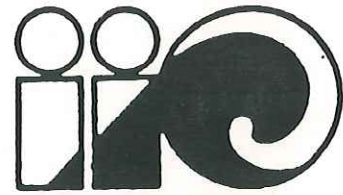


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLOGICAS



"ANALISIS DEL CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA DE  
LARVAS DEL MEJILLON *Mytilus galloprovincialis* BAJO  
DIFERENTES DENSIDADES DE CULTIVO Y FRECUENCIAS  
DE CAMBIO DE AGUA"


Tesis que para obtener el título de  
OCEANOLOGO  
Presenta  
P. Oc. CONRADO GONZALEZ VERA

Ensenada, Baja California, México  
Diciembre de 1992

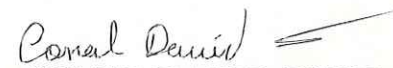
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLOGICAS

"ANALISIS DEL CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA DE  
LARVAS DEL MEJILLON *Mytilus galloprovincialis* BAJO  
DIFERENTES DENSIDADES DE CULTIVO Y FRECUENCIAS  
DE CAMBIO DE AGUA"

TESIS DE LICENCIATURA QUE PRESENTA  
P. Oc. CONRADO GONZALEZ VERA  
APROBADA POR

  
Oc. LUIS ENRIQUE GARCIA PAMANES  
Presidente del jurado

  
Oc. FERNANDO ADOLFO GARCIA PAMANES  
Sinodal propietario

  
Oc. CONAL DAVID TRUE  
Sinodal propietario

## AGRADECIMIENTOS.

---

A Luis por darme la oportunidad de trabajar con su idea sin limitaciones, en el proyecto "Producción masiva de semilla de mejillón en laboratorio; estudios de escalamiento".

A Gris por haberme ayudado en todas las fases de este trabajo.

A Fernando, Lewis, Alfredo, Guille, Enrique, Trujillo y Conal; por su valiosa ayuda en el desarrollo del trabajo.

A la Universidad (UABC), la Facultad (FCM), el Instituto (IIO), CONACYT y la SEP, por el apoyo que me otorgaron.

A todos ustedes que me han brindado su ayuda y a quienes me han permitido aprender de ellos.

A Dios, la naturaleza y la vida.

DEDICATORIA.

---

A ustedes:

Mi más grande orgullo, mi familia; Papá, Mamá y mis dos lindas hermanitas.

A esa gran familia, que de alguna manera tenemos una gotita de la misma sangre.

A quienes se me han adelantado.

A ustedes que me han brindado su amistad.

A tí que disfrutas del placer de la vida y no te doblegas ante ningún obstáculo al que hay que vencer para alcanzar lo que deseas; a tí que sabes ser humilde y celas tu orgullo justamente; a tí que intentas comprenderte antes que querer entender y superar a los demás; y a tí que respetas y valoras los diferentes momentos de la naturaleza y la vida.

*A tí por ser lo más bello*

*de la naturaleza*

**"MUJER".**

Eres femenina y eres lo más  
hermoso que existe en este universo.

Eres mujer aún más fértil  
que la vida misma puesto  
que de la mujer nació.

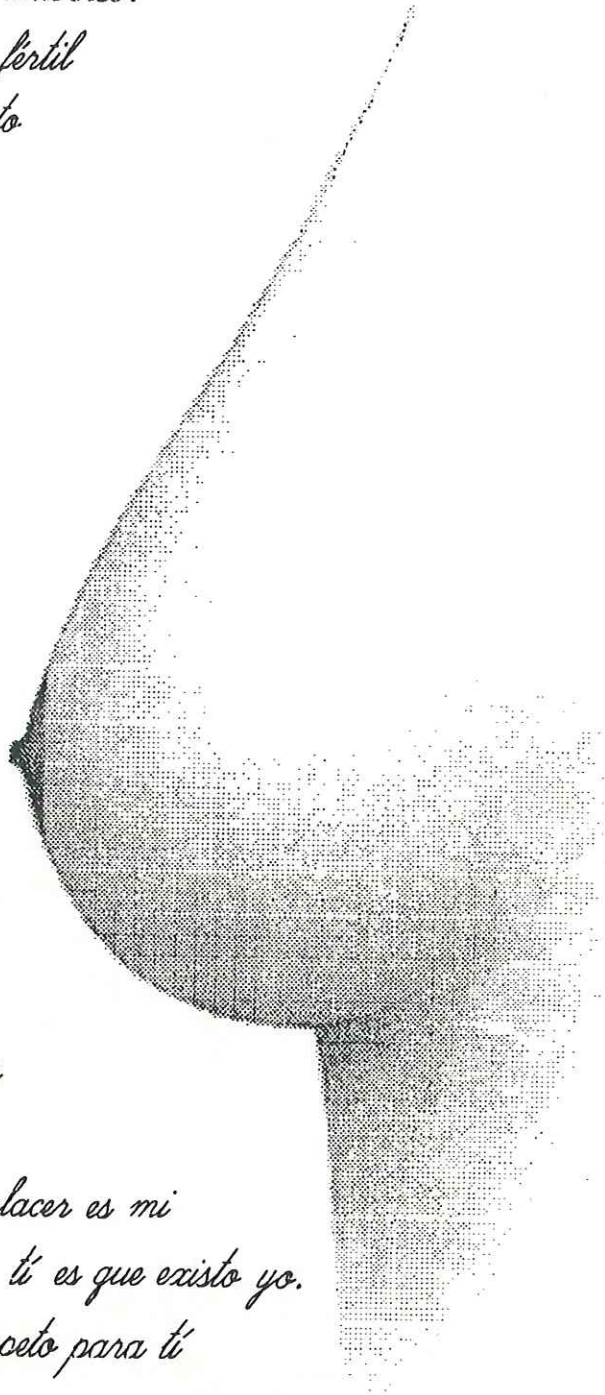
En tu honor existe  
la belleza y ante tu  
ser la fuerza y el  
poder se debilitan.

Simplemente  
por ser mujer  
te admira el  
universo entero.

Y con  
una sola de tus  
sonrisas se estremece  
y se ilumina de alegría  
la naturaleza en todas sus  
dimensiones.

Por ello y más tu placer es mi  
mayor satisfacción y para tí es que existo yo.

"Con todo cariño y respeto para tí  
por ser mujer."



## RESUMEN.

Se realizaron dos experimentos por triplicado para determinar el efecto en el crecimiento y sobrevivencia de larvas del mejillón *Mytilus galloprovincialis*; el primero con diferentes densidades de cultivo y el segundo con diferentes frecuencias de cambio de agua.

A).- Primer experimento. Se realizó con tres densidades iniciales por semana: 20, 40 y 60 larvas/mL para la primera; 15, 30 y 45 para la segunda y 11, 22 y 34 para la tercera. Se utilizaron larvas veliger de 48 horas de edad con longitud promedio de 113.9  $\mu\text{m}$ ; en recipientes de polipropileno aforados a 10 L con agua de mar filtrada e irradiada por luz ultra violeta. La temperatura ambiental del agua fluctuó entre 16.3 y 19.5° C, la salinidad fué de 33 ‰. Como alimento se dió la microalga *Isochrysis var galbana aff tahitiana CLON (T-ISO)* a razón de 2000, 4000 y 8000 células/larva/día para la primera, segunda y tercera semana respectivamente. Cada dos días se hicieron cambios de agua y se tomaron 50 organismos para posteriormente medir su eje antero-posterior. Los porcentajes de sobrevivencia se calcularon semanalmente. La mancha ocular se presentó en las larvas al mismo tiempo para las tres densidades. Las diferencias de longitud final fueron de 7.3  $\mu\text{m}$  en promedio para las densidades más baja y más alta, con diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) para el último día del desarrollo larval. Estadísticamente no hubo diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre los tratamientos, para las sobrevivencias 59.31, 32.77 y 33.63 % de cada densidad 20, 40 y 60 larvas/mL respectivamente.

B).- Segundo experimento. Se realizó bajo condiciones similares al primero; pero, únicamente para la mayor densidad 34 larvas/mL y en la tercera semana del desarrollo larval. Se varió la frecuencia de cambios de agua siendo diario para el tratamiento I; y cada 3 días para el tratamiento II. Se analizaron muestras para determinar el contenido de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ), resultando mayor para el tratamiento II. Para la longitud final promedio de las larvas, estadísticamente existieron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) favoreciendo al tratamiento I, con 283.2  $\mu\text{m}$  comparado con 264.7  $\mu\text{m}$  para el tratamiento II. De igual manera para la sobrevivencia existieron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ), siendo favorable para el tratamiento II con concentraciones mayores de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) y períodos de cambio de agua más largos 80.52 %; para el tratamiento I se alcanzó solamente el 57.01 %.

Con la rutina seguida en este trabajo se demuestra que larvas cultivadas a densidades iniciales entre 20 y 40 larvas/ml tienen un desarrollo aceptable para su posterior fijación; y que las concentraciones máximas de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) alcanzadas no influyen tanto como el manejo de los organismos.

CONTENIDO.

---

	Página.
<u>INTRODUCCION</u>	<u>1</u>
<u>ANTECEDENTES</u>	<u>4</u>
<u>OBJETIVO</u>	<u>9</u>
<u>MATERIALES Y METODO</u>	<u>9</u>
<u>RESULTADOS</u>	<u>17</u>
<u>DISCUSIONES</u>	<u>30</u>
<u>CONCLUSIONES</u>	<u>37</u>
<u>RECOMENDACIONES</u>	<u>38</u>
<u>LITERATURA CITADA</u>	<u>39</u>

LISTA DE FIGURAS.

Página.

- Figura 1.- Crecimiento de las larvas del mejillón *Mytilus galloprovincialis* bajo tres diferentes densidades de cultivo; las barras verticales indican intervalos al 95 % de confianza.  
----- 19
- Figura 2.- Porcentajes de sobrevivencia para las tres primeras semanas del desarrollo larval del mejillón *Mytilus galloprovincialis* bajo tres diferentes densidades de cultivo.  
----- 24
- Figura 3.- Crecimiento de las larvas del mejillón *Mytilus galloprovincialis*; en la tercera semana de desarrollo larval, con diferentes frecuencias de cambio de agua; las barras verticales indican intervalos al 95 % de confianza.  
----- 27
- Figura 4.- Sobrevivencia de las larvas del mejillón *Mytilus galloprovincialis*; en la tercera semana del desarrollo larval, con diferentes frecuencias de cambio de agua.  
----- 29

LISTA DE TABLAS.

Página.

