- Fig. 4.- Supervivencia larval de *P. generosa* en 3 diferentes densidades desde el día 2 al día 17 de edad. Las barras representan el error estándar. **14**
- Fig. 5.- Largo de la concha de *P. generosa* en 3 diferentes densidades larvales desde el día 2 al día 17 de edad. Las barras representan la desviación estándar y líneas de tendencia de cada tratamiento. **15**

Lista de Tablas

Tabla 1.- Cantidad inicial de larvas "D" de <i>Panopea generosa</i> utilizados para probar el efecto de densidad larval sobre el crecimiento y sobrevivencia en sistemas de flujo continuo.	7
Tabla 2.-Condiciones de flujo de agua, alimento, y concentración instantánea de alimento entrante en cónicos experimentales de 45L durante el desarrollo larval de <i>Panopea globosa</i> . * Estimado a partir de Ferreira-Arrieta et al. (2015)	9
Tabla 3. Ecuaciones de ajuste lineal de longitud de la concha larval (L) de <i>P. generosa</i> contra tiempo en días (D) en larvas cultivadas a 5, 10 y 15 larvas/ml. El coeficiente de determinación (R^2) también se muestra.	16
Tabla 4.- Comparación de diferentes estudios utilizando sistemas de flujo continuo en larvas de moluscos bivalvos. Las densidades utilizadas y las sobrevivencias se muestran respectivamente.	19

Introducción

Junto con *Panopea globosa*, la captura de *P. generosa* mantiene una pesquería de 1,200 toneladas por año, con un rendimiento de US\$18 millones (Calderón-Aguilera *et al.* 2010) y que resulta un recurso pesquero muy importante en Baja California. El nivel de presión pesquera en ambas especies de *Panopea*, combinado con tasa de crecimiento relativamente lenta hasta la talla comercial, resulta en iniciativas y esfuerzos en investigaciones enfocadas en la producción en laboratorio con el propósito de restablecer las poblaciones naturales (Ferreira-Arrieta *et al.*, 2015) y fortalecer su cultivo. Considerando lo anterior, hacer más eficientes los métodos de cultivo, resulta fundamental para favorecer la producción de semilla de esta especie en condiciones de laboratorio.

Los estadios larvales de muchas especies de moluscos son cultivados en varios tipos de tanques, desde contenedores pequeños hasta tanques de gran capacidad, cuadrados, redondos de fondo plano, y redondos de fondo cónico (Hodgson y Bourne, 1988). Tradicionalmente el cultivo de larvas se realiza en sistemas estáticos con aireación y recambios de agua cada tercer día. Aunque es un método que ha probado ser útil para cultivar cualquier especie de larvas de moluscos, su rendimiento está limitado por la densidad (1 a 10 larvas/ml, dependiendo de la especie) y el volumen de los tanques de los recipientes (Helm *et al.*, 2004). Los tanques para producción comercial típicamente tienen un volumen de entre 500 y 50,000L, por lo que el espacio que ocupan en una granja y/o laboratorio puede ser significativo.

Durante la última década se han implementado con éxito los cultivos larvales en sistemas de flujo abierto, utilizando para esto tanques de fondo cónico que permiten aumentar la densidad larval hasta en un orden de magnitud con respecto a los sistemas estáticos tradicionales (Helm *et al.*, 2004). En un sistema de flujo continuo, el agua y el alimento microalgal son añadidos de forma ininterrumpida, mientras que el cultivo estático o en tandas se caracteriza por mantener el mismo volumen de agua, el cual se reemplaza completamente cada dos o tres días, y la microalga es agregada diariamente (Magnesen *et al.*, 2006). Este método permite el recambio de agua sin tener que retirar la larva del tanque (Southgate e Ito. 1998).

Un sistema de flujo continuo consta de varios elementos críticos: a) un control del flujo de agua, el cual es mantenido por medio de bombas con flujómetro integrado (Helm *et al.*, 2004). Alternativamente se han utilizado reservorios de nivel (Helm *et al.*, 2004) que permiten mantener la presión y el flujo constantes, b) una criba, también conocida como raqueta que permite la salida de agua del tanque pero previene la pérdida de larvas, c) un aporte constante de alimento. El flujo de agua y alimento pueden ajustarse para lograr la tasa de recambio deseada. Los sistemas de flujo continuo permiten remover los desechos de materia orgánica y desechos de los estanques a una tasa constante (Bergh y Strand. 2001). Además, estos sistemas permiten reducir el manejo de las larvas, lo cual se traduce en un ambiente más estable y el costo laboral se reduce significativamente (Magnesen y Jacobsen. 2011). Los sistemas de flujo continuo se han probado con larvas del ostión *Crassostrea gigas* (Rico-Villa, *et al.* 2008), y

