

INFRAESTRUCTURA BASICA PARA LA OBTENCION DE LARVAS
(SEMILLA) DE OSTION JAPONES (*Crassostrea gigas*)
Y OSTION EUROPEO (*Ostrea edulis*)
EN BAJA CALIFORNIA

por:

RENE ISLAS OLIVARES

Delegación de Pesca del Estado de
Baja California
Ruíz 4-3 Ensenada, Baja California

VICTOR GENDROP FUNES

MARCOS MIRANDA AGUILAR

Unidad de Ciencias Marinas
Apartado Postal 453
Ensenada, B.C., México

RESUMEN.

En el presente trabajo se describen las instalaciones básicas necesarias para el funcionamiento de un laboratorio, lo suficientemente amplio para obtener larvas de moluscos de diferentes especies, principalmente de ostión. Además se presentan algunos resultados preliminares logrados mediante el uso de dichas instalaciones.

ABSTRACT.

This work describes the basic installations used in the Unidad de Ciencias Marinas de Ensenada, to establish a working laboratory with sufficient capacity to rear molusc larvae of different specie, mainly oyster. Also presented are some preliminary results of the work developed with the use of these installations.

INFRAESTRUCTURA PARA LA OBTENCION DE LARVAS DE OSTION

INTRODUCCION.

Baja California cuenta en la actualidad con recursos marinos costeros de gran valor comercial, como son el abulón y la langosta, estos recursos han sido explotados tradicionalmente por las cooperativas pesqueras de la región; la imposibilidad de aumentar estas capturas debido a que se llegaría a una sobreexplotación y el aumento de la membresía de las cooperativas ribereñas nos enfrenta con un problema cuya única solución es la diversificación de la actividad pesquera de las cooperativas regionales.

El ostricultivo que se ha venido desarrollando en Baja California desde 1973 como apoyo a las pesquerías ya establecidas hoy en día se desarrolla de una manera altamente satisfactoria, debido a que se ha implementado el arte de cultivo apropiado para la zona (Islas Olivares, 1975a). Además se ha obtenido la confianza de los grupos de pescadores de la región, que es uno de los factores que garantizan la realización de estos experimentos.

Actualmente la Unidad de Ciencias Marinas cuenta con un laboratorio para cultivo experimental de moluscos, el cual es producto de una serie de etapas, las cuales se iniciaron con algunos estudios del cuadro ambiental de zonas susceptibles de ser utilizadas como campos ostrícolas; cultivos piloto de especies obtenidas mediante técnicas de laboratorio, y entrenamientos de personal, en diversos laboratorios de Estados Unidos que se han dedicado a obtener semilla de diferentes especies de moluscos. Estos entrenamientos fueron dirigidos por el Dr. Víctor Loosanoff y financiados por la fundación Janss de los Estados Unidos. Es importante mencionar que en la totalidad de los experimentos a nivel piloto realizados por la Unidad de Ciencias Marinas (Islas Olivares, 1975a) (Islas Olivares, Miranda Aguilar y Gendrop Funes, 1978), y en la actual producción de ostión japonés (*Crassostrea gigas*) por parte de las cooperativas de la región se ha utilizado semilla comprada en el extranjero.

Esta semilla de ostión, se obtiene de laboratorios en Estado Unidos, principalmente en el Estado de Washington. Tomando en cuenta lo anterior, se planteó la necesidad de construir un laboratorio para experimentar con diferentes técnicas de Laboratorio para obtención de semilla de ostión y posteriormente surtir a los campos pesqueros, que explotan el ostión en el Estado, (Islas Olivares, 1975b). Se han considerado además de lo anterior, algunas ventajas como es el hecho de que será posible obtener nuestra propia semilla en Baja California mediante la utilización de técnicas mundialmente conocidas (Loosanoff y Davis, 1963). También es importante mencionar que mediante la utilización de esta técnica se pueden producir larvas de moluscos a lo largo de todo el año, lo cual permite programar las "siembras" en base

a las épocas de veda de las especies que existen de una manera natural. Asimismo un laboratorio de esta naturaleza permite experimentar con diferentes tipos de sustratos, obteniéndose así, una mayor versatilidad en el uso de los métodos de cultivo; es posible conocer mediante experimentación los efectos de los parámetros ambientales sobre el crecimiento de larvas, así como determinar los límites de tolerancia de las especies en un medio natural. Es factible también realizar estudios sobre métodos para controlar ciertas enfermedades y algunos parásitos.

Con base en estos antecedentes y perspectivas fue posible obtener el apoyo económico de la Universidad Autónoma de Baja California, Organización de Estados Americanos y la Federación de Cooperativas de Baja California, para el establecimiento del laboratorio dentro de la Unidad de Ciencias Marinas.