- Tabla I.- Tasas de crecimiento relativo, (T.C.R.):  
(A; primera semana 6 días de desarrollo larval); (B; segunda semana 8 días de desarrollo larval); (C; tercera semana 5 días de desarrollo larval); (A+B+C; 19 días de desarrollo larval).  
----- 20
- Tabla II.- Tasa finita de sobrevivencia (T.F.S.) y tasas finita (T.F.M.) e instantánea (T.I.M.) de mortalidad semanal; (A; primera semana 6 días de desarrollo larval); (B; segunda semana 8 días de desarrollo larval); (C; tercera semana 5 días de desarrollo larval).  
----- 22
- Tabla III.- Tasas instantáneas de mortalidad total (T.I.M.T.); además tasas finitas de mortalidad (T.F.M.T.) y sobrevivencia (T.F.S.T.) totales para cada densidad de cultivo.  
----- 23

(CONT.) LISTA DE TABLAS.

---

Página.

Tabla IV.-	Concentración promedio de amoniaco (mg NH <sub>3</sub> /L) en los medios de cultivo para los trataientos I y II; (I, cambios de agua diario); (II, cambios de agua cada tres dias).	----- 25
Tabla V.-	Tasas de crecimiento relativo T.C.R.; (I, cambio de agua diario); (II, cambio de agua cada tres dias).	----- 26

---

INTRODUCCION.

El aumento de la población, los requerimientos nutricionales a nivel mundial y la escasez de proteína barata, fomentan la búsqueda de nuevos medios para solucionar estos problemas. Una alternativa es la práctica de la acuicultura, la cual se efectúa desde hace ya varios siglos (Persoone y Clauss, 1980) y ha tomado gran auge en todo el mundo durante el presente siglo (Lutz, 1980, citado en Trevelyan y Chang, 1983; Year book of fisheries, FAO, 1981, en Skidmore y Chew, 1985). Dentro de este campo de acción se presentan los cultivos de diversas especies de alto nivel alimenticio pero en ocasiones económicamente inaccesibles para la gran mayoría de la población.

El mejillón molusco bivalvo de la clase *Pelecypoda*, de la familia *Mytilidae* se encuentra distribuido en casi todo el mundo, circunpolarmente en aguas boreales y templadas en ambos hemisferios (Barnes, 1986; Kohen, 1991). Por su valor nutricional supera a una gran mayoría de moluscos y compite favorablemente con la carne de res, ya que posee menos grasa que esta, igual cantidad de proteínas y más carbohidratos, así como minerales, vitaminas y humedad (Incze *et al.*, 1978; Waterstrat *et al.*, 1980; De la Garza-Montaña, 1987) y en precio, ya que cada kilogramo de carne fresca del mejillón *Mytilus californianus* cuesta entre \$9,000 y \$12,900 pesos M.N. (de 3 a 4 U.S.

dollar) al consumidor; siendo mucho más barato que la carne de res \$14,000 pesos M.N. (Waterstrat *et al.*, 1980; Ornelas-Pérez, 1991).

Dentro de la acuicultura, el mejillón es el organismo más cultivado a nivel mundial debido a su gran aceptación en diferentes mercados internacionales, actualmente es cultivado a gran escala en: España, Francia, Filipinas, Holanda, China, Nueva Zelanda, Chile, Canadá, Noruega, Dinamarca, Korea, Estados Unidos, India, Thailandia, Italia, Alemania, El Reino Unido, entre otros y en particular el género *Mytilus*; y aún así, es un producto con una demanda insatisfecha en el mercado internacional. La myticultura es una industria socio-económicamente rentable, ya que genera una gran cantidad de empleos tanto en el proceso de cultivo como en el de comercialización; (Bayne, 1976; Rao *et al.*, 1976; Waterstrat, 1979; Persoone y Clauss, 1980; Waterstrat *et al.*, 1980; Skidmore y Chew, 1985; Bardach *et al.*, 1986; De la Garza-Montaña, 1987).

Pese a los grandes esfuerzos por mantener una producción constante en estos lugares, mediante los diferentes tipos de artes de cultivo; empalizadas, palangres, balsas y cultivos de fondo (Bayne, 1976; Skidmore y Chew, 1985; Bardach *et al.*, 1986) y a que los principales productores globales se encuentran donde existen grandes poblaciones naturales; las condiciones ambientales no permiten tener un abastecimiento constante de semilla del medio; pues, en algunas zonas,

la captación de semilla natural se presenta estacionalmente o con intervalos irregulares durante un período de tiempo dado. Por ello se considera de gran importancia la producción de semilla en laboratorio (Vélez y Martínez, 1967; Brenko, 1974; Dare, 1976; Rao *et al.*, 1976; Jorgensen, 1981; Buyanouskii y Kulikova, 1984; Skidmore y Chew, 1985; Chi-Barragán y García-Pámanes, 1987).

En México, la myticultura se practica en la zona del noroeste de la península de Baja California (Orozco-Zavala, 1982; García-Pámanes y García-Pámanes, 1987; García-Pámanes, 1987) y se han realizado intentos por desarrollar la práctica de esta actividad en: Baja California Sur, Sonora y Sinaloa, pero, sin resultados positivos por diversas causas: económicas, políticas y sociales (Ornelas-Pérez, 1991).

En Baja California, se han desarrollado cultivos comerciales del mejillón *Mytilus galloprovincialis* desde 1985, pero, con algunas variaciones anuales en cuanto a la abundancia de su semilla llegando a ser nula en algunas ocasiones, lo que no permite una expansión y desarrollo seguro de los cultivos, (García-Pámanes, 1987) ya que esta región es el límite sur de su distribución geográfica basandose en estudios de genética de poblaciones (McDonald y Koehn, 1988; Kohen, 1991).

Con éste y otros trabajos complementarios dentro del proyecto "Producción masiva de semilla de mejillón en laboratorio; estudios de

escalamiento", (patrocinado por CONACYT y la SEP) se pretende desarrollar una biotecnología para la producción de semilla de mejillón en forma masiva, de tal manera que se puedan satisfacer en un momento dado los requerimientos necesarios para los cultivos a escala comercial en cuanto al abastecimiento de la misma; y al mismo tiempo optimizar los espacios del laboratorio y en general los costos de producción dentro de la etapa de laboratorio.

---

ANTECEDENTES.

Existe una gran cantidad de trabajos sobre los moluscos, en particular sobre los bivalvos, para tratar de entender y aprovechar mejor la presencia de grandes poblaciones naturales en algunas regiones.

Con los implementos de las diversas técnicas de cultivos para las diferentes especies de mytilidos; en las últimas décadas del presente siglo se han realizado un gran número de investigaciones para conocer

el ciclo de vida, la reproducción, el desarrollo embrionario y larval, las etapas postlarvales, y en general sus límites de tolerancia, así como sus valores óptimos para diversas variables, tanto para su desarrollo bajo condiciones controladas como en el medio natural.

Bayne (1976) estimó que larvas del mejillón *Mytilus edulis*, son sensibles a la luz, la presión y la gravedad. Por su parte, Calabrese y Davis (1966) en Bayne (1976) demostraron que para larvas de lamelibranquios el pH óptimo fluctúa entre 7.5 y 8.5. Brenko (1973) encontró que en el desarrollo larval de *Mytilus galloprovincialis* el intervalo óptimo de temperatura varía entre 15 y 20° C y de salinidad entre 27.5 y 40 ‰ para la localidad del mar Adriático. Mientras que Brenko y Calabrese (1969) obtuvieron para *Mytilus edulis* L, con un intervalo de 25 a 30 ‰ de salinidad y una temperatura de 20° C, un 70 % de sobrevivencia y un buen crecimiento.

Se han realizado estudios sobre la microalga *Isochrysis var galbana aff tahitiana* (Clon T-ISO), puesto que es una especie con alto valor nutritivo y debido a su tamaño aproximado a 3.5 µm y a que es un flagelado desnudo es fácilmente digerible por los bivalvos marinos (Brenko y Calabrese, 1969; Winter, 1974; Persoone y Clauss, 1980; Riisgard y Randlou, 1981; Trevelyan y Chang, 1983; Pechenik *et al.*, 1990; Jiménez-Mercado, 1991).

Se han desarrollado experimentos de cultivo con larvas de la almeja *Mercenaria mercenaria* y el ostión americano *Crassostrea virginica*, a diferentes densidades de cultivo; en ambos casos se han tenido resultados inversamente proporcionales a las densidades, es decir, en las poblaciones más densas se tienen sobrevivencias más bajas y el crecimiento de las larvas es menor (Loosanoff y Davis, 1963).

Sin embargo actualmente se han desarrollado biotécnicas para la producción de semilla de ostión; donde, en el desarrollo larvario se trabaja con densidades altas en cultivos continuos; esto es en el caso particular de la *COAST OYSTER CO.* (compañía productora de ostión) en el estado de Washington, EUA (García-Pámanes, L.E.\*; Parés-Sierra, G.M.\*\*; comunicación personal).

Waterstrat (1979) realizó un experimento con larvas de mejillón a densidades menores de 5 larvas/mL, obteniendo sobrevivencias máximas de 13.5 % desde que se fertilizaron los óvulos hasta el estadio de charnela recta; las réplicas se le contaminaron con la bacteria *Vibrio anguillarum*. A su vez, Waterstrat, et al. (1980) realizaron un cultivo de larvas de mytilidos con densidades iniciales de 5 larvas/mL, alimentandolas con 3, 5 y 8 mil células/larva, para cada semana del

---- \*;\*\* Instituto de Investigaciones Oceanológicas.

UABC Ensenada, B.C., México.

desarrollo larval respectivamente; obteniendo un porcentaje de sobrevivencia del 0.44 % desde que los óvulos fueron fertilizados hasta el estadio de pediveliger.

Por su parte, en el *IIO* se han desarrollado experimentos en los cuales se ha pretendido desarrollar una biotecnología completa para la producción de semilla de mejillón a gran escala bajo condiciones controladas, al mismo tiempo reducir los espacios de laboratorio y reducir los costos de operación; dentro de la producción en laboratorio se ha trabajado en la producción de grandes cantidades de microalgas con diferentes medios de cultivo, empleando sobre todo fertilizantes agrícolas para reducir el costo de producción (Wilburn-González, 1990). Por su parte Jiménez-Mercado (1991) utilizó columnas de fibra de vidrio para cultivos de la microalga *Isochrysis var galbana aff tahitiana* (CLON T-ISO), obteniendo una disminución en los costos de producción del 90 % y una reducción del espacio en laboratorio a 1/3 parte. Posteriormente Ocampo-Aranda (1990) trabajó con larvas del mejillón *Mytilus edulis* alimentadas con microalgas cultivadas con fertilizantes agrícolas, reduciendo los costos de mantenimiento del desarrollo larval en laboratorio a un 98.91 %. De igual manera se trabajó con *Mytilus galloprovincialis* en la etapa de maternidad dando como alimento microalgas cultivadas con diferentes fertilizantes agrícolas obteniendo buenos resultados (Moreno-Arellano, 1991).

