

63
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES

Campus Iztacala

VALORACION NUTRITIVA DE DIETAS MONOALGALES (*Tetraselmis suecica*, *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros gracilis*, *Chaetoceros calcitrans* y *Thalassiosira pseudonana*), PARA JUVENILES DE LOS BIVALVOS, CALLO DE HACHA (*Atrina maura*) Y MADREPERLA (*Pinctada mazatlanica*).

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G A
P R E S E N T A :
ESPERANZA RUIZ VELASCO CRUZ

DIRECTORES DE TESIS:

M. EN C. CONCEPCION LORA VILCHIS. INV. ASOC. "E"
PM. EN C. TEODORO REYNOSO GRANADOS. INV. ASOC. "B"

LA PAZ, BAJA CALIFORNIA SUR

1994

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

27 0085



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS.

A mis directores de tesis: M. en C. Ma. Concepción Lora Vilchis y M. en C. Teodoro Reynoso Granados, por su comprensión y paciencia dedicando gran parte de su tiempo para la elaboración de este trabajo, por su apoyo intelectual, impulsándome a seguir adelante sin darme por vencida, demostrando simplemente "hechos".

A mis sinodales: M. en C. Jonathan Franco, M. en C. Sergio Chazaro, Biol. Felipe Cruz y M. en C. Gloria Garduño, por sus sugerencias y comentarios del presente trabajo.

Gracias al Ing. David López y a la Dra. Bertha Olivia Arredondo, por su apoyo y comentarios para la realización de los análisis bioquímicos. Al Ing. Miguel Robles por su apoyo en la obtención de las semillas de *Atrina maura*.

Al Dr. Alfonso Maeda y Biol. Rafael Chava, por sus valiosos comentarios y sugerencias.

A todas las personas que forman parte del laboratorio de Ecofisiología de moluscos, por brindarme un ambiente de trabajo amistoso, por compartir e intercambiar ideas y conocimientos.

Un agradecimiento muy especial a las personas que forman parte de las siguientes áreas: Al personal de la Biblioteca y Centro de computo, por su ayuda desinteresada y amistosa, gracia Charly, Horacio, Tony.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., por facilitarme las instalaciones y equipos necesarios para la realización de esta investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y al programa de estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), por el apoyo económico recibido para la realización de este proyecto, mediante el programa de becas.

DEDICATORIA.

Con todo cariño dedico este trabajo a las personas más importantes de mi vida, de quienes he aprendido el valor que tiene una familia y que han compartido los mejores. " A mi madre y hermanos ".

A mi madre por su amor y cariño, por brindarme su confianza y apoyo incondicional a pesar de las adversidades.

A mis hermanos: Enrique, Esaid, Joaquin, David e Itzel, mi principal motor, porque siempre han estado junto a mí y me han apoyado en todos los proyectos que me he propuesto.

Este trabajo es el fruto de un esfuerzo conjunto y un nuevo logro, GRACIAS a mis directores de tesis y amigos Teo y Cony,.

A mis mejores amigos: Izmene, Nacho, Delia, Jorge, Alfredo, Jaime y Luis, por compartir conmigo momentos inolvidables, gracias por su ayuda y por brindarme lo más importante que hay en esta vida " Su amistad "

Existen amigos que a pesar de la lejanía siempre serán recordados y forman parte muy importante de la historia, a ustedes: Javi, Mony, Clau, Vero, Sag y Winy, Miguel y Bernardo.

ÍNDICE.

Índice.....	I
Resumen.....	1
1.- Introducción.....	2
2.- Antecedentes.....	6
3.- Objetivos.....	13
4.- Diseño experimental.....	14
5.- Metodología.....	16
Aclimatación de juveniles.....	16
Dietas.....	16
Determinación de peso seco para las microalgas.....	18
Relaciones alométricas para los moluscos.....	19
Determinación de tasas de filtración y clarificación.....	20
Determinaciones bioquímicas para las microalgas.....	22
Ración diaria de alimento.....	23
Determinación de eficiencia alimenticia.....	24
Análisis Estadísticos.....	25
6.- Resultados.....	26
Aclimatación de los juveniles.....	26
Determinación de peso seco para las microalgas.....	26
Relaciones alométricas para los moluscos.....	27
Tasas de filtración y clarificación.....	27
Determinaciones bioquímicas para las microalgas.....	29
Ración diaria de alimento.....	31
Eficiencia de las dietas.....	32
7.- Discusión.....	40

8.- Conclusiones.....	52
9.- Sugerencias.....	55
10.- Literatura citada.....	56
11.- Lista de figuras.....	67
12.- Lista de tablas.....	68
13.- Apéndices.....	69
1.- Pesquerías.....	69
2.- Biología general de las especies.....	73
3.- Determinaciones bioquímicas.....	88
4.- Morfometría de las especies.....	95
5.- Análisis de regresión múltiple.....	97
6.- Prueba de Tuckey para <i>Atrina maura</i>	99

RESUMEN.

En este estudio se llevo a cabo la valoración nutritiva de las microalgas probándolas como alimento para juveniles de *Atrina maura* (callo de hacha) y *Pinctada mazatlanica* (madreperla); se alimento a los organismos durante 21 días con las microalgas *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros gracilis*, *Chaetoceros calcitrans*, *Thalassiosira pseudonana* y *Tetraselmis suecica*. El calculo de la ración diaria se hizo mediante experimentos previos de filtración y clarificación, usando *Isochrysis galbana*, para saber el número de microalgas que son consumidas por los moluscos durante un día y la temperatura óptima de filtración. Se realizaron determinaciones de peso seco de las microalgas y de los moluscos, para ajustar la misma ración de alimento en miligramos para todas las especies de microalgas empleadas y en relación a la biomasa de molusco, expresado en peso seco. Los resultados para *Atrina maura* cultivada a 22 °C muestran que *C. gracilis*, produjo incrementos significativos en talla. En el caso de *Pinctada mazatlanica*, cultivada a 24 °C, no se apreció diferencia significativa alguna entre los diferentes tipos de microalgas. *Isochrysis galbana*, en gran cantidad de estudios se ha reportado como un alimento tipo que da buenos resultados para el crecimiento de moluscos; en este estudio registró los más bajos crecimientos en los juveniles de *A. maura*. Los análisis bioquímicos de las microalgas mostraron que *Isochrysis galbana* presentó una proporción considerable de proteínas, lípidos y carbohidratos, en caso contrario *Chaetoceros gracilis* presentó proporciones bajas de estos elementos. Durante el desarrollo de los experimentos se tuvo una sobrevivencia total de los juveniles.

INTRODUCCIÓN.

En México existe una gran diversidad de moluscos, solo en la península de Baja California se han identificado 28 especies de bivalvos (Keen, 1971), que representan un importante recurso pesquero. Entre estas especies se encuentra el callo de hacha *Atrina maura* y la ostra perlera *Pinctada mazatlanica*, las cuales se desarrollan en el Golfo de California y el Océano Pacífico. El callo de hacha tiene una gran aceptación en el mercado nacional por el buen sabor del músculo aductor o callo; en el caso de la madreperla el comercio se ha propiciado por la obtención de perlas.

La descripción del estado pesquero en estas especies ha sido reportada por diversos autores (Sevilla, 1969; Martínez, *et al.*, 1992; Miranda y Balderas, 1994; Reynoso, *et al.*, 1996; Vélez y Fajardo, 1996)(apéndice 1). Se aprecia que estos recursos han estado sujetos a una explotación creciente conduciendo así a una disminución considerable de las poblaciones naturales. Por tal motivo y con el fin de hacer un mejor manejo de los recursos, algunas instituciones del país están desarrollando técnicas para el cultivo extensivo de larvas y juveniles *in situ*, así el laboratorio de ecofisiología de moluscos del CIBNOR, se suma a estos esfuerzos avanzando en el conocimiento de técnicas que sirvan para cultivar moluscos de importancia comercial (Maeda, *et al.*, 1996), sin embargo en la obtención de larvas no se ha logrado una productividad continua que permita satisfacer la demanda de juveniles.

La biología general de *A. maura* y *P. mazatlanica* ha sido descrita por diversos autores (Noguera, 1968., Sevilla, 1969., Araya-Nuñez, 1988., García-Gasca, 1992) (apéndice 2); a pesar de la información registrada, aún se desconocen las características del desove y de fertilización, por lo que no se ha llegado a controlar por completo esta fase en el laboratorio.

Es claro que el realizar estudios sobre la biología y ecofisiología de las especies que se aprovechan en México como el callo de hacha y la madreperla, redundará en beneficio de la acuicultura. Las investigaciones ecofisiológicas generan conocimientos rápidos acerca del comportamiento de los organismos ante diferentes estímulos, como pueden ser la temperatura, salinidad, presión parcial de oxígeno, cantidad y tipo de alimento.

Además de la ecofisiología existen otras áreas que también tienen gran influencia en la acuicultura de los bivalvos, como la nutrición y fisiología del fitoplancton. La primera repercute en un mejor crecimiento de los organismos y la segunda sobre una mayor producción de alimento.

A pesar de que se ha intentado sustituir el alimento vivo por alimento particulado sintético (Langdon, 1982), el fitoplancton sigue siendo la base de la cadena alimenticia y el alimento fundamental de los moluscos bivalvos. Las microalgas son las principales productoras de energía las cuales utilizando la energía solar, el bióxido de carbono (CO_2) y elementos químicos inorgánicos, son capaces de producir complejos compuestos orgánicos de alto potencial energético como las proteínas, lípidos y carbohidratos.

El valor de una microalga como alimento para bivalvos, una vez ingerida, está en función de su composición bioquímica, un mejor conocimiento de esta permite una óptima utilización del recurso. Existen varios factores que afectan la composición bioquímica de una microalga como son, el suministro de nitrógeno (Abalde, *et al.*, 1996), la temperatura, la iluminación (intensidad, longitud de onda y fotoperíodo) (Brown, *et al.*, 1997; Enright, *et al.*, 1986), el pH del medio, el suministro de CO_2 , el tipo de nutrientes (Rodhouse, *et al.*, 1983) y la fase de crecimiento del cultivo (Whyte, 1987), todas estas variantes tienen una acción directa sobre el crecimiento y metabolismo de las microalgas.

Aproximadamente el 90% del peso seco de una célula de microalga está constituida de proteínas, lípidos y carbohidratos, el componente principal generalmente son las proteínas, que suponen más del 50 % del peso seco, el segundo componente son los lípidos y carbohidratos según las especies y condiciones de cultivo. Los ácidos nucleicos y las cenizas constituyen proporciones menores del peso seco (Abalde, *et al.*, 1996).

Para evaluar una especie de microalga como alimento para moluscos bivalvos resulta necesario conocer su composición bioquímica y los factores que inciden en la capacidad nutritiva de las microalgas. Entre las principales están:

- Tamaño y forma adecuada para cada especie filtradora, que permita a los organismos ingerir el fitoplancton.
- Capacidad del sistema digestivo de los moluscos para digerir estas microalgas.
- La composición bioquímica de la especie de fitoplancton en cuestión deberá proveer a los organismos de nutrimentos esenciales para un buen desarrollo y crecimiento (Pechenik, *et al.*, 1979).

Existen varios problemas asociados con el uso de las microalgas como alimento, entre estos se menciona la falta de conocimientos acerca de sus valores nutricionales y las necesidades de estos nutrientes en algunas especies consumidoras de microalgas.

Para que un tipo de alimento sea bien aprovechado, es necesario tomar en cuenta la concentración que está disponible para los organismos, al determinar previamente el intervalo de concentración en que existe filtración sin la producción de pseudoheces, para evitar un desgaste energético extra, para lo cual es necesario conocer el volumen de agua

que un organismo es capaz de liberar de partículas (tasa de clarificación) así como el número de células que son ingeridas por un individuo en un tiempo determinado (tasa de ingestión), estos valores cambian de acuerdo a la dieta administrada, concentración, temperatura, tamaño, tipo de consumidor, estadio de desarrollo, etc.

En este estudio se evaluaron cinco especies de microalgas como dietas monoalgales para juveniles de callo de hacha (*Atrina maura*) y de madreperla (*Pinctada mazatlanica*), mediante el registro del crecimiento en función de la dieta de los individuos y su posible relación con la composición bioquímica de las microalgas.

ANTECEDENTES.

Para el estado de Baja California Sur, tanto el callo de hacha como la madre perla, son moluscos bivalvos de importancia económica y comercial, que se han visto expuestos a una sobreexplotación, los aspectos sobre la biología y ecología de estas especies son elementales y deben considerarse para el cultivo de las mismas, por lo que algunas investigaciones se enfocan en desarrollar técnicas que permitan tener un mayor conocimiento de las preferencias alimenticias y la calidad nutricional de las microalgas como alimento para diferentes especies de moluscos.

Los estudios nutricionales en condiciones de laboratorio permiten mejorar las alternativas alimenticias y conocer los requerimientos mínimos y básicos para un mejor desarrollo, al determinar la cantidad y calidad de la dieta que se administre como alimento y que los organismos necesiten (Knauer *et al.*, 1996).

En los años 50 y 60's se desarrollaron técnicas simples para el cultivo de microalgas marinas tomando en cuenta sólo aspectos cualitativos en la nutrición de moluscos. Un ejemplo de este tipo de investigaciones son las realizadas por Davids (1964), quien hizo un estudio en donde observó la influencia que tienen las dietas microalgales administradas en diferentes concentraciones. Walne (1970), publicó un extenso trabajo en donde relacionó los valores alimenticios de 19 especies de microalgas probadas como alimento en juveniles de bivalvos de los géneros: *Ostrea*, *Crassostera*, *Mercenaria* y *Mytilus*. Se aplicó diversas concentraciones de alimento y analizó que microalgas dieron mejores resultados en el crecimiento, él tomó como microalga control a *Isochrysis galbana*, obteniendo para *Ostrea edulis* alimentados con *Dicrateria inornata* un buen incremento en talla similar a los alimentados con *I. galbana*. *Crassostrea gigas* alimentada con *Pavlova gyrans*, presentó un incremento bueno, similar al de los controles con *I. galbana*. Otra microalga que se probó fue *Monochrysis lutherii*, que dio buenos resultados en *Mercenaria mercenaria*, *Ostrea lutaria* y *Crassostrea gigas*.

Epifanio (1979), probó en *Crassostrea virginica* y *Mercenaria mercenaria* distintos tipos alimenticios, combinó las microalgas *I. galbana*, *T. suecica*, *T. pseudonana*, *Carteria chui*, *Platymonas suecica*, las cuales habían tenido mejores resultados para el crecimiento, al cubrir de esta manera los requerimientos nutricionales de los moluscos, obtuvo como resultado que los moluscos alimentados con la combinación *I. galbana* / *T. pseudonana*, tuvieron un buen crecimiento, sin embargo al probar *T. pseudonana* como alimento único, los incrementos eran menores, concluyendo de esta manera que algunos alimentos dan mejores resultados al administrarse en combinación. Helm (1977), obtuvo un mayor crecimiento de las larvas de *Ostrea edulis* al suministrar *I. galbana* y *T. suecica* en raciones combinadas pues al darlas como alimento de manera independiente el crecimiento fue mucho menor.

Epifanio (1983), realizó una revisión sobre los alimentos para bivalvos, refiriéndose a aquellas que tenían una buena calidad y cuales eran las cantidades adecuadas, que hasta ese tiempo habían dado como resultado un buen desarrollo, indicando que las diferencias nutricionales se debían a la buena digestibilidad y la composición bioquímica de la microalga, él hace referencia al crecimiento que se tenía registrado al alimentar juveniles de *Crassostrea virginica* con microalgas que son fáciles de digerir como *Carteria chui*, *Platymonas suecica*, *Isochrysis galbana* y *Thalassiosira pseudonana* en contraste con trabajos en los que se alimentó con *Phaeodactylum tricornutum*, microalga que algunos moluscos no podían asimilar pues los compuestos que presentaba no eran fáciles de digerir, también mencionó que al dar a los moluscos raciones de alimento mixtas en las cuales se combinaban diferentes tipos de microalgas se podía enriquecer la composición bioquímica del alimento.

Al avanzar en las investigaciones fué necesario tener un mayor conocimiento sobre como satisfacer los requerimientos nutricionales de los organismos, estudiando la composición química de las microalgas intentando tener un mayor conocimiento del tema,

Volkman *et al.*, (1989) y Brown *et al.*, (1989), analizaron cuales de los elementos que conforman a una microalga se encuentra en mayor cantidad como las proteínas y cómo estos elementos van a influenciar en el crecimiento de los individuos. De ésta manera se empiezan a probar dietas simples ó combinadas, observando las proporciones de sus componentes químicos totales y aislados como lípidos, carbohidratos y proteínas, entre otros y la forma en como estos podían afectar el desarrollo de los individuos. Whyte *et al.*, (1990), probaron en larvas de *Crassostrea gigantea* dietas mixtas, estas tuvieron un buen crecimiento al alimentarlas con *I. galbana* y *C. calcitrans*, concluyendo que ésto se debía a un mayor suministro de energía, ya que éstas mezclas acumulaban una gran cantidad de ácidos grasos y lípidos. Kreeger y Langdon (1993), trabajaron con *Mytilus trossulus*, que alimentaron con diferentes proporciones de proteínas, sugiriendo que las dietas con mayor contenido de proteínas pueden limitar el crecimiento de los organismos. Wayne *et al.*, (1992), probaron en juveniles de *Saccostrea commercialis* dietas combinadas y obtienen que los juveniles alimentados con una combinación de *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros calcitrans*, *Chaetoceros gracilis* y *Thalassiosira pseudonana*, produjeron un mayor incremento en el peso vivo de los moluscos. Nell y Wayne (1991), probaron en *Saccostrea commercialis* combinaciones bialgales obteniendo con las combinaciones *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans* y *P. lutheri* e *I. galbana*, los mayores incrementos en peso fresco.

La influencia de los componentes y las condiciones de los medios de cultivo sobre la composición de las microalgas también han sido observadas, Enright *et al.*, (1986), alteraron los ciclos de luz-obscuridad (12:12 h) e inyectando 1.2 % de dióxido de carbono, provocaron alteraciones en la fisiología y en la composición bioquímica de las microalgas, y el efecto de estos cambios se registró por el crecimiento que presentaron los juveniles de *Ostrea edulis*, obteniendo un mayor incremento en talla al ser alimentados con *Chaetoceros gracilis*. Wikfors *et al.*, (1984), observaron el crecimiento de *Crassostrea virginica* alimentada con *Dunaliella tertiolecta* y *Tetraselmis maculata* cultivadas en medios diferentes y observaron

que la variación de estos tuvo un efecto directo sobre el crecimiento el cual se registró con la ganancia en tallas, al adicionar al medio de cultivo donde crecían las microalgas una menor cantidad de nitratos y fosfatos e incrementando las concentraciones de hierro y vitamina lo que provocó que se acumularan una mayor concentración de proteínas y carbohidratos. Rodhouse *et al.*, (1983), realizaron cultivos masivos de *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros* sp. y *Nitzschia*, las cuales crecieron en exposición al ambiente y enriqueciendo los medios con nutrimentos, en *Ostrea edulis* y la respuesta de crecimiento fué que esta especie crece más cuando al medio de cultivo se le adicionan menos silicatos y más nutrimentos orgánicos.

Otro factor que puede variar la composición química de una microalga es la fase de crecimiento en la cual sea cosechada. Whyte (1987), mostró que al cosechar las microalgas en un fase de crecimiento estacionaria se obtenían porcentajes diferentes de los componentes microalgales, observó que en las células de *Isochrysis galbana* había mayores reservas energéticas que en las de *Chaetoceros calcitrans*, *Tetraselmis suecica* y *Thalassiosira pseudonana*, cuando se cosecharon en una fase de crecimiento exponencial. Thompson *et al.*, (1996), analizaron la composición bioquímica de *Thalassiosira pseudona* y *Pavlova lutheri*, las cuales crecieron en medios de cultivo expuestos a diferentes intensidades luminosas durante distintos intervalos de tiempo, ellos observaron que la composición bioquímica y el crecimiento de las microalgas cambiaba dependiendo de la irradiación en las que se desarrollaban las microalgas y las probarón como alimento para *Crassostrea gigas*. Encontraron que a altas intensidades de luz había un mayor crecimiento del fitoplancton y este era más rico nutricionalmente para *C. gigas*.

Entre los factores que afectan la respuesta de crecimiento de los organismos está la concentración de alimento, ésta va a repercutir en la capacidad de ingestión, digestión y absorción de los organismos, Pechenik y Fisher (1979), probarón en larvas de *Nassarius obsoletus* diferentes tipos de algas y observaron la relación que hay entre el crecimiento y

la habilidad de las larvas para ingerir y asimilar cada una de las dietas que administradas en mayores concentraciones provocaron una disminución en la retención y asimilación del alimento. Ward *et al.*, (1992), analizaron la quimiorrepción de *Placopecten magellanicus* al estimular los efectos de filtración a través del tipo de alimento proporcionado, mencionan que existen ciertas sustancias liberadas por el alimento que van a tener una influencia sobre el organismo para estimular el consumo o rechazo del mismo. Albertosa *et al.*, (1996-2), probaron en semillas de *Ruditapes decussatus* diferentes concentraciones de *Isochrysis galbana*, y a través de la ecuación del balance energético observaron la capacidad de ingestión y digestión como factores determinantes que van a proporcionar la energía suficiente para satisfacer las necesidades metabólicas esenciales y la energía restante se utilizaría entonces para el crecimiento. Horgan y Mills (1997), probaron en *Dreissena polymorpha* los valores del consumo y retención del alimento obtienen que estos dependen de la talla del molusco y de su actividad filtradora, la cual disminuyo de acuerdo a la cantidad de alimento que se tenía en el medio, la concentración de alimento al ser mayor provocó que los organismos no filtraran de mejor manera y la retención de las partículas se veía reducida, desaprovechando el alimento, el cual al estar presente en altas concentraciones era expulsado a través de la producción de pseudoheces.

