



ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar



BIBLIOTECA
ING. MARITIMA

"Efecto en el crecimiento de juveniles de Scallop *Argopecten circularis* alimentados con *Isochrysis galbana* (clon T-Iso) y *Chaetoceros gracilis* a diferentes raciones alimenticias"

TESIS DE GRADO

Previa a la obtención del título de

ACUICULTOR

Presentada por

Rafael Antonio Menoscal Izquierdo

GUAYAQUIL - ECUADOR

1997

DEDICATORIA



BIBLIOTECA
FACULTAD DE
INGENIERIA

A Dios y mi Madre

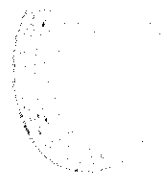
DECLARACION EXPRESA



“La responsabilidad por los hechos, ideas y doctrinas expuestos en esta tesis, me corresponden exclusivamente: y, el patrimonio intelectual de la misma, a la **ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL**”.

(Reglamento de Exámenes y Títulos profesionales de la ESPOL).

Rafael Antonio Menoscal Izquierdo



TRIBUNAL DE EVALUACIÓN DE LA DOCENCIA

Ing. Jorge Faytong D.
Presidente del Tribunal

Ac. Henry Alvarez A.
Director de Tesis

Ing. Ecuador Marcillo Gallino
Miembro Principal

Jerry Landívar Z., M. Sc.
Miembro Principal

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por culminar con éxito la etapa educativa de mi vida. A mis Padres y en especial a mi Madre Rosalinda, quien ha sacrificado mucho por la superación de sus hijos...¡GRACIAS por ser ejemplo de lucha y fortaleza!. A mis hermanos. por el apoyo moral y el calor humano.

A Ketty María, por el amor y comprensión brindado; por todas las palabras de aliento que sirvieron para motivarme cada día.

Al Dr. Jorge Calderón, Director del C.E.N.A.I.M., por todas las facilidades y observaciones hechas en el desarrollo de la tesis.

Al Ac. Henry Alvarez, Director de Tesis, por sus observaciones y correcciones.

A Pablo Lombeida, Jefe de la División de Moluscos, por todos los consejos vertidos durante el desarrollo de la Tesis. A Lorena Schwarz por su ayuda en el diseño experimental y en la estadística. A María Helena Enriquez, de la División de Análisis Ambiental por el equipo prestado durante los muestreos.

A Norton Angel, Jacinto Baque y Víctor Granados, operarios de Moluscos, y a Marcos Espín, practicante de ESPOL, por su apoyo durante el desarrollo de los bioensayos.

Agradezco también a todo el personal del C.E.N.A.I.M. que de una u otra manera colaboraron en este trabajo.

Finalmente deseo agradecer a los directivos de la Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar de la ESPOL: Ing. Eduardo Cervantes Bernabé, Ing. Raúl Coello Fernández, Ing. José Chang Gómez por permitirme colaborar dentro del P-BID 198, donde he desarrollado el presente trabajo.

TABLA DE CONTENIDOS

TABLA DE CONTENIDOS.....	ii
INDICE DE FIGURAS.....	iv
INDICE DE TABLAS.....	v
INDICE DE ABREVIATURAS.....	vii
RESUMEN.....	ix
INTRODUCCION.....	1
1. ANTECEDENTES	6
1.1. EL CULTIVO DE MOLUSCOS EN EL ECUADOR	6
1.2. BIOLOGIA DE LA ESPECIE	7
1.2.1. División filogenética.....	7
1.2.2. Distribución geográfica.....	8
1.2.3. Sistema digestivo.....	8
1.2.3.1. Boca y esófago	9
1.2.3.2. Estómago y estilete cristalino	9
1.2.3.3. Digestión intracelular y glándula digestiva	11
1.2.3.4. Intestino, recto y ano.....	13
1.3. MECANISMOS DE ALIMENTACION POR FILTRO.....	14
1.3.1. Corrientes de agua y transporte ciliar.....	14
1.3.2. Eficiencia de retención y tamaño límite de partículas.....	14
1.3.3. Selección de partículas y producción de pseudoheces.....	16
1.4. CRECIMIENTO EN BIVALVOS	18
1.4.1. Estimadores de crecimiento.....	19
1.4.2. Crecimiento en relación a la concentración de alimento.....	20
1.4.3. Crecimiento en relación al tamaño de la ración.....	21
1.4.4. Crecimiento bajo diferentes regímenes de alimentación	24
1.4.5. Efecto de la temperatura sobre la alimentación.....	26
1.5. ASPECTOS NUTRICIONALES Y ALIMENTICIOS	27
1.5.1. Requerimientos nutricionales.....	27
1.5.1.1. Proteínas y aminoácidos.....	27
1.5.1.2. Carbohidratos	28
1.5.1.3. Lípidos, composición de ácidos grasos, y esteroides.....	28
1.5.1.4. Vitaminas	30

1.5.2. El rol de los micro-organismos.....	30
1.5.3. El rol de la Materia Orgánica Disuelta (MOD).....	32
1.6. MICROALGAS	33
1.6.1. Valor nutricional de microalgas en la acuicultura para varias especies	34
1.6.2. <i>Chaetoceros gracilis</i>	35
1.6.3. <i>Isochrysis sp.</i>	36
2. MATERIALES Y METODOS	38
2.1. ORIGEN Y ACLIMATACION DE LOS ANIMALES.....	38
2.2. CONDICIONES Y SISTEMAS DE CULTIVO	38
2.3. REGIMEN DE ALIMENTACION	39
2.3.1. Dietas de algas.....	40
2.3.2. Determinación del peso seco de las algas	41
2.4. DISEÑO EXPERIMENTAL	41
2.5. PARAMETROS DE CRECIMIENTO	42
2.6. PARAMETROS FISICOS Y QUIMICOS DEL AGUA	43
2.7. TRATAMIENTO DE DATOS Y ANALISIS ESTADISTICO.....	43
2.8. PRUEBA PRELIMINAR CON RACIONES MONOALGALES	44
3. RESULTADOS.....	45
3.1. TABLAS DE CRECIMIENTO	45
3.1.1. Prueba preliminar.....	45
3.1.2. Prueba final	46
3.2. ANALISIS ESTADISTICO.....	48
3.2.1. Parámetros físico-químicos del agua	48
3.2.2. Comparación de crecimientos	49
3.3. EFECTO DE LAS DIFERENTES RACIONES EN EL CRECIMIENTO	50
3.4. RACION OPTIMA DE ALGAS PARA EL CRECIMIENTO.....	52
DISCUSION	53
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	56
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	58
ANEXOS	62

INDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Sistemas de cultivo para juveniles de *Argopecten circularis*.....38

Fig. 2. Distribución de las réplicas dentro de Los bloques completos aleatorios.41

Fig. 3. Cambio de la Tasa de crecimiento diario durante el desarrollo del bioensayo para juveniles de scallops alimentados a diferentes raciones diarias.....49

Fig. 4. Tasa de Crecimiento diario para cada uno de los tratamientos. Promedio y desviación estándar de las cuatro semanas de cultivo.....50

Fig. 5. Curvas de crecimiento de juveniles de scallop *A. circularis* alimentados a diferentes raciones alimenticias.....51

Fig. 6. Peso vivo y peso seco final de juveniles de scallop. Promedio de tres réplicas; letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)....52

Fig. 7. Datos de temperatura (°C) y salinidad (UPS) registradas durante el desarrollo del bioensayo.....62

Fig. 8. Datos de oxígeno disuelto (O.D. = ppm) y pH registrados durante el desarrollo del bioensayo.....62

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Composición de cuatro microalgas usadas en el cultivo de juveniles de bivalvos. Las fracciones orgánicas han sido recalculadas como promedios % del contenido orgánico total.....	34
Tabla 2.	Composición de los ácidos grasos mayores de <i>Isochrysis sp.</i> en cultivos masivos, en diferentes fases de crecimiento y diferentes técnicas de cultivo.....	36
Tabla 3.	Diferentes tratamientos en la dieta de juveniles de <i>A. circularis</i>	41
Tabla 4.	Biomasa de scallops para la primera semana.....	44
Tabla 5.	Tasa de Crecimiento Diario (TCD) y peso vivo final después de 7 días de cultivo. Valores con igual exponente no presentaron diferencias significativas ($p \geq 0.05$).....	45
Tabla 6.	Tasa de Crecimiento Diario (TCD), peso vivo (PV) y peso seco (PS) final, y longitud de concha (LC) de juveniles de <i>Argopecten circularis</i> alimentados con diferentes raciones alimenticias. Valores con igual exponente no presentaron diferencias significativas ($p \geq 0,05$).....	47
Tabla 7.	Promedio y desviación estándar parámetros físicos registrados durante el desarrollo del bioensayo.....	48
Tabla 8.	Análisis de varianza de una vía. Prueba preliminar.....	63
Tabla 9.	Análisis de varianza de una vía. Prueba final (1ra semana).....	63
Tabla 10.	Análisis de varianza de una vía. Prueba final (2da semana).....	64
Tabla 11.	Análisis de varianza de una vía. Prueba final (3ra semana).....	64

Tabla 12. Análisis de varianza de una vía. Prueba final (4ta semana).....65

Tabla 13. Análisis de varianza de una vía. Prueba final (4ta semana b).....65



ABREVIATURAS

ANOVA =	análisis de varianza
cel. =	células
Chg =	<i>Chaetoceros gracilis</i>
cm =	centímetro
DHA =	ácido docosahexanoico ó 22:6n3
EPA =	ácido eicosa pentanoico ó 20:5n3
g =	gramo
HUFA =	ácidos grasos altamente insaturados
h =	horas
ind. =	individuos
IQF =	individually quick frozen
Iso =	<i>Isochrysis galbana</i> (clon T-Iso)
kg =	kilogramo
l =	litro
M =	molar
μ =	micras
μm =	micrómetros
mg =	miligramos
ml =	mililitros
mm =	milímetros
OD =	oxígeno disuelto
PH =	peso húmedo
PS =	peso seco
ρg=	picogramo
TCD =	Tasa de crecimiento diario
Tetra =	<i>Tetraselmis sp.</i>

UPS = unidades prácticas de salinidad

UV = ultra violeta

W = peso

RESUMEN

Es conocido ampliamente que la producción de microalgas, alimento por naturaleza de los moluscos bivalvos, es el principal obstáculo para la producción de juveniles de bivalvos. Con el propósito de determinar la cantidad de alimento que se requiere para cultivar juveniles de scallop (long. inic. 2.0 ± 0.2 mm), y las especies de algas que promueven tales crecimientos se desarrollaron dos bioensayos. El primer bioensayo fue desarrollado con tres diferentes dietas monoalgales a tres diferentes raciones durante siete días. Los scallops alimentados con *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros gracilis* obtuvieron las mejores tasas de crecimiento diario 3,03% y 1,60% respectivamente a diferencia de aquellos alimentados con *Tetraselmis chuii* que alcanzaron una tasa de crecimiento diario de -3,42%.

En base a lo observado en la primera prueba se desarrolló una prueba final de cuatro semanas de duración donde se propusieron cinco diferentes raciones alimenticias consistentes en 0, 1, 2, 4, 8% peso-específico de *Chaetoceros gracilis* e *Isochrysis galbana* en una proporción 50:50, además una ración de 4% de una dieta monoalgal a base de *Isochrysis galbana*. Las raciones fueron expresadas como raciones diarias peso específico tales como peso seco de algas por peso vivo⁻¹ de scallops; el peso seco de las microalgas fue de $117,2 \pm 29,2$ y $192,9 \pm 67,7$ picogramos para *I. galbana* (clon T-Iso) y *Ch. gracilis* respectivamente. Considerando el crecimiento diario de los animales las raciones fueron ajustadas diariamente. Los resultados obtenidos demostraron que la ración de 8% peso seco de algas/peso húmedo de bivalvos provocó crecimientos significativamente superiores ($p \leq 0,05$) que los tratamientos restantes.

INTRODUCCION

Luego de una larga experiencia con grandes triunfos en el desarrollo de la Acuicultura del camarón blanco *Penaeus vannamei*, la ESPOL intenta diversificar la industria acuícola en el Ecuador para lo cual se propone desarrollar la técnica de producción del scallop o concha abanico *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835).

Con el propósito de optimizar la técnica de cultivo de juveniles de scallop en laboratorios comerciales, hay que considerar los siguientes puntos:

1. Los laboratorios comerciales necesitan producir grandes cantidades de micro-algas para la producción de juveniles de bivalvos (Laing y Millican, 1986).
- 2.- Los juveniles de bivalvos representan la mayor biomasa en el laboratorio y demandan las mayores raciones, consumiendo los mayores volúmenes de algas (Coutteau y Sorgeloos, 1992).
- 3.- Algunos autores han reconocido en la producción de grandes volúmenes de micro-algas, la cual es una labor intensiva y con requerimientos de facilidades especializadas, como el principal obstáculo para el cultivo de juveniles de bivalvos. (Persoone y Claus, 1980; Urban y Langdon, 1984 *en* Coutteau & Sorgeloos, 1992).

Considerando los criterios anteriormente señalados se debe optimizar el alimento ofrecido en el crecimiento de juveniles de scallop. Optimizando el alimento (cultivos algales), se esta aprovechando el capital económico que constituye el principal patrimonio de un laboratorio acuícola.

Un óptimo régimen de alimentación requiere el conocimiento del rango de la concentración que puede ocurrir en el sistema asi como también la ración que provoca un rápido crecimiento.

La concentración de alimento a través de su efecto sobre el mecanismo para alimentación y digestión, determinarán la ración ingerida por animal y la eficiencia con la cual esta última será utilizada.

Walne y Spencer (1974 *en* Coutteau, 1991) establecieron en investigaciones que examinaron el efecto de varias condiciones de cultivo sobre el crecimiento de juveniles de bivalvos, que la cantidad de alimento disponible por juveniles es más importante que cualquier factor explorado.

En la literatura varios métodos son usados para expresar la ración de los bivalvos. Para mantener una relación entre la ración con la concentración a la cual el alimento es ofrecido, algunos autores se refieren a la densidad celular la cual es ofrecida diariamente alimentando con una cantidad constante de alimento, independiente de la talla de la juveniles (*e.g.* Langton & McKay, 1976; Hollett & Dabinett, 1989 *en* Coutteau, 1991).

Por esta razón, las raciones de alimento son a menudo expresadas como raciones diarias de peso-específico, tales como número de células (Pruder *et al.*, 1976 *en* Coutteau 1991) o peso seco (Urban *et al.*, 1983 *en* Coutteau, 1991) de algas por peso vivo de bivalvos.

Alimentar animales con una cantidad constante de alimento por individuo provoca una disminución de la ración peso-específico a medida que el animal crece. En esta forma, Walne & Spencer (1974, *en* Coutteau, 1991) obtuvieron los máximos crecimientos de *O. edulis* alimentandolos a una ración de 10^7 células de *Tetraselmis* por juveniles por 21 días de cultivo. Aunque estos últimos autores intentaron compensar el crecimiento alimentando a 20%, 30%, y 50% del total de la ración durante la primera, segunda y tercera semana respectivamente, el peso-específico disminuyó desde 35% a 2% del peso vivo de ostra. Similarmente, si una ración constante de peso-específico es deseada a través del experimento, las raciones que son basadas en la biomasa inicial de la juveniles debería ser frecuentemente ajustada en proporción al crecimiento. Tales ajustes son especialmente importantes en los experimentos de crecimiento con juveniles bivalvos en

los cuales la tasa de crecimiento en peso-específico son altas, provocando una sustancial disminución en las raciones peso-específico sobre periodos cortos de tiempo (Urban *et al.*, 1983 en Coutteau & Sorgeloos, 1992).

De las diferentes especies de algas aisladas desde los océanos son pocas las que promueven buenos crecimientos en los bivalvos (Laing y Millican, 1986). Algunas algas son más nutritivas que otras (Webb y Chu, 1983).

Autores como Walne (1970), Webb y Chu (1983), Laing y Millican (1986), Volkman *et al.* (1989) y Brown (1990) han determinado que de todas las especies de algas aisladas de los océanos, las especies que promueven los mejores crecimientos en juveniles de bivalvos son los géneros de *Isochrysis sp.*, *Chaetoceros sp.*, *Tetraselmis sp.*, *Skeletonema sp.* y *Thalassiosira sp.*

Lo anteriormente citado es corroborado con las continuas investigaciones hechas por Coutteau, Sorgeloos *et al.* en esta última década, quienes concluyen que *Isochrysis galbana* (clon T-Iso) y *Chaetoceros gracilis* se han convertido en las especies de algas más importantes en la alimentación de juveniles de bivalvos.

Además considerando el principio alimenticio que establece que, en el cultivo o crianza de organismos vivos, el aporte de dietas conformadas con diferentes especies de algas es más nutritivo que el aporte de dietas que ofrecen únicamente una sola especie de alga, se planificó para la presente tesis el uso de una dieta conformada por *Isochrysis galbana* (clon T-Iso) y *Chaetoceros gracilis* en una proporción 50:50.