otras especies. (Andersen *et al.*, 2000; Magnesen *et al.*, 2006; Sarkis *et al.*, 2006). Aparte del mayor rendimiento obtenido, el cultivo larval con flujo continuo permite reducir los costos de mantenimiento (limpieza, cribado de larvas), aunque aumenta el riesgo de contaminación si no se definen con anticipación las densidades adecuadas de larvas que pueden ser soportadas. En general las larvas de ostreidos y mejillones soportan altas densidades en sistemas estáticos, pero algunas almejas, y particularmente los pectínidos son sensibles a las altas densidades y son edad-dependiente. Por lo mismo, es necesario establecer las densidades adecuadas para cultivar las larvas de cualquier especie, y en particular para una especie de alta importancia económica como *Panopea generosa*. Pruebas en Noruega con larvas de *P. maximus* en sistemas de flujo continuo de pequeña escala (800L) han demostrado una pobre sobrevivencia larval (Andersen *et al.*, 2000). Por otro lado, un estudio comparativo de sistema de cultivo indica una alta sobrevivencia larval en sistemas de flujo continuo a gran escala (4,700L) en comparación con un sistema estático de pequeña escala (500L) (Andersen *et al.*, 2000).

La sobrevivencia y la tasa de crecimiento son las variables productivas más ampliamente utilizadas para identificar el efecto de cualquier tratamiento en organismos marinos, y han probado ser indicadores útiles para evaluar el efecto de la densidad larval en sistemas de cultivo. La almeja generosa, *Panopea generosa*, se cultiva desde hace tres décadas en laboratorios de Estados Unidos, y en los últimos 7 años se comenzó a producir en el Laboratorio de Biotecnología de Moluscos de la UABC (García-Esquivel *et al.*, 2011). La producción de larvas

de esta especie en el laboratorio se realiza en tanques de cultivo estático de 500L, utilizando densidades larvales similares a las de *Panopea globosa* y realizando recambios de agua cada tercer día (Ferreira-Arrieta *et al.*, 2015). Una alternativa para aumentar la eficiencia de dichos sistemas es implementando en los mismos el flujo continuo, por lo que el presente estudio está orientado a definir la viabilidad de dichos sistemas para cultivar *Panopea generosa* y de conocer la capacidad de producción de un sistema continuo con este organismo.

Objetivos

1. Diseñar y probar un sistema de presión hidrostática que permita proveer flujos constantes de agua a tanques individuales de fondo cónico, utilizados para el cultivo de larvas de almeja generosa, *Panopea generosa*.
2. Determinar el efecto de la densidad (5, 10, 15 larvas/ml) sobre la sobrevivencia en larvas de *Panopea generosa* en sistemas de flujo continuo
3. Determinar el efecto de la densidad (5, 10 y 15 larvas/ml) sobre el crecimiento larval de *Panopea generosa* en sistemas de flujo continuo

Metodología

Sistema continuo

El sistema experimental de flujo continuo se basó en el diseño de Sarkis *et al.* (2006). Nueve tanques de fondo cónico con capacidad de 45L fueron habilitados con un tubo de PVC en la parte inferior para la entrada de aire y de agua nueva, y en la parte superior se colocaron raquetas de distintas luz de malla para permitir la salida de agua pero no de larvas (Fig. 1). El agua nueva se suministró por gravedad desde un tanque de reserva de 10L colocado encima de cada uno de los cónicos, y el flujo se reguló con una llave de paso (Fig. 1). Un tubo de nivel colocado a un lado del tanque de 10L permitió mantener constante la presión del agua de entrada. Dos reservorios independientes de 500L se usaron para suministrar el alimento o el agua, los cuales se agregaron directamente al tanque cónico (alimento) o al reservorio de 10L (agua) mediante una bomba de acuario sumergible (Fig. 1). En cada caso se reguló el flujo con llaves de paso. Los reservorios se mantuvieron con aireación constante.