Otros investigadores probaron variaciones en las condiciones con las que se trabajaron los organismos, como la temperatura, salinidad, velocidad de corrientes, oxígeno disuelto y sedimentos en suspensión. Rice y Pechenik (1992), hicieron una revisión de como afectan estos diferentes factores en el crecimiento de los moluscos. Del Río-Portilla *et al.*, (1992), probaron en *Pteria sterna* las influencias de tres diferentes temperaturas con tres concentraciones diferentes de *Chaetoceros* sp. observando que el crecimiento esta influenciado por la disponibilidad de alimento y la temperatura, ellos obtienen un mayor crecimiento de este molusco manteniéndolo entre 25 y 30 °C con bajas concentraciones de alimento. Albertosa *et al.*, (1996-1), hicieron referencia al crecimiento de semillas de *Ruditapes decussatus* tomando en cuenta las variaciones en los parámetros fisicoquímicos

y bioquímicos, los criterios que utilizaron para evaluar las dietas que probaron fueron, la aceptabilidad y digestibilidad del alimento, el incremento en talla y composición bioquímica de los organismos que refleja el grado de asimilación de un alimento y la manera en que esté fue aprovechado por el individuo, ellos mencionaban el mejor crecimiento para los organismos alimentados con *T. suecica*, microalga que presentó los valores mas altos de ingestión, los análisis bioquímicos mostraron que esta microalga registró las más bajas concentraciones de proteínas, por los que se menciona que los requerimiento de este compuesto en *R. decussatus* no son muy altos aprovechando mejor los carbohidratos presentes en mayores cantidades en esta microalga.

En otros estudios se utilizaron las microalgas como inductoras de la maduración gonádica Martínez *et al.*, (1992), realizaron un trabajo en *Argopecten purpuratus*, donde compararon los estadios de maduración de organismos alimentados con *Chaetoceros calcitrans*, *C. gracilis* e *Isochrysis galbana* en proporciones mixtas y organismos que crecieron y se desarrollaron en campo, examinan la proporción de lípidos, carbohidratos, proteínas y las variaciones de ácidos grasos y DNA-RNA, concluyendo con base a los análisis bioquímicos, que los organismos crecidos en laboratorio no tienen un uso óptimo de sus recursos pues los individuos que se desarrollan en su medio natural obtienen un mejor balance de los componentes que forman parte del alimento. Heasman *et al.*, (1996), realizaron un estudio en *Pecten fumatus* en donde utilizaron como estimulante para la maduración gonádica, cambios en la temperatura y diferentes tipos de alimento, los cuales se aplicaron de manera secuencial, de esta manera se afecto en la dinámica de los procesos y se produjo un mayor desarrollo de los ovocitos. En este tipo de trabajos se reportan la calidad y tamaño de los huevos producidos y el grado de maduración de la gónada en función del alimento. La dieta también dependerá del estadio de desarrollo del molusco.

El uso de sustitutos de las microalgas para llenar los requerimientos nutricionales de los organismos fué revisado por Coutteau y Sorgeloos (1992). Ellos reunieron información sobre los cultivos de moluscos y las dietas artificiales, como los microencapsulados propuestas por varias naciones, como una opción para reducir el costo en la producción de alimento microalgal. Knauer y Southgate (1996), probaron dietas pulverizadas elaboradas a base de *Spongiococcum excentricum* una alga de agua dulce, como alimento para *Crassostrea gigas*, los resultados que obtuvieron mostraron que no hay una mejora significativa en el crecimiento cuando aplicaron esta dieta como sustituto de las microalgas.

En la actualidad se están realizando investigaciones para observar las respuestas fisiológicas de los organismos ante diferentes concentraciones de alimento, se lleva un registro la calidad de las partículas en suspensión, se comparan y simulan las concentraciones de alimento con las que se tienen en el medio natural, se hacen registros de la eficiencia de absorción en base al espacio de crecimiento, la actividad filtradora y la selección de partículas, investigando la variación en la demanda energética asociada con la excreción y el consumo de oxígeno de los organismos expuestos a diferentes concentraciones de alimento. Se miden los costos energéticos y la ganancia de la misma para el requerimiento de los procesos fisiológicos de los organismos y para obtener un mejor crecimiento. Bacon *et al.*, (1998); Bruce *et al.*, (1998); Cranford *et al.*, (1998); Hawkins *et al.*, (1998); Iglesias *et al.*, (1998).

Se tiene conocimiento acerca de las preferencias alimenticias y los efectos que tienen diferentes tipos de alimento en el crecimiento algunas especies de bivalvos, de igual manera se conoce la calidad nutricional de las microalgas, sin embargo este tipo de estudios no se han realizado aun para el callo de hacha y la madreperla por lo que en el presente estudio se pretendió conocer las necesidades nutricionales básicas en juveniles de *Atrina maura* y *Pinctada mazatlanica* al cultivarlos en condiciones de laboratorio.

OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL.

Evaluar el potencial nutritivo de cinco especies de microalgas como alimento para juveniles de *Atrina maura*, Sowerby, 1835 (callo de hacha) y *Pinctada mazatlanica*, Hanley, 1856 (madreperla) a través de su crecimiento.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

Aclimatar juveniles de callo de hacha y madreperla a condiciones de laboratorio.

Determinar las tasas de filtración en *Isochrysis galbana* para cada una de las especies, así como la temperatura óptima para el mejor consumo de alimento.

Evaluar el crecimiento en cada dieta para determinar con cual se tiene un crecimiento óptimo.

Determinar el contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos totales presentes en las microalgas, para estimar si existe una relación entre cada tipo alimenticio y su composición química sobre el crecimiento.

DISEÑO EXPERIMENTAL

La evaluación de la eficiencia nutritiva de las microalgas *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans*, *Chaetoceros gracilis*, *Tetraselmis suecica* y *Thalassiosira pseudonana*, para juveniles de *Atrina maura* y *Pinctada mazatlanica*, se determinó a través del crecimiento, se alimento a los juveniles con las diferentes dietas en raciones determinadas durante 21 días y comparando los incrementos en talla de cada organismo al medir los ejes de crecimiento, dichas mediciones se hicieron al inicio del experimento y consecutivamente cada 7 días (Albentosa, *et al.*, 1996-1).

Los juveniles se aclimataron en condiciones de laboratorio manteniéndolos en acuarios plásticos de 40 l, con una temperatura de 22 °C, aireación constante y alimentándolos con una mezcla de *I. galbana* y *T. pseudonana* en proporción 1 : 1.

Para calcular la ración diaria de alimento en cada grupo de organismos fué necesario hacer experimentos previos que permitieran determinar el consumo de células de microalgas durante una unidad de tiempo, por cada organismo, esto fué posible al llevar a cabo experimentos de filtración y clarificación.

La capacidad de ingestión (filtración), en los moluscos fué determinada con la microalga *I. galbana* a una concentración de 5×10^4 cels / ml y bajo diferentes temperaturas (21, 23, 25 y 28 °C). Estos experimentos de corto plazo se hicieron para cada una de las especies, los resultados mostraron la temperatura en la cual los moluscos tenían una máxima filtración (mayor retención de microalgas por unidad de tiempo = tasa de filtración) y la máxima clarificación (volumen liberado de partículas por unidad de tiempo = tasa de clarificación). Para expresar estos resultados con relación al peso se hicieron determinaciones de peso seco orgánico de las microalgas y de los moluscos.

Para cada especie de microalga se hizo la determinación de peso seco y peso seco libre de cenizas según las técnicas propuestas por Arredondo *et al.*, (1997). Posteriormente se calculó la equivalencia de peso seco de cada una de las especies de microalgas con respecto al peso seco de *I. galbana*, que fué la microalga utilizada en los experimentos de filtración; esta equivalencia sirvió para alimentar a los moluscos con una misma biomasa de microalga.

Las determinaciones de peso seco para cada una de las especies de moluscos se hicieron previo a comenzar los experimentos de crecimiento, para lo cual se sacrificó un grupo inicial de bivalvos midiendo cada uno de sus ejes de crecimiento, para de esta forma saber la relación existente entre el peso seco y peso seco libre de cenizas para una talla determinada, conociendo de forma indirecta y sin necesidad de sacrificar más organismos mediante la medición de sus ejes de crecimiento, la biomasa seca del molusco.

Los métodos utilizados para los análisis bioquímicos fueron retomados de Arredondo *et al.*, (1997); Lowry *et al.*, (1951), en proteínas; los carbohidratos por el método Fenol-sulfúrico de Dubois *et al.*, (1956), para lípidos se usó el método propuesto por Dubinsky (1979), para la extracción el procedimiento de Bligh y Dyer (1959) y para la determinación cuantitativa el método de Marsh y Weinstein (1966) (apéndice 3).

METODOLOGÍA

Aclimatación de juveniles.

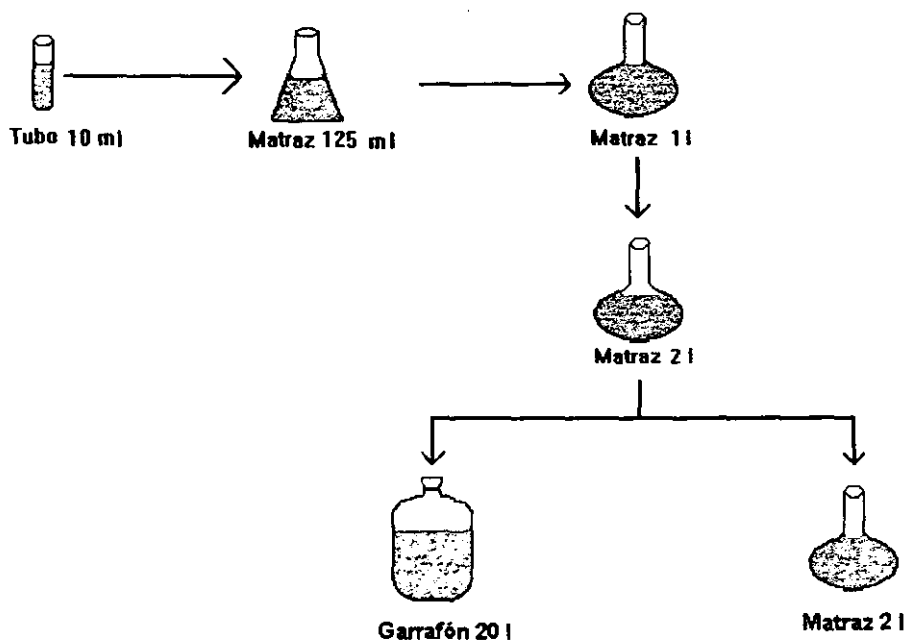
Los ejemplares de callo de hacha fueron producidos en el mes de Febrero de 1997 en las instalaciones del laboratorio de ecofisiología de moluscos del CIBNOR. Los juveniles de madreperla se colectaron en la estación de cultivo Isla Gaviota del CIBNOR, en La Paz Baja California Sur, transportándolos al laboratorio de ecofisiología de moluscos en hieleras con aireación y agua marina a la misma temperatura del sitio de colecta, 25 ± 2 °C. En el laboratorio los organismos se limpiaron de epibiontes manualmente y pasaron a una etapa de aclimatación en acuarios plásticos (40 l) con agua marina filtrada (5 - 10 μ). En este período se hicieron cambios de agua diarios y se mantuvo con aireación constante para evitar la sedimentación del alimento. La temperatura se mantuvo a 22 ± 1 °C. El alimento se racionó en dos porciones diarias de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Thalassiosira pseudonana*, cultivadas con medio f/2 en columnas de 250 l, dando una concentración de 1.5×10^5 cel / ml, con relación 1 : 1.

Dietas.

Las especies de microalgas valoradas fueron: *Isochrysis galbana* var. *Tahitiana*, *Tetraselmis suecica*, *Thalassiosira pseudonana*, *Chaetoceros gracilis* y *Chaetoceros calcitrans*. Usadas entre otras microalgas por los buenos resultados logrados en otros estudios (Brown *et al.*, 1997). Las cepas fueron adquiridas del laboratorio de genética y del cepario del CIBNOR a partir de tubos de 10 ml los cuales se inocularon secuencialmente a matraces de 125 ml, 1 l, 2 l y garrafones de 20 l (Figura 1). Excepto los garrafones, todo el material se esterilizó en autoclave (110 °C/15 Lb) durante 15 min. Las siembras se hicieron en campana de flujo laminar. El tratamiento para los garrafones consistió en lavarlos, agregar 3 ml de hipoclorito de sodio (cloro comercial), llenarlos por completo con agua marina filtrada a 1 μ , después de 24 h se adicionaron 0.8 ml de solución tiosulfato de sodio

al 20 %, para neutralizar el cloro existente en el agua; se conectaron a aireación constante durante una hora, y enseguida se inocularon con las microalgas. Los garrafones se mantuvieron en un cuarto a temperatura de 23 ± 1 °C, con luz blanca continua y flujo de aire filtrado (1μ), para confirmar que el cultivo monoalgal en crecimiento estuviese libre de otras poblaciones, los cultivos se revisaron cada 15 días con el microscopio óptico para verificar que las cepas no estuvieran contaminadas, en caso de haber contaminación estas eran eliminadas.

Figura 1.- Esquema general del sistema de producción de microalgas utilizadas como alimento para juveniles de *Atrina maura* y *Pinctada mazatlanica*.



Determinación de peso seco y peso seco libre de cenizas para las microalgas.

Esta determinación se llevó a cabo cuando las microalgas se encontraban en la fase de crecimiento exponencial. El método aplicado fué el sugerido por Arredondo *et al.*, (1997), el cual se modificó según las necesidades para este estudio y consistió en:

1. - Filtros Whatman de fibra de vidrio GF/C 2.5 cm de diámetro, se lavaron con agua destilada y se calcinaron a 450 °C (para eliminar la materia orgánica residual). El manejo de cada filtro se hizo en charolas de aluminio previamente marcadas. Se llevaron a peso constante a 70 °C.
2. - Con presión negativa se filtraron de 3 - 8 ml del cultivo de microalgas de concentración conocida a través de los filtros preparados, el volumen dependió de la densidad de microalgas existentes en el medio y se lavó con formato de amonio 0.5 M.
3. - Las muestras se llevaron a peso constante a 70 °C durante 24 h.
4. - Por diferencia de peso seco del filtro y del filtro seco con muestra se obtuvo el **peso seco total**, expresado en mg / ml.
5. - La determinación de **peso seco libre de cenizas ó peso seco orgánico**, se hizo calculando la diferencia entre peso seco y peso cenizas el cual se obtiene al llevar las muestras a 450 °C por 12 h y determinando el peso constante.
6. - Para las determinaciones de peso se usó una microbalanza CAHN C-33.

Relaciones alométricas en moluscos.

Antes de iniciar los experimentos de nutrición se determinaron las relaciones de largo, ancho y espesor en función del peso húmedo (vivo), peso seco y peso seco libre de cenizas en otros organismos para así poder calcular la ración diaria de alimento necesaria para la biomasa de los moluscos contenida en cada cubeta ya que estos no se sacrificaron. El método consistió en:

1. - Tomar un número de organismos (40 juveniles de callo de hacha, 36 de madreperla), se midieron en sus ejes de crecimiento, largo, ancho y espesor (apéndice 4, figura a y b), solo para el caso de la madreperla además se midió el eje de crecimiento máximo. Se secaron con papel absorbente y se pesaron en una balanza analítica, para obtener el **peso húmedo o vivo** de cada organismo, marcándolos.
2. - Se secaron a 70 °C hasta que el peso fue constante esto equivale a **peso seco**.
3. - Se calcinaron a 450 °C en una mufla y se llevaron a peso constante a 70 °C, obteniendo así el **peso cenizas**.
4. - La diferencia entre el peso seco y el peso ceniza dió como resultado el **peso orgánico o peso seco libre de cenizas**.
5. - Las relaciones alométricas encontradas fueron del tipo $y = a (x)^b$, este modelo exponencial se linealizó aplicando logaritmos $\log y = \log a + b (\log x)$, donde $y =$ Biomasa del bivalvo de acuerdo a su talla; $x =$ Eje de crecimiento medido (mm); $a =$ ordenada al origen y $b =$ Pendiente (Según los modelos aplicados por Albentosa, *et al.*, 1996)

Determinación de la tasa de filtración en función de la temperatura.

Los experimentos a corto plazo para determinar la relación de filtración en función de la temperatura consistieron en medir durante intervalos regulares de tiempo la desaparición de células de *Isochrysis galbana* por mililitro, restituyendo periódicamente la concentración. Una consideración fundamental se hizo con base a los resultados de Bayne (1962), suponiendo que la desaparición de células de las cámaras de incubación corresponde con la filtración e ingestión de las mismas. A continuación se menciona la metodología desarrollada:

1. - En cámaras de incubación (C. I.) de 4 l se colocó un volumen de 3 l de agua marina filtrada a 1μ , con aireación constante.
2. - Las C. I. se pusieron en baño María manteniendo así las temperaturas probadas que fueron de 21, 23, 25 y 28 °C.
3. - Se eligieron 5 organismos por cada C. I., de tallas parecidas teniendo así una biomasa similar. Para evitar la manipulación, las biometrías de los organismos se hicieron al finalizar los experimentos, (apéndice 4, figura a y b).
4. - Para cada experimento se instalaron 2 C. I. control sin organismos y 6 réplicas con 5 organismos.
5. - Los conteos de las microalgas se realizaron con un contador de partículas (Coulter counter).
6. - Cada C. I. se le adicionó el volumen suficiente de suspensión de microalgas para alcanzar una concentración de 5×10^4 cel / ml, en fase de crecimiento exponencial.

7. Al momento de adición de las microalgas se consideró como tiempo cero (t_0), transcurridos 5 min. se tomó una muestra de 20 ml de cada C. I. y se determinó la concentración C_1 (cels/ml), igualmente 20 minutos después (Δt) se registró la concentración C_2 (cels/ml). La tasa de filtración en éste periodo (F_a) se calculó de la manera siguiente:

$$F_a = (C_1 - C_2 / \Delta t) (V) \quad (\text{cels} / \text{min})$$

donde Δt = intervalo de tiempo entre C_1 y C_2

V = Vol. de agua marina en la C. I. Antes de determinar C_2 .

8. - Para reponer el número de partículas en cada C. I. y mantener la concentración a 5×10^4 cels / ml; al consumo I_1 , se le sumó el estimado I_2 que representa la cantidad de alimento que será consumido en un Δt que va del tiempo de obtención de C_2 al tiempo de adición ya que esta adición no puede ser simultánea y éste Δt en general fue de 15 - 20 min.

$$I_2 = F_a \times \Delta t_2$$

El total de células a reponer es:

$$I_R = I_1 + I_2$$

Si la concentración de la suspensión de microalgas de reposición es C_R , entonces el volumen a restituir será (V_R)

$$V_R = I_R / C_R$$

9. Este ciclo de muestreos para determinar I_1 y estimar I_2 así como la reposición del consumo, se hicieron por un mínimo de 4 h y un máximo de 6 h, para cada temperatura (21, 23, 25 y 28 °C).

10. Al final del experimento se midieron los organismos en sus ejes de crecimiento y se pesaron, para obtener la relación de filtración por gramo de peso vivo y de peso seco libre de cenizas durante un minuto (con base al cálculo con las relaciones alométricas previamente determinadas).
11. Se determinó la tasa de aclaramiento o clarificación (A); ésto es el volúmen de agua liberado de partículas por unidad de tiempo y por unidad de peso seco y peso libre de cenizas calculado en forma similar al punto 10.

$$A = Fa / C / M \text{ (ml/min/g)}$$

donde C = concentración promedio en la C. I. en cada intervalo de tiempo.
M = masa seca o masa orgánica en cada C. I.

12. Se graficaron los datos de Fa y A. para cada temperatura, calculando los promedios a partir de que la filtración se hizo constante y con ellos se obtuvieron las tasas de filtración y clarificación óptimas, en función a la temperatura.

Determinaciones bioquímicas.

Obtención de las muestras.

Para estimar el valor de las microalgas probadas como alimento se determinó en cada una de las especies su composición bioquímica, ésto es contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos totales, siguiendo los métodos descritos por Arredondo *et al.*, (1997), haciendo algunas modificaciones según las necesidades que se fueron presentando, (apéndice 3). Para realizar todas las determinaciones inicialmente se procedió a la obtención de las microalgas de la siguiente manera:

1.- Se filtró un cultivo de microalgas (3 - 8 ml) con un sistema de presión negativa en membranas GF/C de 2.5 cm de diámetro. Para posteriormente realizar la extracción de los compuestos, de acuerdo a los métodos indicados en el apéndice 3.

Las proteínas se determinaron por el método de Lowry *et al.*, (1951), los carbohidratos se cuantificaron por el método de Dubois *et al.*, (1956), y en la extracción de lípidos se utiliza el protocolo de Dubinsky (1979), una modificación del procedimiento de Bligh & Dyer descrito por Holland (1971).

Ración diaria de alimento.

Para promover el crecimiento de los juveniles de moluscos estudiados fué necesario establecer una ración diaria de alimento, ésto es, una cantidad necesaria de microalga (mg) que procurara compensar las demandas de una biomasa determinada de molusco (mg) para cada día. El volumen de microalga con que se alimento a los juveniles cambió diariamente según la densidad de los cultivos, la cual variara dependiendo de la fase de crecimiento en la que se encuentren.

Los resultados de los experimentos de filtración sirvieron para decidir la temperatura adecuada en la que los moluscos ingirieron un mayor número de partículas por unidad de tiempo y la tasa de clarificación (volumen de agua liberado de partículas por unidad de tiempo en cada individuo), de este modo se calculó el número de células que un organismo consume por día. Para transformar estos resultados en miligramos de alimento consumido por organismo, se realizaron determinaciones de peso seco del alimento.

Las determinaciones de peso seco de las microalgas sirvieron para saber el equivalente en peso seco de las microalgas con relación al peso de *I. galbana*, microalga usada como tipo en los experimentos de filtración.

Para expresar los resultados en función del peso de los organismos sin tener que sacrificarlos, se determinaron las relaciones del tipo $y = a (x)^b$, de largo, ancho, espesor y peso vivo, peso seco y peso seco libre de cenizas.