Con el propósito de alcanzar los objetivos señalados, en el presente trabajo se ha planificado trabajar con 5 tratamientos (0, 1, 2, 4, 8% del peso vivo de scallop) ofreciendo la dieta anteriormente indicada, además de una ración de 4% en peso específico con *Isochrysis galbana* (clon T-Iso) como alimento. Se mantuvieron tres réplicas por cada tratamiento, las mismas que fueron distribuidos al azar en bloques.

Coutteau *et al.* (1994) sugiere que la tasa de crecimiento diario (TCD) puede ser utilizada para comparar el efecto de las dietas sobre el crecimiento de los juveniles, ya que este valor permite hacer comparaciones entre experimentos que difieren en el peso vivo de la juveniles al inicio de las pruebas. Laing y Millican (1986) agregan además que la ecuación de la tasa de crecimiento diario hace posible una comparación entre las pruebas con varias especies de bivalvos bajo diferentes condiciones de cultivo, tales como calidad y cantidad del control del tratamiento algal.

El análisis estadístico incluyó el análisis de varianza, además de la prueba de rangos múltiples Scheffé a los resultados obtenidos en las réplicas de los diferentes tratamientos.

Se utilizó juveniles de scallop de $2,0 \pm 0,2$ mm (spat) obtenida a través de los desoves previa maduración de los reproductores (adultos de tallas >50 mm) capturados en la costa ecuatoriana. La densidad de la juveniles fue de $0,1 \text{ g/l}$, mantenida en acuarios de 15 l a una temperatura de 27°C y 35 ppt de salinidad.

Diariamente se monitorearon los parámetros físico-químicos del agua (oxígeno disuelto, pH, temperatura, salinidad e intensidad de luz), y cada semana se determinó el peso vivo, longitud y altura de concha a partir de 3 muestras tomadas al azar.

1. ANTECEDENTES

1.1. EL CULTIVO DE MOLUSCOS EN EL ECUADOR

En Ecuador las primeras experiencias sobre este tipo de cultivo comenzaron en 1988 cuando se importó juveniles de la ostra japonesa *Crassostrea gigas* de Chile y luego de un periodo de aclimatación en los laboratorios de la Escuela Superior Politécnica del Litoral, se los sembró en dos camaroneras localizadas en el Golfo de Guayaquil, una en el estero Carrizal y otra localizada en Ayalán; los resultados obtenidos revelaron la posibilidad de cultivar moluscos en aguas utilizadas normalmente para el cultivo de camarones (Osorio, 1989). En 1989 se realizó un cultivo piloto para determinar la posibilidad de cultivo de almeja *Tapes japonica* en el canal de entrada de una camaronera localizada en Sabana Grande; en el Golfo de Guayaquil; los resultados obtenidos reafirmaron la posibilidad de cultivar este tipo de organismos en aguas de camaroneras.

Las primeras experiencias con el scallop *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) fueron realizados por el C.E.N.A.I.M. a finales de 1990, cuando empezaron a madurar reproductores adultos en laboratorio. Para 1991 se estaban desarrollando las primeras experiencias de la larvicultura de la especie, los juveniles producidos se utilizaron en experiencias de engorde en piscinas camaroneras. Los resultados de las experiencias desarrolladas por el C.E.N.A.I.M. revelaron que dicha especie posee un alto potencial acuícola .

Los mercados principales de scallops se encuentran en los Estados Unidos y en Francia. En Estados Unidos, aceptan solamente la presentación conocida como callos o "scallops meats" congelados en bloque o IQF. Los "scallops meats" es el músculo aductor del organismo que representa la tercera parte del peso fresco de los tejidos. Su forma es cilíndrica (aproximadamente 3,5 cm de altura por 2,0 cm de diámetro), cremoso y de textura blanda. Los precios de los scallops varían de acuerdo a su tamaño. En un cultivo

típico, el 35% de scallops *Argopecten circularis* produce callos dentro del calibre 40/60 por libra (11,3-7,5 g/meat), y el restante 65% dentro del calibre 60/80 (7,5-5,7 g/meat). Debido a que el scallop meat es solamente el músculo, no existen regulaciones importantes que impidan su introducción a los Estados Unidos (Maeda *et al.*, 1991)

Otro de los mercados importantes es el mercado francés. Dependiendo del calibre, los precios fluctúan entre 6 y 14 dólares por kilogramo. En Francia, el producto se compone del aductor con la gónada adherida (roe-on) congelado IQF. Esto para el productor, representa una gran ventaja, la gónada adherida constituye una tercera parte adicional del peso total de los tejidos, por lo tanto se aprovechan las dos terceras partes de la carne del animal, en lugar de un tercio como ocurre en los scallops meats (Maeda *et al.*, 1991).

1.2. BIOLOGIA DE LA ESPECIE

1.2.1. División filogenética

Filum: Mollusca

Clase: Pelecípoda

Subclase: Pterimorhia

Orden: Mytiloida

Superfamilia: Pectinacea

Familia: Pectinidae

Género: *Argopecten* MONTEROSATO, 1889

Argopecten circularis (Sowerby, 1835)



Concha de talla mediana; de forma orbicular; gruesa y convexa. Escultura con 20 - 22 costillas radiales; en la valva izquierda éstas son angostas, separadas por amplios interespacios cubiertos por finísimas lamelas concéntricas de crecimiento; en la valva derecha las costillas son anchas, rectangulares y aplanadas con interespacios angostos y profundos. Externamente el color es variable; la valva izquierda casi siempre más oscura que la derecha con manchas rojo-púrpura a café; la valva derecha generalmente de un solo color, amarillo, blanco, rosado o jaspeado con líneas en V invertida de color café oscuro. Ambas valvas tienen la cara interna blanca a excepción de la valva izquierda presenta manchas cafés o violeta en la cavidad del umbo y en las aurículas.

Longitud = 45,0 mm, altura = 42,02 mm

1.2.2. Distribución geográfica

Habita en aguas moderadamente profundas entre 20 y 41 metros de profundidad, sobre un sustrato mixto, areno-fangoso, fangoso, arena gruesa o sobre rocas asociadas con algas, corales o gorgonias (Mora, 1990).

La especie esta distribuida desde la Isla Cedros, Baja California, a lo largo del Golfo de California hasta Paita, Perú, en América del Sur. En el Ecuador se la encuentra en la Provincia de Esmeraldas, Jaramijó, Manta, Puerto Cayo, Machalilla, Salango, Punta de Santa Elena, Playas (Mora, 1990).

1.2.3. Sistema digestivo

El sistema digestivo del scallop esta formado por la boca, esófago, estómago y estilete cristalino, glándula digestiva, intestinos, recto y ano. Su anatomía y fisiología es similar a la de otros bivalvos, con varias características primitivas que se detallan a continuación.

1.2.3.1. Boca y esófago

Las partículas envueltas en mucus forman un cordón de mucus la cual ingresa a la boca desde la estría oral ubicada en la base de los palpos labiales. La boca es una abertura simple que se comunica con el esófago estrecho y ciliado. Los movimientos de los cilios de la boca y el esófago ayudan a empujar los cordones de mucus hacia el estómago.

De acuerdo a Dakin (1909 *en* Shumway, 1991), las células que cubren el canal alimenticio de *Pecten maximus* son todas muy similares. El epitelio interno esta formado por células ciliadas largas y estrechas, por debajo de las cuales se encuentra una capa delgada de tejido conectivo denso y una capa espesa de tejido conectivo cruzado por hilos de músculo suave.

1.2.3.2. Estómago y estilete cristalino

De acuerdo al sistema de clasificación de Purchon (1957 *en* Shumway, 1991), los scallops poseen un estómago tipo IV con las siguientes características:

El esófago ingresa al estómago anteriormente y parcialmente por la parte dorsal. El estómago es de forma oval, con pliegues irregulares y depresiones delimitando diferentes regiones. Un saco cristalino se proyecta a través del estómago dentro de una campana dorsal muy desarrollada, la cual esta situada justo sobre el escudo gástrico. El estilete origina al saco-estilete, el cual está asociado al intestino en los pectínidos. Dependiendo de su grado de desarrollo, el estilete puede ocupar la mayoría del lumen de la porción descendente del intestino. El término histórico "cristalino" es obsoleto, debido a que el estilete no es cristalino, y podría presumirse que el adjetivo se refiere a su coloración amar translúcida.

La composición exacta del estilete cristalino no es conocida todavía. Usando métodos muy rudimentarios, Dakin (1909 *en* Shumway, 1991) detectó sustancias proteináceas

inespecíficas en el estilete de *Pecten sp.* En un estudio moderno de los estiletes de 12 especies de bivalvos, incluyendo *Pecten novaezelandae*, Judd (1987 en Shumway, 1991) concluyó que el estilete cristalino está compuesto probablemente por glicoproteínas del tipo mucina en lugar de glicosaminoglycanos, aunque todavía se desconoce como estas moléculas forman el gel sólido. Es presumiblemente secretado por las paredes del estómago (Dakin, 1909; Mathers, 1976 en Shumway, 1991). El estilete cristalino cumple un importante número de funciones en el proceso digestivo (Purchon, 1977 en Shumway, 1991):

- 1.- Arrastra el alimento al estómago desde el esófago. Los cordones de mucus son envueltos alrededor del estilete durante su rotación en el eje longitudinal. Esta rotación es afectada por los coordinados movimientos ciliares del estómago y epitelio intestinal.
- 2.- Tritura las partículas contra el escudo gástrico quitinoso, situado en la cabeza del estilete.
- 3.- Agita el contenido estomacal, poniéndolo en contacto con áreas corrugadas ciliadas de sorteo localizadas sobre las paredes internas del estómago. Estas áreas de sorteo o selección pueden rechazar partículas mayores dentro del intestino a través de un pliegue ciliar bien desarrollado llamado estría intestinal, previniendo así su ingreso dentro de los ductos de la glándula digestiva.
- 4.- Disuelve lentamente, liberando enzimas las cuales participan en la digestión extracelular. En un estudio de *Placopecten magellanicus*, Wojtowics (1972 en Shumway, 1991) identificó actividad relativamene alta de α -amilasa y laminarinasa desde el estilete cristalino. Estas enzimas originadas en el receptáculo del estilete; son incorporadas dentro del estilete a medida que este es secretado. Un ciclo de disolución-reconstitución ha sido observado en *Pecten maximus* sujeto a cambios diurnos en el flujo de corriente. este ciclo ha sido atribuido a variaciones en el pH del receptáculo del estilete como resultado de una actividad rítmica en los túbulos de la glándula digestiva. Esta actividad

rítmica en *P. maximus* y otros bivalvos costeros parece corresponder a distintos ciclos de alimentación como función de las mareas (Mathers, 1976 en Shumway, 1991).

El reciente descubrimiento de actividad bacteriolítica en bacterias asociadas con el estilete cristalino de *Mytilus edulis* (Seiderer *et al.*, 1987 en Shumway, 1991) aumenta la posibilidad de que alguna digestión extracelular por bacterias ocurre en los estómagos de otros bivalvos. Tales estudios deberían ser extendidos a los Pectínidos.

1.2.3.3. Digestión intracelular y glándula digestiva

Mientras que el estómago y el estilete cristalino son los principales sitios de la digestión extracelular, la digestión intracelular es llevada a cabo por dos muy diferentes categorías de células: células fagocíticas y células digestivas de la glándula digestiva. Los numerosos fagocitos a menudo observados en el estómago pueden ingerir la mayor materia particulada. Mientras que Owen (1966 en Shumway, 1991) no creía que los fagocitos podían migrar a otros tejidos remotos, Purchon (1977 en Shumway, 1991) encontró que esto realmente ocurre en algunos bivalvos.

La glándula digestiva es el mayor sitio de digestión intracelular. Los ductos principales de la glándula se abren lateralmente dentro de la ceca de selección de alimento (dos ductos en *Chlamys opercularis* y cuatro en *Pecten maximus*- Purchon, 1957 en Shumway, 1991). Los ductos principales se ramifican dentro de ductos secundarios y finalmente dentro de túbulos digestivos ciegos.

El mecanismo probable de ingreso de partícula dentro de los ductos y túbulos ha sido descrito por Owen (1955 en Shumway, 1991). Aunque los cilios del estómago y del ducto principal crean corrientes dirigidas fuera de los ductos principales, una corriente compensatoria es creada debido a la distribución de cilios sobre únicamente un lado del ducto principal. Esta débil contra-corriente permite el ingreso únicamente de las partículas más finas al ducto principal, dejando que las más grandes sean rechazadas a

través de la estría intestinal o ingeridas por los fagocitos. El movimiento de fluidos dentro de los ductos secundarios no-ciliados y los túbulos digestivos ciegos es llevada a cabo por aspiración, reemplazando los fluidos absorbidos por las células digestivas de los túbulos. Una vez más la débil corriente permite el ingreso únicamente de las partículas suspendidas más finas a los túbulos, las partículas más grandes caen al piso ciliado de los ductos y son eliminados hacia el estómago.

El rol exacto de las células secretoras no es conocido todavía, pero algunas enzimas encontradas en el lumen de los túbulos pueden ser liberadas por estas células. Su contribución a la digestión extracelular resta por ser delucidada. Las células secretoras lisan periódicamente, y son reemplazadas presumiblemente por células inmaduras flageladas y secretoras (Henry, 1987 *en* Shumway, 1991).

Varias fases digestivas pueden ser observadas dentro de los túbulos, debido a la evolución de los tipos de células. Cuatro fases fueron identificadas en varios bivalvos no-pectínidos (Robinson y Langton, 1980; Robinson *et al.*, 1981 *en* Shumway, 1991), considerando las cinco fases que han sido descritas para *Pecten maximus*. Sin embargo, hay una necesidad por investigar este fenómeno basado en datos cuantitativos y análisis estadísticos. Tal como ha sido hecho recientemente con la glándula digestiva de la langosta Americana (Allard *et al.*, 1988 *en* Shumway, 1991).

El carácter endocitótico pronunciado de la glándula digestiva puede relacionarse por la presencia de infecciones procarióticas de este órgano por organismos como la *Chlamydia* (Morrison y Shum, 1982 *en* Shumway, 1991). La glándula digestiva de *Placopecten magellanicus* contiene numerosas enzimas incluyendo α -glucosidasa, varias β -galactosidasas, laminarinasa, quitobiasa, y α -amilasa, pero no quitinasa. La distribución de enzimas en la glándula digestiva y estilete cristalino indican que muchos carbohidratos son digeridos intracelularmente en la glándula digestiva (Wojtowics, 1972 *en* Shumway, 1991).

1.2.3.4. Intestino, recto y ano

El resto del canal alimenticio de los pectínidos puede ser dividido en tres regiones de similar longitud: las porciones ascendentes y descendentes de los intestinos, y el recto. La porción descendente del intestino permite al estómago, pasar a través de la glándula digestiva y dentro de la gónada. En *Pecten maximus* y en *Placopecten magellanicus* el intestino continua casi a la extremidad distal de la gonada antes de voltear de regreso, por cuanto en *Chlamys opercularis* el intestino curva hacia atrás casi al nivel de la unión entre la porción ovárica y seminal de la gónada. La rama ascendente entonces vuelve a través de la glándula digestiva para seguir el curso previamente descrito.

Los tipos de células las cuales forman el intestino son similares a aquellas descritas para el canal alimenticio. Aunque varios estudios de la anatomía e histología del intestino han sido desarrollados en bivalvos no-pectínidos, pocos estudios detallados han sido realizados sobre la estructura celular del intestino de los scallops. Anteriores observaciones sin publicar revelan células con cilios y microvelocidades apicales, descansando sobre una espesa lamela basal. El tejido fundamental es conectivo-muscular. Numerosas mitocondrias están presentes, y células muertas son observadas frecuentemente.

La estructura celular del rectum ha sido estudiada en *Patinopecten yessoensis* (Usheva, 1983 en Shumway, 1991). Así como el resto del epitelio del tracto digestivo, esta región consiste principalmente de células ciliadas. Células productoras de mucus son raras, pero las mismas células ciliadas parecen ser capaces de secretar mucílago. La presencia de numerosas formas transicionales entre estos dos tipos de célula indican que las células ciliadas pueden ser transformadas en células mucosas. Fueron también observadas algunas células solitarias de origen aparentemente neuroendócrino, pero su función no ha sido determinada (Usheva, 1983 en Shumway, 1991).

El sistema digestivo del scallop termina en un ano el cual es curvado dorsalmente y apartándose del músculo adductor, de esta manera las heces son vaciadas en el flujo de agua excurrente (Drew, 1906 *en* Shumway, 1991). El ano esta continuado por un labio prominente (Dakin, 1909 *en* Shumway, 1991), el cual en *Placopecten magellanicus* puede funcionar como un esfinter.