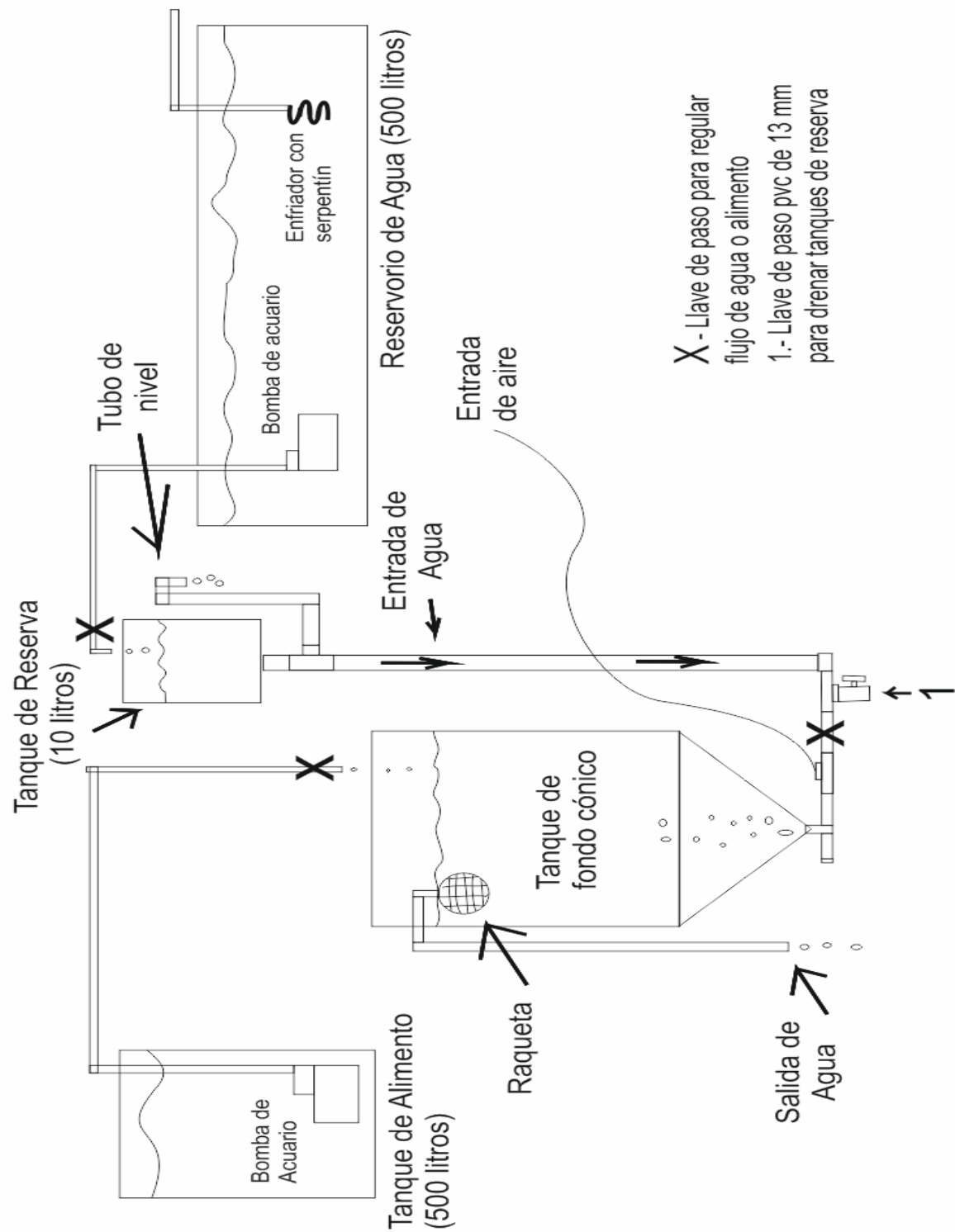


Fig. 1.- Diseño de sistema continuo basado en Sarkis *et. al*(2006). En la imagen se especifica cada elemento que lo conforma.

Diseño experimental

Se obtuvieron larvas de *P. generosa* a partir de reproductores madurados en laboratorio e inducidos al desove mediante inyección intragonadal (García-Esquivel, Z., com. pers., Laboratorio de Biotecnología de Moluscos, Instituto de Investigaciones Oceanológicas, UABC). Los huevos fertilizados se incubaron en tanques de fondo cónico de 500L hasta que alcanzaron el estadio larval de charnela recta o "D" (Ferreira-Arrieta *et al.*, 2015). Las larvas se repartieron por triplicado en las 9 unidades experimentales (tanques de fondo cónico de 45L con flujo continuo de agua) utilizando densidades de 5, 10 y 15 organismos/ml (Tabla 1).

Tabla 1.- En la tabla se indica la cantidad inicial de larvas "D" de *Panopea generosa*, así como el número de larvas totales en cada uno de los tanques y el número de réplicas para probar el efecto de densidad larval sobre el crecimiento y sobrevivencia en sistemas de flujo continuo.

Densidad larval inicial	Número de réplicas	Total de larvas por tanque cónico
5 larvas / ml	3	225,000
10 larvas / ml	3	450,000
15 larvas / ml	3	675,000

Diariamente se registró la temperatura de cada tanque cónico al inicio del día. Los tamices o raquetas también se lavaron diario y se cambió la luz de malla conforme

creció la larva. El flujo de entrada de agua se midió 2 veces durante el experimento (día 5 y 14 de cultivo) y también al día 23, una vez concluido el experimento para verificar la constancia del sistema. Diariamente se vació el remanente de agua o alimento de los reservorios de 500 L, se lavaron y se rellenaron de nuevo con agua filtrada hasta 1 μm , y se ajustó el alimento a la concentración inicial deseada. Se aprovecharon los días de evaluación de larva para lavar los tanques cónicos. Se añadió cloranfenicol a una concentración de 3mg/L (Tapia-Morales. 2011) a cada tanque cónico en cada evaluación y diariamente al reservorio de agua de 500L, a partir del día 2 de cultivo.

Condiciones de Cultivo

Flujos y ración de alimento

El flujo de entrada de agua nueva hacia cada tanque cónico experimental se ajustó desde el inicio para mantener una renovación de 1.5 veces el volumen del tanque larval en 24 horas. El flujo de alimento fue de 37.5 ml/min. La concentración de alimento (*Isochrysis spp*, clon T-ISO) en el tanque reservorio de 500L se incrementó conforme aumentó el tamaño de la larva, tomando como base las tasas de ingestión talla-específicas reportadas por Ferreira-Arrieta *et al.* (2015). En todos los tanques experimentales se utilizó simultáneamente la misma concentración de alimento, flujo de agua y flujo de alimento. Con lo anterior, se aseguró que el alimento llegara al tanque larval a una concentración instantánea (después de mezclar el volumen de agua entrante y alimento) entre 4,299 y 208,174 cel/ml (Tabla 2).