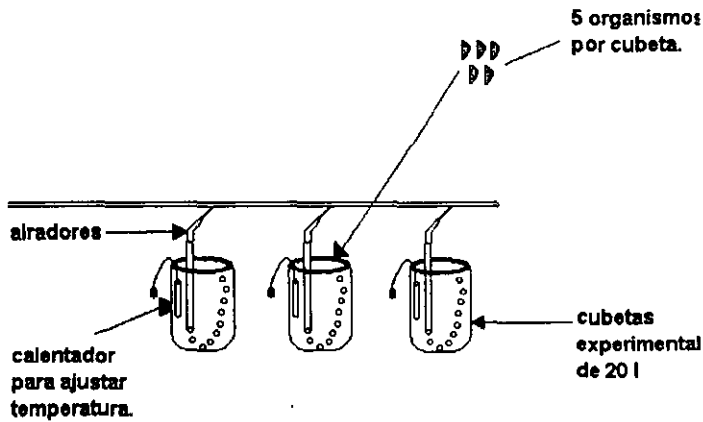
Al saber las equivalencias del consumo de alimento que tenían los organismos durante los experimentos de filtración, expresadas en peso seco de microalga y molusco, se pudo calcular la relación proporcional de la biomasa seca de microalga consumida respecto a la biomasa seca de molusco (expresada en %).

Determinación de la eficiencia alimenticia.

Los experimentos se llevaron a cabo colocando 5 organismos por cada cubeta de 20 l, evitando la manipulación constante. Se trabajaron 3 réplicas por microalga y un control sin organismos (para determinar la sedimentación de las microalgas en 24 h). El tamaño de los organismos se registró cada 7 días para conocer el incremento en talla por tipo de dieta.

El tiempo de experimentación fue de 21 días para cada especie de molusco (Figura 2). Para tener un seguimiento del incremento en talla de cada juvenil se marcó la concha de los individuos con esmalte de diferentes colores, el cual se probó previamente, resultando eficiente por su resistencia al agua marina y por no afectar aparentemente a los organismos.

Figura 2.- Sistema experimental para evaluación del potencial nutritivo de las microalgas.



Análisis estadístico.

Los resultados de crecimiento, para evaluar en forma comparativa la eficiencia de las dietas, se trabajaron mediante un análisis de varianza (ANOVA por bloques) y la obtención de las relaciones alométricas por regresión lineal de la forma $\log y = \log a + b \log x$; donde: $\log y$ = logaritmo base 10 de largo, ancho o espesor, $\log x$ = logaritmo de base 10 del peso vivo o seco, los resultados se transformaron a la ecuación $y = a x^b$.

Los datos de crecimiento para cada dieta se trabajaron en un paquete estadístico (STATISTICA). Los diferentes parámetros a evaluar, las tasas de filtración y clarificación, los incrementos en talla o crecimiento y los resultados de composición bioquímica de las microalgas, se evaluaron mediante el paquete Lotus 5.0.

RESULTADOS

Aclimatación de los juveniles.

Durante el periodo de aclimatación (30 días) las dos especies de bivalvos se mantuvieron dentro de acuarios plásticos de 40 l, con agua marina filtrada (5 μ) y aireación constante, la temperatura se mantuvo en 22 ± 1 °C y la salinidad a 39 ± 1 ‰. Se registró una mortalidad inicial de 3 y 6 organismos por semana para el callo de hacha y madreperla respectivamente, disminuyendo a 0 y 2 organismos por semana en el mismo orden.

Determinación de peso seco y peso seco libre de cenizas para las microalgas.

Tabla 1. Peso seco e índice relativo a *Isochrysis galbana*, de las diferentes especies de microalgas usadas como alimento.

Tipo de microalga	Peso seco pg	Índice relativo a <i>I. galbana</i>	Tamaño μ
<i>Isochrysis galbana</i>	26.8	1	3 - 5
<i>Tetraselmis suecica</i>	115	4.29	7 - 9
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	23	0.86	5 - 8
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	39	1.46	2 - 4
<i>Chaetoceros gracilis</i>	36.7	1.37	4 - 7

Relaciones alométricas en moluscos largo, ancho y espesor en función del peso húmedo (vivo), peso seco y peso seco libre de cenizas.

Las biometrías de peso seco y de los diferentes ejes de crecimiento, se hicieron para cada una de las especies de moluscos. Para determinar el eje de crecimiento que tenía mejor correlación con la biomasa húmeda o biomasa seca, a las mediciones de los distintos ejes de crecimiento se les aplicó un análisis de regresión lineal (2a y 2b, apéndice 5), con base a la expresión $y = a(x)^b$, en forma linealizada aplicando logaritmos para obtener $\log y = \log a + b(\log x)$ donde y = biomasa seca del molusco y x = eje de crecimiento medido.

Para callo de hacha el eje de crecimiento que tuvo una mayor correlación fué el largo con 0.98 respecto al peso húmedo y en madreperla el eje ancho dio un coeficiente de 0.88 respecto al peso seco, por lo que se decidió medir estos ejes para obtener las relaciones más cercanas entre los ejes de crecimiento y el total de biomasa húmeda y seca respectivamente.

Tasas de filtración y de clarificación en función de la temperatura.

La figura 3a, muestra los valores promedio \pm el error estándar de las tasas de filtración por unidad de tiempo y peso seco, en callo y madreperla respecto a la temperatura. La actividad filtradora de *A. maura*, fué máxima a 21 °C siguiendo la temperatura de 23 °C; mientras que en *P. mazatlanica* la mayor actividad de filtración, se presentó a 25 °C seguida de la temperatura de 23°C. Las tasas de clarificación (volumen de agua liberado de partículas/g/min), se muestran en la figura 3b. Las máximas fueron en callo de hacha con 187 ml/min a 21 °C y en madreperla de 66 ml/min a 25 °C.

La temperatura tiene un efecto directo en el crecimiento, del Río Portilla *et al.*, (1992), mencionaron que a temperaturas y concentraciones de alimento muy altas se provocan mayores requerimientos de energía, la cual podría ser aprovechada para mantener la

actividad metabólica de los organismos sin que quede energía disponible que pueda aprovecharse para el crecimiento, por lo que se decidió trabajar en un rango de intermedio entre las temperaturas que registraron una mayor actividad filtradora, manteniendo a 22 °C al callo de hacha y 24 °C a la madreperla, en los experimentos de evaluación de la eficiencia nutritiva durante 21 días.

Figura 3a. Tasas de filtración para juveniles de *Atrina maura* y *Pinctada mazatlanica* expuestos a diferentes temperaturas (promedios \pm error estándar).

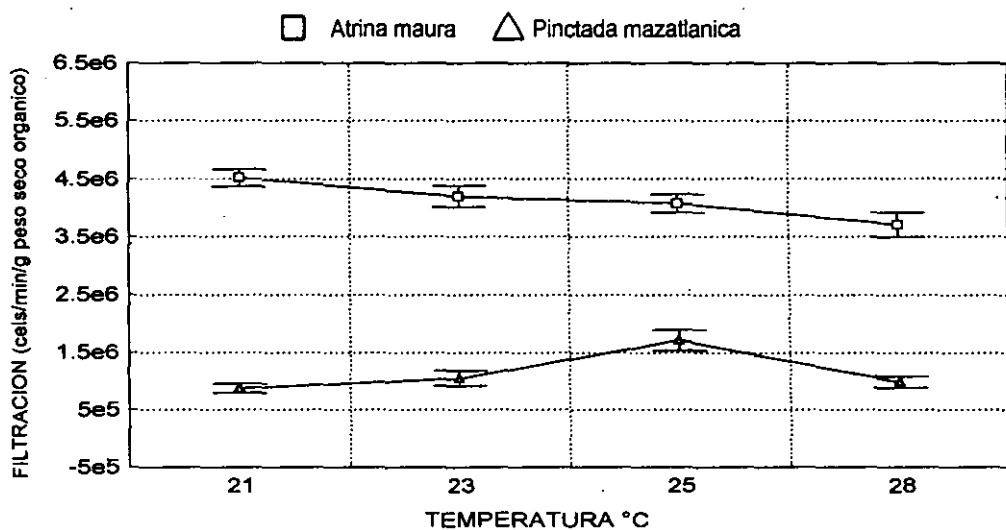
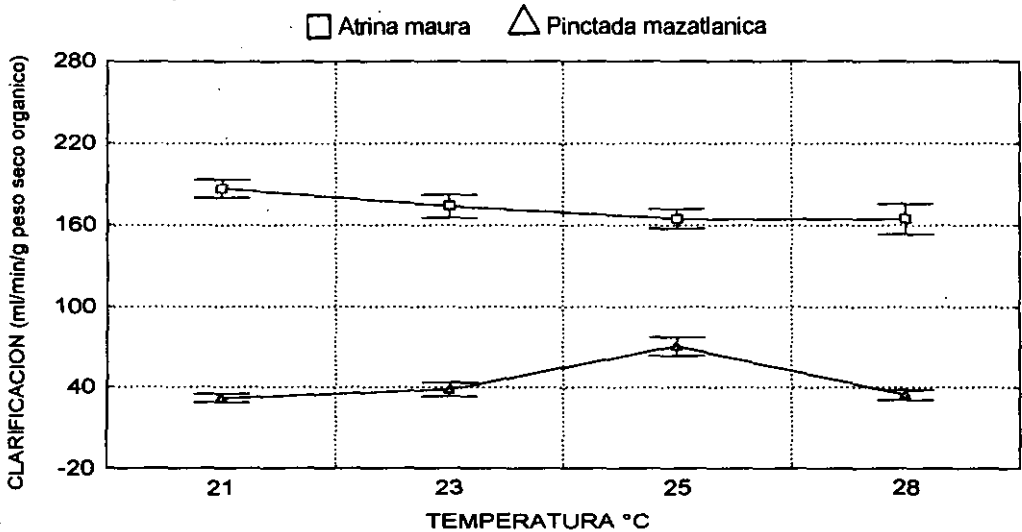


Figura 3b. Tasas de clarificación para juveniles de *Atrina maura* y *Pinctada mazatlanica* expuestos a diferentes temperaturas (promedios \pm error estándar).



Determinaciones bioquímicas.

Los resultados de las determinaciones bioquímicas se resumen en la tabla 2. El componente que presenta un mayor porcentaje en relación al total de la materia orgánica son las proteínas, *Isochrysis galbana* fué la que tuvo una mayor cantidad de estas registrándose con 63.05 % de la materia orgánica total, en carbohidratos registro un 9.49 % y en lípidos un 16.22 %, estos resultados registrados para el crecimiento en otras especies de moluscos y por su buena composición bioquímica han sido utilizada como un alimento tipo en otros estudios, posee las siguientes características: es de fácil crecimiento en climas templados y es una microalga flagelada que no tiene pared celular lo que ayuda a una mejor digestión en muchos bivalvos, probándola desde estadios larvales hasta adultos progenitores.

Como se aprecia en la figura 4a, 4b, 4c, 4d, 4f, 4g y 4h, los organismos alimentados con *Isochrysis galbana* presentaron los incrementos más bajos en talla para las dos especies de molusco. Brown *et al.*, (1997), mencionan de manera general que las proporciones totales de proteínas oscilan entre el 6 - 52 %, para carbohidratos el intervalo es de 5 - 23 % y para lípidos esta entre 7 - 23 % de la biomasa seca. Los componentes de esta microalga se sitúan dentro de este intervalo, exceptuando solo en la proporción de proteínas la cual es mayor.

Tabla 2. Determinaciones bioquímicas (expresadas en % de la materia orgánica seca total) para las cinco especies de microalga probadas.

Especie de Microalga	Cenizas %	Proteínas %	Lípidos %	Carbohidratos %
<i>Isochrysis galbana</i>	8.37	63.05	16.22	9.49
<i>Tetraselmis suecica</i>	48.8	20.5	14.18	9.3
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	42.26	40.1	19.15	9.6
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	14.07	50.5	16.99	10.57
<i>Chaetoceros gracilis</i>	45.52	30.68	11.34	6.8

La presente tabla muestra que los carbohidratos en todos los casos están presentes en menor proporción que los lípidos.

Ración diaria de alimento.

La ración diaria de alimento se calculó en base a los resultados de los experimentos de filtración, clarificación, peso seco de las microalgas y peso seco de los moluscos.

Diariamente se contó en el Coulter counter el número de células existentes en los medios de cultivo y en base a los datos de peso seco de las microalgas se calculó la biomasa seca (mg) que se encontraba presente en los medios de cultivo por cada mililitro.

Los resultados de los experimentos de filtración permitieron conocer que número de células consumidas por los moluscos durante un periodo de tiempo y la temperatura óptima en la cual la actividad filtradora era mejor, estas pruebas se realizaron solo con la microalga *Isochrysis galbana*, por lo que las determinaciones de peso seco de las demás microalgas permitieron hacer una equivalencia entre el peso seco de *I. galbana* y el peso seco de las otras microalgas para dar una misma biomasa de células alimenticias a cada cubeta experimental con moluscos.

Para cada cubeta se calculó la biomasa de molusco presente, a través de la ecuación $y = a (x)^b$, la cual como se menciono anteriormente va a expresar la biomasa seca (en madreperla) y el peso húmedo (en callo de hacha) equivalente a un tamaño determinado; en base a la suma de las biomásas de los 5 organismos presentes en cada cubeta, se calculó a que proporción de biomasa de molusco equivalía una determinada biomasa seca de microalga la cual en callo de hacha representa el 12 % del peso seco total del molusco y en madreperla el 8 %.

Eficiencia de las dietas.

La eficiencia de los diferentes tipos de microalgas usados como alimento se evaluó mediante la comparación por ANOVA del incremento en talla de los organismos. En las figuras 4a y 4b, se observa el incremento en largo de las especies de moluscos estudiadas al final de los experimentos. En el caso de los callos de hacha alimentados con *C. gracilis* registraron el mayor incremento de 4.66 ± 0.56 mm. *I. galbana* produjo el menor incremento con un promedio de 0.56 ± 0.3 mm. Al analizar estos incrementos por análisis de varianza por grupos (Tabla 3a), se observó una diferencia significativa entre las dietas. La prueba de Tuckey, mostró entre que dietas existía la diferencia (apéndice 6, Tabla 1). Respeto a la madreperla los mayores incrementos en largo se presentaron con la dieta *C. gracilis*; y fueron de 1.34 ± 0.09 mm, seguidos por los moluscos alimentados con *C. calcitrans*, los registros más bajos nuevamente se presentaron para los tratamientos con *I. galbana*, 1.31 ± 0.05 mm (Figura 4b), sin embargo con el análisis de varianza no se registró diferencia significativa (Tabla 3b).

Tablas 3a. Resultados del análisis de varianza (ANOVA), de los incrementos en los ejes de crecimiento por día para *Atrina maura*.

Eje de Crecimiento	F	p	Efectos df	Número de organismos
Largo	9.9851	0.000002	4	75
Ancho	8.6863	0.000009	4	75
Espesor	4.1654	0.004394	4	75

Tabla 3b. Resultados del análisis de varianza (ANOVA), para los incrementos en los ejes de crecimiento por día para *Pinctada mazatlanica*.

Eje de Crecimiento	F	p	Efectos df	Número de organismos
Largo	1.04559	0.3886	4	75
Ancho	0.1875	0.9443	4	75
Espesor	0.2993	0.8775	4	75
Eje de crecimiento máximo	0.4627	0.76288	4	75
Peso húmedo	0.1745	0.9509	4	75

Las figuras 4c y 4d, ilustran las ganancias en ancho total para las dos especies trabajadas. En el callo de hacha el incremento fue de 2.69 ± 0.99 mm nuevamente para los juveniles alimentados con *C. gracilis*; de forma similar el incremento más bajo se presentó para los moluscos alimentados con *I. galbana*, con 0.56 ± 0.1 mm, los análisis de varianza probaron una diferencia significativa entre las dietas (Tabla 3a) las cuales se reafirman con las pruebas de Tuckey (apéndice 6, Tabla 1); en madreperla hubo un incremento de 1.32 ± 0.08 mm con *C. gracilis*, el menor incremento se presentó nuevamente con *I. galbana*. Los análisis de ANOVA (Tabla 3b) no muestran diferencia significativa. Como se puede apreciar la ganancia en talla fue muy similar para las dos especies en este eje de crecimiento.

Las figuras 4e y 4f, muestran las ganancias en espesor, en este caso el mayor incremento registrado en el callo de hacha fue para los organismos alimentados con *C.*

calcitrans, alcanzando los 0.56 ± 0.32 mm finales. El análisis de varianza (Tabla 3a), muestra una diferencia significativa entre los tipos de dietas. Al aplicar la prueba de Tuckey (apéndice 6, Tabla 1) se observa cuales dietas fueron significativamente diferentes. En el caso de la madreperla el mayor incremento fue de 0.67 ± 0.05 mm para los juveniles alimentados con *I. galbana*, como se puede apreciar esta especie tuvo un mayor incremento en este eje de crecimiento, el análisis de varianza (Tabla 3b), no mostró ninguna diferencia significativa entre las dietas para esta especie.

En el caso de la madreperla, también se determinó la ganancia en talla del eje de crecimiento máximo y el peso húmedo. En la figura 4g se muestra una ganancia en talla de 1.39 ± 0.07 mm en este eje de crecimiento, para el peso húmedo, el incremento en gramos fue de 0.068 ± 0.24 g, al finalizar los 21 días de experimentación, los análisis de varianza no mostraron diferencias significativas (Tabla 3b).

Tabla 4. Incremento relativo de *Atrina mauro*, usando las diferentes microalgas como dieta respecto a *Isochrysis galbana*.

Tipo de microalga	Largo mm	Ancho mm	Espesor mm
<i>I. galbana</i> .	1	1	1
<i>C. gracilis</i>	3.9	4.9	1
<i>C. calcitrans</i>	2.7	3.4	1.6
<i>T. suecica</i>	1.3	1.8	0.4
<i>T. pseudonana</i>	2.2	2.4	0.5

En la tabla 4 se aprecian las ganancias en talla para cada tipo de dieta en relación con los incrementos registrados para *Isochrysis galbana*, en los juveniles de callo de hacha, el eje de crecimiento que tuvo una mejor ganancia en talla en cada una de las dietas probadas fue el ancho, en el cual el incremento fue mayor a 0.55 mm, en esta tabla también se puede apreciar como los juveniles alimentados con *C. gracilis* y *C. calcitrans*, presentan los mayores incrementos en talla, la pruebas de Tuckey, muestran que entre estas dietas existe una diferencia significativa para el crecimiento respecto a las otras microalgas probadas como dieta.

Abraia maura

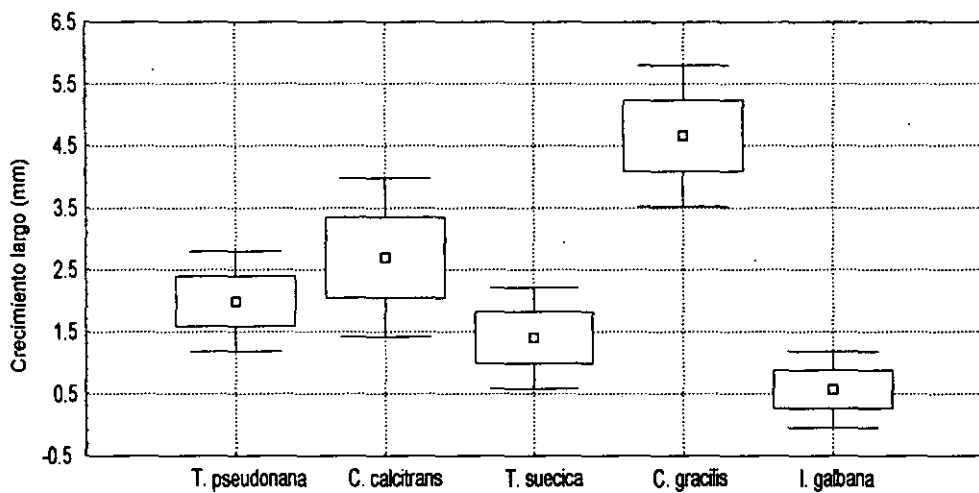


Figura 4a. Incremento de la concha (mm) largo.

Pinctada mazatlanica

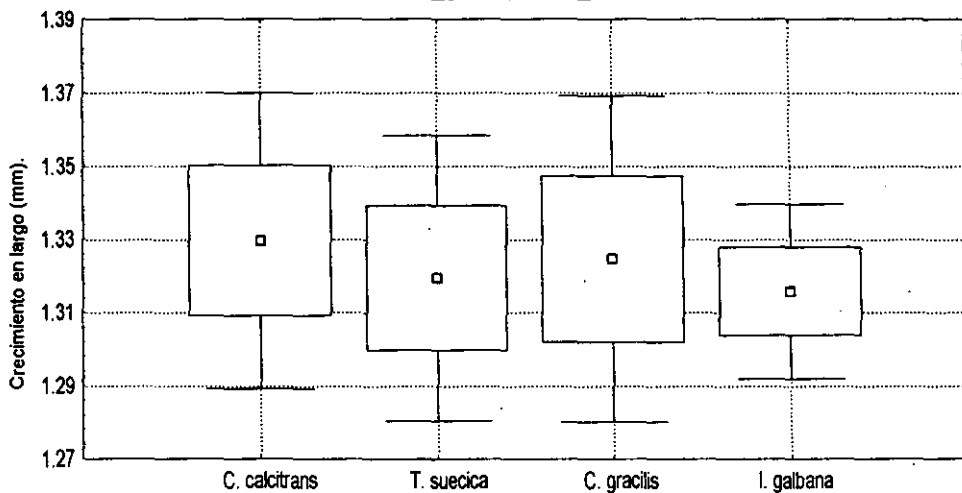


Figura 2b. Incremento de la concha (mm) largo.