1.3. MECANISMOS DE ALIMENTACION POR FILTRO

1.3.1. Corrientes de agua y transporte ciliar

La evolución de la alimentación filtrante en moluscos bivalvos fue complementada con la modificación de las branquias como órganos de filtración equipados con cilios para crear corrientes de agua, y para coleccionar y transportar partículas de alimento. Por muchos años la taxonomía de bivalvos estuvo basada en la estructura y función de las branquias, bajo esta clasificación resultaron las obsoletas subclases Protobranquia, Lamelibranquia, y Septibranchia. Todos los bivalvos comercialmente importantes pertenecen a los Lamelibranquios y poseen órganos respiratorios y de suspensión de alimento altamente desarrollados compuestos de filamentos que están plegados y fijados a los filamentos adyacentes por cilios (filibranchias, *e. g.* scallops y mejillones) o por tejido conectivo (eulamelibranquios, *e. g.* ostras y almejas).

1.3.2. Eficiencia de retención y tamaño límite de partículas

La razón a la cual el alimento es filtrado esta determinado por la tasa de transporte de agua a través de las branquias (tasa de bombeo) así como la eficiencia con la cual las partículas son retenidas por las branquias.

La mayoría de estadios post-asentamiento de eulamelibranquios bivalvos con cirris laterofrontales bien desarrollados (*e. g.* mejillones y almejas) retienen partículas sobre 3-4

micras con una eficiencia de retención de 100 % (Molenberg & Riisgard, 1978; Riisgard, 1988; Sprung & Rose, 1988 *en* Coutteau, 1991). En contraste, el tamaño crítico para una eficiente retención de partícula es 7 micras en bivalvos con cilios laterofrontales simples, tales como scallops. La eficiencia cae a 35-90% para partículas de 2 micras, dependiendo de la especie (Molenberg & Riisgard, 1978 *en* Coutteau, 1991).

La habilidad de bivalvos para filtrar partículas inferiores a 2 micras, a más de varios reportes a cerca de la retención de bacterias, no esta bien documentada. Jorgensen (1975 *en* Coutteau, 1991) encontró una eficiencia de retención para cuentas de latex de 1 micra significando únicamente el 10% en *M. edulis*. Wright *et al.* (1982 *en* Coutteau, 1991) demostró en experimentos de campo y en laboratorio que de *Mytilus edulis*, *Mya arenaria*, *Geukensia demissa*, únicamente la última especie fue capaz de aclarar eficientemente bacterioplancton marino (87 % de partículas \leq 1 micra). Esto fue atribuido a la disposición más cercana y a la sobreposición más lateral de los cirri laterofrontales en las branquias de *G. demissa* comparado a otras especies.

Reid (1983 *en* Coutteau, 1991) concluyó sobre la base de contenido gástrico que existe una considerable variación interespecífica en los límites de tallas más grandes de partículas ingeridas de 10 micras para *Macoma calcarea* a 300-400 micras para *Macoma secta* y *Tridacna gigas*. Los scallops son capaces de consumir partículas relativamente grandes como fue demostrado por el contenido intestinal de *Placopecten magellanicus* con rangos que oscilaron entre 10 a 350 micras (Shumway *et al.*, 1987 *en* Coutteau, 1991). Sin embargo, la remoción de partículas de harina de maíz en un rango de tallas de 2 a 10 micras por la Ostra de roca Sidney fue más eficiente para partículas menores a 5 micras en diámetro (Wisely & Reid, 1978 *en* Coutteau, 1991). Alimentando *Crassostrea gigas* con varias suspensiones de arcilla pura, mostraron que únicamente la kaolinita (talla modal de 3-4 micras) fue eficientemente retenida, mientras que la ilita (62 % de las partículas $<$ 2,5 micras) y montmorilonita (63 % $>$ 5 micras) fueron, no retenidas o rechazadas respectivamente (Sornin *et al.*, 1988 *en* Coutteau, 1991). Gabbot

et al. (1976 *en* Coutteau, 1991) demostró por medio de microcapsulas que la media del diametro de las partículas ingeridas incrementó con la longitud de la concha de *Mytilus edulis* (variación de 16 a 50 micras para mejillones de una longitud de 0,8 a 4,5 cm). Las microcapsulas mayores a 100 micras fueron principalmente rechazadas por todas las clases de tamaños de mejillones.

Las larvas de bivalvos capturan partículas de alimento usando los cirris preorales del velum y son eficientes en retener partículas que son más pequeños que el tamaño de juveniles y adultos. Walne (1965 *en* Coutteau, 1991), usando algas marcadas con P³², demostró que las células con una talla entre 3 y 10 micras de diametro fueron igualmente bien ingeridas por larvas de *O. edulis*. También, Gallager *et al.* (1988 *en* Coutteau, 1991) mostró que las larvas de *M. mercenaria* pueden ingerir partículas entre 0,5 y 8 micras con igual eficiencia. Contrariamente, Riisgard *et al.* (1980 *en* Coutteau, 1991) mostró que veligers de 13 días de *M. edulis* retuvieron partículas de 1 a 2 micras de diametro con únicamente un 20 % de eficiencia con las cuales partículas de 2,5 a 3,5 micras fueron separadas.

1.3.3. Selección de partículas y producción de pseudoheces

Sobre el punto de inicio de una concentración los bivalvos son capaces de regular la ingestión, rechazando el exceso de partículas filtradas a los palpos labiales y eliminarlas como pseudoheces a través del sifón inhalante. La alimentación selectiva es posible, discriminando entre tipos de partículas y rechazando selectivamente partículas como pseudoheces.

Los primeros autores creyeron que los bivalvos son capaces de ingerir preferentemente partículas nutritivas de alimento y rechazar partículas grandes y partículas minerales densos (revisado por Jorgensen, 1966 *en* Coutteau, 1991). Subsecuentemente, esto fue desafiado por algunos investigadores (revisado por Winter, 1978 *en* Coutteau, 1991),

tales como Foster-Smith (1975) quien mostró que las tres especies de bivalvos no eran capaces de ingerir selectivamente *P. tricornutum* de una mezcla de algas con partículas de alumina. Contrariamente, trabajos más recientes han demostrado nuevamente que los bivalvos pueden ingerir discriminadamente algas a partir de suspensiones mezcladas de sedimentos de algas (Kiorboe & Mohlenberg, 1981; Newel & Jordan, 1983 *en* Coutteau, 1991) como también mezclas de microalgas de tamaño similar (Ten Winkel & Davids, 1982; Shumway *et al.*, 1985 *en* Coutteau, 1991) a través del rechazo selectivo de partículas como pseudoheces. La eficiencia de selección se encontró que variaba de acuerdo a las especies y al origen de los bivalvos, y pudo estar correlacionado con la longitud de los palpos labiales (Kiorboe & Mohlenberg, 1981 *en* Coutteau, 1991).

Cabe resaltar que esta selección "pre-ingestión" es posible únicamente cuando las pseudoheces son producidas. De esta manera, las especies que regulan su tasa de ingestión a concentraciones de alimento más alta a través de la producción continua de pseudoheces (*e.g.* mejillones, ostras, almejas), muestran una eficiencia de selección más alta que las especies que principalmente reducen su tasa de filtración (Coutteau, 1991).

Hasta ahora, el mecanismo para la selección de partículas pre-ingestión no está bien entendido. Más aún, la evidencia para lo último inició una controversia en el rol ampliamente aceptado del mucus en el mecanismo de alimentación de bivalvos, *i. e.* embebiendo partículas retenidas por las branquias para transportarlas como cordones de mucus cargado de alimento, a la boca y esófago, donde los cordones son arrastrados al estómago por la acción de molinete del cristalino (Barnes, 1980 *en* Coutteau, 1991). Es verdaderamente difícil considerar cualquier mecanismo para la selección de partículas ligado a cordones de mucus. Mohlenberg (1981 *en* Coutteau, 1991) observó que únicamente las partículas rechazadas como pseudoheces fueron embebidas en mucus, mientras que las partículas en el esófago estaban suspendidas libremente. Sin embargo, esto último fue contradicho nuevamente por las observaciones de Beninger & Benhalima (1990 *en* Coutteau, 1991). Newell & Jordan (1983 *en* Coutteau, 1991) hipotetizaron que

los cambios en la viscosidad del mucus en los palpos labiales permitiría la formación temporal de partículas individuales las cuales pueden ser sujetas a prueba por los quimiorreceptores, y seleccionadas para la ingestión o re-incorporación en el mucus, previo a la eliminación de pseudoheces.

La delucidación de las bases para la selección podría ser de mayor importancia en determinar las características óptimas (*e. g.* talla, densidad y superficie) de las partículas usadas en dietas artificiales, tales como levaduras y microcápsulas (Malouf & Bricelj, 1989 *en* Coutteau, 1991). Muy poco es conocido acerca de los criterios de selección de alimento suspendido en bivalvos, aunque parece que ellos seleccionan en base a la composición bioquímica en lugar de hacerlo en base a la gravedad específica y el tamaño de las partículas (Newell & Jordan, 1983 *en* Coutteau, 1991).

1.4. CRECIMIENTO EN BIVALVOS

El éxito del cultivo de bivalvos depende de brindar una adecuada ración de alimento. Aunque el aspecto cualitativo de los requerimientos de alimento han sido tratados en numerosas publicaciones, la relación entre talla y crecimiento no han sido adecuadamente estudiadas para muchos bivalvos. Un óptimo régimen de alimentación requiere el conocimiento del rango de la concentración que puede ser permitido ocurrir en el sistema así como también la ración que provoca un rápido crecimiento. La concentración de alimento, a través de su efecto sobre el mecanismo para alimentación y digestión, determinarán la ración ingerida por animal y la eficiencia con la cual esta última será utilizada. Los límites para la concentración de alimento en cambio forzan restricciones sobre la tecnología del cultivo (*e.g.* frecuencia de alimentación en cultivos batch, tasa de flujo en el flujo a través del sistema, densidad animal) para alimentar a una ración adecuada.

1.4.1. Estimadores de crecimiento

El crecimiento puede ser definido como un cambio, ya sea positivo o negativo, en la talla de un organismo o el promedio de la talla de una población (Malouf & Bricelj, 1989 *en* Coutteau, 1991). Varias medidas son usadas para expresar la talla de un bivalvo (un solo individuo): medidas lineales tales como longitud de concha (máxima dimensión antero-posterior, paralela a la charnela) y altura de concha (máxima dimensión dorso-ventral), medidas de volumen, o medidas de peso tales como peso vivo total o peso de tejido suave (húmedo, seco, o peso orgánico).

Indistintamente de como es determinada la talla, el crecimiento puede ser expresado como un cambio absoluto o como un cambio relativo en la talla. Aunque la tasa de crecimiento absoluto es principalmente aplicado a sistemas de cultivo (*e.g.* mm por mes), esto no permite la comparación entre animales de diferentes tallas. En respuesta a esto, varias fórmulas han sido propuestas para calcular tasas adimensionales de crecimiento relativo.

Cuando el crecimiento es exponencial, una tasa de crecimiento instantánea (k) puede ser calculada como (*e.g.* Urban *et al.*, 1983 *en* Coutteau, 1991):

$$k = \frac{1}{t_2 - t_1} \ln (W_2/W_1)$$

donde W_1 y W_2 son, respectivamente, el peso inicial y el final (u otra medida de talla); t_2-t_1 es el tiempo transcurrido (principalmente en días). El coeficiente k puede ser multiplicado por 100 para expresar el crecimiento por día.

Cuando el incremento en el crecimiento es pequeño y el intervalo de tiempo $t_2 - t_1$ es corto, k puede ser aproximado por el promedio de la tasa de crecimiento relativo (PTCR), calculado como (Malouf & Bricelj, 1989 *en* Coutteau, 1991).

$$PTCR = \frac{W_2 - W_1}{(W_2 - W_1) \times 0.5 \times (t_2 - t_1)}$$

Finalmente, el crecimiento puede ser computado directamente como una Tasa de crecimiento diario (TCD), expresado como porcentaje del incremento por día (Gutierrez, 1990 *en* Coutteau, 1991):

$$TCD = \left[\frac{1}{t_2 - t_1} \left(\frac{W_2}{W_1} - 1 \right) \right] \times 100$$

1.4.2. Crecimiento en relación a la concentración de alimento

El efecto combinado de la saturación de la ingestión de alimento y la reducida eficiencia de absorción a altas densidades de algas hace que la tasa de crecimiento de bivalvos sean a menudo maximizadas a concentraciones intermedias de células. Además, esto es corroborado por la determinación del alcance del crecimiento a partir de los balances de energía de varias especies de mytilidos. En la mayoría de estudios, la máxima tasa de crecimiento y el alcance del crecimiento fue obtenido a concentraciones de algas que oscilaron entre 1 a 3 microgramos de peso seco por mililitro.

Walne (1970 *en* Coutteau, 1991) evaluó el valor alimenticio de 25 especies de algas a varias concentraciones para el cultivo de juveniles de seis bivalvos pertenecientes al género *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mercenaria* y *Mytilus*. Él concluyó que la densidad de células a la cual los más grandes crecimientos fueron obtenidos estaban relacionados al volumen mediano celular de las algas y aproximado a 5000 micrómetros cúbicos de material algal por microlitro (o menos cuando el volumen celular fue inferior a 10 micrometros cúbicos), siendo equivalente para el ejemplo 90 células de *I. galbana* por microlitro. Un manual para el cultivo en laboratorio de ostras recomendaba concentraciones de algas entre 60-100 células de *I. galbana* por microlitro (Wilson, 1981 *en* Coutteau, 1991).

1.4.3. Crecimiento en relación al tamaño de la ración

El efecto de la concentración de alimento sobre el crecimiento es en efecto una reflexión de la cantidad de alimento ingerido. Los primeros trabajos examinando el efecto de varias condiciones de cultivo sobre el crecimiento de *O. edulis* reveló que la cantidad de alimento disponible por juveniles es más importante que cualquier otro factor explorado (Walne & Spencer, 1974 en Coutteau, 1991).

En la literatura varios métodos son usados para expresar la ración de los bivalvos. Para mantener una relación entre la ración con la concentración a la cual el alimento es ofrecido, algunos autores se refieren a la densidad celular la cual es obtenida diariamente para alimentar con una cantidad constante de alimento, independiente de la talla de la juveniles (e.g. Langton & McKay, 1976; Hollett & Dabinett, 1989 en Coutteau, 1991). Sin embargo, este método complica las comparaciones entre experimentos que difieren en densidad y talla de la juveniles, además de la especie de alga con la que se alimenta. Por esta razón, las raciones de alimento son a menudo expresadas como raciones diarias de peso-específico, tales como número de células (Pruder *et al.*, 1976 en Coutteau, 1991) o peso seco (Urban *et al.*, 1983 en Coutteau, 1991) de algas por peso vivo de bivalvos. Es necesario enfatizar que la exactitud de una ración diaria expresada en unidades de peso seco dependerá de la exactitud del análisis de peso seco del fitoplancton usado. Alimentar animales con una cantidad constante de alimento por individuo provoca una disminución de la ración peso-específico a medida que el animal crece. En esta forma, Walne & Spencer (1974) obtuvieron los máximos crecimientos de *O. edulis* alimentándolos a una ración de 10^7 células de *Tetraselmis* por juveniles por 21 días de cultivo. Aunque estos últimos autores intentaron compensar el crecimiento alimentando a 20%, 30%, y 50% del total de la ración durante la primera, segunda y tercera semana respectivamente, el peso-específico disminuyó desde 35% a 2% del peso vivo de ostra. Similarmente, si una ración constante de peso-específico es deseada a través del experimento, las raciones que son basadas en la biomasa inicial de la juveniles debería ser

frecuentemente ajustada en proporción al crecimiento. Tales ajustes son especialmente importantes en los experimentos de crecimiento con juveniles bivalvos en los cuales la tasa de crecimiento en peso-específico son altas, provocando una sustancial disminución en las raciones peso-específico sobre periodos cortos de tiempo (Urban *et al.*, 1983 *en* Coutteau, 1991).

A finales de los setentas, los investigadores de la Universidad de Delaware intentaron cuantificar la cantidad de algas requeridas para cultivar la ostra Americana *Crassostrea virginica* a partir de huevo a tallas comerciales bajo condiciones óptimas (Pruder *et al.*, 1976; 1977; Epifanio & Ewart, 1977; Epifanio, 1979a *en* Coutteau, 1991). Para esto, ellos asumieron que el máximo crecimiento sería alcanzado cuando los animales eran alimentados con máximas raciones, *i.e.* tal como ellas pudieran filtrar del agua cuando el alimento en exceso era disponible. La máxima ración es directamente proporcional a la tasa de filtración a una concentración de alimento dada y, en cambio, la tasa de filtración (F) es relacionada a la talla del cuerpo (W) por la ecuación alométrica $F = aW^b$ (con b generalmente entre 0,62 y 0,82) (Winter, 1978; Malouf & Bricelj, 1989; Bricelj & Shumway, 1991 *en* Coutteau, 1991). Una ración Y de peso-normalizada podría ser entonces descrita por la ecuación:

$$Y = R/W = a W^{b-1}$$

donde Y es la ración diaria de algas (expresadas como número de células o peso seco) por gramo de peso de ostra viva, R y a son las raciones diarias para una ostra que pesa, respectivamente, W y 1 gramo, y b-1 es una constante. Ecuaciones alométricas similares que relacionan la máxima ración para la talla del cuerpo han sido derivadas por Winter (1978 *en* Coutteau, 1991) para mytilidos. Basadas en la máxima filtración de diferentes especies de algas por *C. virginica* de diferente talla y origen, varios valores para a y b-1 han sido propuestos.