Tabla 2.-Condiciones de flujo de agua, alimento, y concentración instantánea de alimento entrante en tanques cónicos experimentales de 45L durante el desarrollo larval de *Panopea globosa*. * Estimado a partir de Ferreira-Arrieta et al. (2015)

Longitud de la concha (µm)	Demanda teórica de alimento (Cel/larva/día)*	Flujo de agua (ml/min)	Flujo de alimento (ml/min)	Concentración instantánea de alimento (cel/ml)
100	287	56.2	37.5	4,299
125	533	56.2	37.5	7,192
145	875	56.2	37.5	10,498
160	1,269	56.2	37.7	13,325
200	3,422	56.2	37.5	30,800
235	8,152	56.2	37.5	61,142
270	19,420	56.2	37.5	116,519
305	46,261	56.2	37.5	208,174

Evaluaciones

La sobrevivencia y crecimiento se evaluaron al inicio del experimento y cada 4 días durante un total de 17 días. En cada fecha el total de larvas de cada tanque cónico se concentró en un recipiente de 3L, se homogeneizó y se tomaron 3 muestras de 1 ml con una pipeta automática. Se fijaron con formol salino al 10% hasta su posterior procesamiento. Las larvas vivas (completas, con tejido y alimento en el sistema digestivo) se contaron con ayuda del microscopio compuesto y se extrapolaron al volumen total para estimar la sobrevivencia acumulada, la cual se calculó con la siguiente ecuación:

$$S = (N_t * 100) / N_0$$

Dónde: S= sobrevivencia acumulada, N_t = número total de larvas presentes al tiempo t, N_0 = número de larvas presentes al inicio del experimento.

Se eligieron además aleatoriamente 90 organismos de cada tanque cónico para evaluar la talla tomando el largo (anteroposterior) y el ancho (dorsoventral) de la concha.

Análisis Estadístico

Las tallas larvales de cada tratamiento de densidad se graficaron en función del tiempo y se les realizó un ajuste lineal. La tasa de crecimiento bruto fue calculada como la pendiente de la curva para cada tratamiento. La sobrevivencia acumulada se graficó también en función del tiempo. En cada fecha de muestreo se realizaron análisis de varianza de una vía (ANOVA) para comparar el efecto de

la densidad sobre la sobrevivencia. En todos los casos se comprobó que se cumplieran las condiciones de normalidad y homogeneidad de varianza. Todos los análisis se realizaron mediante los programas de cómputo SigmaSTAT (versión 3.5)

Resultados

Variables del sistema de flujo continuo

Temperatura y Flujo de agua nueva

Los primeros 10 días se mantuvo una temperatura relativamente constante ($17.7 \pm 0.05^{\circ}\text{C}$). Entre los días 11 y 13 aumentó hasta 19 y 21°C , y posteriormente se estabilizó de nuevo a 17.8°C (Fig. 2). En relación al flujo, los tratamientos de 10 y 15 larvas/ml fueron los más constantes durante todo el experimento. Sin embargo, todos los tratamientos mantuvieron el flujo cercano al pre-establecido (56.25 ml/minuto) desde el inicio del experimento (Fig. 3). El tratamiento con menor densidad (5 larvas/ml) siempre registró menor flujo promedio durante todo el experimento ($53 \pm 1.7 \text{ ml/min}$).

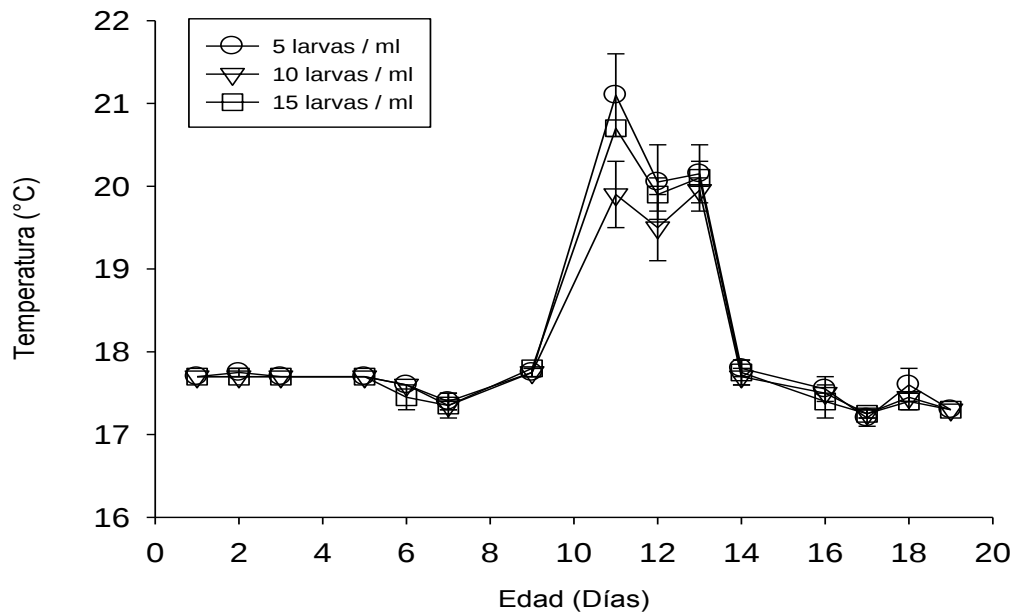


Fig. 2.- Temperaturas promedio (n=3) de los tratamientos durante el periodo experimental. Las barras representan el error estándar.