Atrina maura

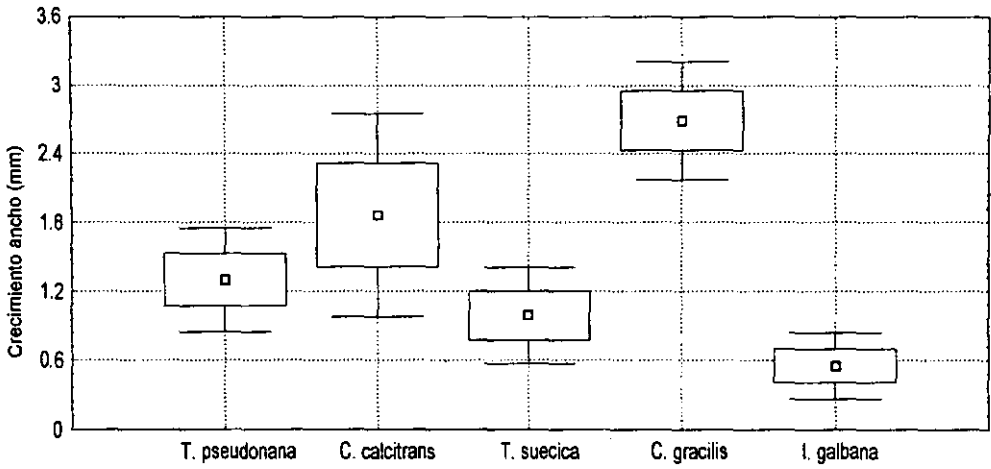


Figura 4c. Incremento de la concha (mm) ancho.

Pinctada mazatlanica

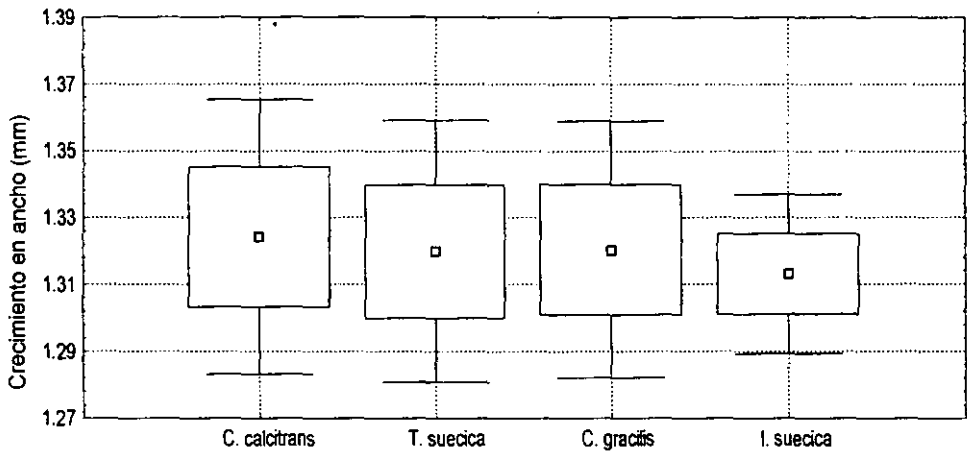


Figura 4d. Incremento de la concha (mm) ancho.

Atrina maura

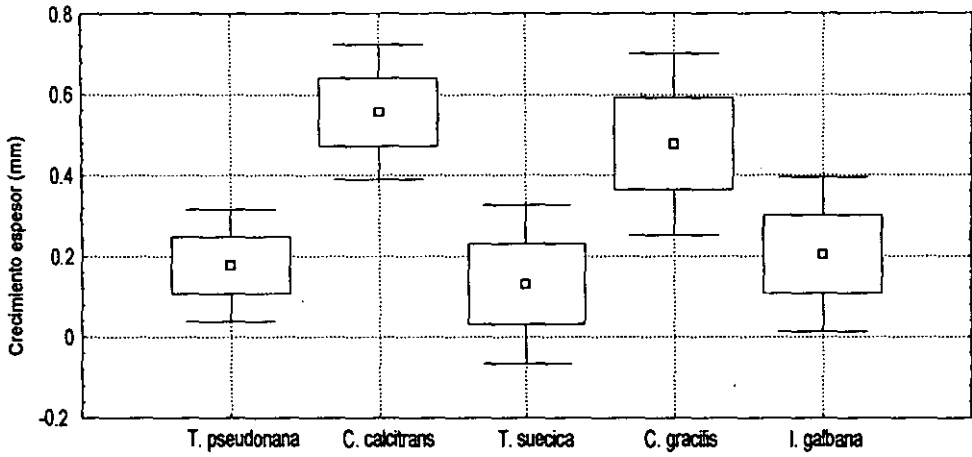


Figura 4e. Incremento de la concha (mm) espesor.

Pinctada mazatlanica

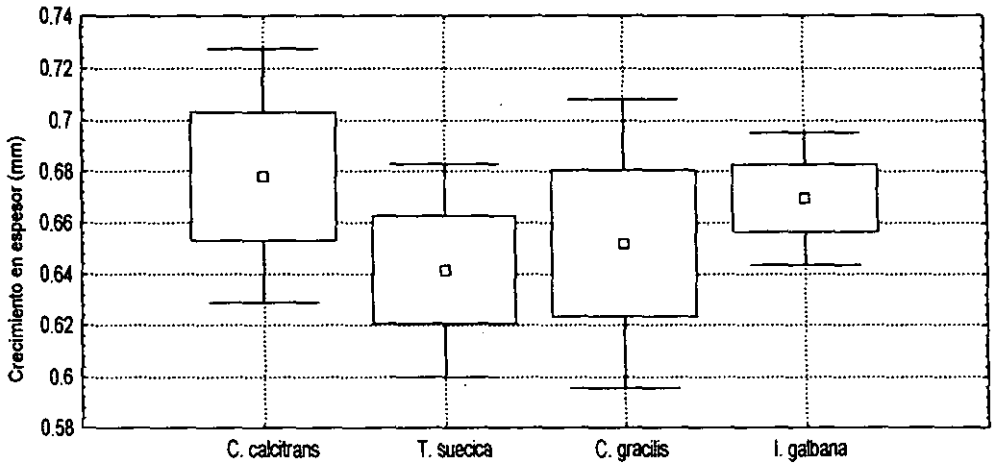


Figura 4f. Incremento de la concha (mm) espesor

Pinctada mazatlanica

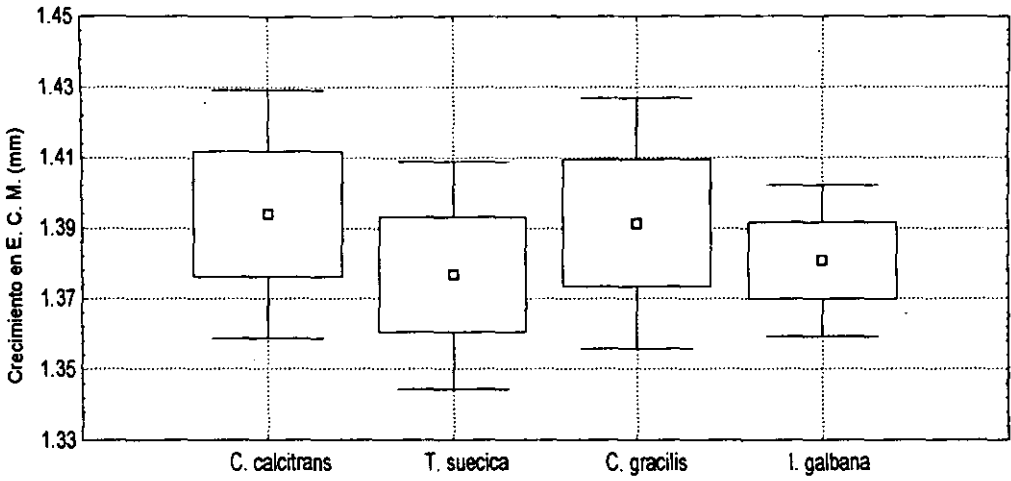


Figura 4g. Incremento de la concha (mm) Eje de crecimiento máximo.

Pinctada mazatlanica

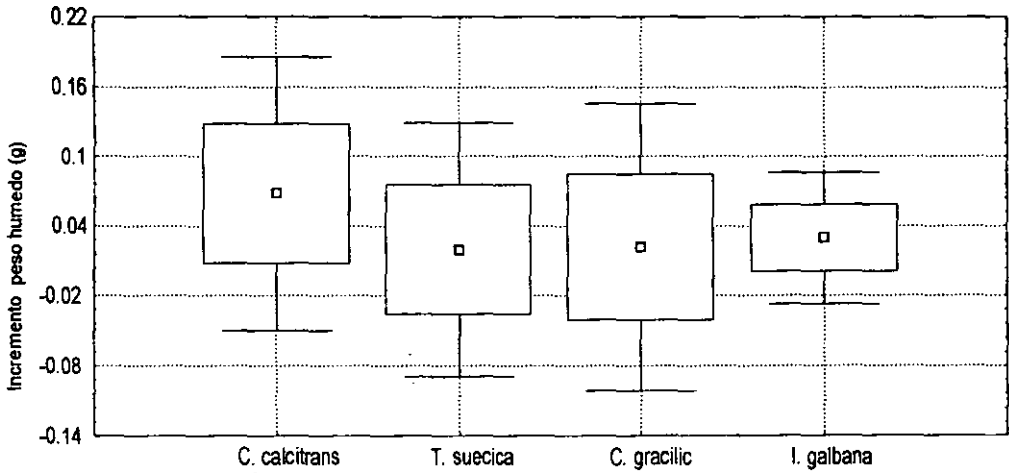


Figura 4h. Incremento de la concha (g) Peso húmedo.

DISCUSIÓN.

Aclimatación.

Durante el período inicial de aclimatización se registró una mortalidad de 3 callos de hacha y 6 madreperlas por semana, al finalizar este período de aclimatización la mortalidad disminuyó a 0 y 2 organismos por semana respectivamente, lo que indicó que los organismos se habían aclimatado a las condiciones experimentales que se tenían en el laboratorio. El período de aclimatización es una etapa sumamente importante durante el desarrollo de cualquier investigación en la que se trabaje con organismos vivos, pues de esta dependerá el éxito o fracaso en toda investigación. Los juveniles de callo de hacha y madreperla son especies subtropicales. Rodhouse *et al.*, (1983), trabajó con *Ostrea edulis* y durante el período de aclimatización los mantuvo a 21 ± 2 °C, temperatura similar a la que se aclimataron las especies estudiadas en este trabajo. Horgan y Mills (1997), trabajaron con *Dreissena polymorfa*, la cual mantuvieron a 17 ± 1 °C durante la etapa de aclimatización, lo que muestra que cada especie necesita condiciones específicas durante la etapa de aclimatización, en ésta los individuos se van adaptando a las condiciones del laboratorio las cuales deben simular a las del medio natural.

En el presente estudio, durante el período de aclimatización se alimentó a los moluscos con una concentración de alimento de 1.5×10^6 cel./ml. Del Río Portilla *et al.*, (1992), probaron durante el período de aclimatización, diferentes concentraciones de microalgas como alimento para *Pteria sterna*, suministrando raciones proporcionales a su peso seco total, comprobando que al alimentarlas con un 8 % de esta proporción los moluscos crecían mejor evitando que las ostras produjeran pseudoheces, como resultado de no aprovechar al máximo el alimento.

Determinaciones de peso seco y peso seco libre de cenizas para las microalgas.

Los resultados de las determinaciones de peso seco muestran los índices relativos de cada una de las microalgas usadas como alimento en referencia a *Isochrysis galbana* que fué la microalga que se utilizó en los experimentos de filtración (tabla 1). En el presente

estudio el índice relativo de las microalgas sirvió para ajustar a una misma ración diaria de alimento administrando igual número de células por cada tipo de dieta. Del Río-Portilla *et al.*, (1992), hicieron el cálculo de peso seco para determinar el volumen de cultivo que era necesario adicionar diariamente de acuerdo a la densidad de células, expresadas en peso seco que se tuviera en los cultivos de microalgas. Administraron de esta forma una proporción que fué equivalente al 8 % del peso seco de las ostras *Pteria sterna*, ellos hacen esta elección puesto que en esta proporción se obtiene el mejor crecimiento y se evita la producción de pseudoheces. En el presente estudio de acuerdo a los resultados de los experimentos de filtración la cantidad de microalgas que consume el callo de hacha, corresponde al 16.9 % del peso húmedo del molusco y en madreperla al 8 % de peso seco orgánico.

Determinación de las relaciones alométricas largo, ancho y espesor vs peso húmedo para los moluscos.

En el presente estudio los ejes de crecimiento largo (Callo de hacha) y ancho (madreperla), dieron un mayor coeficiente de determinación respecto al peso húmedo 0.98 y peso seco 0.88 respectivamente, contenida en los moluscos. Del Río-Portilla *et al.*, (1992), hicieron las determinaciones de peso seco de la ostra *Pteria sterna*, para saber a través de la medición del eje de crecimiento largo, que biomasa de molusco se tenía en una talla determinada, estas determinaciones las hizo previas al inicio de los experimentos, sacrificando 20 organismos, para posteriormente poder ajustar la ración diaria de microalga a una biomasa de molusco.

Tasas de filtración y clarificación.

La capacidad filtradora de la ostra *P. mazatlanica* en este estudio fué menor con respecto a la registrada para *A. maura* bajo las mismas condiciones. Esto posiblemente esté relacionado con las diferentes tasas de crecimiento las cuales son específicas para cada

especie. Walne (1970), probó diferentes concentraciones de *I. galbana* y observó que a 1×10^5 cels/ml se presentaba una mejor respuesta en el crecimiento de *Mercenaria mercenaria* siendo diferente el crecimiento de *Ostrea edulis* alimentada con la misma microalga y con la misma cantidad de células. Concentraciones de alimento mayores inhiben el proceso de filtración. Albertosa *et al.*, (1996), determinó la ingestión para *Ruditapes decussatus* probando diferentes concentraciones de *Isochrysis galbana*, obteniendo la más alta ingestión con una concentración de 5×10^4 cels/ml. En este estudio de igual forma se usó una concentración de 5×10^4 cels/ml. La actividad de ingestión, considerada como tasa de filtración expresada en número de células por min/ gramo de peso seco, en los estudios realizados por Albertosa *et al.*, 1996, fué de 2×10^6 peso seco, superior a la registrada para la madreperla, 1.7×10^6 en este trabajo, e inferiores a las 4×10^6 retenidas por el callo de hacha. La tasa de clarificación (volumen de agua filtrado) fué de 187 ml/min/g de peso seco para callo de hacha y de 66 ml/min/g de peso seco para madreperla. La actividad filtradora para cada especie de molusco depende de varios factores, uno de ellos como se mencionó antes es la concentración del alimento, otro es la temperatura, otros posibles son el tipo de alimento, el manejo de los organismos, la calidad del alimento y el medio de incubación. En este estudio el callo de hacha presentó una mejor actividad filtradora a 21 °C y la madreperla a 25 °C. Del Río-Portilla *et al.*, (1992), registró la mayor actividad filtradora para *Pteria sterna* a 25 °C de temperatura. Esto indica que cada especie de molusco necesita de una temperatura específica para realizar sus actividades metabólicas de manera necesaria, estas condiciones de temperatura tienen relación con la distribución geográfica de los moluscos los cuales en este caso están adaptados a vivir en aguas con temperaturas relativamente altas. Entre otros factores que pudieron tener una repercusión negativa en los experimentos de determinación de la tasa de filtración y clarificación son: la manipulación de los organismos la que provocó un estrés que no permitió que la actividad filtradora se estabilizara hasta 2 - 2.5 h después del inicio de los experimentos. Otro factor que no se consideró durante los experimentos de filtración fué la posible preferencia de los organismos hacia una especie de microalga determinada, pues los experimentos de filtración solo se hicieron probando *I. galbana* como alimento, debido a que es una microalga sin pared celular, que ha registrado buenos resultados en muchos trabajos

probablemente por su fácil digestión y asimilación, sin embargo el no probar las otras microalgas anula la posibilidad de saber si existía una capacidad de filtración diferente con las otras microalgas probadas como alimento, pues cada especie de molusco va a tener una mayor preferencia hacia uno u otro alimento lo que pudo provocar una sub-alimentación de los individuos al adicionar una cantidad de alimento menor a la que realmente se requería.

Composición bioquímica.

Varios autores han determinado lípidos, proteínas y carbohidratos en diferentes especies de microalgas utilizadas como alimento de moluscos (Epifanio, 1983., Whyte, 1987., Brown, *et al.*, 1989., Albertosa, *et al.*, 1996). *Thalassiosira pseudonana* frecuentemente es usada como dieta en el cultivo de moluscos, Brown *et al.*, (1989), realizó una revisión en donde analizó la composición bioquímica de diferentes microalgas que son usadas en maricultura, registrando para esta especie un 29 % de proteínas, 17 % de carbohidratos y 10 % en lípidos totales, valores correspondientes al equivalente del total de materia orgánica seca libre de cenizas. Epifanio (1979), reportó para esta microalga como alimento de *Crassostrea virginica* y *Mercenaria mercenaria*, un total de 40.7 % de proteínas, 26.5 % de carbohidratos y 11.7 % en lípidos. En el presente estudio el contenido en proteínas (40.1 %) en *T. pseudonana* es similar al reportado por Epifanio, sin embargo el contenido de lípidos registrado aquí es mayor (19.15 %) y menor el de carbohidratos (9.6 %). Las proporciones de estos componentes varían dependiendo de la fase de crecimiento y las condiciones de cultivo. Whyte (1987), mencionó al probar el comportamiento de las proteínas, lípidos y carbohidratos en *T. pseudonana* cultivada con medio f/2, que los carbohidratos se encontraban en mayor proporción cuando la microalga se encontró en una fase de crecimiento estacionaria, mientras que en esta misma fase de crecimiento ciertas especies de microalgas disminuyen la cantidad de carbohidratos aumentando la cantidad de lípidos.

Las determinaciones bioquímicas para *T. pseudonana* en este trabajo se hicieron cuando la microalga se encontraba en una fase de crecimiento exponencial, tal vez muy cercana a la fase estacionaria por lo que se registró una proporción menor de carbohidratos en relación a la concentración de los otros componentes. Albertosa, *et al.*, 1996, reportaron a *Tetraselmis suecica* como buen alimento para juveniles de *Ruditapes decussatus*, registrando la composición bioquímica de esta microalga al ser cosechada en fase de crecimiento estacionaria con un 13.8 % de proteínas, 11.9 % de lípidos y un 52 % de carbohidratos, comparada con los resultados de Whyte (1987), quién citó un 34.25 % de proteínas, 6.95 % de lípidos y 8.3 % de carbohidratos, composición característica de las microalgas que se cosechan en una fase de crecimiento exponencial. En el presente trabajo se registró una composición diferente para *T. suecica*, consistente de 20 % de proteínas, 14.18 % de lípidos y 9.3 % de carbohidratos, al ser cosechada para realizar estas determinaciones en una fase de crecimiento exponencial, Whyte (1987), menciona de igual forma que al cosechar esta microalga en fase de crecimiento estacionaria la proporción de proteínas disminuía, aumentando la proporción de lípidos y carbohidratos como se puede apreciar en los resultados obtenidos por Albertosa *et al.*, (1996), por lo que se deduce que las microalgas utilizadas en el presente estudio se encontraban en un crecimiento cercano a la fase estacionaria, pues las cantidades de proteínas son menores en comparación con las encontradas para la otras microalgas analizadas sin embargo no son tan bajas como las registradas por Albertosa *et al.*, (1996).

Las determinaciones bioquímicas de *Chaetoceros calcitrans* mostraron un 50 % de proteínas mayor al 33 % registrado para las cepas utilizadas por Brown *et al.*, (1997), los lípidos se encontraron en un 16.99 % en este trabajo y el mismo autor mencionó una proporción menor 10 % de lípidos; los carbohidratos en este estudio se encontraron en 10.57 % y Brown *et al.*, (1997), los registró con 17 %, él cosecha la microalga en una fase de crecimiento exponencial, Whyte (1987), determinó el contenido de proteínas (22.94 %), lípidos (15.83 %) y carbohidratos (11.09 %) para esta misma microalga, en la misma fase de crecimiento. En este experimento *Chaetoceros gracilis* presentó un 30.68 % de proteínas, 11.34 % en lípidos y 6.8 % de carbohidratos; éstas proporciones muestran que *C. gracilis* se

encontraba dentro de una fase de crecimiento exponencial pues sus valores se acercan más a los registrados por estos autores y *C. calcitrans* fué cosechada en una fase de crecimiento estacionaria en donde las proporciones de lípidos y proteínas aumentan.

Epifanio (1983), reportó para *Isochrysis galbana* un 60.1 % de proteínas, 17.2 % de lípidos y 15.6 % de carbohidratos, proporciones similares a las encontradas en esta investigación 63.05 % en proteínas, 16.22 % de lípidos y 9.49 % de carbohidratos, Whyte (1987), menciona que las microalgas cultivadas en una fase de crecimiento estacionaria van a acumular proteínas. Brown *et al*, (1997), reportó un 44 % de proteínas contenidas en *I. galbana*, 25 % de lípidos y 9 % de carbohidratos, cuando la microalga estaba en fase de crecimiento exponencial, resultando evidente que para el caso de *I. galbana* las determinaciones bioquímicas en este trabajo se hicieron cuando la microalga se encontraba en una fase de crecimiento estacionaria y no exponencial como se menciona al inicio, pues la cantidad de proteínas es muy elevada.

La cantidad de proteínas, lípidos y carbohidratos equivalentes al peso seco total libre de cenizas, cambia por la acción de diferentes factores que alteraran la composición bioquímica de la misma como: luz, temperatura, salinidad, medio de cultivo y la fase de crecimiento a la cual se coseche la microalga al momento de realizar las determinaciones bioquímicas, en este trabajo las variaciones de los componentes con respecto a los encontrados en la literatura pudieron deberse a que las condiciones en las cuales se cultivaron las microalgas no eran exactamente las misma que en los trabajos realizados anteriormente.

Ración de alimento.

Para saber cual es la biomasa de molusco que se tiene en experimentación sin necesidad de sacrificar a los organismos se han aplicado métodos indirectos haciendo una relación entre los ejes de crecimiento y la biomasa de molusco correspondiente a esa talla, Albentosa *et al.*, (1996-2), aplicó la ecuación $DW=0.00869 \text{ AMG}$ donde DW era el peso

seco de la ostra (mg) y AMG fue el largo de el eje de crecimiento máximo (cm). En este trabajo la biomasa se calculó a través de la ecuación $y = a (x)^b$ donde x fue el eje de crecimiento que se acercaba más a la relación eje de crecimiento = a biomasa seca del molusco. Otros autores como Enright *et al.*, (1986), calcula esta relación en base al peso húmedo, para *Ostrea edulis*.