El crecimiento de las ostras sobre las raciones derivadas a partir de éstas ecuaciones no han sido verificadas experimentalmente aún. Además, el valor predicho de estas ecuaciones para ostras que pesan menos de 1 g es muy dudoso, debido a que los mencionados valores fueron derivados a partir de experimentos usando principalmente animales grandes. Urban *et al.* (1983 *en* Coutteau, 1991) concluyó que la ración para un máximo crecimiento de la ostra Americana con tallas entre 11 a 64 microgramos fue probablemente mayor que el predicho por las ecuaciones alométricas de Pruder, Epifanio, y co-autores. Por otro lado, las raciones predichas alcanzan valores altos improbables para ostras con peso vivo menores a 10 microgramos.

Debido a que las raciones óptimas para máximos crecimientos variarán de acuerdo a las condiciones de cultivo, deben ser determinadas a través de estudios empíricos de crecimiento los cuales integren condiciones de cultivo con las fisiológicas, así como condiciones nutricionales, además de los requerimientos para máximos crecimientos de los bivalvos (Urban *et al.*, 1983 *en* Coutteau, 1991). Atendiendo a esto existen muy pocos datos disponibles en la literatura, además, la información requerida para calcular raciones de peso-específico son a menudo ausentes. Los datos publicados por Urban y co-autores fueron calculados para mostrar la relación entre tasa de crecimiento y raciones iniciales diarias para *C. virginica* (entre 11 a 28 microgramos de peso vivo inicial). El máximo crecimiento fue obtenido a las mayores raciones diarias iniciales de 4,6% la cual fue equivalente a una ración diaria efectiva de únicamente 2,8%, a pesar de los ajustes semanales de la ración debidos al crecimiento (Urban *et al.*, 1983 *en* Coutteau, 1991). Existen datos similares para juveniles de *M. mercenaria* (25 microgramos de peso vivo) para raciones de alimento menores 1% (Urban & Pruder, en publicación *en* Coutteau, 1991).

La ración óptima parece depender de la especie y las condiciones de cultivo de las algas que forman la dieta. Enright *et al.* (1986 *en* Coutteau, 1991) evaluó el valor nutricional de 16 especies de fitoplancton usados en la dieta de *O. edulis* (5-25 mg peso inicial vivo)

en raciones que oscilaron entre 0,1 a 6,0% del peso vivo de ostra y encontró que la ración óptima de algas difería de acuerdo a la especie de alga. En la misma forma, Epifanio & Ewart (1977 *en* Coutteau, 1991) demostraron que la ración diaria óptima removida de la suspensión por *C. virginica* (15 g de peso vivo) varió de 0,4% para *T. pseudonana* y *Carteria chuii* a 1,5% para *I. galbana*. El crecimiento de juveniles de *O. edulis* alimentados con cultivos limitados en nutrientes de *C. gracilis* fue saturado a una ración alimenticia de $\pm 2,5\%$ PS PH⁻¹ día⁻¹, considerando que las ostras alimentadas con algas creciendo en un medio completo mostraron un máximo crecimiento entre 2,5 y 4,9% (Enright *et al.*, 1986 *en* Coutteau, 1991).

Las raciones de alimento usadas en práctica están a menudo por encima de los valores reportados como óptimos en la literatura. Helm (1990 *en* Coutteau, 1991) recomendó una provisión de alimento diario equivalente a 57 g de peso seco de algas por kilogramo de peso vivo de ostra y juveniles de almeja mantenida en sistemas de recirculación. En un laboratorio español, la rutina de alimentación consiste en el 4% de peso seco de alga por peso vivo de juveniles (Gutierrez, comunicación personal, 1990 *en* Coutteau, 1991). Posiblemente, raciones mayores de alimento son requeridas para compensar las pérdidas debidas al asentamiento del alimento en sistemas a mayor escala.

1.4.4. Crecimiento bajo diferentes regímenes de alimentación

La mayoría de investigadores se han dedicado a definir la concentración óptima de alimento o raciones que son necesarias para obtener los mayores crecimientos en bivalvos. Sin embargo, muy pocos estudios se han realizado con respecto a la interrogante de como dar una cantidad fija de alimento para obtener el mejor crecimiento.

Winter & Langton (1976 *en* Coutteau, 1991) demostraron que la tasa de crecimiento de *M. edulis* que fueron alimentadas a tres concentraciones de alimento constantes fueron aproximadamente dos veces mayores que aquellos mejillones que ingirieron la misma

ración de alimento por día bajo regímenes discontinuos de alimentación (alimentados con la misma ración a intervalos de 1 ó 4 horas). Como resultado de esto, los últimos autores postularon que el crecimiento en sistemas artificiales de Acuicultura pueden ser maximizados manteniendo una relativamente constante concentración alta de alimento (entre nivel B y C). Esto reduciría la energía invertida en filtración, evitar la formación de pseudoheces, y excluir el resto de periodos en alimentación y digestión debido al agotamiento de alimento. Contrariamente, Langton & McKay (1976 en Coutteau, 1991) revelaron que la alimentación discontinua (una vez al día, cada 6 horas, o cada 3 horas) dieron mejores crecimientos en juveniles de *C. gigas* que la alimentación continua con la misma cantidad de alimento. Los últimos autores atribuyeron esto a un mayor consumo de alimento y eficiencia de alimentación cuando las ostras son expuestas a concentraciones pico que cuando se alimenta de una manera constante, aunque a niveles inferiores de alimento, y un ahorro de energía durante el resto de periodos cuando la concentración de alimento fue más baja que el inicio para estimular la alimentación.

Estos aparentemente contradictorios hallazgos pueden ser explicados por las diferencias metodológicas entre los experimentos. Winter & Langton (1976 en Coutteau, 1991) compararon el crecimiento de mejillones que ingirieron raciones similares bajo regímenes diferentes de alimentación, mientras que Langton & McKay (1976 en Coutteau, 1991) intentaron relacionar el crecimiento a la forma de presentar la misma cantidad de alimento. En el último caso, la distribución de la ración de alimento sobre un régimen continuo probablemente habría reducido la tasa de ingestión debido a las concentraciones más bajas de alimento, causando la tasa de crecimiento más baja. Sin embargo, permanece sin explicación porque el crecimiento de *M. edulis*. ingiriendo la misma ración a concentraciones más bajas, fue dos veces más bajo en el régimen de alimentación discontinuo que sobre el régimen continuo. Es improbable que esto sea debido a una reducción en los costos energéticos por el proceso de filtración, debido a

que las últimas determinaciones indican una pequeña fracción del metabolismo (3,0% a 7,6% en *M. chilensis*, Navarro & Winter, 1982 en Coutteau, 1991).

Detrás del efecto sobre la fisiología de la alimentación, el régimen de alimentación juega un papel importante en la disponibilidad de alimento, especialmente cuando las partículas tienden a agruparse y a sedimentarse. La limitada disponibilidad de alimento en cultivos de *C. virginica* alimentados con partículas de microgel por lo tanto resultó en un significativo más bajo crecimiento comparado con ostras alimentadas continuamente (Langdon & Siegfried, 1984 en Coutteau, 1991).

1.4.5. Efecto de la temperatura sobre la alimentación

El efecto de la temperatura sobre la tasa de filtración de bivalvos esta bien documentada en la literatura. El coeficiente de temperatura Q_{10}^2 , el cual provee una medida para la dependencia de la tasa de filtración sobre la temperatura, varía de acuerdo a la especie y el rango de temperatura estudiado, siendo generalmente más alto a rangos de temperaturas más bajas (revisado por Winter, 1978; Malouf & Bricelj, 1989 en Coutteau, 1991). En *M. edulis*, la tasa de filtración es independiente de la temperatura (Q_{10}^1) entre 10 y 20 °C, mientras que hay una considerable reducción debajo de los 10 °C, o sobre los 25 °C. Similarmente, dependiendo de los límites de tolerancia térmica, un rango donde la filtración no fue influenciada por la temperatura fue encontrada para *Argopecten irradians* (10-26 °C: Kirby-Smith, 1970 en Coutteau, 1991) y *Mya arenaria* (5-20 °C: Lowe & Trueman, 1972 en Coutteau, 1991). Contrariamente, *Mercenaria mercenaria* mostró un incremento en la tasa de filtración con el incremento de la temperatura de aclimatación entre 12 y 25 °C (Hibbert, 1977 en Coutteau, 1991).

Muy poco es conocido acerca del mecanismo el cual imposibilita a los bivalvos a regular la tasa de filtración como una función de la temperatura. Recientemente, Jorgensen *et al.* (1990 en Coutteau, 1991) atribuyeron el incremento de la tasa de bombeo con la

temperatura en *M. edulis* a la disminución de la viscosidad del agua en lugar de al incremento de la frecuencia de bombeo de los cilios laterales de las branquias.

Winter (1978 en Coutteau, 1991) encontró eficiencias de asimilación significativamente más altas en *Modiolus* y *Arctica islandica* a 20 °C que a 4 ó 12 °C. Además, este último autor creyó que con un incremento de temperatura hay un cambio hacia un mayor y más amplio rango de concentración de alimento al cual las máximas cantidades de alimento son asimiladas.

1.5. ASPECTOS NUTRICIONALES Y ALIMENTICIOS

1.5.1. Requerimientos nutricionales

1.5.1.1. Proteínas y aminoácidos

Diferencias en el valor alimenticio de varias especies de algas no podrían estar correlacionadas con la variación de la cantidad o calidad de proteína (Walne, 1970; Enright *et al.*, 1986 en Coutteau, 1991). Los aminoácidos esenciales para el crecimiento han sido definidos para *Mytilus californianus* (Harrison, 1975 en Coutteau, 1991), aunque los niveles óptimos son desconocidos. Sin embargo, Brown (1991 en Coutteau, 1991) encontró que los niveles de aminoácidos esenciales en 16 especies de micro-algas usadas en maricultura fueron similares o mucho mayores que los niveles presentes en larvas de ostras y por lo tanto concluyeron que la composición de aminoácidos no puede ser crítica en la determinación del valor nutricional de aquellas algas.

1.5.1.2. Carbohidratos

Varios autores han enfatizado la importancia de los carbohidratos en la dieta, a lo largo del ciclo de vida de los bivalvos. La condición nutricional en términos de contenido de



energía para larvas de *Crassodoma gigantea* y *Patinopecten yessoensis* fue correlacionada con el contenido de carbohidrato antes que el contenido de lípidos o proteínas (Whyte *et al.*, 1989, 1990 *en* Coutteau, 1991). Comparando el crecimiento de *O. edulis* alimentados con *Ch. gracilis* de variada composición química, Enright *et al.* (1989 *en* Coutteau, 1991) encontraron indicios que es posible alcanzar mayores tasas de crecimiento con la presencia de carbohidrato adicional en la dieta, ya que éste provoca que sea proporcionada la adecuada proteína y los ácidos grasos esenciales. Dietas con altos niveles de carbohidratos (*e.g.* 60%) resultaron en producciones mayores de glicógenos en adultos de ostras, aunque esto último no necesariamente es un buen criterio para el valor nutricional (Castell & Trider, 1974 *en* Coutteau, 1991).

La composición de azúcar de los polisacáridos de microalgas mostraron mayores diferencias entre especies y clases (Brown, 1991 *en* Coutteau, 1991). De esta manera, la calidad de carbohidrato puede ser de significancia nutricional, debido a que la eficiencia con la cual el animal digiere los carbohidratos depende del tipo de polisacárido.

1.5.1.3. Lípidos, composición de ácidos grasos, y esteroides

Los lípidos, en particular el contenido de triacilglicerol, han sido reconocidos como un índice para el crecimiento potencial y viabilidad de larvas, y juveniles de varias especies de bivalvos (Gallager *et al.*, 1986; Laing & Millican, 1986 *en* Coutteau, 1991), aunque pocos autores reportan una correlación positiva entre el contenido total de lípidos en el alga y el crecimiento de bivalvos (Wikfors *et al.*, 1984 *en* Coutteau, 1991).

En contraste, varios experimentos han demostrado la importancia de ciertas clases de lípidos o ácidos grasos. Waldock & Nascimento (1979 *en* Coutteau, 1991) encontraron que la tasa de crecimiento de larvas de *C. gigas* estaba correlacionada con el contenido de lípidos neutros del alga usada como alimento. Los requerimientos de *C. gigas* para (n-3) HUFA fue mostrado por Langdon & Waldock (1981 *en* Coutteau, 1991) quien

aumentó el crecimiento de juveniles (spat) alimentada con *Dunaliella tertiolecta* (carente de (n-3) HUFAs de longitud de cadena mayor a C18) con la suplementación de microencapsulado C22:6n3. Debido a que el crecimiento fue satisfactorio con *Tetraselmis suecica*, la cual es deficiente en C22:6n3 pero contiene C20:5n3, cualquiera de estos HUFAs mostraron ser adecuados. Sin embargo, Waldock & Holland (1984 en Coutteau, 1991) mostraron que juveniles de ostras están en capacidad de alargar y desaturar precursores dietéticos, ésto a muy bajos niveles para sostener el crecimiento.

Datos contradictorios pueden ser encontrados en la literatura con respecto a los requerimientos de HUFA en larvas de bivalvos, la cual puede ser explicada por diferencias interespecíficas. Numaguchi & Nell (1991 en Coutteau, 1991) mejoraron el crecimiento larval de *S. commercialis* alimentado con algas con la suplementación de aceite de hígado de bacalao encapsulado, mientras que el crecimiento más bajo se obtuvo usando aceites vegetales o aceites de calamar conteniendo, respectivamente, niveles inferiores y mayores de HUFA. Larvas de la almeja Manila fueron cultivadas hasta su metamorfosis con *Nannochloris sp.* seca, la cual es deficiente de las cadenas largas de HUFAs (Laing *et al.*, 1990 en Coutteau, 1991). Debido a que el nivel de C22:6n3 incrementó durante el desarrollo larval, fue hipotetizado que las larvas podrían sintetizar cadenas largas de HUFA a partir de los ácidos grasos C18 de la dieta. Las larvas de *Tridacna gigas*, alimentados únicamente con microcápsulas, no mostraron un requerimiento de HUFA, el cual podría ser debido a su relativamente corta vida larval y grandes reservas de lípidos derivadas de la madre (Southgate *et al.*, en prensa en Coutteau, 1991).

Es generalmente aceptado que los bivalvos tienen una capacidad limitada para sintetizar de esteroides, y requieren fuentes dietéticas para el crecimiento y la sobrevivencia.

1.5.1.4. Vitaminas

Información acerca de los requerimientos de los moluscos bivalvos están restringidos a algunos experimentos de alimentación con dietas artificiales de composición química conocida la cual sustentó el desarrollo larval hasta la metamorfosis (Chu *et al.*, 1987 *en* Coutteau, 1991) y el crecimiento limitado de juveniles (Langdon & Siegfried, 1984 *en* Coutteau, 1991). Estas dietas contenían microcápsulas con paredes de lípidos conteniendo vitaminas solubles en grasa y en agua, respectivamente, la matriz y la inclusión de las cápsulas. Sin embargo, los requerimientos absolutos y los niveles óptimos de cada vitamina no han sido documentados.

1.5.2. El rol de los micro-organismos

La capacidad de los bivalvos de poder utilizar a las bacterias como fuente de alimento fue mostrado a fines de los 30 por Zobell & Feltham (1937 *en* Coutteau, 1991) quien demostró el crecimiento de *Mytilus californianus* alimentados con una dieta exclusiva de bacterias, y detectó una acción bacteriolítica en extractos del tracto digestivo. La ingestión de bacteria fue además demostrada para adultos (Prieur, 1981; Birkbeck & McHenry, 1982; Wright *et al.*, 1982; Bernard, 1989; Langdon & Newell, 1990 *en* Coutteau, 1991) así como en larvas de bivalvos (Douillet, 1990 *en* Coutteau, 1991). Por otro lado, estudios de la relación entre el tamaño de la partícula y la eficiencia de retención sugiere que las partículas inferiores a 1 micra no son generalmente, o a extremadamente bajas eficiencias, retenidas ya sea por bivalvos adultos o veligers. Esto excluiría el uso de bacterias como alimento a menos que ellas fueran agregadas o fijadas a partículas. En este caso, Prieur (1981 *en* Coutteau, 1991) observó que bacterias presentes en el estómago de *Mytilus edulis* fueron aglomeradas por mucus secretado por el animal o formaron micro-colonias de 4-6 micras de diámetro.

Sin embargo, algunas especies de bivalvos (*e.g. Geukensia demissa*) son capaces de retener eficientemente bacterioplancton con dimensiones menores a 1 micra. Nannociliados y flagelados, los cuales se alimentan principalmente de bacterias, tienen una talla entre 2 a 20 micras y pueden ser un nexo importante en la transferencia de nutrientes de bacterias para los bivalvos (Sherr *et al.*, 1986 *en* Coutteau, 1991).