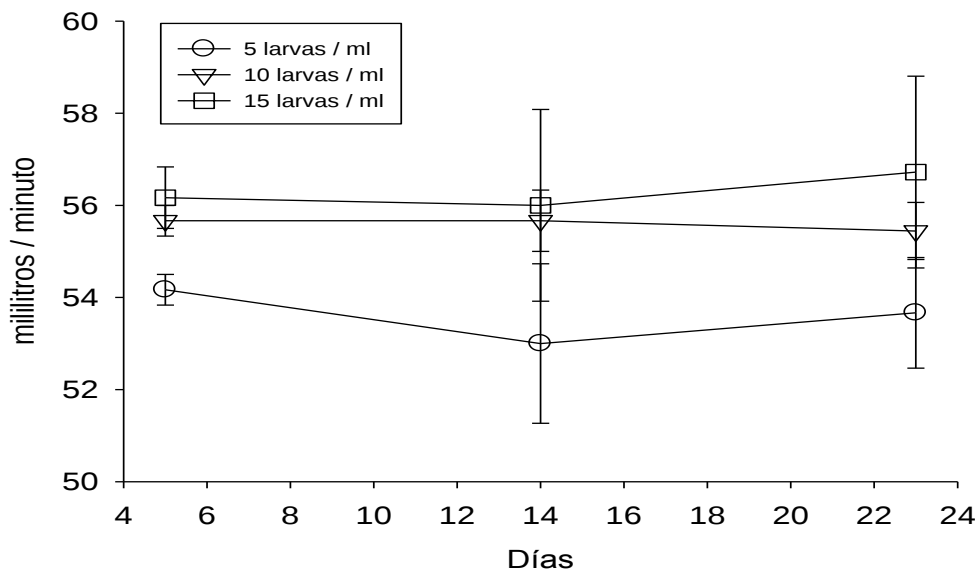


Fig. 3.- Flujos promedio de agua entrante a los tanques cónicos de cada tratamiento. Las barras representan el error estándar.

Sobrevivencia y crecimiento larval

Sobrevivencia

El patrón de sobrevivencia de *P. globosa* fue similar en todos los tratamientos, con una disminución lineal durante los primeros 10 días y estabilización hacia valores asintóticos durante el resto del experimento (Fig. 4). Las larvas de los tratamientos de 5 y 10 larvas/ml exhibieron valores promedio entre 50 y 60% de sobrevivencia a partir del día 10, mientras que aquellas que estuvieron en la mayor densidad alcanzaron los más bajos valores de sobrevivencia (aproximadamente 20%) en ese mismo período de tiempo (Fig. 4). Es importante notar que aun cuando se inició con 3 réplicas (tanques cónicos) por tratamiento, desde el día 6 se contó solamente con 2 réplicas en el tratamiento de 10 larvas/ml, debido a la pérdida accidental de larvas durante el manejo. En los tratamientos restantes se contó con 2 réplicas a partir del día 10 por la misma razón (Fig. 4). Por esta razón las diferencias observadas entre los tratamientos (Fig. 4) no fueron estadísticamente significativas al inicio de la fase asintótica (día 10, ANOVA $F= 2.382$, $P=0.240$) en medio (día 13, ANOVA $F= 5.085$, $P= 0.109$) y tampoco al final del experimento (día 17, ANOVA $F= 5.502$, $P= 0.099$).