OBJETIVOS.

El presente trabajo tiene como finalidad dar a conocer las instalaciones mínimas indispensables para el funcionamiento de un laboratorio, lo suficientemente amplio para obtener larvas de moluscos de diferentes especies, principalmente moluscos (ostión, mejillón y almeja) así como presentar algunos de los resultados preliminares logrados.

METODO Y MATERIALES.

Para lograr el funcionamiento de este laboratorio, fué necesario utilizar el equipo necesario indispensable con el fin de poder determinar realmente cuáles son las instalaciones básicas para el desarrollo de la biotécnica. Además fué necesario formar grupos de trabajo con los estudiantes del 4o. año de la carrera de oceanólogo, con el fin de trabajar conjuntamente en la instalación del laboratorio y posteriormente el manejo de la "semilla".

Descripción de la planta física.

Actualmente se cuenta con un área de 200 M² aproximadamente (figuras 1 y 2) la cual es alimentada con agua de mar y agua potable. El agua de mar es bombeada directamente de la Bahía de Ensenada a una pila de concreto de 30,000 l de capacidad. Esta pila está localizada a una altura de 3.5 m sobre el nivel del piso del laboratorio, lo cual permite obtener un flujo por gravedad, esto evita el uso continuo de la bomba principal localizada dentro del laboratorio. La tubería utilizada para distribuir el agua de mar es de PVC de 1¹/₂ pulgadas.

Se cuenta con un sistema de filtro de arena (JACUZZI MOD. 7PM24B) (Fig. 3) el cual detiene las partículas de materia

INFRAESTRUCTURA PARA LA OBTENCION DE LARVAS DE OSTION

PLANTA DE DISTRIBUCION DEL LABORATORIO

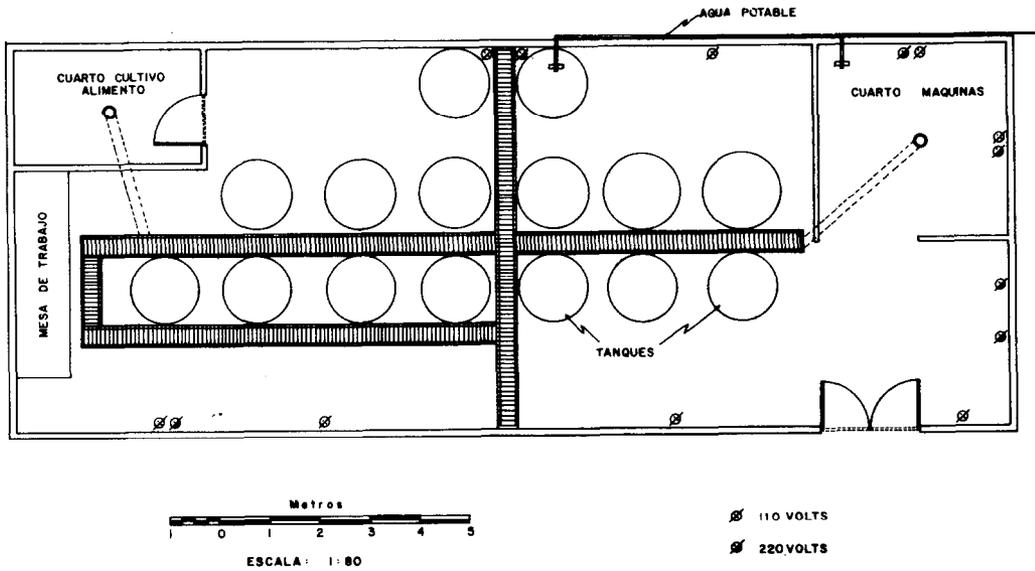


Fig. 1 Diagrama de la planta de distribución del Laboratorio.