El sistema digestivo de los bivalvos, mostrando altas concentraciones de la enzima bacteriolítica lisozima, parece estar bien equipado para la degradación de bacterias (McHenery *et al.*, 1979 *en* Coutteau, 1991). Birbeck & McHenery (1982 *en* Coutteau, 1991) demostraron, en *M. edulis*, la degradación de bacterias radioactivamente marcadas *in vivo* así como *in vitro* por extractos de las glándulas digestivas del mencionado molusco. Sin embargo, la degradación fue correlacionada con la sensibilidad de la bacteria a la lisozima a partir de cepas resistentes a la lisozima, que aunque fueron filtradas de la suspensión a tasas similares, fueron excretadas intactas.

Observaciones con microscopio electrónico del contenido del tracto digestivo de *M. edulis* revelaron células digeridas en el estómago mientras que las contenidas en el intestino posterior contenían bacterias intactas, particularmente cuando el mejillón ingirió *Vibrio sp.* (Prieur, 1981 *en* Coutteau, 1991). Los últimos autores hipotizaron que el intestino de los bivalvos puede ser un microbiotopo apropiado para ciertas bacterias que resisten la digestión, explicando la acumulación de, por ejemplo, coliformes en mejillones.

En medio ambientes con concentraciones bacterianas lo suficientemente altas, las bacterias pueden contribuir significativamente a la nutrición en bivalvos a través de alimentos suspendidos y funcionar como mediadores para la transferencia de nitrógeno inorgánico del agua de mar y carbón celulósico del material detrital a los bivalvos (Langdon & Newell, 1990 *en* Coutteau, 1991). La contribución de bacterias a los

requerimientos de los bivalvos por vitaminas y otros nutrientes esenciales no han sido estudiados.

En sistemas acuícolas, los ensayos son normalmente hechos para limitar el desarrollo de bacterias debido a que ellas pueden producir metabolitos tóxicos (Zobell & Feltham, 1937 *en* Coutteau, 1991), degradar y agrupar partículas de alimento (Masson, 1977; Langdon & Bolton, 1984 *en* Coutteau, 1991) y causar enfermedades (Brown, 1973 *en* Coutteau, 1991). Sin embargo, algunos estudios mostraron que la presencia controlada de microbios puede ser benéfica para los cultivos de bivalvos. Martin & Mengus (1977 *en* Coutteau, 1991) encontraron que el crecimiento de larvas *Mytilus megalloprovincialis* podrían ser mejorados con la suplementación de dietas algales con varias cepas bacterianas. Recientemente, Douillet (1990 *en* Coutteau, 1991) reportó que el crecimiento larval, la proporción de larvas que se fijan exitosamente, y la talla de la juveniles resultante puede ser incrementada en *C. gigas* por la adición de una cepa seleccionada de bacterias a concentraciones de 10^4 ó 10^5 ml⁻¹. Castgna (1990 *en* Coutteau, 1991) sugirió que un concentrado de bacterias comercialmente disponible podría ser útil para incrementar la sobrevivencia de juveniles de almeja (*M. mercenaria*) durante la fase de precría.

1.5.3. El rol de la Materia Orgánica Disuelta (MOD)

La hipótesis que la materia orgánica disuelta (MOD) puede jugar un rol significativo en la nutrición de organismos acuáticos fue introducido por Pütter (1909 *en* Coutteau, 1991). Únicamente recientes estudios, usando procedimientos analíticos avanzados para cuantificar concentraciones de moléculas orgánicas extremadamente bajas, bajo condiciones experimentales libre de bacterias, han evidenciado que los bivalvos marinos pueden adquirir y utilizar pequeñas moléculas orgánicas, tales como aminoácidos libres (Stephens, 1988; Manahan, 1989 *en* Coutteau, 1991) y varios monosacáridos así como azúcares complejos (Welborn & Manahan, 1990 *en* Coutteau, 1991). La captación de

MOD ocurre principalmente por transporte directamente dentro de la epidermis antes que a través del intestino y parece estar restringido a invertebrados marinos de cuerpo blando (Stephens, 1988 *en* Coutteau, 1991). La captación de azúcares simples y aminoácidos libres por adultos de *M. edulis* contribuyeron, respectivamente, 13% y 10% de los requerimientos de energía y nitrógeno de los mejillones (Gorham, 1988 *en* Coutteau, 1991). Una contribución similar de captación de glucosa en los costos de energía total de larvas veliger de *M. edulis* fue reportada por Melaouah (1989).

Otra prueba de la utilización de MOD es proporcionada por Langdon (1983 *en* Coutteau, 1991) quien mostró un crecimiento limitado, aunque significativo, de larvas de ostras axénicas sobre la fracción orgánica disuelta de una dieta artificial bifásica. También, una dieta de microencapsulado favoreció un mayor crecimiento de larvas de *Tridacna gigas* cuando se proporcionó extractos de levadura de pan y fertilizantes inorgánicos (Southgate *et al.*, en publicación *en* Coutteau, 1991).

En conclusión, los bivalvos marinos parecen alimentarse de una dieta bifásica a lo largo de su ciclo de vida, consumiendo alimento particulado a través del intestino y adquiriendo compuestos orgánicos de las soluciones a través de las branquias en los adultos o el velum en larvas (Stephens & Manahan, 1984 *en* Coutteau, 1991).

1.6. MICROALGAS

El fitoplancton es la base de la cadena alimenticia en el medio ambiente marino. Por lo tanto, las microalgas son indispensables en el cultivo comercial de varias especies de animales marinos como fuente alimenticia de todos los estadios de crecimiento de los moluscos bivalvos, estadios larvales de algunas especies de crustáceos, y primeros estadios de algunas especies de peces (Brown *et al.*, 1990).

Todas las especies de algas no son igualmente exitosas en promover el crecimiento y sobrevivencia de una especie de animal filtrador en particular. Las especies de algas

apropiadas han sido seleccionadas sobre la base de su potencial para ser cultivada masivamente, tamaño celular, digestibilidad, y sobre todo valor alimenticio para el animal al que se va alimentar. Varias técnicas han sido desarrolladas para cultivar esta variedad de alimento a gran escala, variando entre cultivos extensivos menos controlados a cultivos intensivos monoespecíficos. Sin embargo, la producción controlada de microalgas involucra procedimientos complejos y costosos. Una posible alternativa para paliar esta situación es la colección de algas del medio natural donde, bajo ciertas condiciones, éstas pueden ser abundantes.

También, para superar o reducir estos problemas y limitaciones asociadas con el cultivo de algas, varios investigadores han intentado reemplazar las algas usando dietas artificiales y/o suplementos como principal fuente alimenticia.

1.6.1. Valor nutricional de microalgas en la Acuicultura para varias especies

El valor nutricional de cualquier especie de alga para un organismo en particular depende del tamaño de la célula, digestibilidad, producción de productos tóxicos, y composición bioquímica. Esta última puede variar considerablemente de acuerdo a la especie de alga y las condiciones de cultivo de la misma; así tenemos que la composición bioquímica es dependiente de la concentración de nutrientes y la composición del medio de crecimiento, la temperatura, intensidad de luz y longitud de onda, fotoperíodo, y fase de cultivo a la cual se cosecha.

Tabla 1. Composición de cuatro microalgas usadas en el cultivo de juveniles de bivalvos. Las fracciones orgánicas han sido recalculadas como promedios % del contenido orgánico total (tomado de Cordero y Voltolina 1994)

	<i>Chaetoceros</i>	<i>Isochrysis</i>	<i>Phaeodactylum</i>	<i>Tetraselmis</i>
Proteína	60,3	65,4	59,1	68,9
Carbohidratos	16,0	12,3	16,7	14,0
Lípidos	23,7	22,3	24,2	17,1
Cenizas	18,6	7,2	16,8	17,1

El contenido de ácidos grasos altamente insaturados (HUFA), en particular el eicosapentanoico (20:5n3, EPA) y el docosahexanoico (22:6n3, DHA), es de mayor importancia en la evaluación de la composición nutricional de una especie de alga a ser usada como alimento de organismos marinos. La habilidad de biosíntesis de los HUFA (n:3) no está bien desarrollada en muchos peces marinos, moluscos bivalvos y camarones, los cuales deben ser provistos a través de la dieta. El contenido relativo de EPA y DHA, y la suma de HUFA (n:3) han sido determinadas para cuatro grupos comunes de microalgas. Todos los dinoflagelados contienen altos niveles de EPA, poseen moderados pero variables niveles de DHA, y una alta suma de HUFA (n:3).

Las diatomeas están caracterizadas por niveles altos de DHA y bajo contenido del otro HUFA (n:3). La variabilidad en HUFA (n:3) es más pronunciada en las algas verdes.

El crecimiento de animales alimentados de una mezcla de varias especies de algas a menudo es superior al obtenido cuando se alimenta únicamente con una especie. Esto ha sido atribuido a la compensación de deficiencias nutricionales en dietas con una sola especie de alga. Un alga en particular puede carecer de un nutriente, mientras que otra puede contener ese nutriente y a la vez carecer de otro diferente. En esta forma, una mezcla de ambas especies de algas provee al animal con una adecuada cantidad de ambos nutrientes.

1.6.2. Chaetoceros gracilis

C. gracilis es una diatomea marina, solitaria, de forma rectangular con un esqueleto silíceo compuesto de dos valvas las cuales se separan para formar dos células nuevas durante la división vegetativa, cuyas dimensiones son de 8-12 X 7-10 μm . Las células son de color café dorado bajo el microscopio.

Tienen tolerancia a aguas hasta de 40 °C. Sus valores nutricionales presenta un 23,94% de proteínas, 8,69% de lípidos y 19,01% de carbohidratos

1.6.3. Isochrysis sp.

Esta es quizás una de las especies más fáciles de cultivar. Es un flagelado en forma de esfera o pera, color marrón, desnuda (una capa celular fina). El diámetro mide 3-5 μm . Cuando la densidad aumenta, el cultivo cambia de dorado-amarillento a café-marrón con una densidad máxima de 3 a 7 X 10⁶ células por mililitro.

La composición de ácidos grasos para *Isochrysis sp.* fueron determinados por Dunstan *et al.* (1992), los mismos que son enlistados en la siguiente tabla:

Tabla 2. Composición de los ácidos grasos mayores de *Isochrysis sp.* en cultivos masivos, en diferentes fases de crecimiento y diferentes técnicas de cultivo (tomado de Dunstan *et al.*, 1992)

	Logarítmica			Estacionaria
	Batch	Semicontinua		Batch
Días de cultivo	9	15	31	23
réplicas	4	2	2	2
Acidos grasos				
Saturados				
14:0	18,4	16,6	13,9	16,0
15:0	tr	ND	ND	0,1
16:0	0,4	0,3	0,2	0,3
18:0	9,3	11,5	12,6	14,1
Subtotal	28,2	28,6	26,8	30,9
Acidos grasos				
Monoenoicos				
16:1 (n-7)	5,0	2,9	3,2	2,9
16:1 (n-7)	tr	ND	ND	tr
16:1 (n-13) <i>f</i>	0,1	tr	0,1	tr
17:1 (n-8)	0,2	0,1	0,2	0,1
18:1 (n-9)	7,6	16,7	15,1	25,6
18:1 (n-7)	2,3	0,9	1,7	1,4
Subtotal	15,2	20,6	20,3	30,0
Acidos grasos				
polienoicos				
16:2 (n-7)	1,4	0,8	0,3	0,6
16:2 (n-4)	0,6	0,5	0,5	0,5
18:2 (n-6)	3,7	4,5	4,5	3,7
18:3 (n-6)	2,0	1,4	0,7	0,3
18:3 (n-3)	5,7	4,7	5,8	3,9
18:4 (n-3)	26,8	24,2	25,4	17,1
18:5 (n-3)	2,5	1,4	0,3	0,7
20:4 (n-6)	0,1	tr	tr	0,1
20:5 (n-3)	0,8	0,6	0,6	0,5
22:5 (n-6)	1,4	1,9	2,3	1,4
22:5 (n-3)	tr	tr	0,1	ND
22:6 (n-3)	9,5	9,0	10,2	6,8
Subtotal	54,5	49,0	50,7	35,6
Otros	2,1	1,8	2,2	3,5
TOTAL	100,0	100,0	100,0	100,0

tr menos de 0,05%

ND valor no detectado

Otros sumatoria de los menos abundantes (menor a 1%) y ácidos grasos no identificados

2. MATERIALES Y METODOS

El bioensayo correspondiente a la tesis se llevó cabo en la sala de la división de Moluscos del C.E.N.A.I.M., en la comuna San Pedro del cantón Manglaralto, provincia del Guayas. A partir del 10 de marzo al 7 de abril de 1997.

2.1. ORIGEN Y ACLIMATACION DE LOS SCALLOPS

Los juveniles de scallop (11.000 ind.; 2,7-3,7 mg ind.⁻¹) usados en el presente estudio fueron obtenidos en la División de Moluscos del C.E.N.A.I.M. a través de la maduración de reproductores de *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) capturados en la costa ecuatoriana. Una vez que las gónadas alcanzaron su completa madurez, los reproductores fueron sometidos a choques térmicos desde 20 hasta 26 °C para inducir el desove de los productos gonadales. El desarrollo embrionario y larval de los scallops fue llevado a cabo en las instalaciones del mismo laboratorio, y alimentados con *Chaetoceros gracilis* e *Isochrysis galbana* (clon T-Iso).

Los scallops seleccionados fueron mantenidos sin alimentar durante los tres días previos al desarrollo del bioensayo.

2.2. CONDICIONES Y SISTEMAS DE CULTIVO

El experimento se realizó durante un periodo de cuatro semanas en un sistema de resuspensión constituido por acuarios de acrílico transparente con una capacidad de 20 l, dentro de los cuales se sumergió parcialmente un cilindro de malla para el cultivo de los scallops. Cada acuario fue llenado con 15 l de agua de mar filtrada y expuesta a lámparas UV, y posteriormente sembrados con 1,5 g de juveniles de scallop (long.= 2,0 ± 0,2 mm).

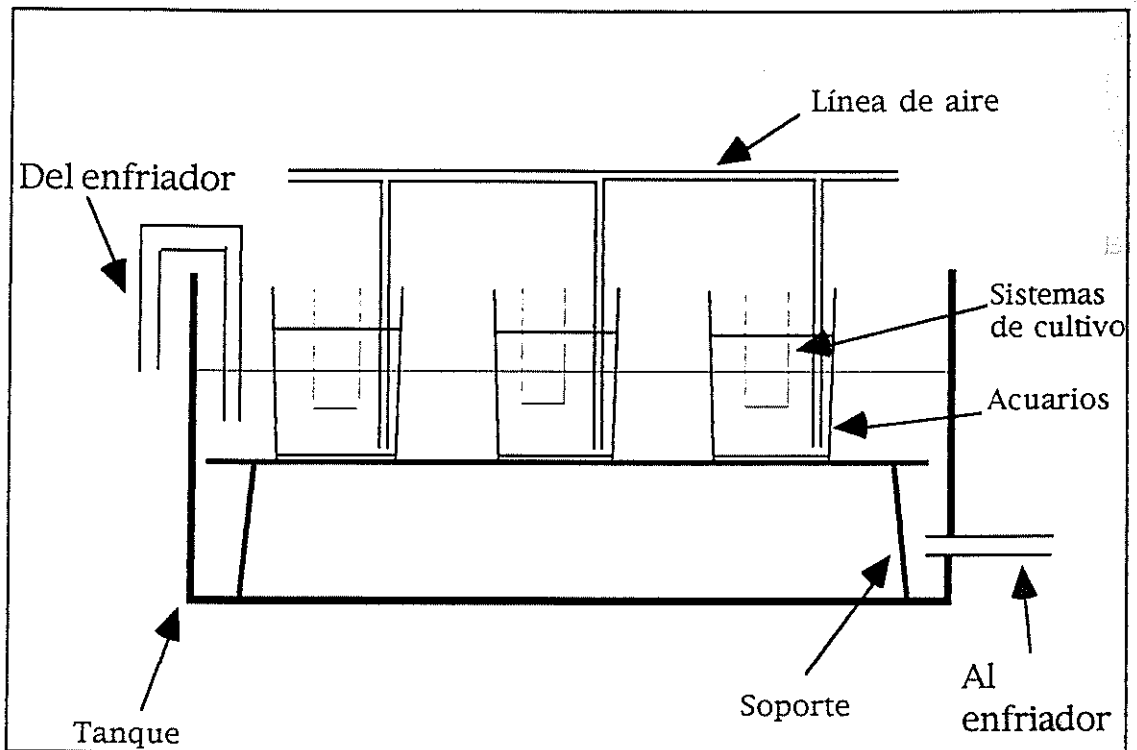


Fig. 1. Sistemas de cultivo para juveniles de *Argopecten circularis*

La circulación del agua, en el acuario y en el cilindro de malla, fue creada a través de un punto de aireación pasado por una piedra difusora. La malla de los cilindros de cultivo tenían una apertura de $600\ \mu$ con dimensiones de 16 cm de longitud X 7,5 cm de radio, además fueron mantenidos 5 cm sobre el fondo de los acuarios.