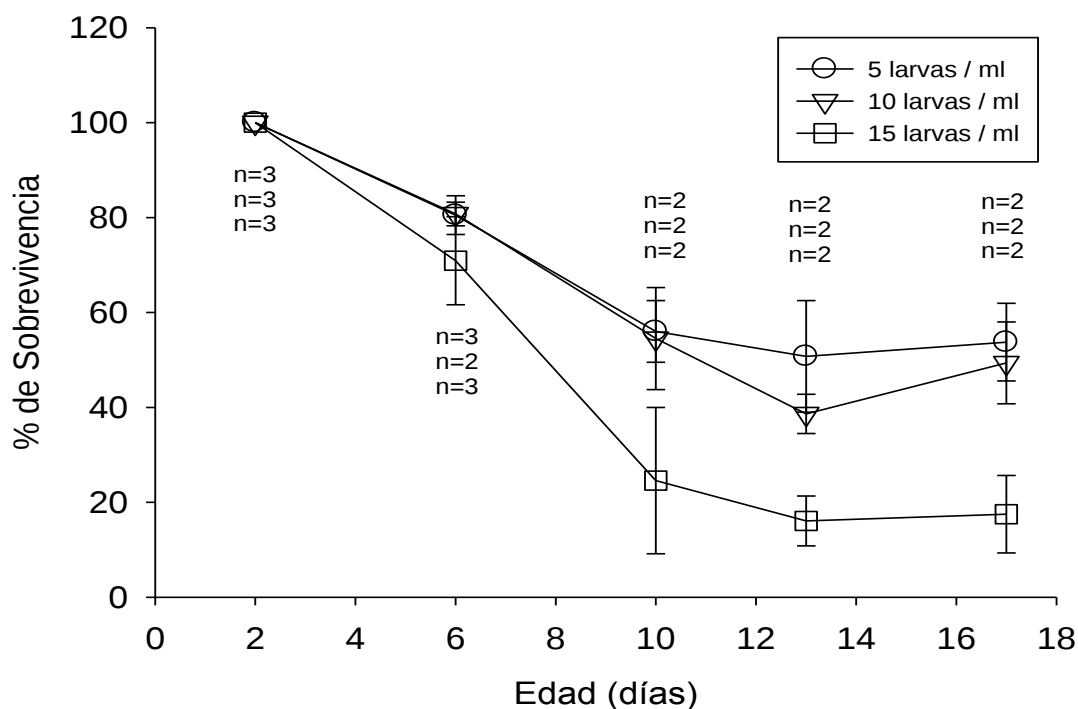


Fig. 4.- Supervivencia larval de *P. generosa* en 3 diferentes densidades desde el día 2 al día 17 de edad. Las barras representan el error estándar

Crecimiento

Las larvas de *P. generosa* mostraron un patrón de crecimiento lineal en los 3 diferentes tratamientos (Fig. 5). La longitud promedio de la concha larval al final del experimento fue de $266.5 \pm 3.39 \mu\text{m}$, $251.4 \pm 8.83 \mu\text{m}$ y $249.4 \pm 12.89 \mu\text{m}$ para las densidades de 5, 10 y 15 larvas/ml respectivamente. Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (ANOVA $F = 4.224$, $P = 0.134$), aun cuando se observó una ligera tendencia de mayor crecimiento en larvas cultivadas a la más baja densidad (5 larvas/ml). Los 2 tratamientos restantes mostraron un crecimiento muy similar (Fig. 5).

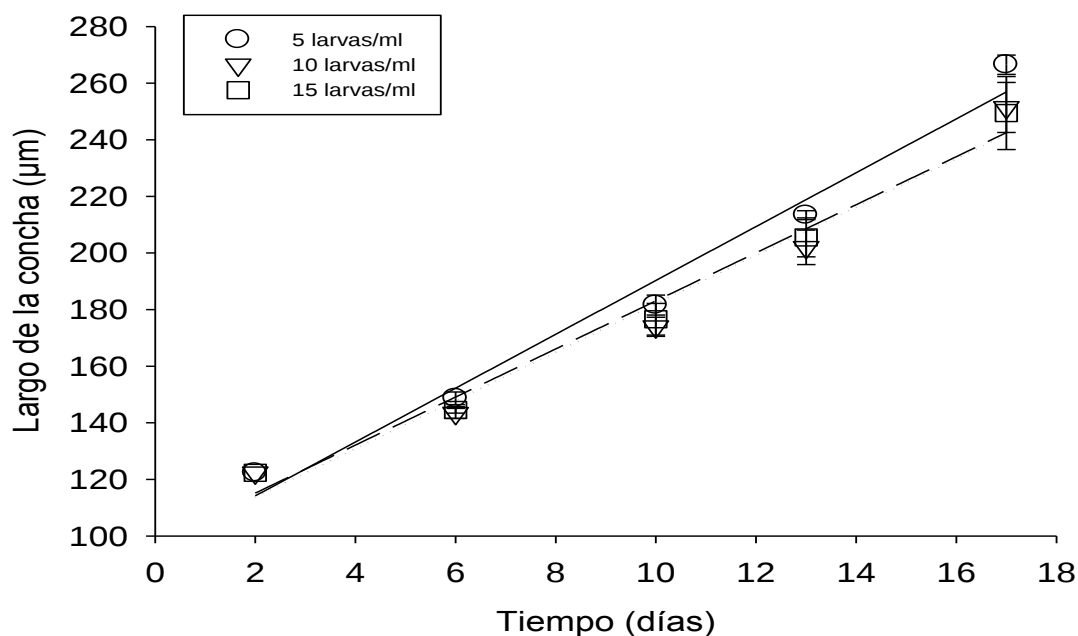


Fig. 5.- Largo de la concha de *P. generosa* en 3 diferentes densidades larvales desde el día 2 al día 17 de edad. Las barras representan la desviación estándar y líneas de tendencia de cada tratamiento.

Las ecuaciones de ajuste lineal (Tabla 3) arrojaron la tasa de crecimiento bruto de 9.5 µm/d en las larvas sometidas a menor densidad, y de 8.5 µm/d en larvas cultivadas a densidades de 10 y 15/ml (Tabla 3).

Tabla 3. Ecuaciones de ajuste lineal de longitud de la concha larval (L) de *P. generosa* vs tiempo en días (D) en larvas cultivadas a 5, 10 y 15 larvas/ml. El coeficiente de determinación (R^2) también se muestra.