La ración diaria de alimento en este trabajo se ajustó a proporciones idénticas de las otras microalgas con base a los cálculos hechos para *Isochrysis galbana*, microalga usada como referencia en los experimentos de filtración esta biomasa de microalga consumida fué proporcional al 16.9 % del peso húmedo de callo de hacha y al 11 % del peso seco orgánico de madreperla. De esta manera se pudo ajustar para cada dieta la densidad de microalga necesaria la cual se modificó diariamente de acuerdo a la densidad de microalga en los cultivos.

La ración diaria de alimento ha sido calculada en base a la biomasa de cada microalga necesaria para alimentar a una biomasa determinada de molusco dependiendo de su consumo diario y dando una proporción equivalente a la biomasa seca del molusco. Del Río- Portilla *et al.*, (1992), calcularon la ración diaria de *Chaetoceros* sp. como alimento para *Pteria sterna* dando una cantidad equivalente al 8 % de peso seco del organismo, dado que durante el período de aclimatización probaron concentraciones correspondientes al 50, 25, 8 y 2 % del peso seco de los moluscos observando que con las mayores proporciones se provocaba la producción de pseudoheces y con las menores se sub-alimentaba a los organismos.

Eficiencia de la dieta.

La forma más común para evaluar la eficiencia de una microalga como alimento para moluscos es la comparación de los incrementos en talla o peso de los organismos alimentados con éstas reportándose en mm o μ , g, mg y en casos muy específicos en kg.

Las pruebas de ANOVA y Tuckey, mostraron que los juveniles de *Atrina maura* alimentados con *Chaetoceros gracilis* tuvieron una diferencia significativa en sus ganancias en talla con relación a las demás microalgas, en *Pinctada mazatlanica* no se presenta dicha diferencia, sin embargo las gráficas de crecimiento sugieren que esa misma microalga resultó dar mayores incrementos en esta especie con respecto a las otras dietas, las dos especies de moluscos se mantuvieron en tratamiento durante 21 días. Walne (1970), mencionó a *Chaetoceros calcitrans* como un buen alimento para juveniles de cuatro géneros de moluscos *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mercenaria* y *Mytilus*. El señaló que en esos tiempos estas especies de microalgas no eran muy usadas como alimento para moluscos sin embargo obtuvo una ganancia en talla considerable durante 21 días de experimentación al alimentarlos con una cantidad de 5×10^4 cels/ml. Los juveniles de *Atrina maura* y *Pinctada mazatlanica* alimentados con *Chaetoceros gracilis* registraron los mayores incrementos en talla, por ejemplo en el largo al finalizar los 21 días de experimentación se obtuvo una ganancia de 4.66 ± 0.56 mm y 1.34 ± 0.09 mm respectivamente para cada especie de molusco. Knauer y Southgate (1996), realizaron combinaciones de las microalgas *Chaetoceros gracilis* y *Spongiococcum excentricum*, como alimento de *Crassostrea gigas*. Ellos registraron los incrementos en largo de la concha durante 21 días de experimentación y reportaron una ganancia de 8.33 ± 1.15 mm. Esto demuestra que al administrar diferentes alimentos en proporciones similares se puede duplicar la ganancia en talla de los individuos. Enright *et al.*, (1986) evaluó diferentes especies de fitoplancton como dietas para juveniles de *Ostrea edulis*, obteniendo los mejores resultados para los organismos alimentados con *C. gracilis*, en los que tuvo un aumento de 0.70 g. Wayne *et al.*, (1992), probaron durante 21 días diferentes tipos de microalgas para observar el crecimiento de *Saccostrea commercialis*, y mencionan a *C. gracilis* como una de las tres mejores dietas. Ellos se refieren de igual manera a las ganancias en peso, de 0.51 ± 0.28 g al finalizar los 21 días. En el presente estudio sólo se registran las ganancias en peso para *P. mazatlanica* los cuales fueron de 0.022 ± 0.02 g valores muy similares a los obtenidos en el trabajo de Wayne.

Isochrysis galbana se ha reportado como buen alimento para diferentes especies de moluscos, Walne (1970), evaluó diecinueve especies diferentes de microalgas como alimento para cuatro géneros de moluscos. El consideró a *I. galbana* como el alimento estándar, que dió buenos resultados en el crecimiento de juveniles y larvas de diferentes especies de moluscos, registró un incremento en talla promedio de 7.50 mm para *Mercenaria mercenaria* durante 38 días de experimentación alimentados con una concentración de 5×10^4 células por mililitro. Epifanio (1979), probó a *I. galbana* como alimento en *Crassostrea virginica*, trató a los organismos durante 42 días con esta dieta y reportó un incremento en largo de la concha de 28.6 ± 2 mm equivalente a 14.3 mm en 21 días, en el presente trabajo, los resultados en esta investigación para los moluscos alimentados con esta dieta fueron diferentes pues los incrementos en talla son menores que los que se reportaron en los trabajos antes mencionados. *A. maura* sólo incrementó 0.56 ± 1 mm durante 21 días de experimentación y *P. mazatlanica* registró 1.31 ± 0.05 mm de incremento en el mismo tiempo. Enrigh et al., (1987), evaluó diferentes tipos de fitoplancton y registró un aumento de 0.40 g en el peso de *Ostrea edulis* alimentada con *I. galbana* durante 35 días de experimentación. Wayne et al., (1992), probó a *I. galbana* como alimento de juveniles de *Saccostrea commercialis* durante 21 días y registra un incremento en peso de 0.47 ± 0.09 g. En el presente trabajo sólo se registró el incremento en peso para *P. mazatlanica* y la ganancia fue de 0.029 ± 0.1 g durante 21 días de experimentación un valor menor a los registrados en los trabajos anteriores, esta ganancia en peso podría atribuirse a que estos organismos tienden a desarrollar más en peso que en longitud.

Isochrysis galbana en este trabajo registró resultados distintos en el crecimiento de los organismos pues se ha reportado como una microalga que promueve un buen crecimiento, estas diferencias pueden ser provocadas por una serie de factores que van a interferir en el aprovechamiento óptimo del alimento por el molusco. Entre los que se pueden considerar las alteraciones de la composición bioquímica en las diferentes microalgas a causa de modificaciones en las condiciones de cultivo estimuladas por cambios en la temperatura, diferencias en las intensidades de luz, la salinidad, composición química del medio nutritivo en donde crecen las microalgas y al aumento en la densidad de

las mismas (Rodhouse, *et al.*, 1983; Enrigh *et al.*, 1986; Wikfors *et al.*, 1984; Del Río-Portilla *et al.*, 1992, Albentosa *et al.*, 1996). En este trabajo se estandarizaron las condiciones de los cultivos de las diferentes microalgas para evitar este tipo de diferencias.

Al observar los resultados de los análisis bioquímicos se aprecia que el contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos de *I. galbana* se presentaron en proporciones mayores en comparación de la composición de *C. gracilis* cuyos componentes se encuentran dentro de las mas bajas cantidades registradas en las determinaciones bioquímicas para todas las especies. Por lo que no se puede considerar a *I. galbana* como un alimento con una baja calidad nutricional, así la respuesta del bajo crecimiento de los moluscos ante este tipo alimenticio puede ser debida a otros factores, entre los que se pueden mencionar:

1.- Tomar en consideración las observaciones realizadas por Ward *et al.*, (1992), quienes trabajaron con la escalopa *Placopecten magellanicus* y de la que mencionan la existencia de ciertas sustancias orgánicas secretadas por el fitoplancton que van a estimular la preferencia o rechazo de el alimento como una respuesta del organismo al percibir la presencia o ausencia de estas partículas que nombraron epi-partículas o metabolitos. Estos resultados hacen pensar que *I. galbana* podría producir cierta cantidad de estos metabolitos los cuales al ser percibidos por estas dos especies de moluscos provocaron que los juveniles de *A. maura* y *P. mazatlanica* no aceptaran a esta microalga como alimento, esto se apoya como ya se menciona con las observaciones hechas al hacer los recambios de agua, en donde se aprecia una coloración café en las cubetas a las que se les administró esta microalga, coloración que indica que los moluscos no estaban consumiendo el alimento y este se precipitaba en el fondo de las cubetas.

2.- Es importante mencionar que estos son los primeros estudios que se realizan en estas especies de moluscos, la mayoría de las investigaciones sobre nutrición en moluscos se han hecho para almejas, ostiones y ostras de otras especies, por lo cual los resultados obtenidos en otros trabajos no se pueden compararse con los que se obtuvieron en esta investigación, ya que las especies van a tener distintos hábitos o preferencias alimenticias

las cuales pueden cambiar de acuerdo a la especie y el estadio de crecimiento pues las preferencias y las necesidades alimenticias van a ser diferentes para una semilla, un juvenil y un adulto.

Las diferencias de crecimiento pueden ser debidas también a que los experimentos de filtración solo se realizaron con *Isochrysis galbana*, calculando las equivalencias para las demás microalgas en base a ésta, por lo que se pudo haber estado sub-alimentando a los organismos dándoles una ración de alimento menor a la que realmente necesitaban. Esta teoría se apoya por las observaciones hechas durante el desarrollo de los experimentos, en los cuales se pudo apreciar que esta microalga no era bien aceptada por los moluscos, ya que al realizar los recambios de agua se apreciaba en las cubetas una coloración café, la cual indicó que los moluscos no estaban consumiendo esta microalga.

Es importante señalar que el rechazo de *I. galbana* por los juveniles no se puede atribuir a la posible contaminación de los cultivos, ya que estos se estuvieron revisando al microscopio semanalmente, sin registrar contaminación alguna durante los experimentos de crecimiento desarrollados con callo de hacha, al iniciar los experimentos con madreperla se registró la contaminación de *Thalassiosira pseudonana* por fuentes bacterianas, por lo cual se decidió dejar de alimentar a los juveniles con esta microalga, al no conseguir de manera inmediata una cepa nueva libre de contaminación.

C. gracilis presentó como se ha mencionado antes una proporción menor en el contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos por debajo de los obtenidos en todas la microalgas analizadas en cambio su proporción de cenizas fué alta, se sabe por fuentes bibliográficas que las cantidades de silicatos contenidas en esta microalga también son altas, siendo el alimento que dió como resultado la mayor ganancia en talla, esta contradicción puede ser explicada porque aunque las concentraciones de proteínas, lípidos y carbohidratos sean mayores en las otras microalgas estas no están siendo asimiladas de la mejor manera y tal vez se estén aprovechando mejor compuestos inorgánicos que estén presentes en menor cantidad.

La preferencia de *Chaetoceros gracilis* como alimento también podría ser debido a que en estas especies de moluscos se presentara una influencia de la materia inorgánica constitutiva de esta especie de microalga la cual no fue medida detalladamente y que puede ser promotora de un mayor crecimiento en los organismos.

Del Río-Portilla *et al.*, (1992) mencionaron que en condiciones naturales los organismos no tiene una actividad filtradora tan grande como en condiciones de laboratorio y sin embargo el crecimiento es mucho mayor en el medio natural debido a que en este existe una mayor diversidad de microalgas y aunque se consumen en menores cantidades sus componentes son mejor asimilados por los moluscos.

Es importante mencionar también que en algunos trabajos como los realizados por Epifanio, 1979., Enright, *et al.*, 1986; Nell and Wayne, 1991; Wayne, *et al.*, 1992; Brown, *et al.*, 1997, se probaron dietas mixtas de microalgas obteniendo una proporción enriquecida de los componentes, esto dió como resultado un mejor aprovechamiento del alimento por los organismos, además de que algunas microalgas dan mejores resultados para el crecimiento cuando se dan en combinación no así cuando se administran como alimento único.

CONCLUSIONES.

El período de aclimatización resulta ser determinante para toda investigación en la que se trabaje con organismos vivos, esta etapa será la que proporcione el conocimiento inicial sobre las condiciones necesarias para que los individuos se desarrollen de mejor manera.

En el callo de hacha el eje de crecimiento que dió una mayor correlación respecto a la biomasa húmeda fué el largo y en la madreperla el ancho respecto a la biomasa seca.

Para los experimentos de filtración se escogió a la microalga *Isochrysis galbana*, como alimento por los buenos resultados que se han obtenido en el desarrollo de otros moluscos. En éste caso es muy probable que los moluscos tuvieran una mayor actividad filtradora con las otras especies de microalgas probadas y al no realizar estas pruebas se pudo haber sub o sobre-alimentando a los juveniles.

La capacidad de filtración para juveniles de *A. maura* es mayor que en *P. mazatlanica*. Sin embargo, la capacidad de asimilación del alimento consumido es mejor para *P. mazatlanica*, debido a que el incremento en talla se registró muy parecido para ambas especies lo que prueba que esta especie aprovecha de mejor manera la cantidad de alimento consumido.

El usar a *Isochrysis galbana* durante la determinación de las tasas de filtración y clarificación pudo promover una sub-alimentación de los juveniles, pues durante el desarrollo de los experimentos de eficiencia de la dieta se pudo apreciar una aversión gradual del alimento, ya que las cubetas presentaron una coloración café, reflejo de que los juveniles no estaban ingiriendo el alimento presente en el medio, mientras que en las cubetas de las otras dietas el agua se encontraba totalmente transparente.

La temperatura es un factor determinante que influencia el consumo de alimento y el crecimiento de los organismos, en el caso de *Atrina maura* esta temperatura de mayor filtración fué de 21 °C y para *Pinctada mazatlanica* a 25 °C, estas preferencias de temperatura pueden ser debidas a la distribución geográfica de los organismos en las diferentes localidades.

Chaetoceros gracilis resultó ser la mejor microalga para ambas especies de moluscos en este estudio, las cuales registraron una aparente buena asimilación del alimento, el cual les proporcionó la energía suficiente para cubrir sus necesidades metabólicas y utilizar la energía adicional para el crecimiento del cuerpo; seguida de la microalga *Chaetoceros calcitrans*.

La microalga *I. galbana* a pesar de ser un alimento que reporta excelentes resultados para el crecimiento de diferentes especies (Brown, 1989), al ser probada en el presente trabajo como alimento de *A. maura* y *P. mazatlanica*, resultó en apariencia con menor valor energético.

Los análisis de la composición bioquímica de las microalgas muestran que *I. galbana* es un tipo alimenticio que registra cantidades considerables de compuestos esenciales para el crecimiento, como proteínas, lípidos, carbohidratos, ácidos grasos y vitaminas, por lo que no se puede catalogar como un alimento deficiente en su composición bioquímica, sin embargo para las especies de moluscos estudiadas en este trabajo no resulto un buen alimento.

Cada especie de molusco tiene necesidades metabólicas diferentes por lo cual sus requerimientos energéticos serán distintos al igual que las condiciones en las que se desarrollen.

La capacidad de asimilación de cada especie será distinta de acuerdo a su capacidad digestiva por lo que cada tipo de molusco aprovechará de manera diferente el alimento que se le proporcione.

SUGERENCIAS PARA INVESTIGACIONES FUTURAS.

Además de los incrementos en talla (largo, ancho, espesor) los valores del peso húmedo también son importantes puesto que permiten conocer el aumento de peso en biomasa viva de cada especie, por lo que se recomienda se tomen en cuenta para las especies de moluscos bivalvos con las que se trabaje ya que podría haber un desarrollo diferente en biomasa además que el de la concha.

Las pruebas de filtración y clarificación deben de realizarse con cada una de las especies de microalgas que se vayan a probar como alimento para el crecimiento de los organismos ya que algunas especies de moluscos tienen ciertas preferencias hacia algún tipo de alimento en específico. De esta manera se puede evitar el sub o sobre-alimentar a los organismos.

Es necesario probar los experimentos de filtración en cada una de las temperaturas que resulten ser buenas para esta actividad, sin dejar rangos intermedios desconocidos pues la respuesta de los organismos puede cambiar de un intervalo a otro.

Las determinaciones bioquímicas de cada una de las especies de microalgas con las que se trabaje deben realizarse durante la misma fase de crecimiento, para evitar en lo posible desviaciones en los resultados de la composición.

Podrían probarse algunas dietas mixtas como alimento para los moluscos, en las que se incluyan combinaciones de las microalgas con las que se tuvo una mejor respuesta en el crecimiento y probar algunas otras dietas mixtas que intenten equilibrar la composición bioquímica para enriquecerla.

Es necesario realizar estudios de asimilación del alimento en los que se aprecie cuanta es la cantidad de alimento consumida y que cantidad de este alimento se esta desechando a través de las heces fecales, para saber a través de estos métodos si todo el alimento que esta consumiendo el organismo lo esta aprovechando para el crecimiento y hacia que órganos se esta destinando ese crecimiento, por ejemplo al desarrollo de la concha, el músculo o la gónada.

LITERATURA CITADA.

- Abalde, J., A. Cid., J. P. Fidalgo., E. Torres y C. Herrero. 1996. **Microalgas: cultivo y aplicaciones**. Lab. Microbiología. Depto. Biol. Cel. Mol. Univ. Coruña Esp. 209 pp.
- Aguilar, I. F. 1964. **Contribución al estudio de las gónadas de *Atrina maura* (Sowerby) (Mollusca: Fam. Pinnidae)**. Tesis profesional. Esc. Nal. de Cienc. Biol. I.P.N. 35pp.
- Albentosa, M., A. Pérez-Camacho., U. Labarta., R. Beiras y M. J. Hernández-Reiriz. 1993. Nutritional value of algal diets to clam spat *Venerupis pullastra*. **Mar. Ecol. Prog. Ser** 97: 261-269.
- Albentosa, M., A. Pérez-Camacho., U. Labarta., R. Beiras, y M. J. Fernández-Reiriz. 1996-1. Evaluation of microalgal diets for the seed culture of *Ruditapes decussatus* using physiological and biochemical parameters. **Aquaculture** 148: 11-23.
- Albentosa, M., Pérez-Camacho y R. Beiras. 1996-2. The effect of food concentration on the scope for growth and growth performance of *Ruditapes decussatus* (L.) seed reared in an open-flow system. **Aquaculture Nutrition** 2: 213-220.
- Araya-Nuñez, O. 1988. **Embryonic and larval development, larval rearing, juvenile growth, gonad maturity and induction to spawning in the West American pearl-oyster (*Pteria sterna*, Gould)**. Mastersavehandling Zoologiska Institutionen, Universitet Stockholms, Sweden. 30 pp
- Araya-Nuñez, B. O. y F. Buckle-Ramírez. 1991. Gonad maturity, induction of spawning, larval breeding, and growth in the america pearl oyster (*Pteria sterna*, Gould). **Calif. Fish and Games** 77 (4): 181-193.

- Arizpe, O. y H. Félix. 1986. Crecimiento de *Pinna rugosa* (Sowerby, 1835) en la Bahía de la Paz, México. An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nat. Autón. México. 13 (2): 167-172.
- Arredondo, V. B. O., E. B. Cordero., C. Herrero y J. Abalde. 1997. **Manual de técnicas bioquímicas aplicadas en fisiología.** Edit. CICESE, CIB-NOR, Univ. de Coruña Esp. 41 pp.
- Bacon, S. G., A. M. Bruce y J. Evan W. 1998. Physiological responses of infaunal (*Mya arenaria*) and epifaunal (*Placopecten magellanicus*) bivalves to variations in the concentration and quality of suspended particles. Feeding activity and selection. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol* 219: 105-125.
- Bayne, B. L., R. J. Thompson y J. Widdows. 1976. **Physiology I. In Marine mussels: their ecology and physiology.** Edited by B. L. Bayne. IBP Handb No. 10 Cambridge University Press, Cambridge.
- Berntsson, K. M., P. R. Jonsson., S. A. Wangberg y A. S. Carlsson. 1997. Effects of broodstock diets on fatty acid composition, survival and growth rates in larvae of the European flat oyster, *Ostrea edulis*. *Aquaculture* 154: 139-153.
- Bishui Lin., Jinjin He., Xinming Wei and Zhangcheng. 1987. Preliminary study on artificial spatting (spatting) of *Atrina pectinata* (Linnaeus). *Source Journal Oceanographic. Taiwan* 6 (3): 260-268.
- Brown, R. M., S. W. Jeffrey, y C. D. Garland. 1989. **Nutritional Aspects of Microalgae used in Mariculture; a Literature Review.** CSIRO Mar. Lab. Report 205. 44 pp.

- Brown, R. M., S. W. Jeffrey., J. K. Volkman y G. A. Dunstan. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. ***Aquaculture*** 151: 315 - 331.
- Bruce, A. Mac. Donald., Gregory S. Bacon y J. Evan Ward. 1998. Physiological responses of infaunal (*Mya arenaria*) and epifaunal (*Placopecten magellanicus*) bivalves to variations in the concentration and quality of suspended particles II. Absorption efficiency and scope for growth. ***J. Exp. Mar. Biol. Ecol*** 219: 127-141.
- Brusca, C. R. 1980 **Common Intertidal Invertebrates of the Gulf of California**. 2nd Ed. Univ. Arizona Press. Tucson, Arizona. 512 pp
- Cenedejas, J. M., M. J. Carvallo y L. M. Juárez. 1985. Experimental spat collection and early growth of the pen shell, *Pinna rugosa* (Pelecypoda: Pinnidae), from the Gulf of California. ***Aquaculture*** 48: 331-336.
- Cheong SC., J. S. Hue., I. B. Moon., J. K. Lee., C. H. Song y K. K. Kim. 1986. **Experimental study on the seeding production of the pen shell *Atrina pectinata***. Bulletin Fisheries Resources. 39: 143-150.
- Convenio SEPESCA/UABCS. 1994. **Desarrollo científico y tecnologico del cultivo de la madreperla y la concha nacar**. Secretaria de fomento y desarrollo pesquero, Dirección General de Acuicultura. 104pp.
- Coutteau, P. y P. Sorgeloos. 1992. The use of algal substitutes and the requirements for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs: an international survey. ***J. Shellf. Res*** 11(2):467-476.