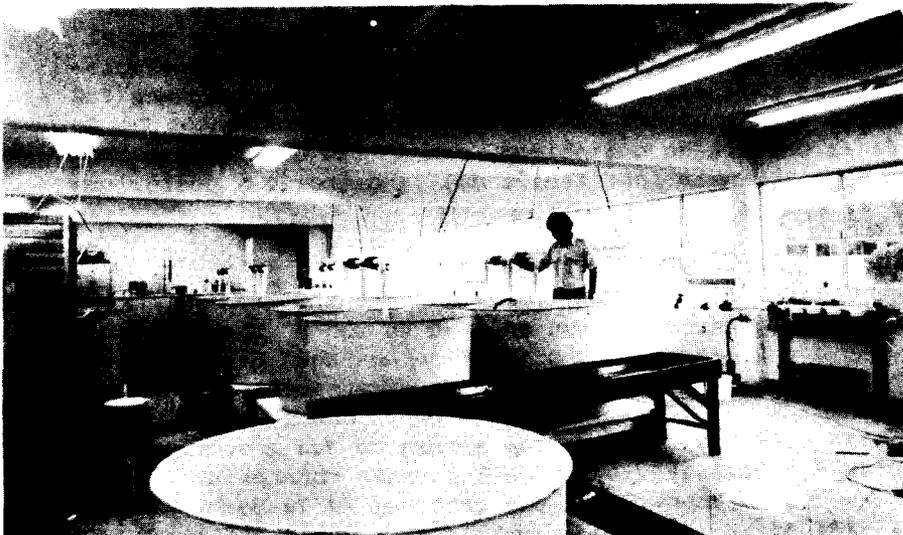


Fig. 2 Vista general del laboratorio.

orgánica mayores de 15 micras, así como los sedimentos en suspensión; para evitar el paso de organismos nocivos para el cultivo de larvas se cuenta además del filtro de arena, con una serie de filtros "Cuno", que tienen una porosidad de 10, 5, 1 micras (fig. 4). También se cuenta con un aparato de rayos ultravioletas construido especialmente para esterilizar agua de mar, la cual es utilizada principalmente en el cultivo de alimento. (fig. 5).

El uso del agua de mar esterilizada para la purificación de moluscos ha sido descrito por varios autores, principalmente en Japón, Sato (1954); Satoh (1960); Wood (1961), en Inglaterra, Loosanoff y Davis (1963) en Estados Unidos. El uso del agua esterilizada ha demostrado que aumenta la eficiencia principalmente en el cultivo de larvas de almeja y ostión europeo (*Ostrea edulis*), (Loosanoff y Davis, 1963).

Para el acondicionamiento de los organismos adultos se cuenta con un aparato (const. flow-Mod. PCC-24A3) para enfriar agua de mar corriente, entre 18°C y 20°C; para la obtención de agua caliente se cuenta con una serie de electrodos "Vycor" de 24000 watts, los cuales permiten obtener temperaturas deseadas (27°C - 29°C), para lograr el desove de algunos moluscos.

Para alojar las larvas se cuenta con 15 tanques de fibra de vidrio con capacidad de 1000 litros cada uno, (fig. 6). Estos tanques están sobre bases de madera con el fin de poder colocar los tamices para retención de las larvas durante los cambios de agua.

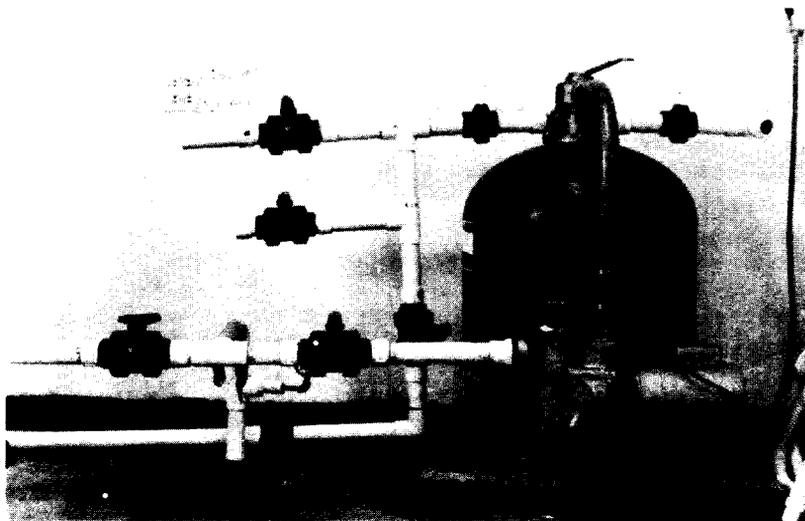


Fig. 3 Sistema de filtrado por medio de arena, para el agua de mar.