Diariamente se recambió el 100% del contenido de agua de mar de los acuarios. El agua de mar, utilizada en las renovaciones, fue filtrada a través de filtros de arena y cartucho de $2\ \mu$, y además fue expuesta a rayos UV previo a su uso. Para mantener constante y evitar que las variaciones de temperatura afecten la alimentación de los juveniles, los cultivos fueron mantenidos en un baño termostático tipo María a $27\ ^\circ\text{C}$.

2.3. REGIMEN DE ALIMENTACION

Se alimentó con una ración diaria por tratamiento, expresada como peso específico que osciló entre 0 a 8%. La misma que fue ofrecida a los scallops dos veces al día. La ración

diaria fue calculada como porcentaje peso seco de alimento por peso húmedo de scallop ($\% \text{ PS PH}^{-1}$ por día^{-1}).

Debido al crecimiento de los animales las raciones fueron ajustadas diariamente a lo largo del experimento con el propósito de alimentar con una ración aproximadamente constante, el cálculo fue hecho en función de una tasa de crecimiento determinada por medio de la fórmula:

$$(\text{PS alimento día } n) = (\text{Peso seco alimento día } 1) \times (1 + \text{TCD}/100)^{n-1}$$

donde:

n = día de la semana (1 a 7)

TCD = tasa de crecimiento diario ($\% \text{ día}^{-1}$) asumida en 10% para la primera semana.

PS alimento día 1 = PH inicial \times ración diaria peso específico ($\% \text{ PS PH}^{-1}$ por día^{-1}).

El cálculo de las raciones diarias estuvo basado en la determinación del peso seco de las especies de algas.

2.3.1. Dietas de algas

Las microalgas utilizadas en el experimento fueron *Chaetoceros gracilis* e *Isochrysis galbana* (clon T-Iso) adquiridas en la Universidad de Texas (UTEX), las mismas que fueron ofrecidas mientras estuvieron en fase de crecimiento. Las microalgas se cultivaron en cilindros de 50 l por la división de Fitoplancton del C.E.N.A.I.M. usando Guillard f/2 como medio de cultivo.

2.3.2. Determinación del peso seco de las algas

Para calcular la ración diaria de alimento para las juveniles, fue necesario la determinación previa del peso seco de cada especie de alga. Fue determinado filtrando al vacío alicuotas (10 ml) de una suspensión de concentración conocida. Las algas fueron retenidas, en filtros de microfibra de vidrio marca Whatman GF/C, los mismos que luego fueron lavados con una solución 0,5 M de formato de amonio con el propósito de remover las sales del agua de mar. Los filtros fueron secados a 60 °C durante 24 horas antes y después de filtrar las microalgas. El peso seco de las microalgas fue entonces determinado de la diferencia de los filtros con la ayuda de una balanza analítica con una precisión de $\pm 0,02$ mg, de acuerdo al método descrito por Coutteau (1994).

Los pesos secos de las microalgas, fueron $192,9 \pm 67,7$ y $117,2 \pm 29,2$ μg por célula para *Chaetoceros gracilis* e *Isochrysis galbana* (clon T-Iso) respectivamente (media y desviación estándar de cuatro alicuotas).

2.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

Con el propósito de determinar el efecto de diferentes raciones alimenticias sobre el crecimiento de juveniles de scallop se desarrollaron seis tratamientos (Tabla 3).

Tabla 3. Diferentes tratamientos en la dieta de juveniles de *A. circularis*

#	TRATAMIENTO (% PS PH-1 por día-1)	ESPECIES DE ALGAS†
1	0 % de la biomasa	
2	1 % de la biomasa	50% Iso + 50% Chg
3	2 % de la biomasa	50% Iso + 50% Chg
4	4 % de la biomasa	50% Iso + 50% Chg
5	8 % de la biomasa	50% Iso + 50% Chg
6	4 % de la biomasa	100% Iso

† = Raciones constituidas por 50% de *Isochrysis galbana* (clon T-Iso) y 50% de *Chaetoceros gracilis*

Para eliminar el error producido por las variaciones de los agentes externos sobre las unidades experimentales (Clarke, 1980) se utilizó el diseño de bloques completos aleatorizados (Fig. 2).

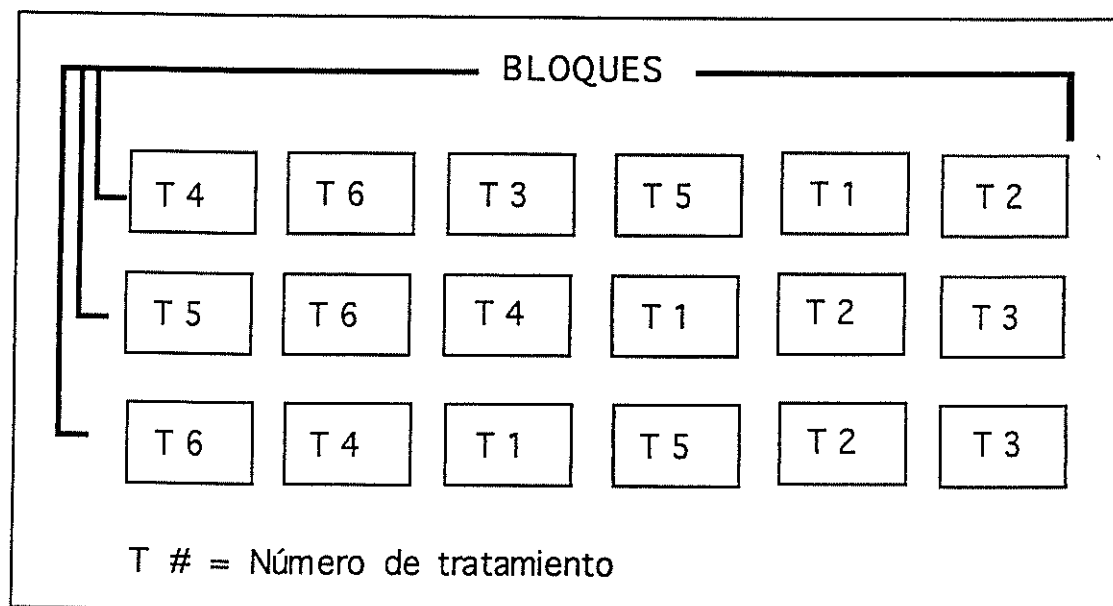


Fig. 2. Distribución de las réplicas dentro de los bloques completos aleatorizados.

Además, considerando que se utilizaron tres réplicas por cada uno de los tratamientos, se diseñaron tres bloques. De tal manera que cada bloque estaba formado por una réplica de

los seis diferentes tratamientos; la distribución de las réplicas dentro de los bloques fue al azar.

2.5. PARÁMETROS DE CRECIMIENTO

Los animales utilizados en el presente bioensayo fueron distribuidos al azar, en grupos de igual peso, dentro de los diferentes cilindros de cultivo. Previo al inicio del bioensayo se determinó el peso húmedo, además de la longitud y la altura de la concha de cada individuo, a partir de tres muestras tomadas al azar ($n=45$ individuos por tratamiento).

A intervalos de siete días, los scallops fueron removidos de los cilindros de cultivo y se determinó el peso húmedo total de cada una de las unidades experimentales, con la ayuda de una balanza analítica con una precisión de $\pm 0,02$ mg. Para retornar al valor inicial de la biomasa de cada unidad experimental (1,5 g) fueron removidos suficiente número de scallops. Los animales removidos fueron utilizados para la determinación de la longitud y la altura de la concha.

A partir del incremento por semana del peso húmedo total por cilindro de cultivo, se determinó la Tasa de Crecimiento Diario (TCD) a partir de la ecuación (Gutierrez. 1990 *en* Coutteau, 1991):

$$TCD = \left[\frac{W_2}{W_1} - 1 \right] \times 100$$

La longitud y altura de la concha fueron medidos con ayuda de un proyector de perfiles marca Nikon modelo V-10.

2.6. PARAMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL AGUA

Diariamente se monitorearon en cada una de las unidades experimentales la temperatura ($^{\circ}\text{C}$) con la ayuda de un termómetro de mercurio, el oxígeno disuelto (mg l^{-1}) con la

ayuda de un oxígeno metro con una precisión de $\pm 0,3 \text{ mg l}^{-1}$, el pH con un pHmetro, y la salinidad (UPS) con un refractómetro de mano. Además, se monitoreó la intensidad de luz (lux) sobre las unidades experimentales con la ayuda de un luxómetro.

2.7. TRATAMIENTO DE DATOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para comparar el efecto de las raciones sobre el crecimiento de los juveniles de scallop se utilizó la Tasa de Crecimiento Diario (TCD).

El análisis estadístico de los datos obtenidos en las pruebas incluyen el análisis de varianza de una vía y la prueba de rangos múltiple Scheffé con un nivel de confianza del 95% (ANEXOS).

2.8. PRUEBA PRELIMINAR CON RACIONES MONOALGALES

Con el propósito de estimar los valores del tamaño de la ración alimenticia (Tabla 4), y además determinar las especies de algas a usarse en la dieta para el cultivo de juveniles de scallop ($2,0 \pm 0,2 \text{ mm}$), se desarrolló una prueba preliminar, con similares condiciones de cultivo, la misma que se realizó en el mes de diciembre de 1996.

Tabla 4. Biomasa[¥] de scallops para la primera semana

TRATAMIENTO [§]	DIA						
	1	2	3	4	5	6	7
1) 0,5% Chg	0,750	0,825	0,908	0,999	1,099	1,209	1,330
2) 1% Chg	0,750	0,825	0,908	0,999	1,099	1,209	1,330
3) 4% Chg	0,750	0,825	0,908	0,999	1,099	1,209	1,330
4) 0,5% Iso	0,750	0,825	0,908	0,999	1,099	1,209	1,330
5) 1% Iso	0,750	0,825	0,908	0,999	1,099	1,209	1,330
6) 4% Iso	0,750	0,825	0,908	0,999	1,099	1,209	1,330
7) 1% Tetra	0,750	0,825	0,908	0,999	1,099	1,209	1,330

[¥] Biomasa en gramos (g), se asume un incremento diario de 10%.

[§] Raciones expresadas como % Peso seco (PS) de microalga Peso húmedo⁻¹ (PH⁻¹) de scallop. Microalgas usadas: Chg = *Chaetoceros gracilis*, Iso = *Isochrysis galbana* (Clon T-Iso) y Tetra = *Tetraselmis sp.*

Con el propósito de evaluar el incremento en peso de los diferentes tratamientos, se calculó la Tasa de crecimiento diario (TCD) al término de siete días para los diferentes tratamientos.

3. RESULTADOS

3.1. TABLAS DE CRECIMIENTO

3.1.1. Prueba preliminar

Los resultados de la prueba preliminar muestran que (Tabla 5) el mejor crecimiento fue promovido por *Isochrysis galbana* (Clon T-Iso) con una ración de 4% peso específico. Además se obtuvo que una ración del 1% de la especie del alga anotada anteriormente produce un mejor crecimiento para un mismo tamaño de ración con *Chaetoceros gracilis*. Se observa también que *Tetraselmis sp.* provocó el más bajo crecimiento con un tamaño de ración de 1% de peso específico.

Tabla 5. Tasa de Crecimiento Diario (TCD) y peso vivo final después de 7 días de cultivo. Valores con igual exponente no presentaron diferencias significativas ($p \geq 0.05$)

TRATAMIENTOS	TCD† (% día ⁻¹)	PESO VIVO (g)
1) 0,5 % Chg	0,85 ± 1,14 ^a	0,79 ± 0,05 ^a
2) 1 % Chg	1,60 ± 1,55 ^a	0,83 ± 0,08 ^a
3) 4 % Chg	2,89 ± 0,55 ^a	0,83 ± 0,11 ^a
4) 0,5 % Iso	-2,05 ± 1,18 ^a	0,66 ± 0,05 ^a
5) 1 % Iso	3,03 ± 3,89 ^a	0,91 ± 0,21 ^a
6) 4 % Iso	10,35 ± 3,35 ^b	1,36 ± 0,26 ^b
7) 1 % Tetra	-3,42 ± 1,49 ^a	0,61 ± 0,06 ^a

† Tasa de Crecimiento Diario (TCD) con una biomasa inicial de 0,75 g. Los datos representan la media y desviación estándar de tres réplicas por tratamiento.

De los resultados en esta primera prueba se propusieron para la prueba final raciones de 0, 1, 2, 4 y 8% peso específico para juveniles de scallop de tallas de $2,0 \pm 0,2$ mm de longitud. Así mismo, considerando los resultados obtenidos en la primera prueba y lo revisado en la bibliografía, se propuso usar una mezcla de *Isochrysis galbana* (Clon T-Iso) y *Chaetoceros gracilis* como alimento en las diferentes raciones diarias.

3.1.2. Prueba final

Para el bioensayo final, se observó que el crecimiento de los juveniles *Argopecten circularis*, expresado como incremento en el peso y en la longitud, aumentó sostenidamente a medida que incrementó la ración de alimento ofrecida en los diferentes tratamientos (Tabla 6). Sin embargo, el incremento en el tamaño de la ración no provocó un cambio proporcional en el peso y la longitud de los juveniles de scallop.

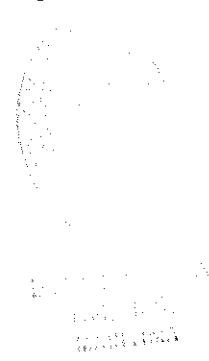


Tabla 6. Tasa de Crecimiento Diario (TCD), peso vivo (PV) y peso seco (PS) final, y longitud de concha (LC) de juveniles de *Argopecten circularis* alimentados con diferentes raciones alimenticias. Valores con igual exponente no presentaron diferencias significativas ($p \geq 0,05$)

TRATAMIENTOS	SEMANA 1		SEMANA 2		SEMANA 3		SEMANA 4			
	TCD (% día ⁻¹)	TCD (% día ⁻¹)	TCD (% día ⁻¹)	TCD (% día ⁻¹)	TCD (% día ⁻¹)	TCD (% día ⁻¹)	PV (g)	PS (g)	LC (mm)	
1) 0 % Iso - Chg	-2,05±1,09 ^a	-1,90±0,33 ^a	-1,60±0,93 ^a	-0,58±0,39 ^a	1,1723±0,0292 ^a	0,5482±0,0195	1,95±0,25 ^a			
2) 1% Iso - Chg	0,05±1,26 ^{abd}	-2,18±1,47 ^a	-0,22±0,23 ^a	-1,25±0,68 ^a	1,2065±0,1105 ^a	0,5942±0,0293	2,01±0,23 ^a			
3) 2% Iso - Chg	2,81±0,98 ^{abd}	-0,99±1,47 ^a	1,38±1,24 ^a	1,01±1,28 ^b	1,5535±0,1488 ^b	0,7668±0,0984	2,28±0,29 ^a			
4) 4% Iso - Chg	4,44±1,94 ^{bcd}	2,93±0,50 ^b	2,22±0,78 ^b	4,01±1,05 ^c	1,9587±0,0742 ^c	0,9727±0,0550	2,74±0,50 ^a			
5) 8% Iso - Chg	9,06±1,29 ^c	7,49±0,77 ^c	8,64±0,88 ^c	12,36±0,30 ^d	3,0124±0,0428 ^d	1,6476±0,0482	4,52±0,89 ^b			
6) 4% Iso	1,73±2,97 ^d	1,39±0,92 ^b	1,17±0,34 ^b	2,72±0,85 ^{bc}	1,7628±0,0852 ^{bc}	0,9056±0,0538	2,60±0,45 ^a			

§ Raciones expresadas como % Peso seco (PS) de microalgas Peso Húmedo (PH⁻¹) de scallop. Iso-Chg = *Isochrysis galbana* (clon T-Iso) y *Chaetoceros gracilis*.

3.2 ANALISIS ESTADISTICO

Se realizaron análisis de varianza con los datos de crecimiento obtenidos durante los muestreos, y cuando se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos se realizó la prueba de rangos múltiples Scheffé con un nivel de confianza del 95%.

3.2.1. Parámetros físico-químicos del agua

Los niveles de temperatura, oxígeno disuelto, pH y salinidad se mantuvieron estables a lo largo del bioensayo (Tabla 7 y ANEXOS).

Tabla 7. Promedio y desviación estándar parámetros físicos registrados durante el desarrollo del bioensayo

TRATA- MIENTO	PARAMETROS FISICO-QUIMICOS DEL AGUA [£]				
	O.D. (mg l ⁻¹)	Tempera- tura (°C)	pH	Salinidad (UPS)	Intensidad de luz (lux)
1	5,68±0,18	26,79±0,52	8,26±0,21	33,49±1,06	846,03±190,93
2	5,68±0,18	26,82±0,54	8,27±0,16	33,51±1,03	1033,59±232,33
3	5,63±0,17	26,83±0,54	8,21±0,19	33,51±1,03	1167,95±260,33
4	5,64±0,20	26,79±0,43	8,16±0,18	33,49±1,06	1302,56±252,74
5	5,64±0,18	26,78±0,44	8,24±0,15	33,48±1,09	1243,45±245,45
6	5,58±0,23	26,81±0,44	8,26±0,15	33,51±1,03	1190,38±249,56

£ Promedio y desviación estándar de tres réplicas por tratamiento durante el bioensayo

3.2.2. Comparación de crecimientos

Utilizando la Tasa de Crecimiento Diario (TCD) para comparar el efecto de las diferentes raciones sobre el crecimiento de los juveniles de scallop, se puede observar que en los resultados del bioensayo final, una ración del 8% de una mezcla de *Isochrysis sp.* y *Chaetoceros sp.* (tratamiento 5) promueve el mejor crecimiento para juveniles de *A. circularis* (Fig. 3).