Sin embargo, no se ha realizado la optimización de la técnica de cultivo en la etapa larval del mejillón *Mytilus galloprovincialis* y es lo que se pretende en el presente trabajo; mediante el planteamiento de dos experimentos: a) El aumento de la densidad inicial de larvas por unidad de volumen de cultivo 20, 40 y 60 larvas/mL y b) la variación en la frecuencia del cambio de agua en los cultivos 1 y 3 días. Se espera con esto encontrar la densidad más alta de larvas por unidad de volumen adecuada para su desarrollo óptimo hasta la aparición de la mancha ocular en más del 75 % de la población y encontrar una relación, entre las bajas sobrevivencias y el amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) como producto metabólico acumulado en los medios de cultivo durante diferentes frecuencias de cambio de agua.

---

**OBJETIVO.**

Evaluar el efecto de diferentes densidades poblacionales iniciales de cultivo y diferentes frecuencias de cambio de agua en el crecimiento y la sobrevivencia de larvas del mejillón *Mytilus galloprovincialis*.

---

**MATERIALES Y METODO.**

Los experimentos se efectuaron en las instalaciones del IIO (*Instituto de Investigaciones Oceanológicas*) de la UABC (*Universidad Autónoma de Baja California*), unidad Ensenada.

1).- Primer experimento (diferentes densidades poblacionales).

Se colectaron entre 80 y 100 progenitores (mejillones maduros sexualmente), de la balsa de cultivo comercial de la compañía *MARTESANO S.A. de C.V.*, localizada en la región sur de la bahía de *Todos Santos, Ensenada, Baja California, México*; en los 31° 44' de

latitud Norte y los 116° 40' de longitud Oeste (García-Pámanes y García-Pámanes, 1987); los organismos se trasladaron a las instalaciones del IIO; tuvieron longitudes entre 7 y 9 cm de su eje antero-posterior. Se procedió a limpiarlos por la parte externa de las conchas para eliminar los epibiontes existentes y colocarlos en canastas de plástico dentro de una cámara con agua de mar, en un sistema cerrado a una temperatura aproximadamente de 7° C mediante un enfriador "Frigid Units" durante un período de 24 horas como previo acondicionamiento para la inducción a la expulsión de las gametas (Loosanoff y Davis, 1950, 1951; Bayne, 1965; Brenko, 1973; citados por Bayne, 1976). Posteriormente se colocaron de 5 a 10 organismos por cristalizador (Young, 1945) donde se les indujo a la expulsión de gametas mediante la técnica de cambios de temperaturas (Iwata, 1951), colocando a los organismos en agua de mar gradualmente calentada de 7 a 23° C filtrada a 1 µm y pasada por irradiación ultravioleta; toda el agua empleada durante los experimentos fué filtrada e irradiada de la misma manera (Trevelyan y Chang, 1983), después de 13 minutos de iniciado el estímulo comenzó la expulsión de las gametas el primer macho y a los 16 minutos la primer hembra; se dejó un poco del primer espermatozoide como estímulo biológico para la expulsión de las gametas (Young, 1945) y se procedió a separar hembras de machos, colocandolos en recipientes con agua de mar y a la misma temperatura a la que ocurrió el desove (Trevelyan y Chang, 1983).

Terminada la expulsión de gametas se enjuagaron los organismos y se retiraron de los recipientes que contenían los óvulos y los espermatozoides; se tamizaron las gametas para eliminar posibles basuras con un tamíz de 96  $\mu\text{m}$ . Se colocaron los óvulos en un recipiente aforado a 37.8 litros (10 galones) con agua de mar y se contaron sacando un promedio de seis muestras de 1 mL del medio previamente homogenizado, el conteo se realizó en una cámara de conteo Sedgwick-Rafter mediante un microscópio compuesto a un aumento de 100x, obteniéndose aproximadamente 13'638,768 óvulos (todos los conteos de larvas requeridos en los experimentos se realizaron en una cámara de conteo Sedgwick-Rafter de 1 mL de capacidad y un microscópio compuesto); mientras que por otra parte se colocaron los espermatozoides en un recipiente de 2 litros manteniéndose en una concentración elevada, para poder llevar a cabo posteriormente la fertilización de los óvulos en una proporción de 1'000,000 de óvulos por 2 ó 3 mL de esperma denso, dejándose durante 30 minutos aproximadamente para asegurar un porcentaje alto de fertilización.

Después de fertilizados los óvulos se pasaron por un tamíz de 35  $\mu\text{m}$  para eliminar el esperma restante. A partir de esto se colocaron en 2 tanques de fibra de vidrio de 500 litros de capacidad aforados a 480 litros con agua de mar; después de 24 horas se les proporcionó

aireación y a partir de las 48 hrs alimento; manteniéndose a la temperatura ambiental del agua.

Una vez en estadio "D" veliger (después de las 48 horas) se pasaron por un tamíz de 70  $\mu\text{m}$  drenando los tanques de cultivo para así poder obtener las larvas de mayor tamaño.

Ya seleccionadas las larvas más grandes se contaron con un aumento de 40x y se colocaron en recipientes de polipropileno con capacidad de 20 litros aforadas con agua de mar a 10 litros cada una; experimentándose por triplicado tres diferentes densidades de cultivo inicial: 20, 40 y 60 larvas por mL para la primera semana; 15, 30 y 45 para la segunda y 11.25, 22.5 y 33.75 para la tercera semana del desarrollo larval.

Los recipientes experimentales se colocaron aleatoriamente en el área de trabajo dentro del laboratorio, en los cuales se colocó la misma cantidad de células de alimento por larva en las diferentes réplicas para todos los tratamientos utilizando para este fin la microalga *Isochrysis var galbana aff tahitiana* (CLON T-ISO) incrementándose la ración cada semana; de 2000 células por larva para la primera semana, a 4000 para la segunda y a 10000 para la tercera (Bayne, 1965; Trevelyan y Chang, 1983; McAnally-Salas, 1988; Pechenik, 1990). En la tercera semana del desarrollo larval se bajó la concentración a 8000 células por larva.

Como medida preventiva contra la proliferación de bacterias se les colocó antibiótico en todos los tratamientos y sus respectivas réplicas, 0.05 mg de sulfametazina sódica por cada litro del medio de cultivo (Brenko y Calabrese, 1969). Y se mantuvieron bajo las mismas condiciones de temperatura ambiental del agua y salinidad; los recipientes de cultivo fueron tapados para reducir posibles incrementos en las poblaciones de las microalgas utilizadas como alimento debido al proceso de fotosíntesis, al mismo tiempo evitar la entrada de basura y posibles contaminantes al medio de cultivo. Se mantuvo una aireación constante en el experimento y los cambios de agua se efectuaron cada 48 horas (Brenko y Calabrese, 1969; Ocampo-Aranda, 1990; Jiménez-Mercado, 1991).

Se tomaron muestreos de 50 larvas al iniciar el experimento y cada tercer día para todas las réplicas de los tratamientos, mismas que se fijaron con formol al 4 % para su posterior medición y de las cuales se tomaron medidas longitudinales de su eje antero-posterior, en una cámara de conteo Sedgwick-Rafter y con una reglilla ocular micrométrica previamente calibrada y colocada en un microscopio compuesto con un aumento de 100x.

Para evaluar el porcentaje de sobrevivencia semanal, se colocaron los organismos en recipientes de 2 litros separando cada tratamiento; posteriormente se colocaron en una probeta graduada

aforada con agua de mar a 1 litro homogenizando el medio con un agitador de plástico; se tomaron muestreos aleatorios con una pipeta de succión automática previamente calibrada a 1 mL, se fijaron con formol al 4 % y se realizaron de 2 a 3 conteos para cada réplica a un aumento de 100x. Al calcular los porcentajes de sobrevivencia para la tercera semana del desarrollo larval, se calcularon también los porcentajes de mancha ocular presente en los organismos de las muestras y al alcanzar un porcentaje mayor al 75 % para los tres tratamientos se dió por finalizado el experimento.

2).- Segundo experimento (diferentes frecuencias de cambios de agua).

Se inició con larvas de 15 días de desarrollo a partir de la fertilización de los óvulos, con una longitud promedio de 192.3  $\mu\text{m}$  obtenidas de un lote de larvas cultivadas en un tanque con capacidad de 2000 litros, aforado con agua de mar a 1,950 litros con una densidad poblacional inicial entre 32 y 36 larvas/mL, y alimentadas con la microalga *Isochrysis var galbana aff tahitiana* (Clon T-ISO) proporcionada en raciones diarias de 2000 y 4000 células/larva para la primera y segunda semanas del desarrollo larval respectivamente.

Se colocaron en un recipiente aforado a 18 litros con agua de mar, en el cual se homogenizaron para tomar seis muestras de 1 mL cada una, se contaron a un aumento de 40x. Se colocaron densidades

iniciales correspondientes al segundo ajuste de sobrevivencia del experimento anterior 33.75 larvas/mL, en recipientes de polipropileno con capacidad de 20 litros aforados con agua de mar a 10 litros, por igual para las tres réplicas de los dos tratamientos.

La única variable para ambos tratamientos en este caso fué el tiempo en el que se renovó el agua del recipiente, variando de un período de 1 día para un tratamiento y de tres días para el otro.

En cuanto a la alimentación se proporcionó la microalga *Isochrysis var galbana aff tahitiana* (Clon T-ISO) en la ración de 8000 células por larva por día.

Se les proporcionó aireación a los recipientes por igual y se mantuvieron bajo la misma temperatura ambiental del agua. Se tomaron lecturas del pH con un potenciómetro digital "PH<sub>TM</sub> Ni NESTER INSTRUMENTS"; la salinidad se midió con un refractómetro "Reichert-Jung Special scale".

Se tomaron 300 mL de agua del medio de cultivo de todas las réplicas diariamente; esto mediante el paso del líquido a través de un tamíz de 192 µm por medio de sifoneo y reteniendo tal volumen en botellas "B.O.D.", a las cuales se les adicionaron previamente 2.5 mL de HCl 0.1 M para su posterior medición con un electrodo para amoníaco (NH<sub>3</sub>) "ORION modelo 95-12", conectado a un ionanalizador expandible "ORION modelo EA 940" (la metodología para la medición

de amoniaco ( $\text{NH}_3$ ) está descrita en el manual de operaciones del electrodo para amoniaco ( $\text{NH}_3$ ) ORION, 1990; y se usó la técnica de "Know addition").

Al inicio y cada tercer día del experimento se tomaron muestras de las larvas retenidas en un tamíz de 192  $\mu\text{m}$  durante los cambios de agua, las cuales se fijaron con formol al 4 % para su posterior medición a un aumento de 100x.