Densidad (larvas/ml)	Ecuación de Ajuste	R^2
5	$L = 95.14 + 9.5 D$	0.983
10	$L = 98.16 + 8.5 D$	0.978
15	$L = 96.65 + 8.5 D$	0.972

Discusión

El presente estudio mostró que el diseño del sistema experimental fue adecuado para mantener constante el flujo de entrada de agua nueva, del alimento, y de la temperatura. La única variable que mostró un aumento significativo (2 °C) entre los días 11 y 13 fue la temperatura, pero esto se debió a una falla general en el suministro de la energía eléctrica del laboratorio, lo cual fue ajeno nuestro control. Es importante resaltar el hecho de que el diseño del sistema experimental, basado en Sarkis *et al.* (2006), permite mantener constante la presión hidrostática en el reservorio de agua entrante mediante el uso del tubo de nivel. Por lo tanto el flujo de agua de entrada al tanque cónico también se mantiene constante sin necesidad de utilizar bombas que requieren electricidad. Hasta ahora los estudios que se han realizado con sistemas de flujo continuo no aportan detalles sobre su diseño (Tordkilsen. 2004; Andersen *et al.* 2000; Magnesen *et al* 2011). Tampoco son claros los criterios utilizados para establecer

la tasa de recambio de agua en función de la densidad de larvas. Además, los diseños experimentales con mayor cantidad de tratamientos no cuentan con comparaciones simultáneas o mezclan sistemas estáticos contra abiertos y/o limitados por la cantidad de unidades experimentales (Andersen *et al.* 2000; Tordkilsen y Magnesen. 2004), lo que hace confusa su interpretación. No obstante, es evidente que el volumen del tanque de cultivo (45L) y la tasa de recambio de agua utilizada en el presente estudio (1.5 veces/día) fueron menores que lo reportado en otros trabajos (Tabla 4). Así mismo, la sobrevivencia larval de 50% observada en los tratamientos de 5 y 10 larvas/ml de *P. generosa* es comparable a la reportada para *Pecten maximus* (47%) cultivada a densidades de 3 larvas/ml en tanques de 3,500L y 1 recambio completo de agua por día (Tabla 4) (Magnesen y Jacobsen, 2011). Sarkis *et al.* (2006) reportaron entre 25 y 30% de sobrevivencia larval de *Argopecten gibbus* en sistemas de 200L con flujo abierto y tasa de recambio de 3.4 veces/día, mientras que para larvas de *Crassostrea gigas* cultivadas a densidades entre 50 y 100 organismos/ml en tanques de 150L con recambios diarios de agua de 6.4 veces se reportaron sobrevivencias de alrededor del 90% (Rico-Villa *et al.*, 2008). Southgate e Ito (1998) reportaron una sobrevivencia de 11.3% en 13 días con tasas de recambio de 2 veces/día en larvas de *Pinctada margaritifera*, mientras que Reiner (2011) registró sobrevivencias de 32 y 41% con 5 y 10 recambios diarios en 16 días respectivamente con *Crassostrea virginica*. En el caso de *Panopea generosa* existen pocos estudios de su desarrollo larval, destacando los de Goodwin (1973), Goodwin *et al.* (1979) y Buitimea-Alvarez (2011). Goodwin *et al.* (1979) mencionan que obtuvieron mortalidades de solo 5% al utilizar una densidad de 3 larvas/ml en

estadio de charnela recta, en un sistema estático. También, Ferreira-Arrieta *et al* (2015) reportaron sobrevivencias larvales de *P. globosa* entre 20 y 50 % usando una densidad inicial de 5 larvas/ml en sistemas estáticos de 500L. Por otra parte, la tasa de crecimiento registrada para las larvas de *P. generosa* sometidas a la densidad más baja en el presente estudio (9.5 $\mu\text{m/d}$) fue ligeramente mayor que la registrada en los tratamientos de 10 y 15 larvas/ml (8.5 $\mu\text{m/d}$), aunque la sobrevivencia fue significativamente mayor en las larvas con densidad inicial de 5 y 10 organismos/ml (50%) en relación con las de 15 organismos/ml (17%). En conjunto, lo anterior sugiere que en contraste con los ostreidos, las larvas de *P. generosa* al igual que los pectínidos requieren ser cultivadas a bajas densidades. Es probable que una mayor tasa de recambio del agua permita aumentar la densidad larval, pero la experiencia previa con pectínidos sugiere que dicho aumento podría ser no significativo. En cambio, el aumentar la tasa de recambio también exige un ajuste en la ración de alimento, ya que debe asegurarse que este no se pierda por dilución. En este sentido, se sabe que las larvas de *Panopea spp* muestran en general una alta demanda de alimento (Ferreira-Arrieta *et al.*, 2015). y las raciones usadas para *P. generosa* se basaron en los datos cuantitativos de tasas de ingestión reportadas para distintas tallas larvales de *Panopea globosa* (Ferreira-Arrieta *et al.*, 2015). Se aseguró además que dichas raciones se suministraran en mayor cantidad tomando en cuenta el flujo de agua. Con esta aproximación se pudo comprobar que las lavas no estuvieran limitadas ni tuvieran alimento excesivo en ningún momento a lo largo del experimento.