INFRAESTRUCTURA PARA LA OBTENCION DE LARVAS DE OSTION

SISTEMA PARA ESTERILIZACION DE AGUA DE MAR

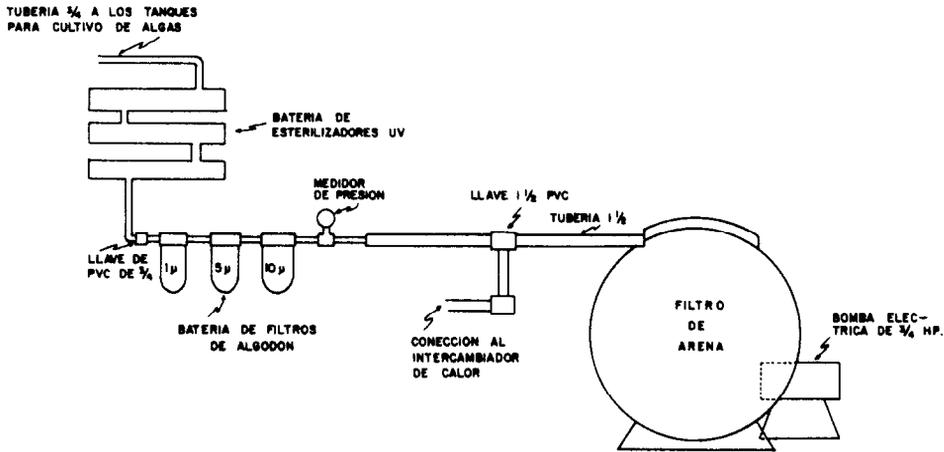


Fig. 4 Diagrama del sistema de filtrado y esterilización del agua de mar.

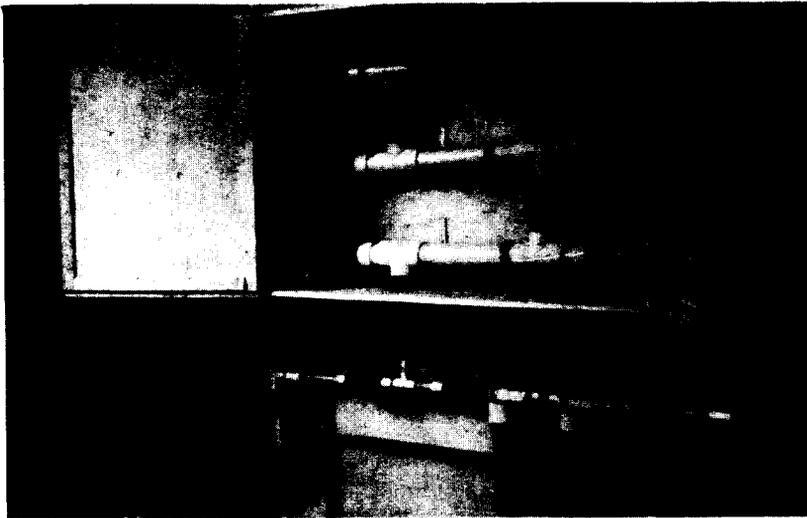


Fig. 5 Sistema de esterilización para el agua de mar. Compuesto por una batería de filtros Cuno y lámparas de rayos UV.

ISLAS OLIVARES - GENDROP FUNES - MIRANDA AGUILAR

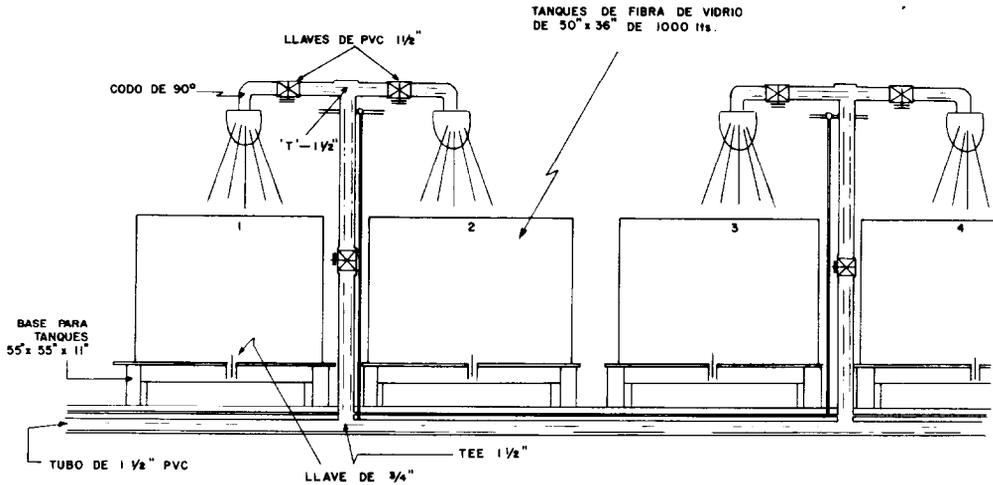


Fig. 6 Diagrama de un conjunto de tanques sobre sus bases de madera y tuberías instaladas.

Se cuenta además con un compresor de aire seco (CONDE Mod. No. 6) que es distribuido a lo largo de todo el laboratorio, mediante una línea de PVC de $\frac{1}{2}$ pulgada.

Técnicas de acondicionamiento y desove.