En cuanto a los porcentajes de sobrevivencia, se calcularon solo una vez al final del experimento cuando más del 75 % de la población presentó la mancha ocular, para esto se colocaron los organismos en una probeta aforada a 1 litro con agua de mar, homogenizándose con un agitador de plástico y tomando aproximadamente tres muestras de 1 mL con una pipeta automática previamente calibrada, se contaron con un aumento de 100x.

A los datos de la longitud de las larvas para ambos experimentos se les realizaron la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y la prueba de homogeneidad de varianzas de Cochran; posteriormente se les aplicó un análisis de varianza anidado paramétrico y se calcularon las tasas de crecimiento relativo de las larvas para las tres semanas del desarrollo mediante la siguiente fórmula:  $\text{T.C.R.} = (\text{Log}_e L_2 - \text{Log}_e L_1) / T$ ; donde  $L_2$  es la longitud promedio de las larvas en un tiempo 2,  $L_1$  la longitud promedio de las larvas en un tiempo 1 y T es el intervalo

de tiempo en días entre el tiempo 1 y 2. Mientras que a los datos de la sobrevivencia se les aplicó directamente un análisis de varianza no paramétrico de una vía Kruskal-Wallis. En los casos donde se obtuvieron diferencias significativas al 95 % de confianza se realizaron comparaciones múltiples. Se calcularon las tasas finita e instantánea de mortalidad por semana de desarrollo y la tasa finita de sobrevivencia total (Ostle, 1965; Elliot, 1971; Krebs, 1972; Bayne, B.L., 1975; Jorgensen, 1981; Sokal y Rohlf, 1981; Zar, 1984).

---

**RESULTADOS.**

1).- Primer experimento (diferentes densidades de cultivo).

De los óvulos fertilizados se obtuvo un 86 % de larvas veliger en estadio de forma "D" a las 48 hrs, mientras que un 11.3 % seguían en estadio de trocófora y un 2.7 % del total de los óvulos no se desarrollaron, obteniendo un 97.3 % de fertilización.

Las temperaturas ambientales fluctuaron entre 16.3 y 19.5° C, mientras que la salinidad se mantuvo en 33‰ .

1.1).- Crecimiento de las larvas.

Las longitudes promedio alcanzadas al final del experimento fueron muy similares entre sí; 267.4 µm, 264.3 µm y 259.9 µm para las densidades de 20, 40 y 60 larvas/mL respectivamente figura 1. La tabla I muestra la tasa de crecimiento relativo larval en los diferentes tratamientos en la cual se observa que las tasas de crecimiento fueron parecidas entre los tres tratamientos y se tuvieron crecimientos promedio de 8.1 µm, 7.9 µm y 7.7 µm por día para 20, 40 y 60 larvas/mL respectivamente. A su vez, se observa una disminución homogénea en las tasas de crecimiento relativo para los tres tratamientos conforme avanza el desarrollo larval. La aparición de la mancha ocular se presentó en porcentajes muy similares para los tres tratamientos en el último día de muestreo 91.3, 94.6 y 90.6 % en 20, 40 y 60 larvas/mL respectivamente.

Después de realizar un análisis de varianza anidado paramétrico para comparar las longitudes larvales entre las réplicas y entre los tratamientos, se observó que estadísticamente solo existieron diferencias significativas al 95 % de confianza para el día 19 del desarrollo larval, siendo diferente el tratamiento con mayor densidad poblacional (60 larvas/mL), (Tabla IV del Apéndice I).

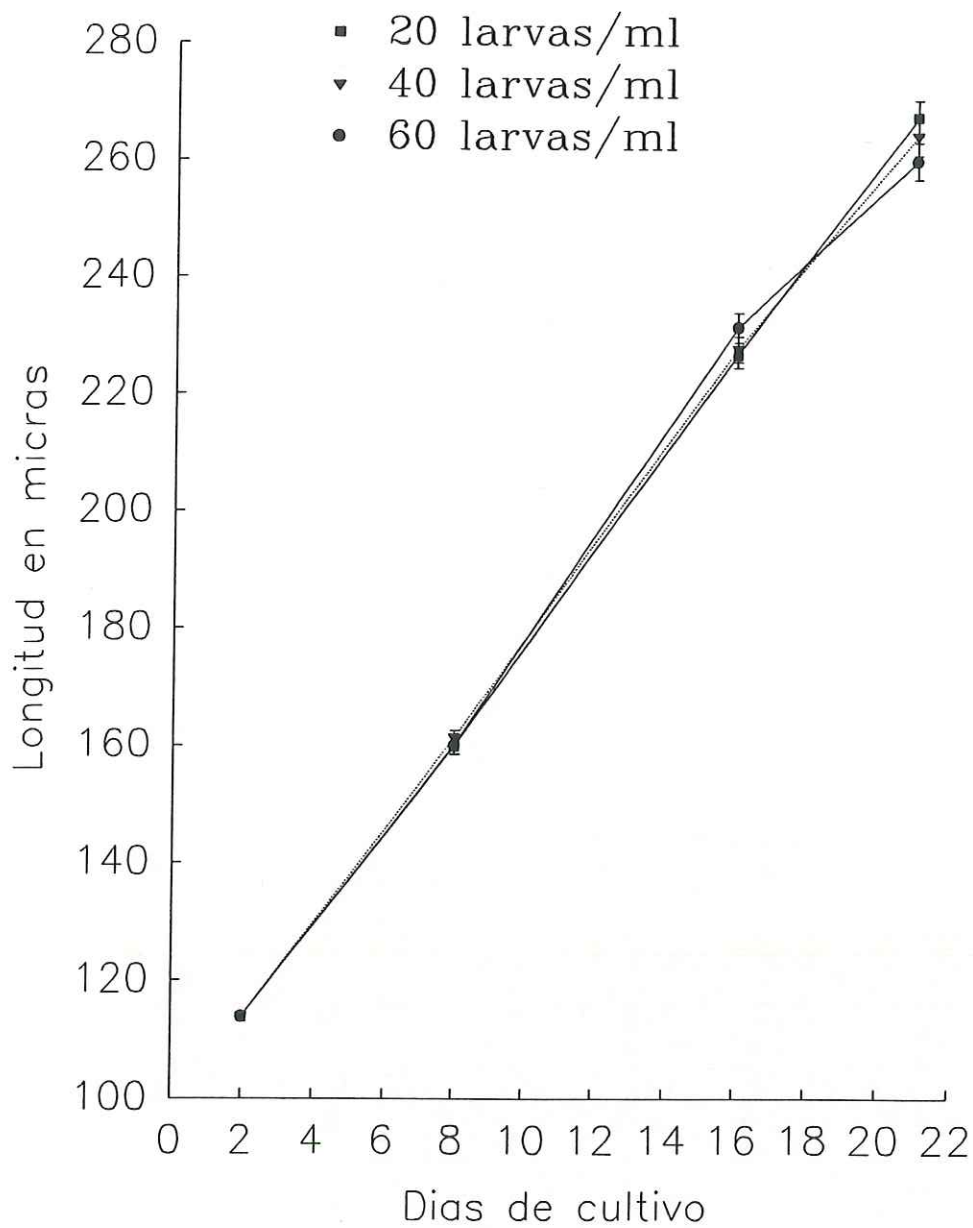


Figura 1.- Crecimiento de las larvas del mejillón *Mytilus galloprovincialis* bajo tres diferentes densidades de cultivo; las barras verticales indican intervalos al 95 % de confianza.

Tabla I .- Tasas de crecimiento relativo, (T.C.R.):  
 (A; primera semana 6 días de desarrollo larval); (B; segunda semana 8 días de desarrollo larval); (C; tercera semana 5 días de desarrollo larval);  
 (A+B+C; 19 días de desarrollo larval).

Período	Tratamiento larvas/mL	Long. inicial μm	Long. final μm	T.C.R.
(A)	20	113.848	159.858	0.0566
	40	113.848	161.285	0.0580
	60	113.848	160.001	0.0567
(B)	20	159.858	226.555	0.0436
	40	161.265	227.553	0.0430
	60	160.001	231.264	0.0460
(C)	20	226.555	267.429	0.0332
	40	227.553	264.290	0.0299
	60	231.264	259.939	0.0234
(A+B+C)	20	113.848	267.429	0.0449
	40	113.848	264.290	0.0443
	60	113.848	259.939	0.0434

1.2).- Sobrevivencia de las larvas.

En la tabla II se muestran las tasas finita e instantánea de mortalidad y una tasa finita de sobrevivencia para cada tratamiento; en esta última, estadísticamente existieron diferencias significativas al 95 % de confianza para el tratamiento de 60 larvas/mL (Tabla III del Apéndice II), diferenciándose la última semana del desarrollo larval con respecto a las dos primeras (Apéndice III). Se aprecia una sobrevivencia mayor para la segunda semana del desarrollo larval y en general la última semana presentó una mayor mortalidad en los tres tratamientos.

La tabla III corresponde a los valores de la tasa instantánea de mortalidad total (T.I.M.T.) para cada tratamiento, sus respectivas conversiones a tasas finitas de mortalidad (T.F.M.T.) y sobrevivencia (T.F.S.T.) totales al final del experimento.

Tabla II.- Tasa finita de sobrevivencia (T.F.S.) y tasas finita (T.F.M.) e instantánea (T.I.M.) de mortalidad semanal; (A; primera semana 6 días de desarrollo larval); (B; segunda semana 8 días de desarrollo larval); (C; tercera semana 5 días de desarrollo larval).

Período	Tratamiento larvas/mL	T.F.S.	T.F.M.	T.I.M.
(A)	20	0.8211	0.1789	-0.1971
	40	0.7320	0.2680	-0.3120
	60	0.7512	0.2488	-0.2861
(B)	20	0.9985	0.0015	-0.0015
	40	0.7294	0.2706	-0.3155
	60	0.9014	0.0986	-0.1038
(C)	20	0.7234	0.2766	-0.3238
	40	0.6138	0.3862	-0.4881
	60	0.4867	0.5033	-0.6998

Tabla III.- Tasas instantáneas de mortalidad total (T.I.M.T.); además tasas finitas de mortalidad (T.F.M.T.) y sobrevivencia (T.F.S.T.) totales para cada densidad de cultivo.

Tratamiento larvas/mL	T.I.M.T.	T.F.M.T.	T.F.S.T.
20	-0.5224	0.4069	0.5931
40	-1.1156	0.6723	0.3277
60	-1.0897	0.6637	0.3363

En la figura 2 se aprecia una gran diferencia en el porcentaje de sobrevivencia total entre el tratamiento de menor densidad (20 larvas/mL) 51.39 % , con respecto a los dos siguientes 40 larvas/mL y 60 larvas/mL con sobrevivencias totales de 32.77 % y 33.63 % respectivamente; aunque estadísticamente no se encontraron diferencias significativas al 95 % de confianza (Apéndice IV).