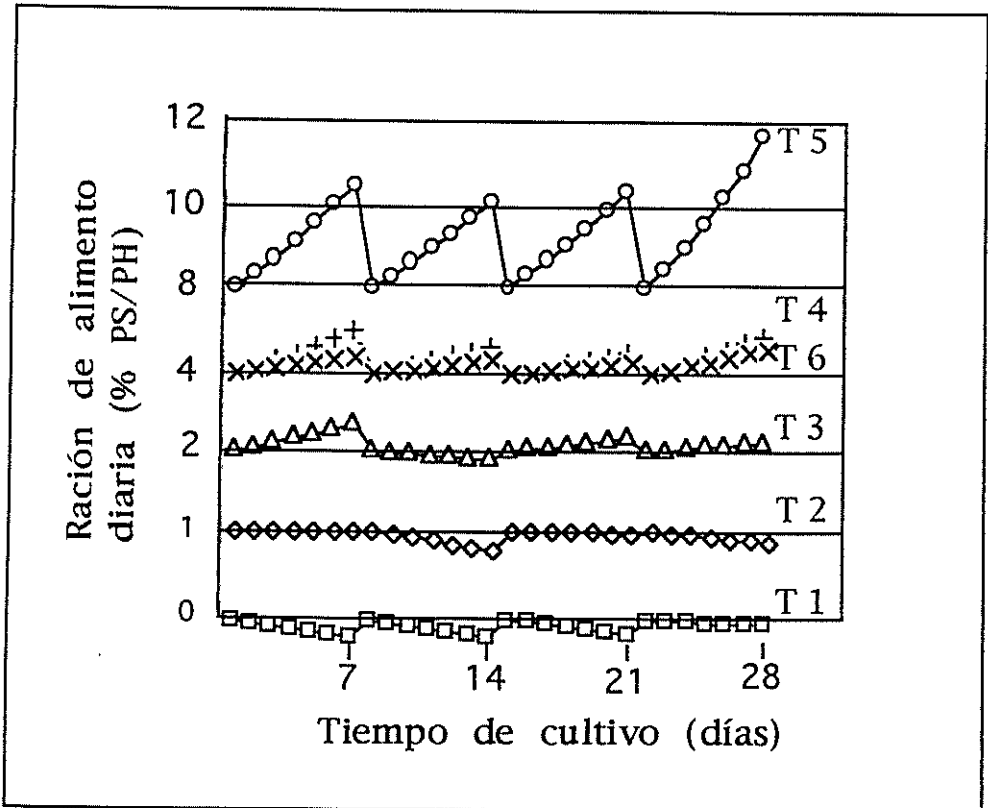


Fig. 3. Cambio de la Tasa de crecimiento diario durante el desarrollo del bioensayo para juveniles de scallops alimentados a diferentes raciones diarias.

3.3. EFECTO DE LAS DIFERENTES RACIONES EN EL CRECIMIENTO

Raciones de 0 y 1% de peso específico provocaron Tasas de Crecimiento Diario con valores negativos. Se observó además que una ración de 4% constituida por una mezcla de *Isochrysis galbana* (clon T-Iso) y *Chaetoceros gracilis* provocó un mejor crecimiento comparado con una ración del mismo tamaño pero de una sola especie de alga (*Chaetoceros gracilis*), a pesar de que no existen diferencias significativas entre estos dos tratamientos ($p \geq 0,05$) (Fig. 3).

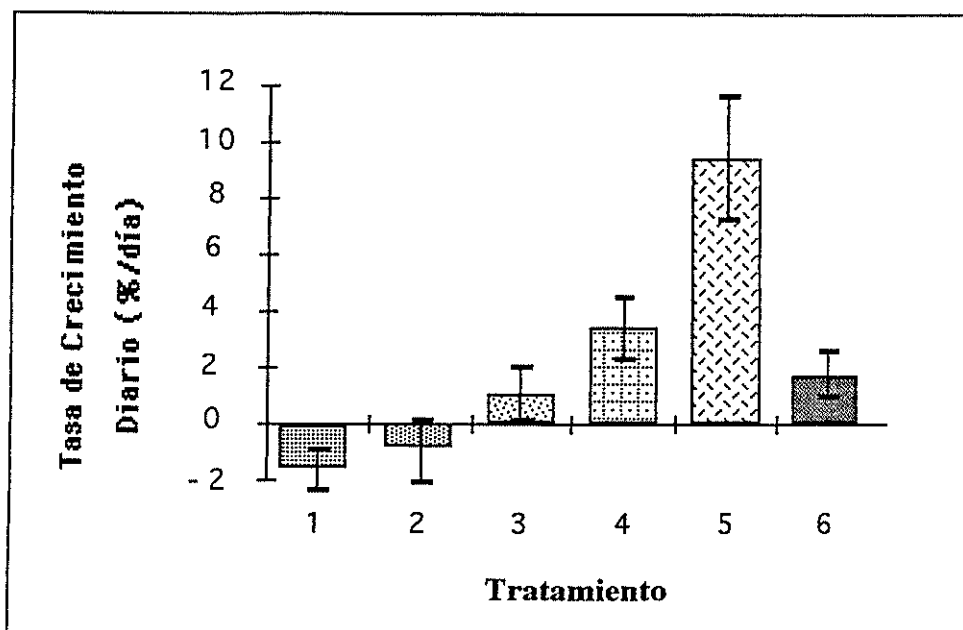


Fig. 3. Tasa de Crecimiento diario para cada uno de los tratamientos. Promedio y desviación estandar de las cuatro semanas de cultivo.

Una ración del 8% de una mezcla de las dos especies de algas (*I. galbana* y *Chaetoceros gracilis*) promovió el mejor crecimiento en juveniles de scallops con tallas iniciales de $2,0 \pm 0,2$ mm (Fig. 5).

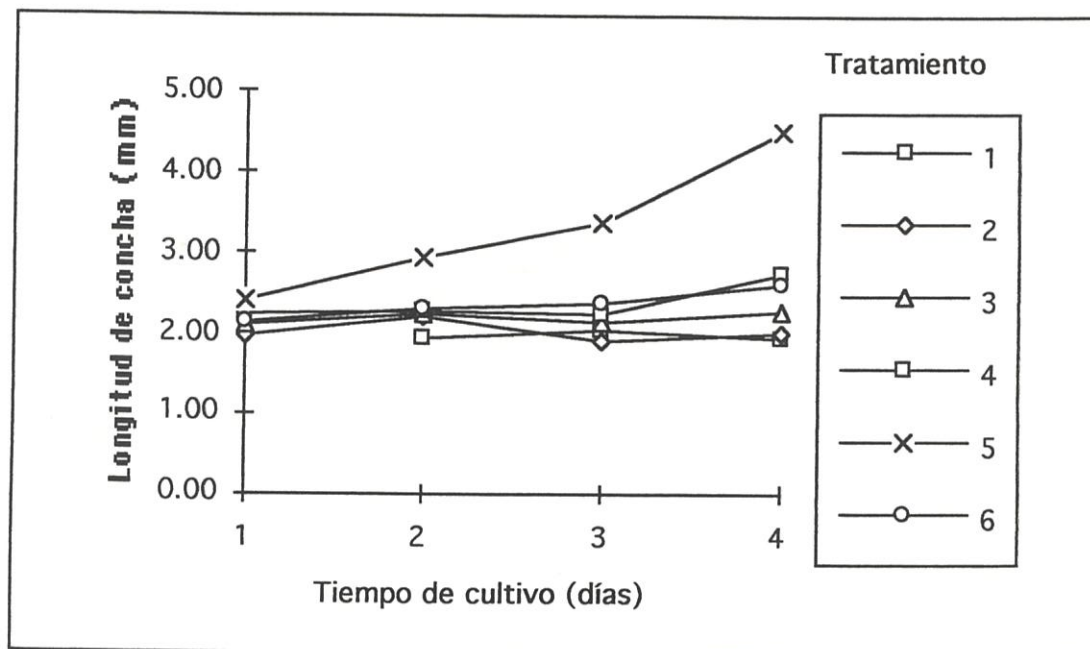


Fig. 5. Curvas de crecimiento de juveniles de scallop *A. circularis* alimentados a diferentes raciones alimenticias

3.4 RACION OPTIMA DE ALGAS PARA EL CRECIMIENTO

En base a lo anteriormente señalado se propone que para la alimentación de juveniles de scallop ($2,0 \pm 0,2$ mm de longitud) una ración del 8% de una mezcla 50/50 de *Chaetoceros gracillis* e *Isochrysis galbana* (clon T-Iso) ofrece un óptimo crecimiento para esta especie de bivalvo, mostrando diferencias significativas con los otros tratamientos (Fig. 6).

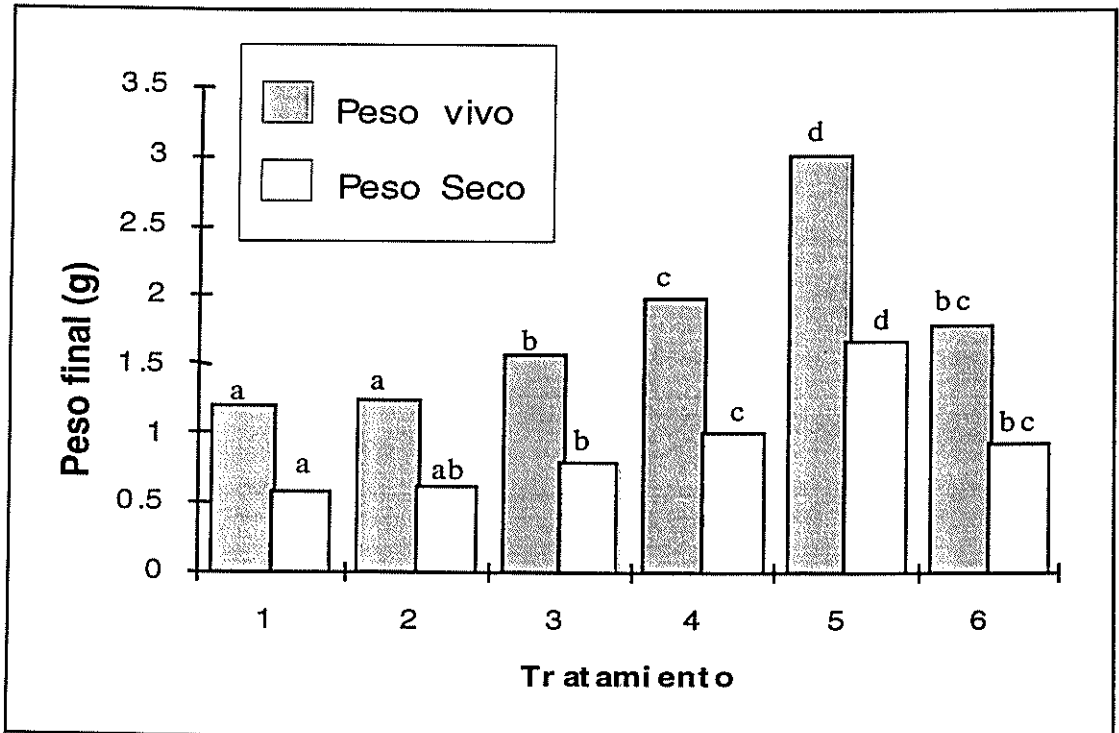


Fig. 6. Peso vivo y peso seco final de juveniles de scallop. Promedio de tres réplicas; letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

DISCUSION

Estudios empíricos de la relación entre el tamaño de la ración y el crecimiento de los bivalvos con pesos por debajo de 1 g son muy escasos (Coutteau *et al.*, 1993). En particular, no existe información sobre los requerimientos cuantitativos de alimento para bivalvos post-asentamiento hasta 5 mg de peso vivo, a pesar de que los últimos estadíos juveniles son los mayores consumidores de microalgas cultivadas intensivamente en la mayoría de laboratorios comerciales (Claus, 1981; Manzi y Castagna, 1989; Helm, 1990 *en* Coutteau & Sorgeloos, 1992). Enright *et al.* (1986 *en* Coutteau *et al.*, 1994) reportaron una saturación en la tasa de crecimiento de *O. edulis* (peso vivo inicial 5-25 mg) a una ración diaria entre 2,5 y 4,9% peso seco de *Chaetoceros gracilis*. Los máximos crecimientos de *C. virginica* (peso vivo inicial de 11 mg) ocurrieron cuando las ostras fueron alimentadas a raciones diarias de 4,6% (Urban *et al.*, 1983 *en* Coutteau *et al.*, 1994).

La tasa de crecimiento diario de los scallops para este bioensayo (12,36% día⁻¹) muestra valores similares a los de otros autores en otras pruebas, por ejemplo tasas de crecimiento de 9,77% día⁻¹ fueron, reportadas para *Tapes philippinarum* (longitud inicial de 2±0,2 mm) alimentadas con *Chaetoceros gracilis* por Coutteau *et al.* (1994). El mismo autor (1993) reportó tasas de crecimiento de hasta 15,80% día⁻¹ para *Mercenaria mercenaria* alimentada con una ración 50/50% de una mezcla de *Chaetoceros gracilis* e *Isochrysis galbana* (clon T-Iso). *Ostrea edulis* alcanzó las mejores tasas de crecimiento diario (14,4% día⁻¹) alimentada con *Chaetoceros calcitrans* (Laing y Millican, 1986).

Coutteau *et al.* (1993, 1994) determinó crecimientos óptimos con raciones peso específico de 1,5% en *Mercenaria mercenaria* y raciones de 1,3% en *Tapes philippinarum*. Si es que cabe la comparación entre estos dos diferentes géneros de moluscos bivalvos que pertenecen a dos grupos diferentes, resulta obvio que este hecho

se debe a que los pesos secos de las microalgas determinadas por Coutteau (valores de $23,8 \pm 3,8$ y $14,1 \pm 0,8$ picogramos para cada célula de *Ch. gracilis* e *I. galbana* (clon T-Iso) respectivamente cultivados con medio Walne) constituyen valores menores a los encontrados para las mismas especies de microalgas usadas en la presente serie de bioensayos (cultivadas con medio Guillard f/2).

Debido a que las condiciones de cultivo de microalgas tales como concentración de nutrientes en el agua de mar y medios de cultivo, temperatura e intensidad de luz son muy cambiantes, existen variaciones en el contenido bioquímico y nutricional de las microalgas, lo que puede ocasionar que el peso seco de las mismas varíe. Se debe poner mucha atención a esta condición en pruebas de este tipo donde son analizados factores como el tamaño de la ración del alimento.

En base a los resultados de la prueba preliminar se determinó que *Isochrysis galbana* (clon T-Iso) promovió mejores crecimientos que la diatomea *Chaetoceros gracilis*. Corroborando lo determinado anteriormente por Epifanio (1979), y Laing y Milican (1986), *Tetraselmis* provocó el menor de los crecimientos. Se especula que esto es debido a que este género de microalgas presentan paredes celulares muy gruesas y difíciles de digerir por el sistema digestivo de los moluscos bivalvos (Romberger & Epifanio, 1981 en Coutteau & Sorgeloos, 1992).

En el bioensayo final se encontró que una ración del 8% peso específico causó el mejor crecimiento para *Argopecten circularis*, provocando una tasa de crecimiento diario de hasta $12,36\% \text{ día}^{-1}$; en la prueba preliminar una ración de 4% promovió una tasa de crecimiento diario de $10,35\% \text{ día}^{-1}$ esta diferencia en el crecimiento entre dos raciones con una gran diferencia en el tamaño de la ración puede deberse a la diferencia en los pesos determinados en las dos especies de microalgas que para la prueba preliminar alcanzaron valores de 33,55 y 17,65 pg ind.^{-1} para *Chaetoceros gracilis* e *Isochrysis galbana* (clon T-Iso) respectivamente mientras que para la prueba final los pesos de la

microalgas alcanzaron valores de 192,9 y 117,2 $\mu\text{g ind.}^{-1}$ respectivamente, utilizando Guillar f/2 como medio de cultivo en las dos pruebas.

Sin embargo, las raciones óptimas difieren según la especie de alga y también pueden ser afectadas por las condiciones de cultivo de las microalgas (Enright *et al.* 1986, en Coutteau *et al.*, 1994). Además, factores metodológicos pueden afectar el valor de la ración diaria estimada, tales como precisión de los análisis de peso seco de las microalgas, adaptación del régimen de alimentación al crecimiento durante el experimento, alimento natural presente en el agua de mar, y el asentamiento y/o crecimiento de las algas en el sistema de cultivo.