- Cranford, P. J., C. W. Emerson., B. T. Hargrave y T. G. Miligan. 1998. In situ feeding and absorption responses of sea scallops *Placopecten magellanicus* (Gmelin) to storm-induced changes in the quantity and composition of the seston. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol* 219: 45-70.
- Davids, C. 1964. The influence of suspensions of microorganisms of different concentrations on the pumping and retention of food by the mussel (*Mytilus edulis* L.). *Netherlands Journal of Sea Research* p. 233-249.
- Del Río-Portilla., A. D. Re-Araujo., y D. Voltolina. 1992. Growth of the pearl oyster *Pteria sterna* under different thermic and feeding conditions. *Mar. Ecol. Prog. Ser* 89: 221-227.
- Díaz-Garcéz, J. 1972. **Crecimiento y supervivencia de la Madreperla *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856), en la Bahía de La Paz.** Mem. IV Congr. Nat. Oceanogr. México, D.F., 17-19 Nov. 1969. p. 443-456.
- Dubinsky, Z., P. G. Falkowski y K. Wyman. 1986. Light harvesting and utilization by phytoplankton. *Plant Cell Physiol* 27: 1335-1349.
- Dubois, M., K. A. Gilles., J. D. Hamilton., P. A. Rebers y F. Smith. 1956. **Colorimetric method for determination of sugars and related substances.** *Analytical Chemistry*. 28: 350-356.
- Enright, C. T., G. F. Newkirk., J. S. Craigie y J. D. Castell. 1986. Evaluation of phytoplankton as diets for juvenile *Ostrea edulis* L. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol* 96: 1-13.

- Epifanio, C. E. 1979. Growth in bivalve molluscs: nutritional effects of two or more species of algae in diets fed to the American oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin) and the hard clam *Mercenaria mercenaria*. *Aquaculture* 18: 1-12.
- Epifanio, C. E. 1983. **Phytoplankton and yeast as foods for juvenile bivalves: a review of research at the University of Delaware.** In: G. D. Pruder and C. Langdon (Editors), **Biochemical and Physiological Approaches to Shellfish Nutrition**, Proc. 2nd International Conference on Aquaculture Nutrition, 1981. p. 292-304.
- García Gasca, A. 1992. **Estudio morfológico y análisis citoquímico del manto de la madreperla *Pinctada mazatlanica* Harley, 1856, en relación a la formación de nácar.** Tesis de maestría. CICIMAR, La Paz, Baja California Sur., México. 106 pp.
- George, D. C. 1968 a. **Techniques of pearl Cultivation.** South Pacific Bulletin, Fourth Quarter. p. 13-19.
- Gervis, H. M. y N. A. Sims. 1992. **The Biology and Culture of Pearl Oyster (Bivalvia: Pteriidae).** ODA and ICLARM. 49 pp.
- Hawkins, A. J. S., B. L. Bayne., S. Bougrier., M. Héral., J. I. P. Iglesias., E. Navarro., R. F. M. Smith y M. B. Urrutia. 1998. Some general relationships in comparing the feeding physiology of suspensions-feeding bivalve molluscs. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol* 219: 87-103.
- Heasman, P., Wayne, A. O'Connor y Allen W. Frazer. 1996. Temperature and nutrition as factors in conditioning broodstock of the commercial scallop *Pecten fumatus* Reeve. *Aquaculture* 143: 75-90.

- Helm, M. M. 1977. Mixed algal feeding of *Ostrea edulis* larvae with *Isochrysis galbana* and *Tetraselmis suecica*. **J.Mar. Biol. Ass. U. K** 57: 1019-1029.
- Holguín, O. 1975. **Callo de hacha y su crecimiento**. Boletines informativos. Estación de Investigación Pesquera de la Paz, B.C.S., I.P.N. México. p. 26-28.
- Holland, D. L. y P. J. Hannant. 1974. Biochemical changes during growth of the spat of the oyster, *Ostrea edulis*, L. **J. Mar. Biol. Ass U. K** 54: 1007-1016.
- Horgan, J. M. y E. L. Mills. 1997. Clearance rates and filtering activity of zebra mussel (*Dreissena polymorpha*): implications for freshwater lakes. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.** 54: 249-255.
- Iglesias, J. L. P., M. B. Urrutia., E. Navarro y I. Ibarrola. 1998. Measuring feeding and absorption in suspension-feeding bivalves: an appraisal of the biodeposition method. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol** 219: 71-86.
- Keen, A. M. 1971. **Sea shells of tropical West America, Stanford, University Press, U. S.**
A. 106 pp.
- Knauer, J. y P. C. Southgate. 1996. Nutritional value of a spray-dried freshwater alga, *Spongiococcum excentricum*, for Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) spat. **Aquaculture** 146: 135-146.
- Kreeger, D. A. y C. J. Langdon. 1993. Effect of dietary protein content on growth of juvenile mussels, *Mytilus trossulus* Gould, 1850. **Biol. Bull** 185: 123-139.
- Lang, L., S. D. Utung y R. W. S. Kilada. 1987. Interactive effect of diet and temperature on the grown of juvenile clams. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol** 113: 2-38.

- Langdon, C. J. 1982. **New techniques and their application to studies of bivalve nutrition.** p. 305-320 in *Proceedings of the 2nd International Conference on Aquaculture Nutrition: Biochemical and Physiological Approaches to Shellfish Nutritios*, G. Pruder, C. Langdon, and D. Conklin, eds. Louisiana State University, Baton Rouge, LA.
- Lauz, S. E. 1993. **Producción de semillas de callo de hacha (*Atrina maura*) en el Instituto Tecnológico de Guaymas.** Tesis profesional. 85 p. Citado en Miranda 1994.
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr, y R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J.Biol.Chem* 193:265-275.
- Lubet, P. 1959. Recherches sur le cycle sexual et Pemmision des gametes chez les mytilides et les Pectinides. *Rev. Trav. Ins. Peches Marit* 23: 389-548.
- Maeda, A., S. Monsalvo y T. Reynoso. 1996. Acondicionamiento, inducción al desove y obtención de embriones de callo de hacha (*Atrina maura*) (Mollusca: Pinnidae). *Oceanología* 4 (10): 167-175.
- Marsh, J. B. y D. B. Weinstein. 1966. Simple charring method for determination of lipids. *Journal Lipids Reseach* 7: 574-576.
- Martínez, A. T. 1983. **Prospección de los Bancos de madreperla en el Golfo de California de 1962 a 1965.** Tesis de Maestría CICIMAR, La Paz, B. C. S., México. 75 pp.

- Martínez, G., M. Torres., E. Uribe., M. A. Díaz y H. Pérez. 1992. Biochemical composition of broodstock and early juvenile chilean scallops, *Argopecten purpuratus* Lamarck, held in two different environments. *Journal of Shellfish Research* 2 (11): 307-313.
- Miranda, B. A. y C. J. Balderas. 1994. La pesquería de hacha (*Atrina* sp. *Atrina maura*) (Pelecypoda: Pinnidae) en la Bahía de Yavaros, Sonora, su inicio, estado actual y tendencias. *Oceanología* 1 (4): 89-98.
- Mohammad, F. L. 1976. Relationship between biofouling and growth of the pearl oyster *Pinctada fucata* (Gould) in Kuwait, Arabian Gulf. *Hydrobiologia* 51 (2): 129-138.
- Monteforte, M. 1990. **Ostras perleras y perlicultura: Situación actual en los principales países productores y perspectivas para México.** Serie Científica, UABCS. Vol. 1 (No. especial AMAC) p. 13-18.
- Monteforte, M. 1991. **Las perlas, leyendas y realidad: un proyecto actual de investigación científica.** Revista Panorama. Nueva Epoca (ed. UABCS). 38: 28-31.
- Nalluchinnappan, L., D. Sudhandra, M. Irulandi y I. Jeyabaskaran. 1982. Growth of Pearl Oyster *Pinctada fucata* in cage culture at Kundugal Chanel, Gulf of Mannar Indian. *J. Mar. Sci* 11: 193-194.
- Nasr, D. H. 1984. Feeding and growth of the pearl oyster *Pinctada margaritifera* in Dongonab Bay, Red Sea. *Hidrologia* 110: 241-245.
- Nell, A. John y Wayne A. O'Connor. 1991. The evaluation of fresh algae and stored algal concentrates as a food source for Sydney rock oyster, *Saccostrea commercialis* (Iredale & Roughley), larvae. *Aquaculture* 99: 277-284.

- Noguera, F. O. 1968. **Histología gónadal y ciclo sexual de *Pinna rugosa* Sowerby, 1835 (Lamellibranchia, Pinnidae) de la Paz, B. C. S. México**, tesis Profesional. Facultad de Ciencias, U. N. A. M. 43 pp.
- Pechenik, A. J. y S. N. Fisher. 1979. Feeding, assimilation and growth of mud snail larvae, *Nassarius obsoletus* (Say), on three different algal diets. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol* 38: 57-80.
- Reynoso, G. T., M. A. Maeda., V. F. Cardoza y S. P. Monsalvo. 1996. **Cultivo de hacha. Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur.**
- Rice, A. M. y Jan, A. Pechenik. 1992. A review of the factors influence the growth of the Northern quahog, *Mercenaria* (Linnaeus, 1758). *Journal of Shellfish Research* 2 (11): 279-287.
- Rodhouse, P. G., C. Roden y M. E. Somerville J. 1983. Nutritional value of micro-algal mass cultures to the oyster *Ostrea Edulis* L. *Aquaculture* 32: 11-18.
- Sevilla, M. 1969. Contribución al conocimiento de la Madreperla *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856). *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat* 30: 223-262.
- Shirai, S. y Sano, I. 1979. **Reporte de una investigación sobre los Recursos Perleros del Golfo de California.** Internal Report, Min. fish. México. 55 pp.
- Singh, J., Bojorquez y J. M. Domínguez. 1982. **Resultados finales de las actividades de estudio de ostras perleras en la Bahía de la Paz, B. C. S. 1981-1982.** Int. Cont. Secretaría de Pesca, Del. Fed. 133 pp.

- Thompson, A. P., G. Ming-xin y J. P. Harrison. 1996. Nutritional value of diets that vary in fatty acid composition for larval Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture* 143: 379-391.
- Vélez, B. J. y L. C. Fajardo. 1996. **Pesquería de hacha**. Estudio del potencial pesquero de Baja California Sur. p. 101-111.
- Villamar, A. 1965. **Fauna malacológica de la Bahía de La Paz notas ecológicas**. Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Biológicas Pesqueras, 1:113-152.
- Volkman, J. K., S. W. Jeffrey., P. D. Nichols., G. Y. Rogers y C. D. Garland. 1989. Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol* 128: 219-240.
- Walne, P. R. 1970. **Studies on the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mercenaria* and *Mytilus***. Ministry of agriculture Fisheries. Serie II Vol. XXVI 5: 62
- Ward, J. E., H. K. Cassell y B. A. Mac. Donald. 1992. Chemoreception in the sea scallop *Placopecten magellanicus* (Gmelin). I. Stimulatory effects of phytoplankton metabolites on clearance and ingestion rates. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol* 163: 235-250.
- Wayne A. O'Connor., John A. Nell y J. A. Diennar. 1992. The evaluation of twelve algal species as food for juvenile Sydney rock oysters *Saccostrea commercialis* (Iredale & Roughley). *Aquaculture* 108: 277-283.

- Webb, L. Kenneth y F. L. E. Chu. 1983. **Phytoplankton as a food source for bivalve larvae.** In G. D. Pruder, C. Langdon and Conklin (Editor) **Proceedings of the Second International Conference on Aquaculture Nutrition: Biochemical and Physiological.** Approaches to Shellfish nutrition World Mexicalt Soc. Spec. Publ. 2: 272-291.
- Whyte, J. N. C. 1987. Biochemical Composition and Energy Content of Six Species of Phytoplankton used in Mariculture of Bivalves. **Aquaculture** 60: 231-241.
- Whyte, J. N. C., N. Bourne y C. A. Hodgson. 1990. Nutritional Condition of Rock Scallop, *Crassadoma gigantea* (Gray), Larvae Fed Mixed Algal Diets. **Aquaculture** 86: 25-40.
- Wikfors, H. G., W. J. Twarog y Ravenna Ukeles. 1984. Influence of chemical composition of algal food sources on growth of juvenile oysters, *Crassostrea virginica*. **Biol. Bull** 167: 251-263.
- Widdows, J. 1991. Physiological ecology of mussel larvae. **Aquaculture** 94: 147-163.
- Yantian, T. Lu y Norman J. Blake. 1996. Optimum concentrations of *Isochrysis galbana* for growth of larval and juvenile bay scallops, *Argopecten irradians concentricus* (say). **J. Shellfish Research** 15 (3): 635-643.
- Zumaya C. V. 1996. **Colecta de semilla de callo de hacha *Pinna rugosa* en la localidad de Bahía Falsas, B. C. S., México.** Sec. Educ. Publ. ITMAR Guaymas. 56 pp.

LISTA DE FIGURAS.

	Pag.
Figura 1. Sistema de producción de microalgas utilizadas como alimento para los juveniles de <i>Atrina maura</i> y <i>Pinctada mazatlanica</i> .	17
Figura 2. Sistema experimental para la evaluación del potencial nutritivo de las microalgas.	25
Figura 3a. Tasas de filtración para los juveniles de <i>Atrina maura</i> y <i>Pinctada mazatlanica</i> , en función de la temperatura.	28
Figura 3b. Tasas de clarificación para los juveniles de <i>Atrina maura</i> y <i>Pinctada mazatlanica</i> , en función de la temperatura.	29
Figuras 4a y 4b. Incremento en largo de <i>Atrina maura</i> y <i>Pinctada mazatlanica</i> en función de la dieta.	36
Figuras 4c y 4d. Incremento en ancho de <i>Atrina maura</i> y <i>Pinctada mazatlanica</i> en función de la dieta.	37
Figuras 4e y 4f. Incremento en espesor de <i>Atrina maura</i> y <i>Pinctada mazatlanica</i> en función de la dieta.	38
Figura 4g. Incremento en el eje de crecimiento máximo de <i>Pinctada mazatlanica</i> en función de la dieta.	39
Figura 4h. Incremento en peso húmedo de <i>Pinctada mazatlanica</i> en función de la dieta.	39

LISTA DE TABLAS.

	Pag.
Tabla 1. Peso seco e índice relativo a <i>Isochrysis galbana</i> de las diferentes especies de microalgas usadas como alimento.	26
Tabla 2. Determinaciones bioquímicas de proteínas, carbohidratos y lípidos (expresadas en % de la materia orgánica seca total), para cada una de las microalgas probadas como alimento.	30
Tablas 3. Tabla de ANOVA para los incrementos en los ejes de crecimiento, de <i>Atrina maura</i> y <i>Pinctada mazatlanica</i> , en función de las microalgas usadas como dietas.	
Tabla 3a. ANOVA para <i>Atrina maura</i> .	32
Tabla 3b. ANOVA para <i>Pinctada mazatlanica</i> .	33
Tabla 4. Incremento relativo de las diferentes microalgas usadas como dieta, respecto a <i>Isochrysis galbana</i> .	34

PESQUERÍA DEL CALLO DE HACHA.

El callo de hacha constituye uno de los recursos pesqueros más valiosos con que cuenta el estado de Baja California Sur, tiene un mercado regional en el cual alcanza precios muy elevados y un gran potencial de explotación (Reynoso *et al.*, 1996).

La pesquería de hacha en este estado, se apoya de tres especies, *Pinna rugosa* (hacha larga), *Atrina maura* (hacha china) y *Atrina sp.* (hacha negra). La captura de hacha en Baja California Sur representa aproximadamente el 20 % de la captura en el ámbito nacional.

De este grupo de organismos se comercializa solo el músculo aductor, la venta del producto se da del pescador al intermediario y de este a restaurantes y hoteles principalmente. Algunas de las ciudades del país en donde se consume más este producto son: Sinaloa, Sonora, Nayarit y Baja California Sur, una pequeña parte es transportada a la Ciudad de México (Vélez, *et al.*, 1996).

En los últimos años la captura comercial del recurso ha quedado restringida a cinco zonas, Bahía Almejas, Bahía Magdalena, Laguna de San Ignacio y Laguna Ojo de Liebre en la costa occidental del Estado, en tanto que en el litoral del Golfo de California se realiza sólo en Bahía Concepción, donde se han llegado a evaluar bancos con densidades de hasta 40 organismos por metro cuadrado. Sin embargo, la gran demanda y autorización de permisos para su captura en años recientes, sumado a la extracción ilegal realizada durante todo el año en las diferentes zonas de su distribución natural provocó el agotamiento del recurso en las bahías Almejas y Magdalena, así como en las lagunas Ojo de Liebre y San Ignacio (Vélez, *op. cit.*).

La pesquería de callo ocupa un lugar privilegiado en la explotación de los moluscos, las cifras de captura que se tienen en el año de 1975 son de 127 ton/año, las cuales se redujeron en 1986 y más adelante desaparecen de las estadísticas pesqueras (SEPESCA

1987 citado por Lauz 1993). Como se ha mencionado esto se debió al precio que el músculo aductor alcanza en el mercado. La familia Pinnidae se ha explotado de forma intensiva; reportándose capturas de 13 toneladas de *Pinna rugosa* en 1970 y para 1974 esta cantidad descendió a 3 toneladas en la Bahía de la Paz B. C. S. (Miranda, 1994).

El callo de hacha se extrae en la franja costera y aguas protegidas de los litorales del Pacífico y del Golfo de California a lo largo del año. Es un recurso de gran tradición en la pesca ribereña, esta actividad se realiza por medio de equipos de buceo semiautónomos y por recolección manual, el producto principal que se obtiene y comercializa es el músculo aductor (callo) Vélez *et al.*, (1996), su presentación en el mercado es en estado fresco enhielado, se puede consumir crudo o frito, hasta el momento no se ha sometido a ningún proceso industrial ni se ha aprovechado ningún subproducto (concha, vísceras, etc.), de igual modo no existen plantas para el congelado y empacado del producto (Zumaya, 1996).

Las actividades de recolección han provocado que el recurso disminuya en sus poblaciones. En el trabajo realizado por Miranda (1994), menciona que inicialmente la pesca se realizaba a pie dentro de las bahías. Sin embargo, en los últimos años los callos se pescan en mar abierto, en la zona comprendida entre la Bahía de Yavaros y la Bahía de Agiabampo, que es el límite con Sinaloa. En la Bahía de Yavaros la profundidad a la que se encuentran los bancos va de 20 cm a 3 brazas, en altamar estos se encuentran de 4 a 40 brazas. No obstante debido al equipo con el que cuentan los pescadores, solo recolectan hasta las 12 brazas.

El mismo autor menciona que al hacer el análisis de captura por unidad de esfuerzo los pescadores cada vez obtienen menor producto, siendo la Bahía de la Paz la zona más afectada y donde se encuentra *Atrina sp.*, al principio se tenían rendimientos de 10 kg./pescador/semana en promedio y en ese año se registro de 1 kg, la tendencia de la pesca en altamar para *Atrina maura* es más estable obteniendo como promedio 2.5 kg./pescador/semana, esto se explica si se toma en cuenta que la cantidad de pescadores

de callo de hacha en altamar se ha mantenido en 6 lanchas (12 personas) y no ha variado considerablemente desde el inicio.

PESQUERÍA DE MADREPERLA.

En cuanto a la madreperla, su aprovechamiento como recurso pesquero se basa principalmente en la extracción de perlas aunque en algunos países se explotan integralmente, empleando las conchas en la fabricación de botones, objetos ornamentales, joyería, etc., por otro lado el nácar se emplea en la industria química de cosméticos y productos de belleza. Algunos países están investigando, además, el principio cicatrizante del mismo con miras a su posible empleo terapéutico (Sevilla, 1969).

Desde la época de la conquista, los bancos perleros naturales se han visto expuestos a una explotación creciente. A inicios del siglo pasado la administración ejercida por el gobierno otorgaba concesiones a diversas empresas las cuales explotaban los bancos hasta su agotamiento. La extracción del recurso en 1837 fue de 1,120 toneladas, en 1928 respetando las zonas de captura y utilizando equipo adecuado solamente se pudieron extraer 244 toneladas, lo que indica la disminución de las poblaciones (SEPESCA, 1994).

En 1937 se reporta una gran mortalidad de madreperla en las costas de Sonora, Sinaloa y Nayarit. En 1938, el fenómeno se registra en las costas de Baja California Sur, sin conocerse las causas de esta mortalidad, la cual pudo deberse a varios factores como la sobrepesca, la captura ilegal, por contaminación, mareas rojas y la incidencia de fenómenos meteorológicos (Monteforte, 1991).

En 1940, el gobierno estableció una veda total sobre los recursos madreperla y concha nácar, a través de un Reglamento publicado en el Diario Oficial de la Federación, en vista de la casi extinción de las dos especies (Shirai, *et al.*, 1979).

De 1962 a 1965, la población estimada de madreperla de Bahía Concepción a San José del Cabo, era de 30,000 organismos. Para 1978-1979, la situación no había mejorado. Sin embargo, los resultados sobre obtención de juveniles del medio, permiten suponer la afortunada existencia de bancos de reproductores en sitios poco accesibles y de difícil ubicación (Villamar, 1965).

En 1964, Sevilla publica uno de los trabajos que aportan mayor información sobre la biología y el conocimiento de la madreperla *Pinctada mazatlanica*. En su trabajo menciona que hasta ese momento, se conocía que el recurso en el área de Baja California había disminuido a niveles críticos, por lo que aconsejaba la aplicación de técnicas de cultivo tendientes a su rehabilitación.

A partir de la década de los ochenta, los estudios realizados sobre las ostras perleras, han sido llevados a cabo por varias instituciones de investigación ubicadas en el estado de Baja California Sur y Sonora. Con el propósito de dar solución a este tipo de problemas, distintas instituciones del noroeste del país vinculadas en algunas ocasiones al sector productivo, se han dado a la tarea de realizar estudios biológicos y de buscar nuevas alternativas de explotación, que ayuden al restablecimiento de los bancos naturales y aumenten la producción a niveles sostenibles (Shirai, et al., 1979).

BIOLOGÍA GENERAL DEL CALLO DE HACHA.