Las técnicas utilizadas para el acondicionamiento y desove de moluscos, son ampliamente descritas por varios autores, por lo cual no se describen en este trabajo. (Loosanoff y Davis, 1963). (Breese y Malouf, 1975), (Ukeles, R., 1969, 1973).

Actualmente se cuenta con ostiones de dos especies *Ostrea edulis* y *Crasostrea gigas*, éstos se han mantenido en tanques con agua corriente a temperaturas de 18° - 20°C , de acuerdo al método descrito por Loosanoff y Davis, (1963) y Walne (1966). De acuerdo con los primeros, es posible hacer madurar ostiones, aún fuera de temporada, por medio del incremento gradual de la temperatura del agua de mar corriente, también mencionan que este método puede ser utilizado para almejas, con los mismos resultados. Diferentes autores coinciden en las técnicas sobre acondicionamiento y desove, así Walne (1966) observó que *Ostrea edulis* se puede inducir al desove utilizando cambios de agua a diferentes temperaturas y por otro lado, Hidu y Richmond, (1972) experimentaron el mismo fenómeno.

Fuente de organismos adultos.

Uno de los requerimientos más importantes, para el funcionamiento de un laboratorio de este tipo, es sin duda la disponibilidad de "progenitores" en este caso ostiones, mismos que de antemano se sabe, se adaptan a las condiciones naturales de Baja California ya que actualmente se cuenta con un campo ostrícola en la Bahía de San Quintín, manejado por las

INFRAESTRUCTURA PARA LA OBTENCION DE LARVAS DE OSTION

cooperativas de la región, y se han avocado principalmente al cultivo del ostión japonés (*Crassostrea gigas*), (Islas Olivares, 1975a).

Cultivo de alimento.

El área destinada para el cultivo de microalgas mide 2,5 x 4,0 m (fig. 7), y cuenta con un aparato de aire acondicionado de tipo doméstico que permite mantener el ambiente a constante de 21°C, además tiene una serie de lámparas fluorescentes "cool white" de 40 watts.

El material utilizado para el cultivo de microalgas es el siguiente:

- 30 Frascos Erlenmeyer de 125 ml
- 20 Frascos Erlenmeyer de 250 ml
- 20 Frascos Fernbach de 2800 ml
- 20 Frascos tipo garrafón de 20 l
- 3 Tanques cónicos de 250 l
- 4 Tanques cilíndricos de 1000 l
- Reactivos
- 2 Autoclaves
- 1 Destilador
- 2 Desmineralizadores
- 1 Refrigerador
- 1 Microscopio compuesto
- 4 Hematocitómetros

Método para el cultivo de alimento.

El cultivo de diatomeas tiene un papel muy importante en el funcionamiento del laboratorio, ya que de su cantidad y calidad depende el éxito del mismo. El método utilizado básicamente es el descrito por Mathiesen y Toner, (1966) y se han logrado cultivar diferentes especies tales como: *Dunaliella*, sp., *Skeletonema* sp., *Monochrysis lutea*, *Isochrysis galbana* y *Rhodomonas* sp.

El método consiste básicamente en esterilizar agua de mar y agregar una serie de nutrientes que constituyen los medios de cultivo, (Mathiesen y Toner, 1966).

Para la preparación de los medios de cultivo se utilizan los siguientes reactivos:

PREPARACION SOLUCION "STOCK"

NUTRIENTE	FORMULA	PREPARACION DE LA SOLUCION
Nitrato de sodio granular	Na NO ₃	150 gm/litro
Fosfato de sodio monobásico	Na H ₂ PO ₄ H ₂ O	10 gm/litro
Silicato de sodio meta-soluble granular	Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O	30 gm/litro

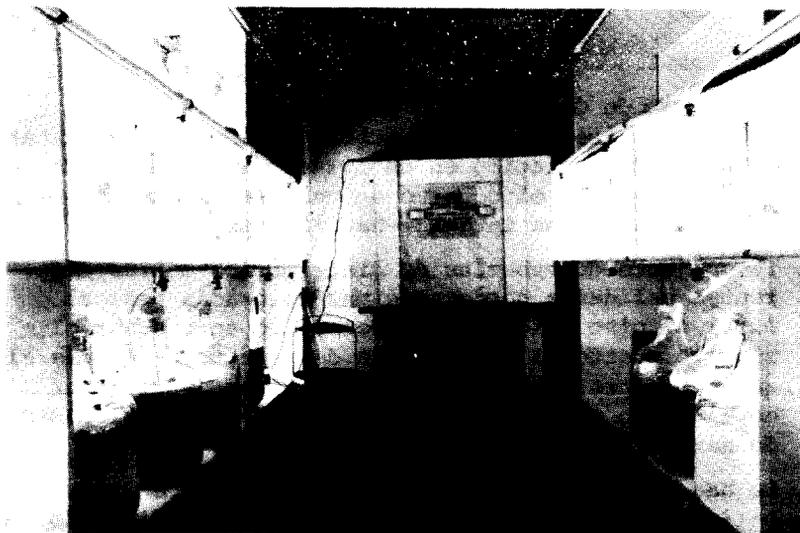


Fig. 7 Vista general del cuarto de cultivo de microalgas.