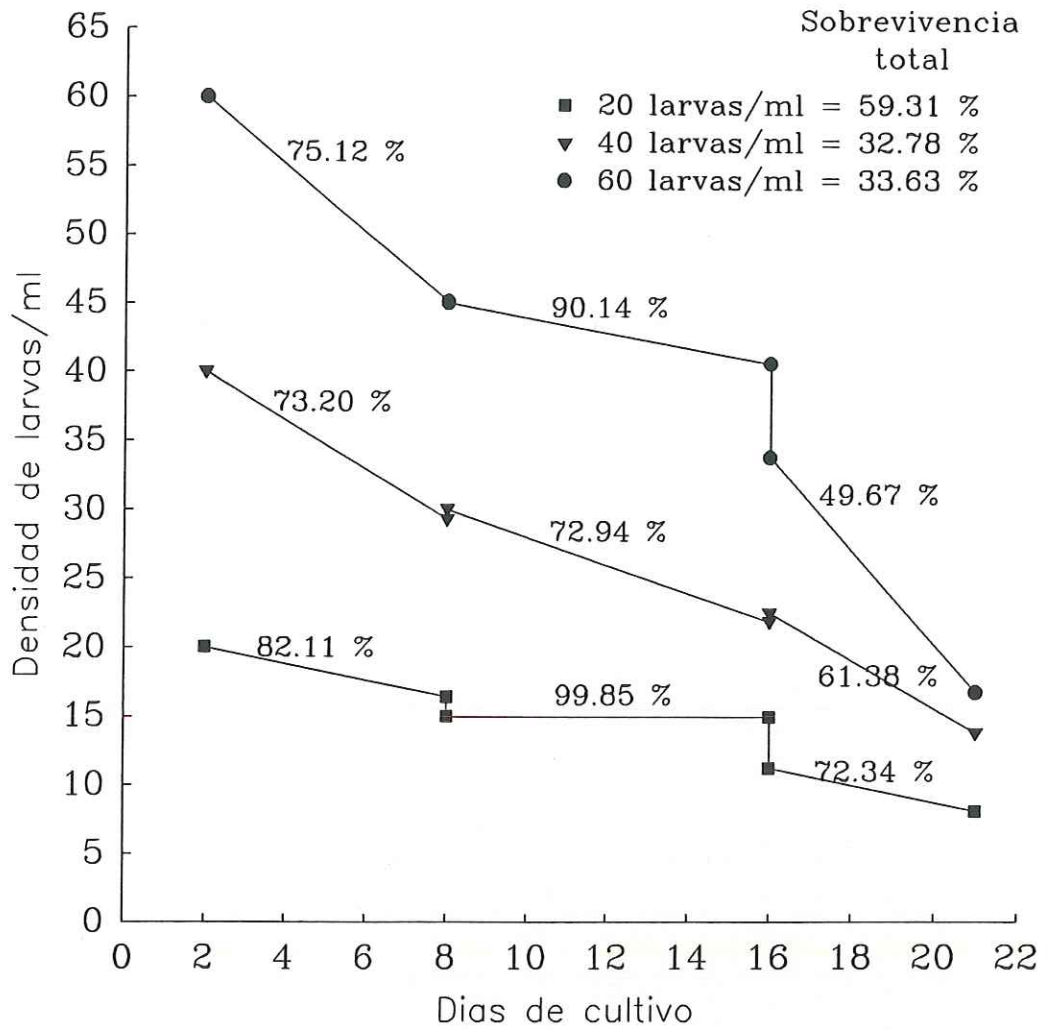


Figura 2.- Porcentajes de sobrevivencia para las tres primeras semanas del desarrollo larval del mejillón *Mytilus galloprovincialis* bajo tres diferentes densidades de cultivo.

2).- Segundo experimento (diferentes frecuencias de cambio de agua).

La temperatura ambiental del agua en el laboratorio fluctuó entre los 17.6 y 22 ° C; con una salinidad constante de 33‰ y un pH entre 8.1 y 8.6. En la tabla IV se muestran los valores del contenido de amoníaco (NH<sub>3</sub>) en los cultivos, que en general fueron menores para el tratamiento con cambios de agua más continuos.

Tabla IV.- Concentración promedio de amoníaco (mg NH<sub>3</sub>/L) en los medios de cultivo para los tratamientos I y II; (I, cambio de agua diario); (II, cambio de agua cada tres días).

Días de cultivo	Tratamiento I	Tratamiento II
0	0.000	0.000
1	0.000	0.000
2	0.000	0.226
3	0.112	0.341
4	0.056	0.226
5	0.000	0.397
6	0.000	0.453

2.1).- Crecimiento de las larvas.

En el tamaño final promedio de las larvas, se obtuvieron valores de 283.2  $\mu\text{m}$  y 264.7  $\mu\text{m}$  para los tratamientos con cambio de agua diario y cada tres días respectivamente figura 3; existiendo una diferencia de 18.5  $\mu\text{m}$  estadísticamente significativa al 95 % de confianza (Apéndice V).

En la tabla V se observan las tasas de crecimiento relativo T.C.R. para las longitudes promedio larvales; favoreciendo al tratamiento con menores concentraciones de amoníaco ( $\text{mg NH}_3/\text{L}$ ).

Tabla V.- Tasas de crecimiento relativo T.C.R.; (I, cambio de agua diario); (II, cambio de agua cada tres días).

Tratamiento	Long. inicial $\mu\text{m}$	Long. final $\mu\text{m}$	T.C.R.
I	192.386	283.193	0.0644
II	192.386	264.718	0.0532

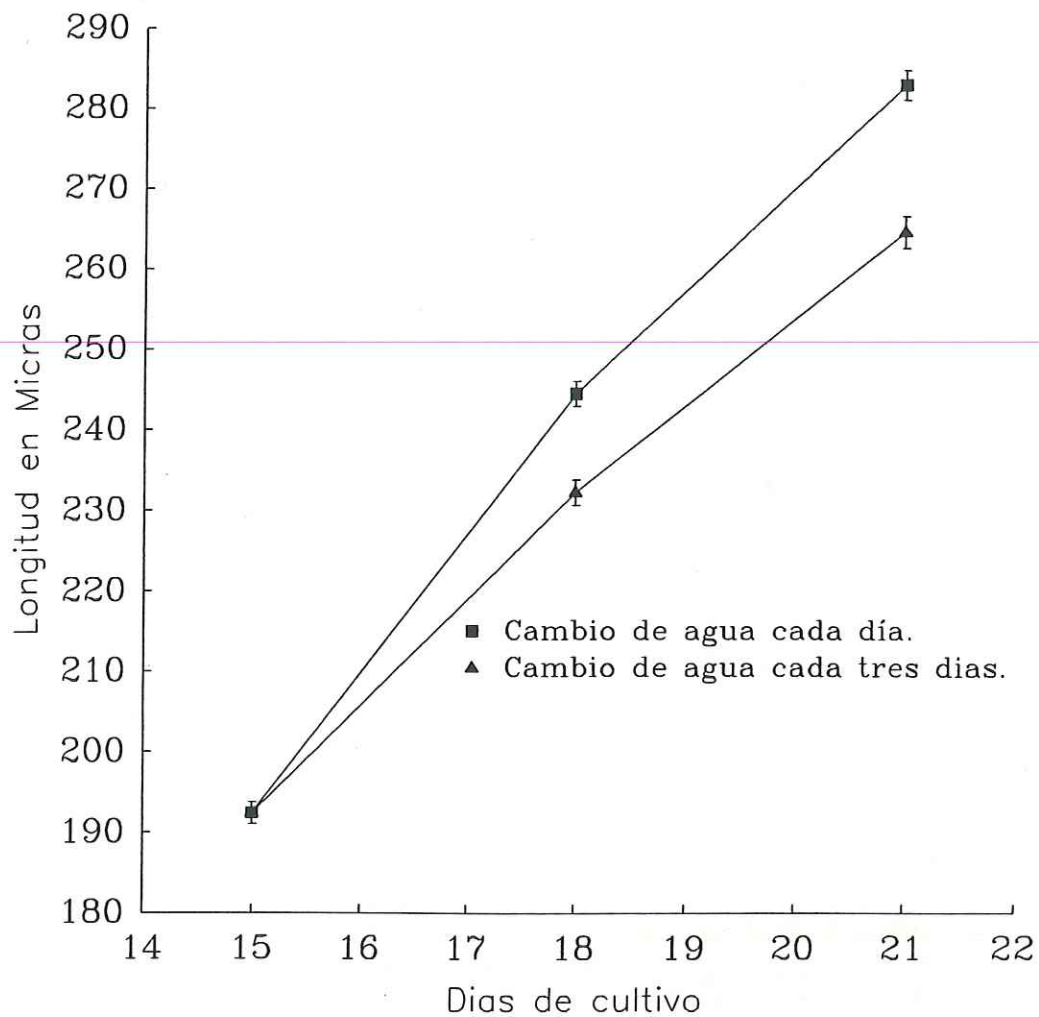


Figura 3.- Crecimiento de las larvas del mejillón *Mytilus galloprovincialis*; en la tercera semana de desarrollo larval, con diferentes frecuencias de cambio de agua; las barras verticales indican intervalos al 95 % de confianza.

2.1).- Sobrevivencia de las larval.

En la figura 4 se aprecia un porcentaje de sobrevivencia larval mucho mayor para el tratamiento con períodos más largos de cambio de agua 80.52 % y menor para el tratamiento con los cambios de agua diario 57.01 %; estadísticamente existieron diferencias significativas al 95 % de confianza entre los dos tratamientos (Apéndice VI).