Posición taxonómica.

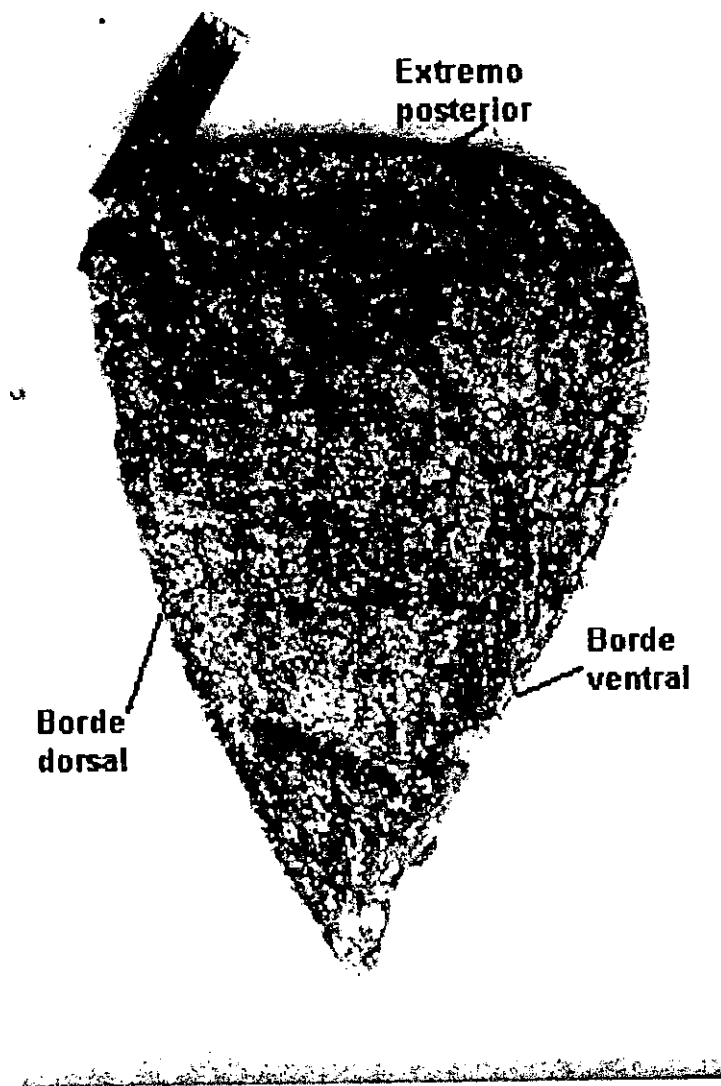
Phyllum	Mollusca (Tuner y Rosewater, 1958)
Clase	Pelecypoda o Bivalva
Sub-Clase	Lamellibranchia
Orden	Ptarioidea
Familia	Pinnidae
Género	<i>Atrina</i>
Especie	<i>Atrina maura</i> (Sowerby, 1835)
Nombre común	“ Callo de hacha ó hacha china “

DESCRIPCIÓN MORFOLOGÍA.

Estructura de la concha.

El callo de hacha presenta dos prolongaciones calcáreas convexas, llamadas valvas, en forma de hacha (de donde deriva el nombre) constituidas de conchiolina (Figura 1). La cara externa es de color café claro, grisáceo o negro, exhibe procesos tubulares calcáreos, los cuales se reducen en número o bien pueden perderse completamente en ejemplares viejos. La cara interna presenta colores oscuros o bien gris brillante, las valvas son delgadas y frágiles (Brusca, 1980).

Figura 1.- Morfología externa de la concha del callo de hacha.



Morfología interna.

Presenta un músculo aductor posterior de gran tamaño localizado en la parte central y un músculo aductor anterior pequeño, ubicado en el vértice umbonal. La función de ambos músculos es la de abrir y cerrar las valvas. Existen además, un par de músculos que ayudan al organismo en los movimientos del pie, estos son los retractores paléales anteriores, que junto con el pie realizan las funciones de excavación y movilidad del organismo (Figura 2) (Brusca, 1980).

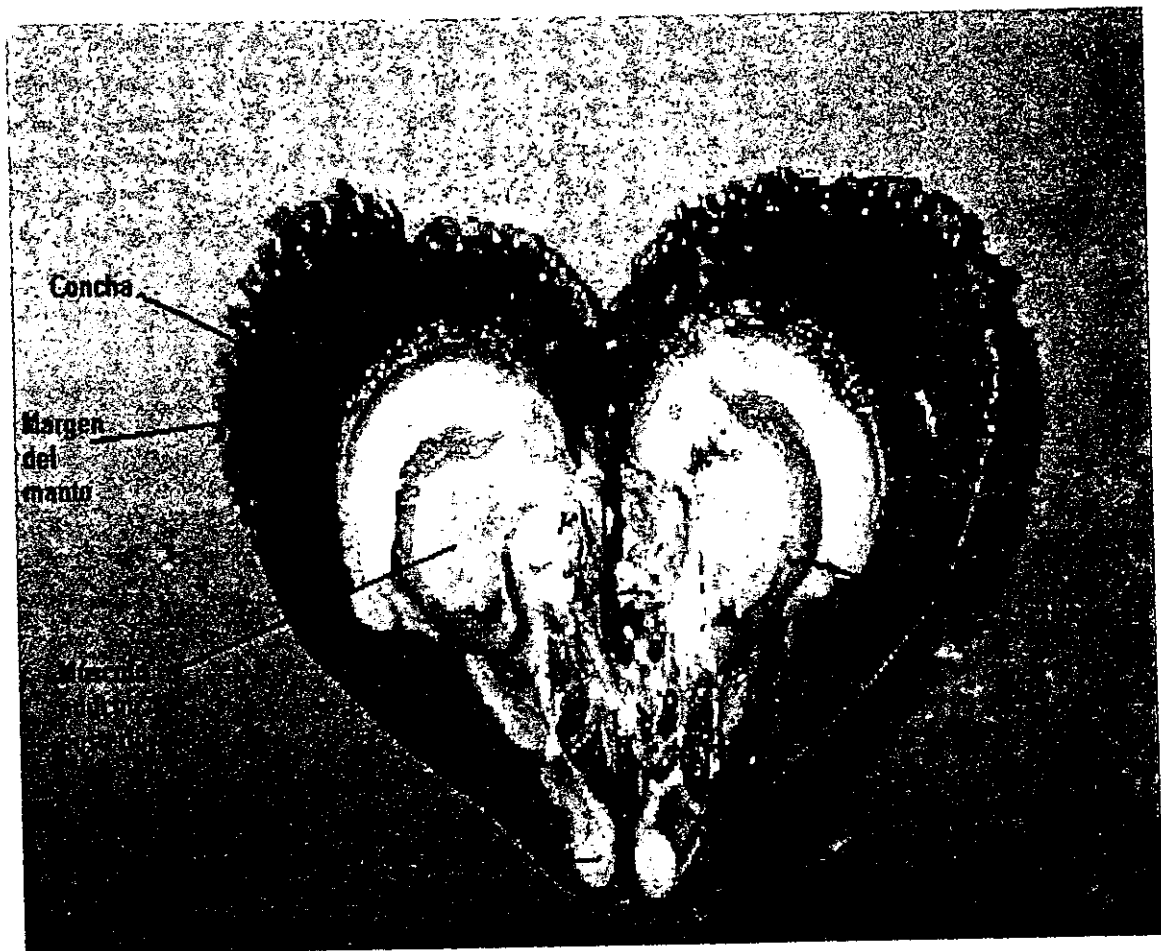
Presenta un pequeño orificio bucal cerca de la base del pie, el cual se comunica con un estrecho canal de forma circular, que desemboca en el estómago. El intestino se encuentra incluido dentro de la masa gonádica y las glándulas digestivas. El sistema renal se localiza a un lado del músculo aductor posterior, las branquias están formadas por cuatro láminas largas y delgadas que se originan cerca de los palpos labiales, los cuales son dos expansiones que rodean a la boca (Vélez, *et al.*, 1996).

El biso es una estructura que sirve para llevar a cabo la fijación a un sustrato. En los miembros de la familia Pinnidae se encuentra muy desarrollado y está contenido en la región bisógena que se localiza en la región basal posterior del pie (Keen, 1971).

Estos organismos viven sumergidos verticalmente en el sustrato, fijándose a él por medio del biso. La mayor parte del tiempo la porción posterior de la concha queda expuesta por lo cual sufre constantes quebraduras, que el manto tiene la función de reparar. Esta posición les permite llevar a cabo el intercambio gaseoso, así como ingerir los nutrientes que consume el organismo, ya que carece de sifones extensibles (Brusca, 1980).

La respiración y la captación del alimento se lleva a cabo a través de las branquias, las cuales son cuatro con forma de laminas alargadas de color café claro, se colocan en pares a lo largo del organismo. Estas inician a partir de la porción posterior de los palpos

Figura 2.- Morfología interna de *Atrina maura*.



labiales, extendiéndose hasta la región posterior del animal, mas allá del músculo abductor posterior. Los riñones o nefridios se encuentran en la región ventral, entre el músculo abductor posterior y la gónada (Bayne, *et al.*, 1976).

Hábitos reproductivos y ciclo de vida.

El aparato reproductor se constituye de un par de gónadas localizadas en la región dorsal del organismo, las cuales se encuentran formando la masa visceral junto con la glándula digestiva. Estos organismos son esencialmente unisexuales presentando sexos separados, aunque pueden presentar un bajo índice de hermafroditismo e inversión sexual, en la cual alternan a lo largo de su ciclo de vida cambios sexuales, actuando una temporada como machos y otra como hembras (Aguilar, 1964).

El ciclo gonádico (Sevilla, 1959) basado en observaciones histológicas se divide en 6 fases de desarrollo: Indiferenciado, Inmaduro, Gametogenesis, Madurez sexual, Expulsión o desove y etapa de reabsorción, alcanzando la maduración sexual, aproximadamente en su primer año de vida, cuando obtiene una talla de 10 cm, (Noguera, 1968). El inicio de su actividad reproductiva, está determinado por los cambios en los factores ambientales, de los cuales la temperatura probablemente es la más importante ya que los incrementos de esta (24 a 29 °C) producen el desove en los organismos maduros.

La gónada femenina en estadio de madurez presenta un color rojizo y la masculina un color amarillo pálido o blanquecino. La fecundación de sus gametos es externa. Al cabo de 24 hrs. después de esta el huevo lleva a cabo sucesivas divisiones transformándose en una larva que ya desarrolla su primera concha denominada larva trocófora seguida de la véliger, ambas tienen capacidad natatoria agitando los cilios que además le sirven para llevar a cabo su alimentación. Su vida de nado libre se prolonga algunas semanas para

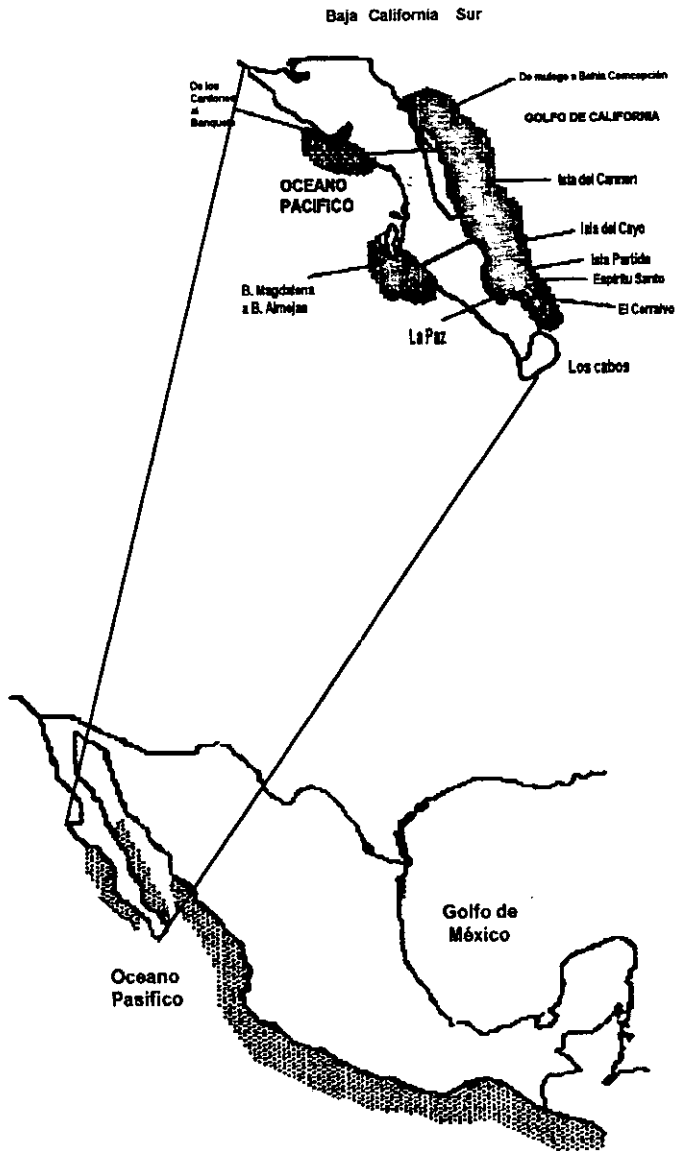
pasar a la etapa de larva pediveliger, la cual pierde los cilios, comenzando a segregar bisco, por medio de una glándula especializada, a partir de este momento, la larva inicia la búsqueda de un sustrato donde fijarse, para continuar con su desarrollo hasta alcanzar la etapa adulta (Lubet, 1959) (Figura 6).

Distribución geográfica.

Los callos de hacha presentan una amplia distribución a nivel mundial en mares tropicales y se conocen gran variedad de especies. Para el estado de Baja California Sur, se encuentran cuatro especies, conocidas localmente como: hacha larga *Pinna rugosa* (Sowerby, 1835), hacha china *Atrina maura* (Sowerby, 1835), hacha botijona *A. tuberculosa* (Sowerby, 1835) y hacha lisa *A. oldroydii* (Dall, 1901) (Zumaya, 1996).

Presentan una distribución amplia (Keen, 1971) que va desde Baja California Sur hasta el Perú. De acuerdo con los resultados de prospecciones y evaluaciones se les localiza en ambas costas, habitando llanuras de fango arenoso y entre rocas con arena y limo, tanto en aguas somera como en profundas de hasta 8 brazas. Algunos bancos se encuentran distribuidos en las siguientes localidades: Isla Cerralvo, Isla del Carmen, Isla Espíritu Santo, de Mulegé a Bahía Concepción, Isla Partida, Bahía Santa Inés, Bahía Falsas, de los Cardones al Bateque, Ensenada de la Paz, Bahía Magdalena, Islotes el Callo, Isla San José (Vélez, *et al.*, 1996)(Figura 3).

Figura 3. Distribución geográfica de *Atrina maura* en Baja California Sur.



BIOLOGÍA GENERAL DE LA MADREPERLA.

Posición taxonómica.

Phyllum	Mollusca (Tuner y Rosewater, 1958)
Clase	Pelecypoda o Bivalva
Sub-clase	Pterimorphia
Orden	Pterioida
Familia	Pteriidae
Género	Pinctada
Especie	<i>Pinctada mazatlanica</i> (Hanley, 1856)
Nombre común	" madreperla "

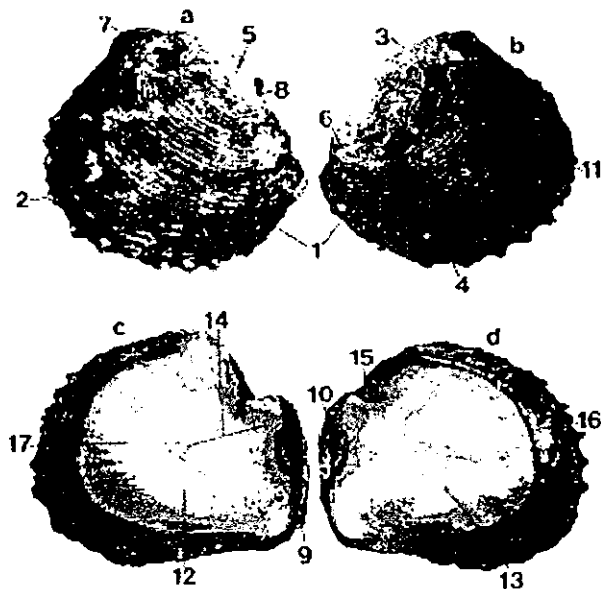
DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA.

Estructura de la concha.

La madreperla presenta dos valvas convexas con estrias concéntricas a partir de la charnela como todos los bivalvos, éstas representan el crecimiento de los organismos. A lo largo del borde terminal se encuentran unas prolongaciones delgadas del periostraco, llamadas comúnmente "olanes". El color de la concha es café claro (Figura 4).

La capa de nácar en el interior de la concha varía en color de plateado a brillante al gris y se torna iridiscente hacia los bordes terminales, cerca de éstos es evidente una franja de colores diferentes, más oscuros y que van del amarillo al negro. El músculo aductor representa del 30 al 44% del largo de la concha (SEPESCA, 1994).

Figura 1. Características generales de la concha de *Pinctada mazatlanica*.
(Tomado de SEPESCA 1994)



- a.- Cara externa valva derecha.
- b.- Cara externa valva izquierda.
- c.- Cara interna de la valva derecha.
- d.- Cara interna de la valva izquierda.
- 1.- Margen anterior.
- 2.- Margen posterior.
- 3.- Margen dorsal.
- 4.- Margen ventral
- 5.- Umbo.
- 6.- Ala anterior.
- 7.- Ala posterior.

- 8.- Muesca bisal.
- 9.- Línea de la charnela.
- 10.- Ligamento.
- 11.- Línea de crecimiento.
- 12.- Impresión del músculo retractor.
- 13.- Impresión del músculo aductor.
- 14.- Impresión del músculo paleal.
- 15.- Impresión del músculo elevador.
- 16.- Línea paleal.

Se ha determinado que los organismos jóvenes presentan una altura menor a 10 cm. Estos crecen de 3-4 cm por año, llevándose casi 4 años en alcanzar una talla promedio de 12 cm y después de los 15 cm, el crecimiento de la concha es en grosor más que en longitud. Esta especie puede llegar a vivir alrededor de 20 años.

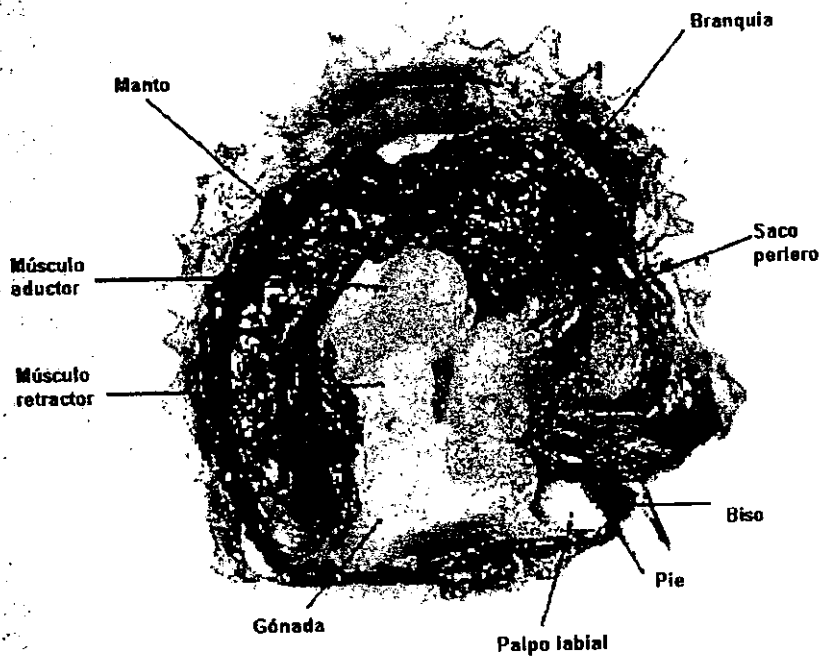
Morfología interna.

Las valvas de la concha cubren la bolsa visceral, la cual esta envuelta por el manto, estructura secretora de la concha y del nácar. Quitando el manto se observa el músculo aductor y retractor, entre los palpos se encuentra la boca y las branquias las cuales son estructuras laminares y están cubiertas por un epitelio ciliado, el cual produce una corriente constante de agua, realizando simultáneamente el intercambio gaseoso y la extracción del material alimenticio (Sevilla, 1969).

En posición dorsal entre el músculo aductor y la bolsa visceral se encuentra el corazón alojado en un saco pericardial, atravesado por el intestino. El biso al igual que en el caso del callo, es la estructura con la cual estos organismos se adhieren a un sustrato, el pie en forma lobular y musciosa tiene una función locomotriz (Sevilla, *op cit.*).

La gónada cuando los ejemplares han alcanzado la madurez es una glándula de aspecto masivo localizada en la porción periférica de la bolsa visceral, delimitada de la glándula digestiva por tejido conjuntivo y de la cavidad del manto por tegumento epitelial, (Figura 5). Al igual que otros bivalvos es una glándula doble, tubulo-ramificada, más o menos simétrica, la cual al alcanzar su máximo desarrollo se continúa hacia la región dorsal, constituyendo por consiguiente una glándula impar (SEPESCA, 1994).

Figura 5.- Anatomía interna de *Pinctada mazatlanica*.
(Tomado de SEPESCA, 1994).



Hábitos reproductivos y ciclo de vida.

Las ostras perleras igual que los callos presentan fecundación externa, liberando el esperma y los óvulos al medio. En éstas los ovocitos miden 50 - 60 μ de diámetro, son tetraploides y mediante divisiones meióticas reducirán a uno sus juegos de cromosomas, para convertirse en un organismo diploide al momento de la fertilización. A partir de ésta, ocurren las dos primeras divisiones celulares, quedando formados los lóbulos polares, la tercera división es en espiral y le seguirán las divisiones subsecuentes (Díaz-Garcés, 1972).