PREPARACION METALES TRAZA
(Solucion Primaria)

NUTRIENTE	FORMULA	PREPARACION SOLUCION PRIMARIA
Sulfato cúprico	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.96 gm/litro
Sulfato de zinc	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4.4 gm/litro
Cloruro de cobalto	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2.0 gm/litro
Cloruro manganeso	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	36.9 gm/litro
Molibdato de sodio	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.26 gm/litro

PREPARACION DE LAS VITAMINAS

Biotina Crystaelina	1 mg/litro
Vitamina B ₁₂	1 mg/litro
Thiamina hydrochlorica	200 mg/litro

Fuente de abastecimiento de algas:

Las algas utilizadas para el inicio de estos cultivos fueron obtenidas en el laboratorio de cultivos anexos del National Marine Fisheries Services de la Jolla, Calif.

INFRAESTRUCTURA PARA LA OBTENCION DE LARVAS DE OSTION

RESULTADOS PRELIMINARES.

a). De las instalaciones.

1. El sistema de distribución de agua de mar que por gravedad alimenta el laboratorio ha permitido abaratar el costo de operación en un 15% aproximadamente de lo previsto ya que el consumo de energía eléctrica por parte de la bomba interior ha sido casi nulo.
2. El conjunto de tuberías de distribución de las diferentes calidades de agua de mar colocadas bajo el nivel de piso (fig. 8) han permitido aprovechar el espacio muerto de los canales de desagüe, y además el espacio entre tanques y techo, pudiéndose utilizar este último para la colocación de lámparas, sistemas de aereación, extensiones eléctricas, y otros.
3. Se han obtenido resultados satisfactorios en la calidad del agua por medio del sistema de filtrado por arena, ya que a pesar de que el agua de mar es introducida por la bomba a una presión no mayor de 15 psi; en los cultivos del alimento (microalgas), sólo se ha presentado una mínima cantidad de organismos extraños a los mismos.
4. El conjunto de aparatos de rayos ultravioleta contruidos localmente, además de haber resultado bastante económicos (\$ 1,500 Pesos c/u), en comparación a los fabricados por casas comerciales, han cubierto de manera alentadora las necesidades del laboratorio. Se han obtenido buenos resultados con este sistema a una velocidad de flujo de 8 l/min en los cultivos de alimento.

b). Acondicionamiento de organismos a la madurez.

En marzo de 1978 se introdujeron al laboratorio varias docenas de ostiones japoneses no maduros sexualmente, con el objeto de hacerlos madurar mediante condiciones semicontroladas (temperatura, alimentación, calidad del agua) en un período más corto que el requerido en el medio natural. Hasta la fecha no se han obtenido organismos con una madurez gonadal total lo cual se piensa es debido a dos factores:

- 1o. El sistema de bombeo de agua de mar ha fallado en diversas ocasiones, por lo que el acondicionamiento se ha interrumpido durante períodos de hasta dos meses. Debido a la falta de constancia experimentada en el aprovisionamiento de agua de mar para el funcionamiento del laboratorio, en la actualidad se trabaja sobre la instalación de un sistema de bombeo más seguro y eficiente.

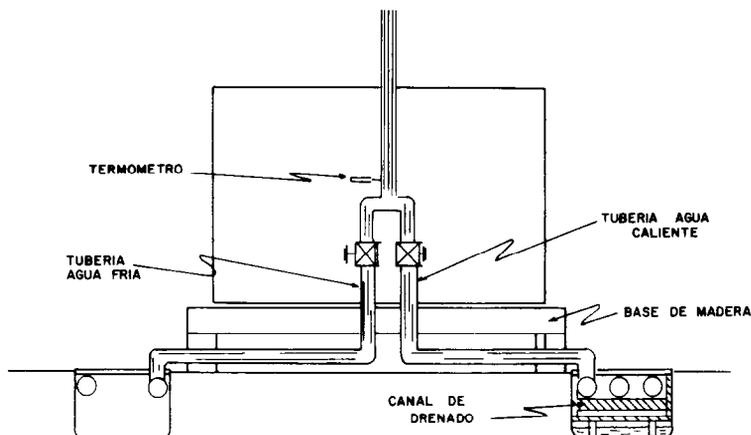


Fig. 8 Diagrama que muestra la colocación de la tuberías de PVC en los canales de drenado.