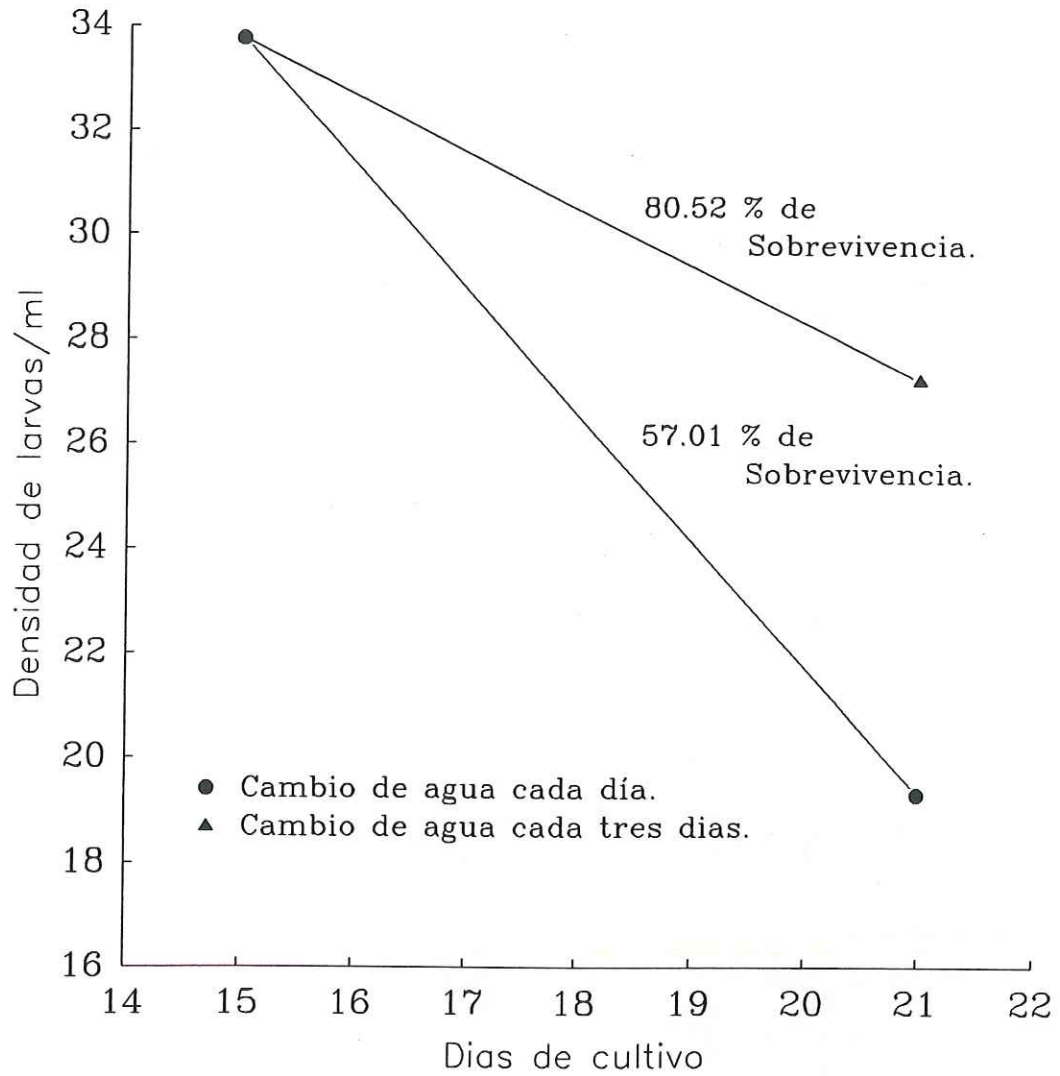


Figura 4.- Sobrevivencia de las larvas del mejillón *Mytilus galloprovincialis*; en la tercera semana del desarrollo larval, con diferentes frecuencias de cambio de agua.

---

DISCUSIONES.

1).- Primer experimento (diferentes densidades de cultivo).

El estímulo para la expulsión de las gametas se realizó a finales de Febrero de 1991; correspondiendo a la etapa final de maduración sexual de los mejillones de la especie *Mytilus galloprovincialis* en esta zona de su distribución geográfica (García-Pámanes *et al.*, 1991). Chanley (1955) citado por Estrada-Reyes (1991) menciona que para obtener un buen porcentaje de larvas veliger se necesita hacer la fertilización con gametas recién expulsadas, que se encuentren maduras y de buen tamaño. Sin embargo, a pesar de que fué la etapa final de la época de maduración de las gametas, el porcentaje de óvulos fertilizados hasta las primeras 48 hrs del desarrollo fué alto 97.3 %.

1.1).- Crecimiento de las larvas.

El crecimiento de las larvas es afectado principalmente por la temperatura, salinidad, calidad del agua y suministro de alimento (Loosanoff y Davis, 1963; Bayne, 1965; Manzi, 1985 citado por Estrada-Reyes, 1991). Lucas (1979) citado por Ocampo-Aranda (1990) menciona que un buen crecimiento y sobrevivencia en las larvas se debe, a las condiciones físico-químicas óptimas y al manejo de los recipientes de cultivo.

Debido a que solo se encontraron diferencias significativas en el último día del desarrollo para los tamaños de las larvas, se puede plantear que no existe una diferencia entre los tres tratamientos desde que se empezó con las larvas en estadio "D" veliger hasta que más del 75 % de la población presentó la mancha ocular. Las longitudes larvales promedio alcanzadas para cada tratamiento al final del experimento, en la figura 1 demuestran que son independientes de la densidad de cultivo, ya que son muy similares entre si; tal vez porque se alimentaron de igual manera dando la misma ración de células/larva, aunado a que se trabajó con las mismas variables físico-químicas y manejo de los organismos; estas longitudes son superiores a las obtenidas por Bayne (1965; 1976) de 220  $\mu\text{m}$  a 260  $\mu\text{m}$ , a los 25 días de la fertilización para *Mytilus edulis* (L) con densidades iniciales de 10 larvas/mL a un intervalo de temperatura de 11 a 17 ° C, salinidad de 30.5 ‰, una ración de alimento de 7000 células/larva; y las obtenidas por Pechenik, *et al.* (1990) de 220 a 230  $\mu\text{m}$  para *Mytilus edulis* (L) con un intervalo de 90000 a 150000 células/mL de alimento, a 16 ° C y a los 22 días despues de la fertilización.

De igual manera, los crecimientos promedio diarios estan dentro del intervalo obtenido por Beaumont y Budd (1982) y Jespersen y Olsen (1982) citados por Pechenik, *et al.* (1990) de 6.6  $\mu\text{m}$  a 8.7  $\mu\text{m}$  por día, con una densidad inicial de 10 a 15 larvas/mL.

Las tasas de crecimiento relativo (T.C.R.) de la Tabla I muestran una homogeneidad del crecimiento entre los tres tratamientos, sin embargo se aprecia una disminución conforme avanza el desarrollo larval. Probablemente esto se deba a que las larvas independientemente de la densidad de cultivo se van acercando a su límite máximo de longitud previo a la metamorfosis, etapa en la cual entran en un período de almacenamiento de energía y dejan de crecer por los cambios morfológicos que presentan (Bayne, 1965). En relación a lo expuesto anteriormente, aparentemente la densidad de cultivo hasta 60 larvas/mL no presenta un efecto negativo muy acentuado en el crecimiento de las larvas.

#### 1.2).- Sobrevivencia de las larvas.

Las pruebas estadísticas no muestran una diferencia significativa al 95 % de confianza entre los tres tratamientos para todo el desarrollo larval (Apéndice IV). Sin embargo comparando los diferentes períodos de desarrollo larval para cada tratamiento, en la densidad de 60 larvas/mL el porcentaje de sobrevivencia para el tercer período de desarrollo se muestra diferente a los dos anteriores (Apéndice III).

Aunque estadísticamente no exista una diferencia significativa en la sobrevivencia larval para los trataminetos, podemos comparar los porcentajes de sobrevivencia totales para cada tratamiento y ver que las diferencias son muy marcadas entre la menor densidad de cultivo (20

larvas/mL) y las dos superiores siguientes (40 y 60 larvas/mL) favoreciendo ampliamente a la primera.

Para efectos de comparación, se reanalizaron los datos de Ocampo-Aranda (1990) para la sobrevivencia de larvas del mejillón *Mytilus edulis* (L); obteniéndose un 70 % de sobrevivencia con una densidad inicial de cultivo de 10 larvas/mL; lo anterior aunado a los resultados obtenidos en el presente trabajo nos deja ver que existe una relación lineal entre la densidad de cultivo y la mortalidad de las larvas para densidades iniciales de 10 a 40 larvas/mL y que a partir de 40 hasta 60 larvas/mL se mantiene constante. Por su parte Trevelyan y Chang, (1983) reportan sobrevivencias del 60 % a los 20 días del desarrollo larval a 20° C con densidades iniciales de 2 a 9 larvas/mL para el mejillón *Mytilus californianus*, mientras que Zhang en (1984) reporta sobrevivencias del 35.7 y 41.4 % para densidades iniciales de 42 y 41 larvas/mL respectivamente, lo cual nos indica un porcentaje de sobrevivencia aceptable con la densidad inicial de cultivo de 20 larvas/mL obtenida en este trabajo.

En contraste a lo anterior, según Bayne (1976) y Jorgensen (1981) en el medio natural durante el estadio larval de nado libre la mortalidad se aproxima a un 99 % y las principales causas de estas mortalidades son la depredación y la dispersión de las larvas a sitios con condiciones adversas, ya que la temperatura, salinidad y

concentración de alimento tienen un intervalo amplio de tolerancia por los mejillones.

Loosanoff y Davis (1963) mencionan que el cultivar las larvas de bivalvos a altas densidades puede causar altas mortalidades y bajo crecimiento; ellos atribuyen este hecho al posible "stress" ya sea, por las colisiones entre las larvas durante su nado o por la acumulación de metabolitos tóxicos en el medio de cultivo, más sin embargo, afirman que no se sabe a ciencia cierta cual de los productos de desecho es el causante de las altas mortalidades.

Walne (1958) y Guillard (1959) citados por Loosanoff y Davis (1963) afirman que las bacterias producen sustancias tóxicas que disminuyen el crecimiento e incluso pueden incrementar la mortalidad en las larvas de bivalvos, especialmente las bacterias de los géneros *Vibrio sp.* y *Pseudomonas sp.*

Cabe mencionar aquí, que en este primer experimento se detectó la presencia de protozoarios en la última etapa del desarrollo larval; quizás por esta razón exista una mayor mortalidad en la última etapa del desarrollo larval.

De acuerdo con Ocampo-Aranda (1990) el seleccionar las larvas de mayor tamaño en su estadio "D" veliger al inicio del desarrollo experimental, tal vez sea favorable para obtener sobrevivencias tan altas como las reportadas por otros autores e incluso mayores que las

reportadas por Jorgensen (1981); Thorson (1946, 1950) y Milenkousky (1951) citados por Bayne (1976).

2).- Segundo experimento (diferentes frecuencias de cambio de agua).

2.1).- Crecimiento de las larvas.

Según Lucas (1982) y Bayne (1976) mencionan que las sustancias disueltas (las cuales son numerosas pero generalmente en pequeñas cantidades) en el medio de cultivo, juegan un papel muy importante en sus efectos favorables (como aceleramiento en el crecimiento) o en sus efectos desfavorables (como toxicidad) y que aún son poco conocidas. A su vez, Thurson, et al. (1978) y Colt y Armstrong (1981) citados por Chen y Lei (1990) mencionan que el amoníaco y los nitritos, son los tóxicos más comunes en los cultivos intensivos. Para lo cual si analizamos la tabla IV, se puede observar que los valores de la concentración de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) son mucho menores para el tratamiento I con cambios de agua diario, lo cual se relaciona con la mayor longitud alcanzada para este tratamiento en la figura 3, con diferencias estadísticamente significativas entre los dos tratamientos (Apéndice V); tal situación concuerda con lo mencionado por Loosanoff y Davis (1963) de que a altas densidades de cultivo el crecimiento de las larvas disminuye ya sea por la acumulación de metabolitos o por las colisiones entre ellas.