El hecho de que los dos primeros tratamientos, raciones de 0 y 1% en peso específico, provocaron tasas de crecimiento que declinaron por debajo de valores positivos demuestra que bajas concentraciones de alimento no son suficientes para satisfacer los requerimientos energéticos de los juveniles de scallop. Es interesante que los valores de la tasa de crecimiento diario para la ración del 1% hayan sido inferiores comparado con los valores de crecimiento de los animales que no recibieron ningún tipo de alimentación.

Los valores de la tasa de crecimiento diario fueron los más altos para todos los tratamientos para la primera semana, éste hecho podría deberse a los remanentes de energía por la dieta antes del experimento, a pesar de que los animales permanecieron sin alimentación tres días antes del inicio del bioensayo.



CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Una ración de 8% peso específico promovió el mejor crecimiento para juveniles de scallop de *A. circularis*, los mismos que con una talla inicial de $2 \pm 0,20$ mm de longitud de concha alcanzaron tallas finales de $4,52 \pm 0,90$ mm de longitud, mostrando diferencias significativas con los demás tratamientos.

No se encontraron diferencias significativas entre las raciones de 4% de la dieta mixta (tratamiento 4) y 4% de la dieta con *Isochrysis galbana* (tratamiento 6), considerando que el tratamiento 4 alcanzó un mayor crecimiento y que dicha dieta se encuentra mejor balanceada frente a la del tratamiento 6, se puede concluir que este hecho se debió al uso de una mezcla de algas, *Isochrysis galbana* (clon T-Iso) y *Chaetoceros gracilis*, en la dieta experimental.

De la misma forma, no se encontraron diferencias significativas entre las raciones de 0, 1 y 2% peso específico, además éstas raciones resultan insuficientes para promover el crecimiento de juveniles de scallop.

El hecho de que las producciones de microalgas, principal alimento de moluscos bivalvos, sean muy variables obliga a asegurar la obtención de alimento para la juveniles de bivalvos. Debido a que es conocida la preservación de algas concentradas a través de la centrifugación, se recomienda realizar pruebas en donde se ofrezcan raciones con este tipo de dieta con scallops.

Cabe señalar que se han desarrollado pruebas en donde se complementó las dietas de microalgas con levadura de pan (*Saccharomyces cerevisiae*) tratada químicamente para aumentar su digestibilidad como alimento para *Mercenaria mercenaria* (Coutteau *et al.*, 1993).

El uso de dietas microencapsuladas es otra opción que es objeto de estudio, a pesar de que en los trabajos realizados se ha podido observar pérdidas de nutrientes por la permeabilidad de las membranas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- BROWN, M. 1990. The amino-acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture. *J Exp. Mar Biol. Ecol.*
- CLARKE, G. 1980. *Statistics and experimental design*. 2da Edición, Edward Arnold, 188 p.
- CORDERO, B. & VOLTOLINA, D. 1994. Growth of *Mytilus galloprovincialis* fed with four microalgae and two feeding regimes. *Journal of the World Aquaculture Society*, Vol. 25 No. 3.
- COUTTEAU, P. 1991. Levadura de pan como sustituto de microalgas en el cultivo de organismos filtradores. Ph D thesis, Fakulteit der Wetenschappen, Universiteit Gent.
- COUTTEAU, P., CAERS, M., CURE, K. & GAJARDO, G. 1996. Supplementation of lipid emulsions to algal diets in the hatchery rearing of bivalves. En: *Improvement of the comercial production of marine Aquaculture species*. *Proceedings of a workshop on fish and mollusc larviculture*.
- COUTTEAU, P., CURE, K. & SORGELOOS, P. 1994. Effect of algal ration and growth of juvenile Manila clam *Tapes philippinarum*. In: *Shellfish res.* (in press).
- COUTTEAU, P., HADLEY, N. H., MANZI, J. J. & SORGELOOS, P. 1993. Effect of algal ration and substitution of algae by manipulated yeast diets on the growth of juvenile *Mercenaria mercenaria*. *Aquaculture*. 120 p.
- COUTTEAU, P. & SORGELOOS, P. 1992. The use of algal substitutes and the requirement for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs: an international survey. *Journal of Shellfish Research*, Vol 11, No. 2.
- DANIEL, W. 1987. *Bioestadística*. 3ra Edición, Limusa. 312 p.

- DAO, J.C., BARRET, J., DEVAUCHELLE, N., FLEURY, P.G. & ROBERT, R. 1993. Rearing of scallops *Pecten maximus* in France, from hatchery to intermediate culture, results of a 10 year programme (1983-1993). En: Improvement of the commercial production of marine Aquaculture species. Proceedings of a workshop on fish and mollusc larviculture.
- DUNSTAN, G.A., VOLKMAN, J.K., BARRETT, S.M. & GARLAND, C.D. 1992. Changes in the lipid composition and maximisation of the polyunsaturated fatty acid content of three microalgae grown in mass culture. *Journal of applied phycology* 5: 71-83.
- EPIFANIO, C.E. 1979. Comparison of yeast and algal diets for bivalve molluscs. *Aquaculture*. 16 p.
- EPIFANIO, C.E. & EWART, J. 1977. Maximum ration of four algal diets for the oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. *Aquaculture*. 11 p.
- EPIFANIO, C.E., VALENTI, C.C. & TURK, C.L. 1980. A comparison of *Phaeodactylum tricornutum* and *Thalassiosira pseudonana* as foods for the oyster, *Crassostrea virginica*. *Aquaculture*.
- LAING, I. & MILLICAN, P.F. 1986. Relative growth and growth efficiency of *Ostrea edulis* L. spat fed various algal diets. *Aquaculture*.
- LAING, I. & MILLICAN, P.F. 1992. Indoor nursery cultivation of juvenile bivalve molluscs using diets of dried algae. *Aquaculture*. 102 p.
- LANGTON, R.W. & MCKAY G.U. 1976. Growth of *Crassostrea gigas* (Thunberg) spat under different feeding regimes in hatchery. *Aquaculture*. 7p.
- LEWIS, T.E.; GARLAND, C.D. & MCKEEN, T.A. 1986. Manual of hygiene for shellfish hatcheries. University of Tasmania.

- MAEDA, A.; ORMART, P.; MOCTEZUMA, T. & OSORIO, V. 1996. Cultivo de scallop en Ecuador: una alternativa en desarrollo. *Acuicultura del Ecuador*. 29-30.
- MORA, E. 1990. Catálogo de bivalvos marinos del Ecuador. Instituto Nacional de Pesca Boletín Científico y Técnico. 55 p.
- NELL, J.A. & O'CONNOR, W. 1991. The evaluation of fresh algae and stored algal concentrates as a food source for Sydney rock oyster, *Sacostrea comercialis* (Iredale & Roughley), larvae. *Aquaculture*. 99 p.
- OSORIO, V. 1989. Cultivo integrado de la ostra del Pacífico *Crassostrea gigas* y el camarón *Penaeus vannamei* en Ecuador. *Acuicultura Tropical*. 2 p.
- QUAYLE, D.B. & NEWKIRK, G.F. 1989. Farming bivalve molluscs: Methods for study and development. The World Aquaculture Society.
- SATUITO, C.G., NATOYAMA, K., YAMAZAKI, M. & FUSETANI, N. 1993. Larval development of the Mussel *Mytilus edulis galloprovincialis* cultured under laboratory conditions. *Fisheries science*. 60 p.
- SHUMWAY, S. 1991. *Scallops: Biology, ecology and aquaculture*. Elsevier. 152-157, 966 p.
- STOTTRUP, J.G.; GRAVNINGEN, K. & NORSKER N.H. 1993. The role of different microalgae on the growth and survival of turbot larvae in intensive cultivation systems. ICES.
- TREECE, G. & YATES, M. 1993. Manual de laboratorio para el cultivo de Larvas de camarones Peneidos. Sea Grant College Program. 36 - 37 p.
- URIARTE, I., FARIAS, A. & MUNOZ, C. 1996. Growth and condition index of *Argopecten circularis* (Lamarck) in the south of Chile. En: Improvement of the

comercial production of marine Aquaculture species. Proceedings of a workshop on fish and mollusc larviculture.

URBAN, E. & LANGDON, C. 1984. Reduction in costs of diets for the american oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin), by the use of non-algal supplements. Aquaculture, 38 p.

UTTING, S. 1986. A preliminary study on growth of *Crassostrea gigas* larvae and spat in relation to dietary protein. Aquaculture, 56 p.

VOLKMAN, J.K., JEFFREY, S.W., NICHOLS, P.D., ROGERS, G.I. & GARLAND, C.D. 1989. Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. J Exp. Mar Biol. Ecol..

WEBB, K.L. & CHU, F.E. 1983. Phytoplankton as a food source for bivalve larvae. In: Biochemical and physiological approaches to shellfish nutrition.

WHYTE, J.N.C., BOURNE, N. & HODGSON, C.A. 1987. Assesment of biochemical composition and energy reserves in larvae of the scallop *Patinopecten yessoensis* . J. Exp. Mar. Biol. Ecol.

WHYTE, J.N.C.; ENGLAR, J.R. & CARSWELL B.L. 1990. Biochemical composition and energy reserves in *Crassostrea gigas* exposed to different levels of nutrition. Aquaculture.

ANEXOS

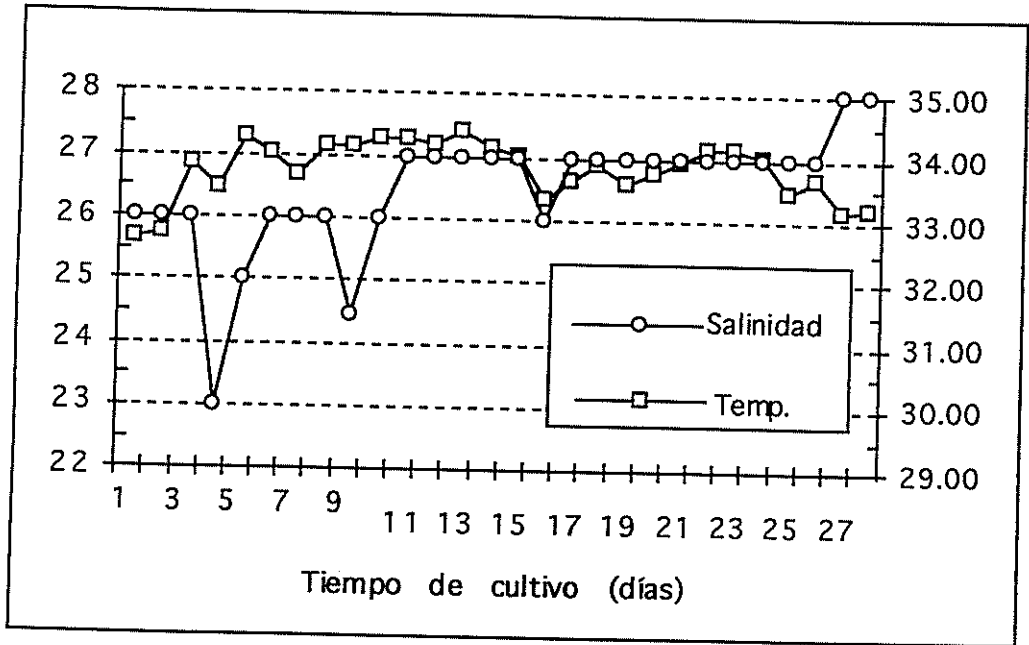


Fig. 7. Datos de temperatura (°C) y salinidad (UPS) registradas durante el desarrollo del bioensayo.

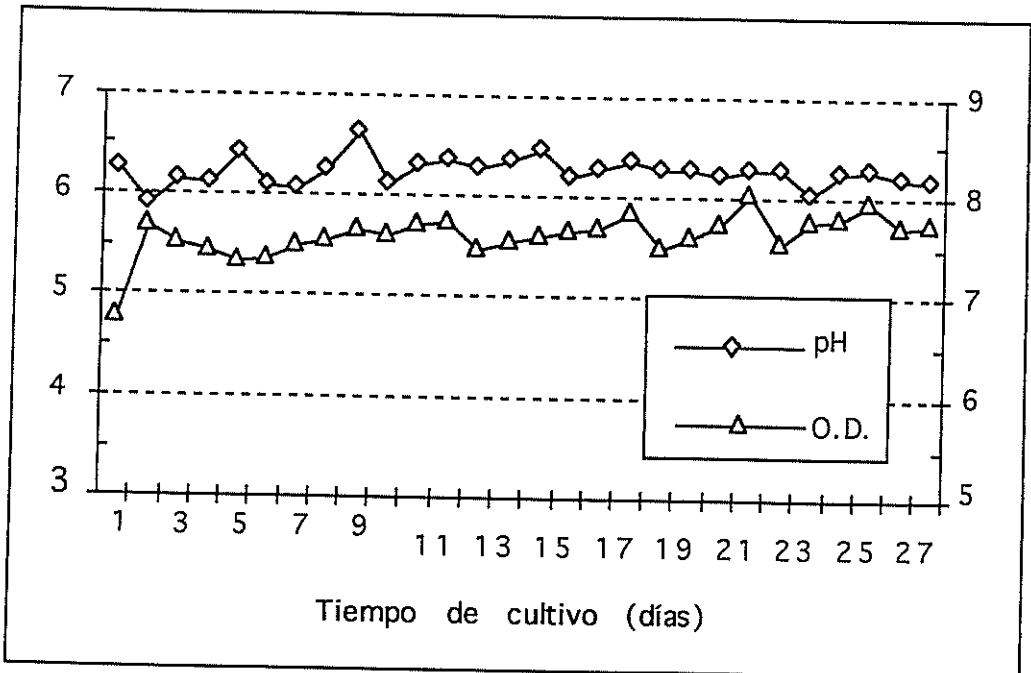


Fig. 8. Datos de oxígeno disuelto (O.D. = ppm) y pH registrados durante el desarrollo del bioensayo.

Tabla 8. Análisis de Varianza de una vía. Prueba preliminar**Data:** Peso húmedo**Ho:** No existen diferencias en el peso húmedo entre tratamientos (RECHAZADA)

Source	df	Sum of squares	Mean square	F-ratio	Prob.
Const	1	15,1302	15,1032	1089,7	$\leq 0,0001$
Replica	2	0,081059	0,040529	2,9241	0,0959
Tratamiento	6	1,06886	0,178143	12,852	0,0002
Error	11	0,152466	0,013861		
Total	19	1,30238			

Tabla 9. Análisis de Varianza de una vía. Prueba final (1ra semana)**Data:** Peso húmedo**Ho:** No existen diferencias en el peso húmedo entre tratamientos (RECHAZADA)

Source	df	Sum of squares	Mean square	F-ratio	Prob.
Const	1	57,9247	57,9247	1656,9	$\leq 0,0001$
Replica	2	0,026411	0,013206	0,37775	0,6948
Tratamiento	5	2,63203	0,526406	15,058	0,0002
Error	10	0,349589	0,034959		
Total	17	3,00803			

Tabla 10. Análisis de varianza de una vía. Prueba final (2da semana)**Data:** Peso húmedo**Ho:** No existen diferencias en el peso húmedo entre tratamientos (RECHAZADA)

Source	df	Sum of squares	Mean square	F-ratio	Prob.
Const	1	48,0105	48,0105	6503,1	$\leq 0,0001$
Replica	2	0,005274	0,002637	0,35718	0,7082
Tratamiento	5	2,17202	0,434404	58,841	0,0001
Error	10	0,073827	0,007383		
Total	17	2,25112			

Tabla 11. Análisis de Varianza de una vía. Prueba final (3ra semana)**Data:** Peso húmedo**Ho:** No existen diferencias en el peso húmedo entre tratamientos (RECHAZADA)

Source	df	Sum of squares	Mean square	F-ratio	Prob.
Const	1	48,3869	48,3869	4673,3	$\leq 0,0001$
Replica	2	0,009113	0,004557	0,44010	0,6559
Tratamiento	5	3,02153	0,604305	58,365	$\leq 0,0001$
Error	10	0,103539	0,010354		
Total	17	3,13418			

Tabla 12. Análisis de Varianza de una vía. Prueba final (4ta semana)**Data:** Peso húmedo**Ho:** No existen diferencias en el peso húmedo entre tratamientos (RECHAZADA)

Source	df	Sum of squares	Mean square	F-ratio	Prob.
Const	1	56,8846	56,8846	6061,1	$\leq 0,0001$
Replica	2	0,005763	0,002881	0,30700	0,7423
Tratamiento	5	6,90158	1,38032	147,07	$\leq 0,0001$
Error	10	0,093852	0,009385		
Total	17	7,00119			

Tabla 13. Análisis de Varianza de una vía. Prueba final (4ta semana b)**Data:** Longitud de concha**Ho:** No existen diferencias en la longitud de concha entre tratamientos (RECHAZADA)

Source	df	Sum of squares	Mean square	F-ratio	Prob.
Const	1	129,390	129,390	767,57	$\leq 0,0001$
Replica	2	0,568011	0,284006	1,6848	0,2341
Tratamiento	5	13,6346	2,72693	16,177	0,0002
Error	10	1,68572	0,168572		
Total	17	15,8884			