20. La carencia de un intercambiador de calor que permita regular en una forma mucho más precisa los incrementos de temperatura que exige este método.

c). Desoves.

Durante el 2o. semestre del ciclo 77-78 del curso de Acuicultura II, se obtuvieron desoves de ostión europeo y ostión japonés, la cantidad de larvas y huevos respectivamente fué de 2.5×10^6 y 35×10^6 , ambos desoves se llevaron a cabo mediante la técnica de Loosanoff y Davis (1963).

Se logró un 36% de sobrevivencia hasta las fijaciones en conchas madres para el ostión europeo, y un 48% en el ostión japonés. Actualmente la semilla lograda se mantiene bajo condiciones naturales en la Bahía de San Quintín, con el objeto de observar su crecimiento y sobrevivencia, considerando que se trata de semillas obtenidas por primera vez en condiciones de laboratorio en las aguas de Baja California, por lo que se desconoce su posible comportamiento, con respecto a la semilla comprada en el extranjero para ser usada en cultivos piloto y semicomercial.

d). Cultivo de alimento.

El proceso que se empleó para el cultivo masivo de *Monochrysis lutheri*, *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis sp.* y *Cyclotella nana* se basó principalmente en los trabajos de Mathiesen y Toner, (1968) y Guillard (1972) con algunas modificaciones.

El paso inicial en el cultivo de cada especie comenzó con la inoculación de determinada microalga en 50 ml de medio enriquecido, utilizando un frasco Erlenmeyer con capacidad

INFRAESTRUCTURA PARA LA OBTENCION DE LARVAS DE OSTION

de 125 ml. El segundo paso fué la transferencia a un frasco Erlenmeyer de 2600 ml con un litro de medio, transfiriéndolos de ahí a un Carboy de capacidad 20 litros y 16 litros de medio. A este recipiente se le aplicó aereación para proporcionar CO₂ y también evitar la sedimentación. El último paso consistió en transferir el cultivo del Carboy a un tanque de capacidad 1000 l pudiendo iniciarse con 500 l de medio. Los tanques también recibieron vigorosa aereación. El tiempo que transcurre entre cada paso es de aproximadamente una semana, período en el cual los cultivos en general llegan a su máxima densidad antes de ser transferidos. De los tanques el alimento es cosechado cuando la densidad es óptima utilizando para ello una bomba centrífuga para hacerla llegar a los tanques con las larvas de ostión.

La densidad alcanzada por las algas en los cultivos, fue en general satisfactoria. En el recipiente de 20 litros, *Monochrysis lutheri* llegó hasta densidades de 6×10^6 cel/ml; *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis sp.* y *Ciclotella nana* tuvieron densidades de 2 a 3×10^6 cel/ml. Las densidades alcanzadas en los tanques fueron pobres en un principio debido a deficiencias en los sistemas de aire y luz. Se empezó a trabajar con un pequeño compresor ITT Mod. SYCHH8-1 que no generaba el volumen de aire necesario para abastecer todos los Carboys y tanques en la instalación, provocando sedimentación en los cultivos. Este problema se resolvió al adquirirse un compresor marca "CONDE" # 6, antes mencionado, el cual se considera adecuado a las necesidades del laboratorio.

La luz proveniente de las lámparas "cool white" colocadas horizontalmente a 30 cm por encima del tanque de cultivo no proporcionaron la iluminación suficiente para obtener la velocidad de crecimiento requerida. Se experimentó colocando cuatro lámparas, (protegidas en tubos de plástico), en posición vertical dentro del tanque (fig. 9) y gracias a esta modificación se registró un aumento considerable en la velocidad de crecimiento, reduciéndose a la mitad el tiempo anteriormente requerido por las algas para alcanzar su densidad óptima; por ejemplo, en el caso de *Monochrysis lutheri*, que con una concentración inicial de 1.6×10^5 cel/ml alcanzó una concentración de 3×10^6 cel/ml en cuatro días. Actualmente se sigue experimentando con el sistema de lámparas verticales sumergidas.

Por otro lado, considerando el alto costo de los reactivos para la preparación de los medios de cultivo, egresados de la Escuela Superior de Ciencias Marinas han iniciado trabajos de tesis utilizando como base extractos de macroalgas y estiércol, para la obtención de un medio de cultivo económico.