Tabla 4.- Comparación de diferentes estudios utilizando sistemas de flujo continuo en larvas de moluscos bivalvos. Las densidades utilizadas y las sobrevivencias se muestran respectivamente

Familia / especie	Densidad utilizada (larvas/mL)	Sobrevivencia (%)	Días de cultivo	Flujo de recambio (veces/día)	Volumen de tanque (L)	Referencia
Hiatellidae / <i>Panopea generosa</i>	5, 10, 15	54, 49, 17	17	1.5	45	Este estudio
Ostreidae / <i>Crassostrea virginica</i>	10, 20, 50	36, 72, 29	11	5	400	Reiner (2011)
Ostreidae / <i>Crassostrea gigas</i>	50, 100	92, 90	16	6.4	150	Rico-Villa et al. (2008)
Pectinidae/ <i>Pecten maximus</i>	2.8 – 3.1	47	20	1	3,500	Magnesen y Jacobsen (2011)
Pectinidae/ <i>Argopecten gibbus</i>	8, 24	25, 30	13	3.4	200	Sarkis et al. (2006)

Conclusiones

1. El sistema de flujo abierto implementado para el cultivo larval de *P. generosa* en tanques de fondo cónico resultó confiable y económico, ya que se pudieron mantener flujos constantes de agua de recambio sin necesidad de utilizar bombeo.
2. La sobrevivencia de larvas de *P. generosa* en sistemas de flujo abierto fue mayor a densidades de 5 y 10 organismos/ml que en 15 organismos/ml.
3. La tasa de crecimiento larval de *P. generosa* fue ligeramente mayor en densidades de 5 larvas/ml (9.5 $\mu\text{m}/\text{d}$) que a densidades de 10 y 15 larvas/ml.
4. En conjunto, los datos de sobrevivencia y crecimiento sugieren que las larvas de *P. generosa* deben cultivarse a baja densidad inicial (5 larvas "D"/ml), pero los sistemas abiertos permiten aumentar el rendimiento hasta el doble sin afectar significativamente la sobrevivencia.

Referencias:

- Andersen, S., Burnell, G., Bergh, O. 2000. Flow-through systems for culturing great scallop larvae. *Aquaculture International* 8: 249-257.
- Bergh, O., Strand, O. 2001. Great scallop, *Pecten maximus*, research and culture strategies in Norway: a review. *Aquaculture International* 9: 305-318.
- Ferreira-Arrieta, A., García-Esquivel, Z., González-Gómez, M.A., Valenzuela-Espinoza, E. 2015. Growth, survival, and feeding rates for the geoduck *Panopea globosa* during larval development. *Journal of Shellfish Research* 34: 55-61

Garcia-Esquivel, Z., Buitimea-Alvarez, M. I., Valenzuela-Espinoza, E., Garduño, J.C., Ley-Lou, F. 2011. Producción experimental de semilla de almeja generosa (*Panopea spp*) en Baja California. Panorama Acuicola Magazine 16: 36–37.

Goodwin. L., Shaul. W., Budd. C. 1979. Larval development of the geoduck clam (*Panopea generosa*, Gould) Proceedings of the National Shellfisheries Association. 69: 73-76

Helm, M. M., N. Bourne., A. Lovatelli. 2004. Hatchery culture of bivalves: a practical manual. FAO Fisheries technical paper no. 471. Rome: FAO.177 pp.

Hodgson, C.A., Bourne N. 1988. Effect of temperature on larval development of the spiny scallop, *Chlamys hastata*(Sowerby), with a note on metamorphosis. Journal of Shellfish Research. 7: 349-357.

Magnesen, T., Bergh, O., Christophersen, G. 2006. Yields of great scallop, *Pecten maximus*, larvae in a comercial flow-through rearing system in Norway. Aquaculture International 14: 377-394.

Magnesen. T., Jacobsen, A., 2011. Effect of water recirculation on seawater quality and production of scallop (*Pecten maximus*) larvae. Aquacultural Engineering 47: 1-6.

Reiner, S. 2011. Evaluating the use of flow-through larval culture for the Eastern oyster, *Crassostrea virginica*. MS Thesis. School of Marine Science, College of William and Mary. Virginia. U.S.A. 155 pp.

Rico-Villa, B., Woerther, P., Mingant, C., Lepiver, D., Pouvreau, S., Hamon, M., Robert, R. 2008. A flow-through rearing system for ecophysiological studies of Pacific oyster *Crassostrea gigas* larvae. *Aquaculture International* 282: 54-60.

Sarkis, S., Helm, M., Hohn, C. 2006. Larval rearing of calico scallops, *Argopecten gibbus*, in a flow-through system. *Aquaculture International* 14: 527-538.

Southgate, P.C., Ito, M. 1998. Evaluation of a partial flow-through culture technique for pearl oyster (*Pinctada margaritifera* L.) larvae. *Aquacultural Engineering*. 18: 1-7.

Tapia-Morales, S. 2011. Efecto del cloranfenicol y la gentamicina sobre el desarrollo larval de la almeja generosa *Panopea globosa*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California., Ensenada, B.C. México. 43 pp.

Torkildsen, L., Magnesen, T. 2004. Hatchery production of scallop larvae (*Pecten maximus*) –survival in different rearing systems. *Aquaculture International* 12: 489-507