## 2.2).- Sobrevivencia de las larvas.

En la sobrevivencia se obtuvo lo contrario; es decir, en las concentraciones mayores de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) en el medio de cultivo se obtuvieron las mayores sobrevivencias; y estadísticamente al 95 % de confianza existieron diferencias significativas, en la figura 4 se muestran los porcentajes de sobrevivencia larval que son bastante diferentes 57 % y 82.5 % para los tratamientos I y II respectivamente. Esto quizás es debido más que por la concentración de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) en los medios de cultivo, por la tensión sufrida por los organismos al hacer cambios de agua tan continuos en los recipientes de cultivo; o pérdidas por manejo.

En base a lo anterior se puede asumir que las concentraciones máximas de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) alcanzadas en este trabajo son aún tolerables por las larvas del mejillón *Mytilus galloprovincialis*, ya que se obtuvieron altas sobrevivencias aún y con la diferencia en cuanto a la longitud final, de 18.5  $\mu\text{m}$  entre los dos tratamientos. Y por el contrario, se cree, que el manejo continuo de los organismos y las posibles colisiones entre ellos por la alta densidad de cultivo, afectan grandemente a la sobrevivencia total.

---

**CONCLUSIONES.**

~ El crecimiento de las larvas del mejillón *Mytilus galloprovincialis* desde su estadio "D" veliger hasta la aparición de la mancha ocular en más del 75 % de la población, no se ve afectado por una densidad inicial de cultivo máxima de 60 larvas/mL con cambios de agua cada 48 hrs.

~ La sobrevivencia de las larvas del mejillón *Mytilus galloprovincialis* cultivadas a una densidad inicial de 20,40 y 60 larvas/mL presenta una marcada disminución en el último período (semana) del desarrollo larval, acentuándose para la densidad de 60 larvas/mL.

~ Concentraciones máximas de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) hasta de 0.453 mg/L no tienen un efecto negativo muy acentuado en la sobrevivencia de las larvas del mejillón *Mytilus galloprovincialis*, cultivadas a 33.75 larvas/mL en la última semana del desarrollo larval; y sí por el contrario, un manejo continuo de los organismos.

~ Larvas del mejillón *Mytilus galloprovincialis* cultivadas a concentraciones iniciales de 20 larvas/mL y menores de 40 larvas/mL, (siguiendo la técnica descrita en el primer experimento de este trabajo)

y con frecuencias de cambio de agua de 48 hrs, presentan sobrevivencias aceptables para su posterior fijación.

---

***RECOMENDACIONES.***

~ Comparar los resultados de las concentraciones de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) y las sobrevivencias; en los siguientes estadios de desarrollo durante la metamorfosis y fijación de las larvas, así como en el estadio de juvenil para *Mytilus galloprovincialis*.

~ En el caso de *Mytilus galloprovincialis* hacer conteos sobre las colisiones entre las larvas por unidad de tiempo; cultivadas a altas densidades poblacionales y relacionar el efecto sobre el crecimiento y la sobrevivencia.

~ Hacer estudios fisiológicos sobre los productos de desecho metabólico y establecer límites de tolerancia de los mismos, para larvas, postlarvas y juveniles de diferentes moluscos de interés en la región.

LITERATURA CITADA.

- Bardach, J.E., J.H., Ryther y W.O., Mclarney, 1986. *Acuacultura. Editorial AGT S.A. 1ª Edición. México, D.F. 741 pags.*
- Barnes, R.D., 1986. *Zoología de los Invertebrados. Editorial INTERAMERICANA S.A. de C.V. 4ª Edición. México, D.F. 1157 pags.*
- Bayne, B.L., 1965. **Growth and the delay of metamorphosis of the larvae of *Mytilus edulis* (L).** *Ophelia* 2(1): 1-47 p.p.
- Bayne, B.L., 1976. **Marine Mussels: Their Ecology and Physiology. Principal Scientific Officer. NERC. Institute for Marine Environmental Research. Plymouth, U.K. 506 pags.**
- Bayne, B.I, P.A. Gabbott y J., Widdow, 1975. **Some effects of stress in the adult on the eggs and larvae of *Mytilus edulis* L.** *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 55: 675-689 p.p.
- Brenko, M.H., 1973. **The study of mussel larvae and their settlement in Vela Draga Bay (Paula. The Northern Adriatic Sea).** *Aquaculture.* 2: 173-182 p.p.
- Brenko, M.H., 1974. **The seasonal fluctuation of the mussel larvae in the Northern Adriatic Sea.** *Aquaculture.* 3: 45-50 p.p.
- Brenko, M.H., y A., Calabrese, 1969. **The combined effects of salinity and temperature on larvae of the mussel *Mytilus edulis*.** *Marine Biology.* 4: 224-226 p.p.
- Buyanouskii, A.I., y V.A., Kulikova, 1984. **Planktonik distribution of *Mytilus edulis* Larvae and their settlement on collectors in Vostok Bay. Sea of Japan. The Soviet Jour. of Marine Biology. Vol 10(6): 350-354 p.p.**
- Chi-Barragán, G., y F., García-Pámanes, 1987. **Obtención de semilla de mejillón en laboratorio.** *Acuavisión.* II(10): 22-24 p.p.
- Chen, J.C., y S.C., Lei, 1990. **Toxicity of Ammonia and Nitrite to *Penaeus monodon* juveniles.** *Journal of the world Aquaculture Society.* Vol. 21(4): 300-306 p.p.

- Dare, P.J., 1976. Settlement, growth & production of the mussel, *Mytilus edulis* L in Morecambe Bay. England. *Ministry of Agr. Fish. & Food. Fish. Invest. Ser. II. Vol. 28(1). 25 pags.*
- De la Garza-Montaña, C., 1987. Cultivo del mejillón en Galicia, España. *Acuavisión. II(10): 17-21 p.p.*
- Elliot, J.M., 1971. Some methods for the statistical analysis of samples of bentic invertebrates. *Freshwater Biol. Assoc. Sci. Publ. 25: 144 pags.*
- Estrada-Reyes, M.V., 1991. Desarrollo embrionario y efecto de la temperatura en el desarrollo larval de la almeja *Chione cortezi* (Carpenter, 1864). *Tesis profesional F.C.M., U.A.B.C. Ensenada, B.C., México. 48 pags.*
- García-Pámanes, F., y L.E., García-Pámanes, 1987. Cultivo comercial del mejillón en Baja California. *Acuavisión. II(10): 27-29 p.p.*
- García-Pámanes, L.E., 1987. Engorda en balsas en Ensenada, B.C. En *Memorias del Encuentro Regional Sobre Producción de Mejillón (Cultivo, Industrialización, Comercialización y Consumo). Secretaría de Pesca FONDEPESCA. Talleres gráficos de la nación. México. 181-214 p.p.*
- García-Pámanes, L.E., J., García-Pámares, A., Jiménez-Mercado, F.J., Ocampo-Aranda, y G., Parés-Sierra, 1991. Producción masiva de semilla de mejillón en laboratorio; estudios de escalamiento. Primer informe *CONACYT-U.A.B.C. Ensenada, B.C., México. 52 pags.*
- Incze, L.S., B., Porter, y R.A., Lutz, 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., 1950. Mechanism of egg Maturation in *Mytilus edulis*. *Biological journal of Okayama University. 1(1,2): 1-11 p.p.*

- Jiménez-Mercado, A., 1991. Evaluación de mezclas de fertilizantes agrícolas inorgánicos para el cultivo masivo de *Isochrysis var galbana aff thaitiana Green, (Clon T-Iso)*. Tesis profesional. F.C.M., U.A.B.C. Ensenada, B.C., México. 105 pags.
- Jorgensen, C.B., 1981. Mortality, Growth and Grazing impact of a cohort of bivalve larvae, *Mytilus edulis* L. *Ophelia*. 20(2): 185-192 p.p.
- Kohen, R.K., 1991. The genetics and taxonomy of species in the genus *Mytilus*. *Aquaculture*. Vol. 94 Nos. 2/3: 125-145 p.p.
- Krebs, C.J., 1972. Ecology. The experimental analysis of distribution and abundance. 1 Edition. Harper & Row Publishers. New York, N.Y., U.S.A. 694 pags.
- Loosanoff, V.L., y H.C., Davis, 1963. Rearing of Bivalve Mollusks. In F.S. Russeel, ed *Adv. Mar. Biol.* 1: 1-136 p.p.
- Lucas, A., 1982. La nutrition des larves de bivalves. *Oceanis*. Vol. 8, Fasc. 5: 363-388 p.p.
- McAnally-Salas, L., 1988. Evaluación y adaptación de rutinas para la producción de semilla suelta de ostión japonés *Crassostrea gigas* a nivel piloto. Tesis profesional. F.C.M., U.A.B.C. Ensenada, B.C., México. 139 pags.
- McDonald, J.H., y R.K., Kohen, 1988. The mussels *Mytilus galloprovincialis* and *M. trossulus* on the Pacific coast of North America. *Mar. Biol.*; Vol. 99(1): 111-118 p.p.
- Moreno-Arellano, R.A., 1991. Evaluación de la microalga *Pavlova (Monochrysis) lutheri* cultivada con fertilizantes agrícolas, en la alimentación del mejillón *Mytilus galloprovincialis* en la etapa de maternidad. Tesis profesional. F.C.M., U.A.B.C. Ensenada, B.C., México. 39 pags.
- Ocampo-Aranda, F.J., 1990. Efecto de la microalga *Monochrysis lutheri* cultivada con fertilizantes agrícolas en el crecimiento y sobrevivencia de larvas y postlarvas del