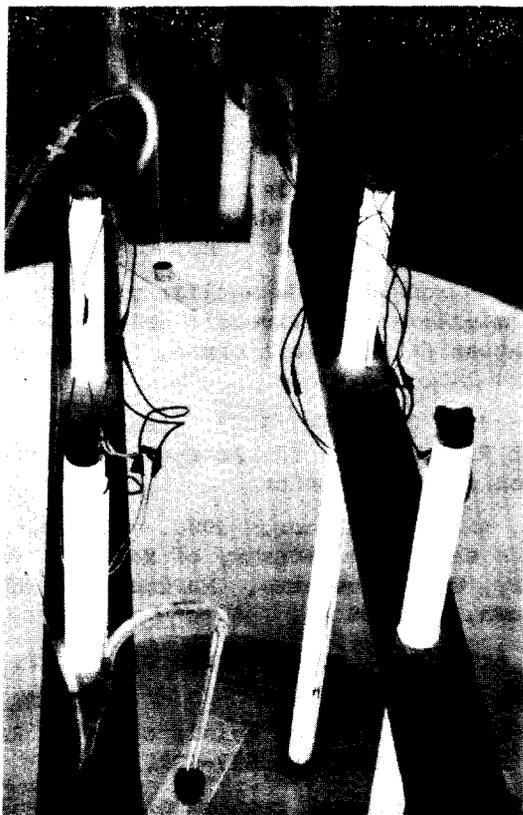


Fig. 9 Detalle de la colocación de las lámparas verticales en un tanque para el cultivo de microalgas.

CONCLUSIONES.

Lo anteriormente expuesto, indica que las instalaciones llevadas a cabo, en este pequeño laboratorio, son suficientes para el desarrollo de la biotecnia utilizada para la obtención de larvas de moluscos.

BIBLIOGRAFIA.

Breese, W. P. and Malouf, R.E. 1975. Hatchery Manual for pacific oyster. Oregon State Univerisyt; Sea Grant College Program Special report No. 433, 23 pp.

Guillard 1973. Culture of phytoplankton for feeding marine invetebrates, in: Culture of marine invertebrate animal p. 29-60, Smith and Chanley Eds., Plenus Press New York and London.

INFRAESTRUCTURA PARA LA OBTENCION DE LARVAS DE OSTION

- Hidu H. and Richmond, M. S. 1972. Commercial oyster aquaculture in Maine. University of Maine. Research support by NOAA. Office of Sea Grant U. S. Department of Commerce. Under grant No. NG-40-72. 59 pp.
- Islas Olivares R. 1975a. El ostión japonés (*Crassostrea gigas*) en Baja California. Ciencias Marinas (Mex). V.2(1): 58-59.
- Islas Olivares R. 1975b. Establecimiento de un laboratorio para la obtención de larvas de moluscos, en Ensenada, Baja California. Ciencias Marinas (Mex) V. 2(1): 43-46.
- Islas Olivares R., Marcos Miranda Aguilar y Victor Gendrop Funes. 1978. Crecimiento y sobrevivencia del ostión europeo (*Ostrea edulis*) en aguas de Baja California. Ciencias Marinas (Mex) V. 5 (1): 137-148.
- Loosanoff, V.L. and H. C. Davis, 1963. Rearing of bivalve moluscs p. 1-1236 in F. S. Russell Ed. Advances in Marine Biology, Vol. I Academic Press, London.
- Matthiesen, G. C. and R. C. Toner. 1966. Possible methods of improving the shellfish industry of Martha's Vineyard, Dukes Country, Massachusetts, Marine Research Foundation, Inc. Edgartown, Ma. 138 pp.
- Sato, T. 1954. Artificial purification of oyster. Shokuhin-Eisei-Kenkyu, 6, 51-56.
- Satoh, T. 1960. Purification of edible oyster. Rep. Fac. Fish. Prefactual Univ. Of Mie. 3, 627-632.
- Ukeless, R. 1969. Nutritional requirements in shellfish culture p. 43-64 in K.S. Price and D.L. Maurer Eds. Artificial propagation of commercially valuable shellfish. University of Delaware Press, Newark, D.E.
- Ukeless, R. 1973. Continuous culture - a method for the production of unicellular algal foods. p. 233-254 in J.R. Stein ed: Handbook of phycolgical methods, culture methods and growth measurements, Cambridge University Press. New York and London.
- Walne, P.R. 1966. Experiments in the large scale culture of the larvae *Ostrea edulis*. L. Fishery Invest. Lond., Ser. 2, 25(4): 1-53.
- Wood, P.C. 1961. The principles of water sterilization by ultraviolet light and the purification of oysters. Fish. Invest. London, Ser. II. 23, 1-48.

Recibido: Enero 22 de 1979.