- mejillón *Mytilus edulis* (L). *Tesis profesional.*, F.C.M., U.A.B.C. Ensenada, B.C., México. 42 pags.
- Orion, 1990. **Instruction manual.** Ammonia electrode model 95-12. *Orion research Incorporated, Laboratory Products Group.* U.S.A. 36 pags.
- Ornelas-Pérez, A., 1991. **Análisis y comparación de la explotación de bancos naturales de mejillón Vs. el cultivo.** *Tesis profesional.* F.C.M., U.A.B.C. Ensenada, B.C., México. 52 pags.
- Orozco-Zavala, M.S., 1982. **Adaptación de la técnica española en el semicultivo de mejillón *Mytilus edulis* y *Mytilus californianus* en la bahía de Todos Santos.** *Tesis profesional.* U.C.M., U.A.B.C. Ensenada, B.C., México. 53 pags.
- Ostle, B., 1965. **Estadística Aplicada.** Editorial LIMUSA. 1ª Edición. México, D.F. 629 pags.
- Pechenick, J.A., L.S., Eyster, J., Widdows, y B.L., Bayne, 1990. **The influence of food concentration and temperature on growth and morphological defferentiation of blue mussel *Mytilus edulis* L. larvae.** *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* Vol. 136: 47-64 p.p.
- Persoone, G., y C., Clauss, 1980. **Mass culture of algae: A Bottleneck in the nursery culturing of molluscs.** In: *Algae Biomass.* G. Shelef and C.J. Soeder. Editors. Elsevier/North. Holland Biomedical Press. 265-285 p.p.
- Rao, K.V., L.K., Kumari, y S.Z., Qasim, 1976. **Aquaculture of green mussel *Mytilus viridis* L: spawning, fertilization & larval development.** *Indian Journal of Marine Sciences.* Vol 5: 113-116 p.p.
- Riisgard, H.U., y A., Randlou, 1981. **Oxigen consumption and clearance as a function of size in *Mytilus edulis* L. veliger larvae.** *Ophelia.* 20(2): 179-183 p.p.
- Skidmore, D., y J.K., Chew, 1985. **Mussel Aquaculture in Puget Sound.** *Technical report.* College of Ocean and Fishery

- Sciences. Washington Sea Grant Program. University of Washington. Seattle, Wa. U.S.A. 57 pags.*
- Sokal, R.R., y F.J., Rohlf, 1981. **Biometry. The principles and practice of Statistics in Biological Research and Statistical tables.** Second edition. *Ed. H. Freeman and Company.* San Francisco, Cal., U.S.A. 859 pags.
- Trevelyan, G.A., y E.S., Chang, 1983. **Experiments on larval rearing of the california mussel (*Mytilus californianus*).** *J. World Maricul. Soc.* 14: 137-148 p.p.
- Vélez, A.R., y R.E., Martínez, 1967. **Reproducción y desarrollo larval experimental del mejillón comestible de Venezuela. *Perna perna*. (Linnaeus, 1758).** *Bol. Inst. Oceanog., Univ. Oriente.* 6(2): 266-285 p.p.
- Waterstrat, P.R., 1979. **Prospects for the development of a mussel culture industry in Puget Sound.** *Thesis. University of Washington., U.S.A.* 81 pags.
- Waterstrat, P., J.K., Chew, y J.B., Hal, 1980. **Mussel Culture: A West Coast Perspective.** *College of Fisheries University of Washington., Seattle, Washington.* 6: 141-165 p.p.
- Wilburn-González, J.G., 1990. **Cultivo masivo de *Pavlova lutheri* (Droop) Green con fertilizantes agrícolas como fuente de nitrógeno y bióxido de carbono.** *Tesis profesional. F.C.M., U.A.B.C. Ensenada, B.C., México.* 50 pags.
- Winter, J.E., 1974. **Growth in *Mytilus edulis* using different types of food.** *Ber. dt. Wiss. Kommn. Meeresforsch.* 23: 360-375 p.p.
- Young, R.T., 1945. **Stimulation of spawning in the mussel. (*Mytilus californianus*).** *Ecology.* 26(1): 58-69 p.p.
- Zar, J.H., 1984. **Biostatistical Analysis.** Second edition. *Prentice-Hall Inc. Englenwood Cliffs, N.J., U.S.A.* 718 pags.
- Zhang, F., 1984. **Mussel culture in China.** *Aquaculture.* 39: 1-10 p.p.

APENDICE I.

Tabla I.- Análisis de varianza anidado para el crecimiento larval del primer experimento (diferentes densidades de cultivo) al inicio (día 0).

Fuente de variación.	Suma de cuadrados.	Cuadrado medio.	Grados de libertad.	"F" observada.	Nivel de significancia.
Tratamientos.	0.0	0.0	2	0.0	1.0
Réplicas.	0.0	0.0	6	0.0	1.0
Error.	11870.323	26.917	441		

Tabla II.- Análisis de varianza anidado para el crecimiento larval del primer experimento (diferentes densidades de cultivo) primera semana (día 6).

Fuente de variación.	Suma de cuadrados.	Cuadrado medio.	Grados de libertad.	"F" observada.	Nivel de significancia.
Tratamientos.	40.199	20.099	2	0.260	0.771
Réplicas.	1471.578	245.263	6	3.173	0.005
Error.	34088.253	77.298	441		

Tabla III.- Análisis de varianza anidado para el crecimiento larval del primer experimento (diferentes densidades de cultivo) segunda semana (día 14).

Fuente de variación.	Suma de cuadrados.	Cuadrado medio.	Grados de libertad.	"F" observada.	Nivel de significancia.
Tratamientos.	260.020	130.010	2	0.645	0.525
Réplicas.	4054.473	675.745	6	3.351	0.003
Error.	88940.412	201.679	441		

Tabla IV.- Análisis de varianza anidado para el crecimiento larval del primer experimento (diferentes densidades de cultivo) tercera semana (día 19).

Fuente de variación.	Suma de cuadrados.	Cuadrado medio.	Grados de libertad.	"F" observada.	Nivel de significancia.
Tratamientos.	6804.268	3402.134	2	9.493	0.0
Réplicas.	13141.925	2190.321	6	6.112	0.0
Error.	158046.576	358.382	441		

---

*APENDICE II.*

Tabla I.- Análisis de varianza de una vía (no paramétrico) Kruskal-Wallis para las tasas finitas de sobrevivencia larval (semanal) del primer experimento (diferentes densidades de cultivo) para la densidad de 20 larvas/mL.

Períodos.	Sum.	Chi <sup>2</sup> = 6.006
(A) Semana 1.	13	Grados de libertad = 2
(B) Semana 2.	24	Nivel de significancia = 0.051
(C) Semana 3.	8	

Tabla II.- Análisis de varianza de una vía (no paramétrico) Kruskal-Wallis para las tasas finitas de sobrevivencia larval (semanal) del primer experimento (diferentes densidades de cultivo) para la densidad de 40 larvas/mL.

Períodos.	Sum.	Chi <sup>2</sup> ===== 4.267
(A) Semana 1.	19	Grados de libertad ===== 2
(B) Semana 2.	19	Nivel de significancia == 0.118
(C) Semana 3.	7	

Tabla III.- Análisis de varianza de una vía (no paramétrico) Kruskal-Wallis para las tasas finitas de sobrevivencia larval (semanal) del primer experimento (diferentes densidades de cultivo) para la densidad de 60 larvas/mL.

Períodos.	Sum.	Chi <sup>2</sup> ===== 7.2
(A) Semana 1.	15	Grados de libertad ===== 2
(B) Semana 2.	24	Nivel de significancia == 0.027
(C) Semana 3.	6	

---

*APENDICE III.*

Tabla I.- Comparación múltiple del ANOVA no paramétrico para las tasas finitas de sobrevivencia larval (semanal) del primer experimento (diferentes densidades de cultivo) para la densidad de 60 larvas/mL.

Período.	Diferencia.	Error estandar.	Grupos homogéneos
(A) Semana 1.	9	4.743	* *
(B) Semana 2.	9	4.743	* *
(C) Semana 3.	18	4.743	* *

---

*APENDICE IV.*

Tabla I.- Análisis de varianza de una vía (no paramétrico) Kruskal-Wallis para la sobrevivencia larval del primer experimento (diferentes densidades de cultivo) para la primera semana del desarrollo.

Tratamientos.	Sum.	Chi <sup>2</sup> = 3.317
20 larvas/mL.	22	Grados de libertad = 2
40 larvas/mL.	12	Nivel de significancia = 0.190
60 larvas/mL.	11	

Tabla II.- Análisis de varianza de una vía (no paramétrico) Kruskal-Wallis para la sobrevivencia larval del primer experimento (diferentes densidades de cultivo) para la segunda semana del desarrollo.

Tratamientos.	Sum.	Chi <sup>2</sup> = 5.422
20 larvas/mL.	20	Grados de libertad = 2
40 larvas/mL.	6	Nivel de significancia = 0.066
60 larvas/mL.	19	

Tabla III.- Análisis de varianza de una vía (no paramétrico) Kruskal-Wallis para la sobrevivencia larval del primer experimento (diferentes densidades de cultivo) para la tercera semana del desarrollo.

Tratamientos.	Sum.	Chi <sup>2</sup> = 3.822
20 larvas/mL.	22	Grados de libertad = 2
40 larvas/mL.	14	Nivel de significancia = 0.148
60 larvas/mL.	9	

Tabla IV.- Análisis de varianza de una vía (no paramétrico) Kruskal-Wallis para la sobrevivencia larval del primer experimento (diferentes densidades de cultivo) para el desarrollo completo.

Tratamientos.	Sum.	Chi <sup>2</sup> = 4.267
20 larvas/mL.	23	Grados de libertad = 2
40 larvas/mL.	11	Nivel de significancia = 0.118
60 larvas/mL.	11	

APENDICE V.

Tabla I.- Análisis de varianza anidado para el crecimiento larval del segundo experimento (diferentes períodos de cambio de agua) al inicio (día 15).

Fuente de variación.	Suma de cuadrados.	Cuadrado medio.	Grados de libertad.	"F" observada.	Nivel de significancia.
Tratamientos.	0.0	0.0	1	0.0	1.0
Réplicas.	0.0	0.0	4	0.0	1.0
Error.	21281.401	72.386	294		

Tabla II.- Análisis de varianza anidado para el crecimiento larval del segundo experimento (diferentes períodos de cambio de agua) al tercer día (día 18).

Fuente de variación.	Suma de cuadrados.	Cuadrado medio.	Grados de libertad.	"F" observada.	Nivel de significancia.
Tratamientos.	11290.241	11290.241	1	132.023	0.0
Réplicas.	3106.495	776.624	4	9.082	0.0
Error.	25142.004	85.517	294		

Tabla III.- Análisis de varianza anidado para el crecimiento larval del segundo experimento (diferentes períodos de cambio de agua) al final (día 21).

Fuente de variación.	Suma de cuadrados.	Cuadrado medio.	Grados de libertad.	"F" observada.	Nivel de significancia.
Tratamientos.	25600.346	25600.346	1	178.572	0.0
Réplicas.	464.066	116.017	4	0.809	0.52
Error.	42148.349	143.362	294		

---

*APENDICE VI.*

Tabla I.- Análisis de varianza de una vía (no paramétrico) Kruskal-Wallis para la sobrevivencia larval del segundo experimento (diferentes periodos de cambio de agua) para todo el desarrollo (tratamiento I cambio de agua diario; tratamiento II cambio de agua cada tres días).

Tratamientos.	Sum.	Chi <sup>2</sup> ===== 3.857
I.	15	Grados de libertad ===== 1
II.	6	Nivel de significancia = 0.050