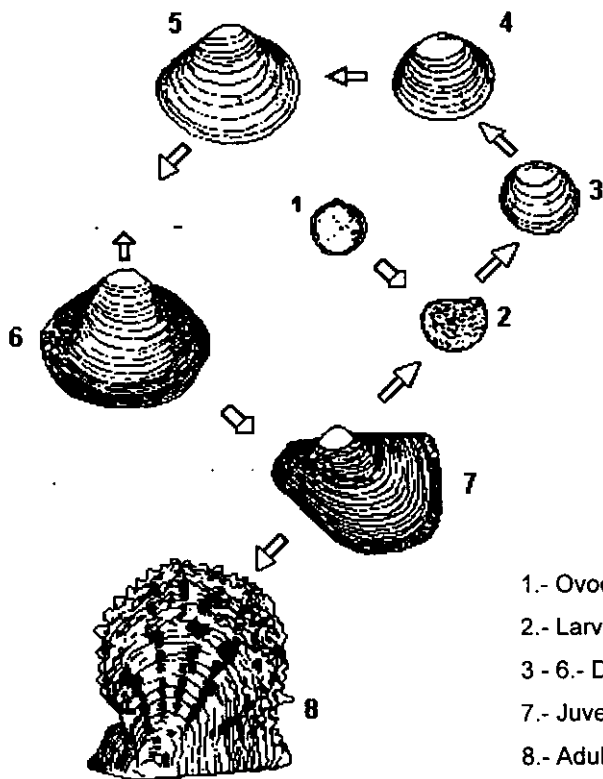
Al cabo de seis horas, aparecen los cilios sobre la superficie del embrión, el cual iniciará entonces su etapa de libre nadador, se inicia la gastrulación la cual se completa con la formación de una invaginación de una zona restringida del polo vegetal. Esta larva llamada trocófora, desarrolla un haz de cilios en la región anterior, forma la glándula de la concha a partir del ectodermo dorsal. La glándula secreta la primera concha llamada prodisoconcha. Los cilios del futuro velum se desarrollan alrededor del haz de cilios. La larva adquiere la forma de chamela recta y se denomina larva "D", la cual hasta este momento se alimenta de las reservas vitelinas, comenzando entonces a alimentarse por la captación de microalgas mediante el movimiento de los cilios del velum los cuales están cubiertos de mucosidad, los cilios retienen las partículas y las dirigen a la boca, recientemente funcional para ser digeridas. El movimiento combinado de cilios y velum permiten a la larva desplazarse (Gervis, *et al.*, 1992).

Durante las siguientes semanas se desarrollaran órganos primitivos, por diferenciación celular, las células del manto secretan la prodisoconcha II, este estadio se conoce como veliger. Cuando la concha mide 250 μ la larva desarrolla el pie, órgano funcional que le permite reptar, entonces es conocida como pediveliger,

el pie le servirá para detectar una superficie o sustrato apto al que se adhiere para poder sobrevivir a la metamorfosis (Figura 6) (Sevilla, 1969).

En la fase de la metamorfosis ocurren varios cambios en la vida de la ostra, como la secreción del biso y la formación de los palpos labiales entre otros. Una vez secretado el biso se comienza la etapa juvenil desde esta etapa el organismo no se separa más de un sustrato.

Figura 6. Ciclo de vida de un molusco bivalvo.



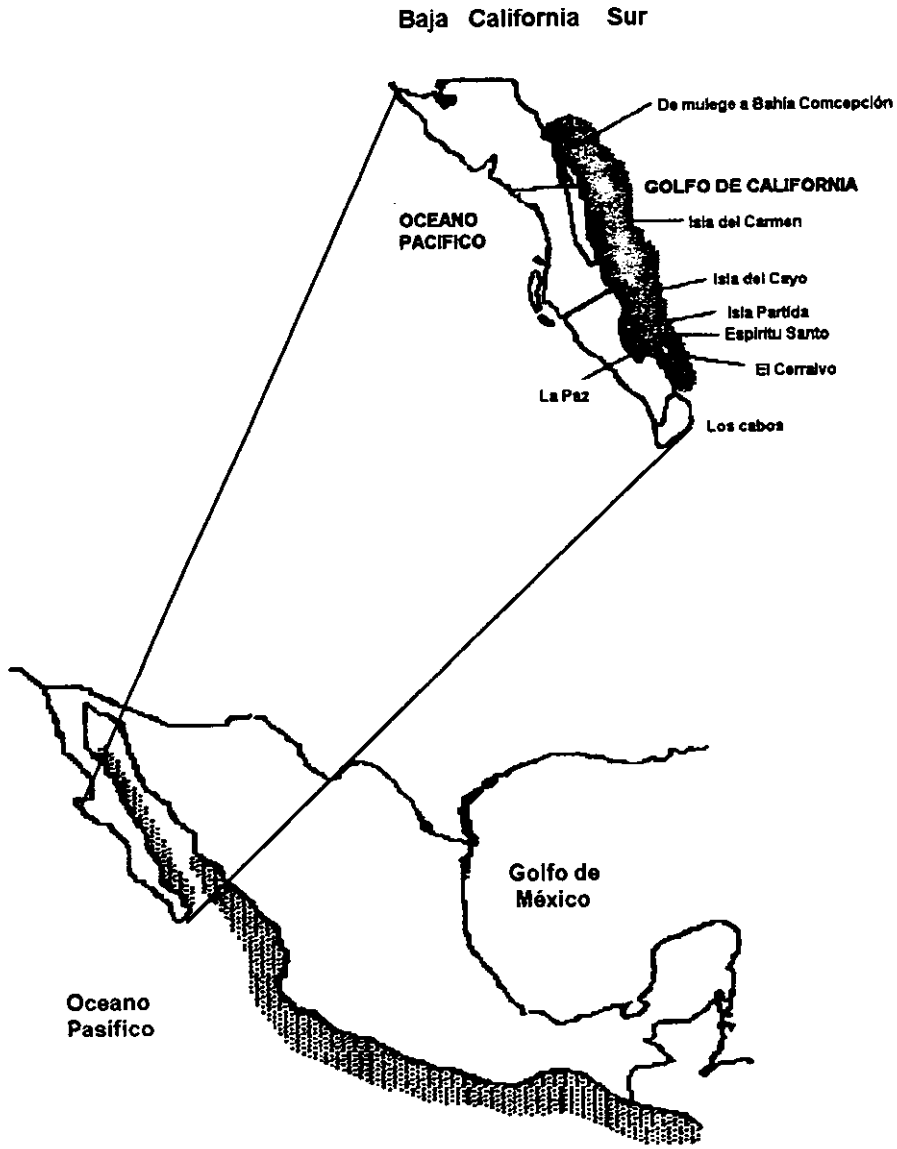
- 1.- Ovocito fecundado.
- 2.- Larva Veliger o "D".
- 3 - 6.- Desarrollo de la larva umbada.
- 7.- Juvenil con forma típica de ostra adulta.
- 8.- Adulto de *Pinctada mazatlanica*.

Distribución geográfica.

La madreperla *P. mazatlanica*, ha sido catalogada como una especie Panámica de las ostras perleras, en razón a su distribución geográfica. *P. mazatlanica* se distribuye desde Baja California hasta Perú incluyendo Panamá. La especie se localiza desde la altura de las Islas Santa Inés al Nor-Noroeste de la Bahía Concepción, continúa hacia el Sur sobre la costa Oriental de la Península de Baja California, comprendiendo islas y bajos cercanos a esta costa, prosiguiendo por el Sur del Pacífico Mexicano hasta el Perú. Es escasa en las costas de Sonora y no ha sido reportada en el litoral occidental de la Península. Es generalmente abundante entre los 2 y 6 m de profundidad; muy pocos individuos son vistos en zonas más profundas. Normalmente se fijan a las rocas o corales y ocasionalmente se les observa sobre fondos areno-gravosos (SEPESCA, 1994).

Se ha observado que *P. mazatlanica* tiene la característica especial de adherirse sobre rocas que están cerca de fondos arenosos. Se ubican también en lugares en donde hay incidencia de los rayos solares directamente. Aunque esta especie no está representada por densas poblaciones las principales existencias se localizan en las costas de Baja California Sur (Figura 7).

Figura 7. Distribución geográfica de *Pinctada mazatlanica* en Baja California Sur.



DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS.

Para calcular el contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos totales en cada especie de microalga, se procedió inicialmente a extraer cada uno de los componentes para después detectar su concentración mediante métodos colorimétricos. La obtención de las muestras se han descrito en material y métodos.

PROTEÍNAS TOTALES.

Reactivos utilizados:

Reactivo a: Na_2CO_3 al 2 % (p/v) en NaOH al 0.1 N.

Reactivo b: CuSO_4 0.5 N, en tartrato de sodio y potasio al 1 %, este reactivo es una suspensión, por lo que se deja reposar usando el sobrenadante claro.

Reactivo c: Se prepara a partir de los reactivos a y b en una proporción 50:1, respectivamente, en el momento de realizar los ensayos.

Reactivo d: Es el reactivo comercial Folin-Ciocalteau.

Extracción de Proteínas.

1. - Colocar los filtros en tubos pyrex con tapón de rosca + 1 ml de NaOH 0.1 N macerar y agregar 3 ml de NaOH, colocar en baño María entre 60 y 100 °C durante 45 min para realizar la hidrólisis alcalina.
2. - Enfriar a temperatura ambiente y mezclar el contenido.
3. - Centrifugar a 4000 r. p. m. durante 15 min.
4. - Extraer el sobrenadante, agregar 2 ml de NaOH 0.1N para una segunda extracción calentando a baño María como en el paso 1.
5. - Centrifugar a 4000 r. p. m. durante 15 min. Concentrar los sobrenadantes.

Curva de calibración.

La curva estándar se hace con albúmina sérica bovina (BSA). A partir de una solución concentrada de 200 µg/ml. Se realiza un gradiente de concentración de 0 a 200 µg según la tabla 1.1. Con las absorbancias resultantes se ajustan por mínimos cuadrados a la ecuación de una recta del tipo $y = a + b x$.

1. - Pesar 10 mg de albúmina sérica bovina y disolver en 50 ml de agua destilada (Sol. patrón A) conc. final 200 µg/ml.
2. - Diluir 20 ml de solución patrón A, con 20 ml de agua destilada (Sol. patrón B) conc. final 100 µg/ml.
3. A partir de las soluciones A y B elaborar una mezcla 50 : 1 (Sol. C).
4. - Preparar la secuencia siguiente por duplicado:

Tabla 1.1.

	SOL. PATRÓN A	SOL PATRÓN B	AGUA DESTILADA	CONC. CALC.
1	1 ml		0	200 µg
2	0.875 ml		0.125 ml	175 µg
3	0.750 ml		0.250 ml	150 µg
4	0.625 ml		0.375 ml	125 µg
5	0.500 ml		0.500 ml	100 µg
6		1 ml	0	100 µg
7		0.750 ml	0.250 ml	75 µg
8		0.500 ml	0.500 ml	50 µg
9		0.250 ml	0.750 ml	25 µg
10		0	1 ml	0 µg

Determinación de proteínas.

El método de Lowry *et al.*, (1951), está basado en la determinación espectrofotométrica de la intensidad de color obtenida con el reactivo Folin-Ciocalteu después de un tratamiento con solución alcalina de cobre, consiste en:

1. - Tomar 1 ml del sobrenadante obtenido en la extracción y colocarlo en tubos de ensayo etiquetados.
2. - Agregar a cada tubo (incluir curva de calibración) 3 ml de solución C, reposar durante 10 min.
3. - Transcurrido el tiempo agregar 0.5 ml de solución Folin Ciocalteu comercial (en proporción 1:1 agua destilada).
4. - Agitar los tubos con un vortex o agitador automático (toma color azul), reposar 30 min. en oscuridad.
5. - Leer en el espectrofotómetro a 750 nm.
6. - Con los resultados obtenidos para las muestras y la ecuación de la curva estándar se calcula la concentración de proteínas en cada muestra.

CARBOHIDRATOS TOTALES.

Reactivos utilizados:

Fenol al 5 %

H₂SO₄ concentrado.

H₂SO₄ 1M.

Solución estandar de glucosa, esta se prepara pesando 0.03 g de glucosa/100 ml H₂O.

Extracción de Carbohidratos totales. Dubois *et al.*, (1987):

1. - Colocar los filtros en tubos pyrex con tapón de rosca + 1 ml de H₂SO₄ al 65 % macerar y agregar 2 ml de H₂SO₄, colocar en baño María entre 60 y 100 °C durante 45 min para la hidrólisis ácida.
2. - Enfriar a temperatura ambiente y mezclar el contenido.
3. - Centrifugar a 4000 r. p. m. durante 15 min.
4. - Extraer el sobrenadante y transferirlo a otros tubos; para una segunda extracción agregar 2 ml de H₂SO₄ 65 % y seguir con el paso 1.
5. - Centrifugar a 4000 r. p. m. durante 15 min. Juntar los sobrenadantes.

Curva de calibración de Carbohidratos.

La curva estándar se prepara con glucosa anhidra. A partir de una solución concentrada de 100 μ l y haciendo un gradiente de concentración de 0 a 100 μ g. Tomar en cuenta la siguiente secuencia:

TUBO	SOL. PATRÓN	AGUA DESTILADA	CONC. CALCULADA
1	1 ml	0	100 μ g
2	0.8 ml	0.2 ml	80 μ g
3	0.6 ml	0.4 ml	60 μ g
4	0.4 ml	0.6 ml	40 μ g
5	0.2 ml	0.8 ml	20 μ g
6	0 ml	1 ml	0 μ g

Determinación de Carbohidratos.

Los métodos más usados para la determinación de carbohidratos totales son los colorimétricos, basados en el método de Molisch. El método Fenol-Sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956), produce un color estable y no sufre interferencia con proteínas además de ser simple. Para esta técnica se aplican los siguientes pasos:

1. - Tomar 1 ml del sobrenadante y colocarlo en tubos de ensaye etiquetados.
2. - Agregar 1 ml de sol. fenol al 5 % por tubo, incluir los de la curva patrón y dejar reposar 40 min.
3. - Agregar lentamente 5 ml de H_2SO_4 concentrado, dejando correr el líquido por las paredes, la mezcla es cautelosa para evitar pérdida de carbohidratos por evaporación. Enfriar a temperatura ambiente.
4. - Leer a densidad óptica de 490 y 600 nm
5. - Con los valores obtenidos se calcula por mínimos cuadrados la ecuación de una recta del tipo $y = a + b x$, con esta se calculan las concentraciones de las muestras.

LÍPIDOS TOTALES.

Reactivos utilizados:

Solución de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) al 2 % en H_2SO_4 .

Solución estandar de Tripalmitina = Tripalmitina = 0.2 - 1.2 mg.

Cloroformo.

Metanol.

Agua destilada.

a) Extracción:

Para la extracción de lípidos se utiliza una modificación del protocolo Dubinsky (1979), y el procedimiento de Bligh y Dyer descrito por Holland (1971).

1. - Agregar el filtro con muestra en tubos con tapón de rosca, adicionar 2 ml de una mezcla metanol:cloroformo 2:1, dejar en obscuridad por 12 hrs. a 4 °C.
2. - Lavar el filtro con 1 ml de cloroformo 2 veces y desecharlos.
3. -Adicionar agua destilada para una relación final de solventes metanol:cloroformo:agua (2:2:1).
4. - Agitar con vortex y centrifugar a 2000-3000 r. p. m. durante 5 min.
5. - Con una pipeta Pasteur retirar la fase orgánica inferior, lavando el sobrenadante con 1 ml de cloroformo, agitar con el vortex y centrifugar nuevamente a 2000 - 3000 r. p. m. durante 5 min. Juntar las fracciones cloroformo-lípidos.
6. - Adicionar sulfato de sodio anhidro para deshidratar las muestras.
7. - Transferir el sobrenadante (lavar el $Na_2 SO_4$ que quedó con cloroformo) y juntar los extractos.
8. - Evaporar el cloroformo con flujo de N_2 (atmósfera reducida).

9. - Adicionar 1 ml de cloroformo y tomar 0.2 ml por triplicado en tubos de ensaye, evaporando nuevamente.
10. Cada tubo de la curva de calibración se evapora a sequedad con flujo de N₂.

Curva de calibración de Lípidos.

La curva estándar de lípidos totales se prepara por triplicado a partir de una solución de 30 mg de tripalmitina por cada 10 ml de cloroformo.

Tubos	Tripalmitina (μ l)	H ₂ SO ₄ (ml)	Conc. Calculada (μ g/ml)
1	0	2	0
2	100	2	30
3	200	2	60
4	300	2	90
5	500	2	150
6	600	2	180

b) Determinación espectrofotométrica de lípidos totales.

Para esta determinación se sigue el ensayo de carbonización cuantitativa (Marsh & Weinstein, 1966), método rápido y sensible. El cual es general e inespecífico y permite una rápida estimación de lípidos totales.

1. - Adicionar a cada tubo muestra y estándares 2 ml de ácido sulfúrico. preparar un blanco con el mismo. Todos los tubos se llevan a 200 ± 2 °C durante 15 min.
2. - Enfriar en refrigerador por 15 minutos.
3. - Adicionar 3 ml de agua destilada a cada tubo mezclar y refrigerar por 5 min.
4. - Leer la densidad óptica de las muestras en espectrofotómetro a 590 nm.

Figura a. Medidas morfométricas para el Callo de Hacha.

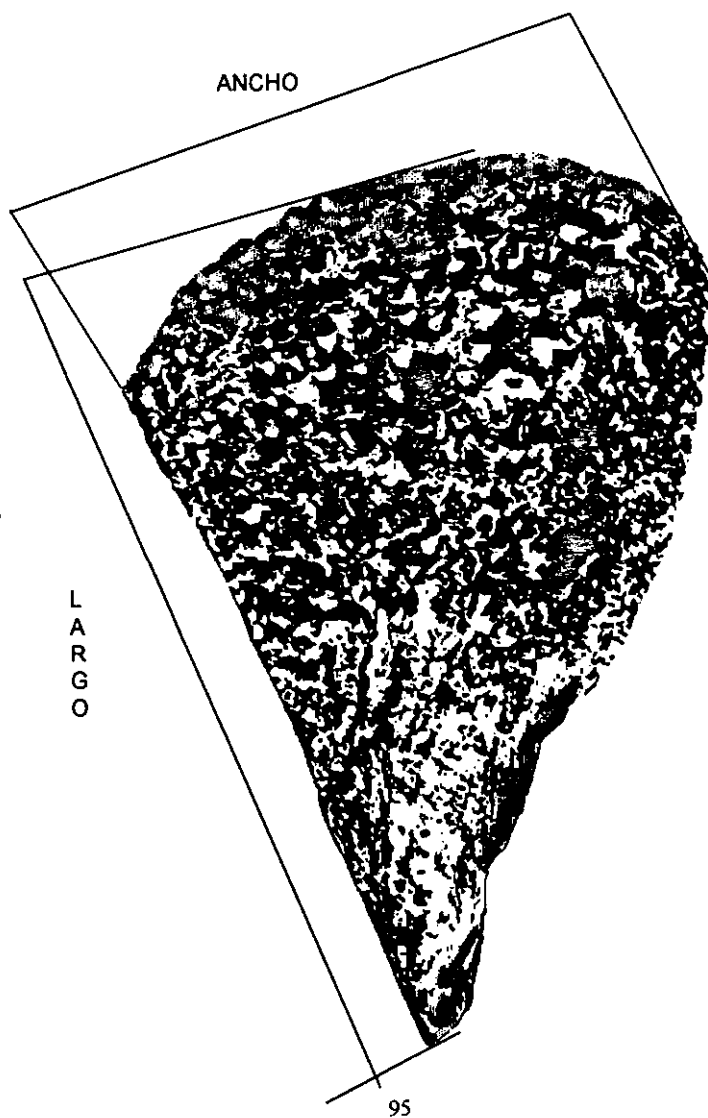
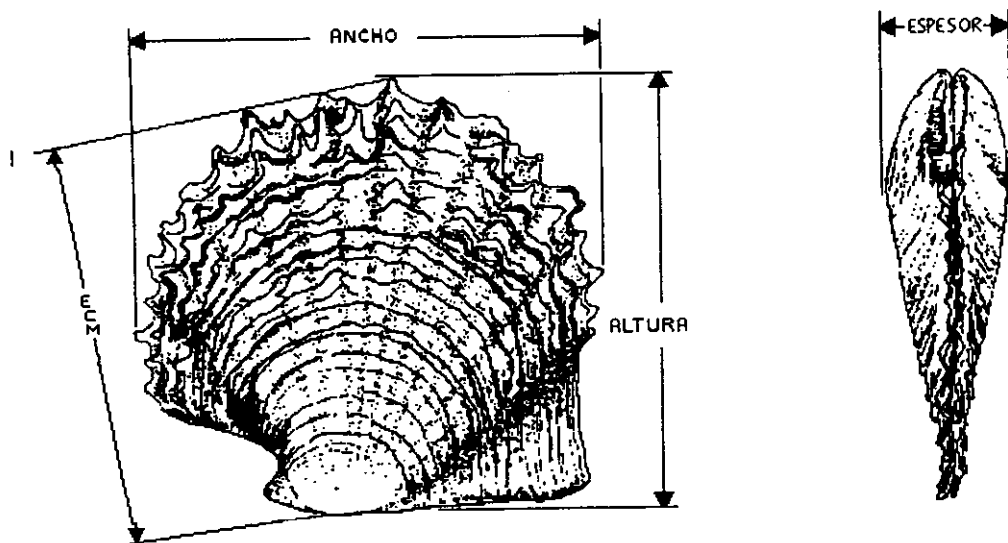


Figura b. Medidas morfométricas para la madreperla *Pinctada mazatlanica*.



E. C. M. = Eje de crecimiento máximo.

APÉNDICE 5.

Tablas 1 y 2. Valores de los análisis de regresión lineal de la forma $y = a (x)^b$, linealizada como $\log y = \log a + b \log x$, donde $y =$ biomasa y $x =$ largo, ancho.

Tabla 1.

Especie: <i>Atrina maura</i>					
Peso húmedo o peso vivo (y)					
Ejes de crecimiento (mm)	Intercepto a	Pendiente b	Nivel de probabilidad p	Coefficiente de determinación r^2	Número de datos n
Largo	1.69	0.24	< 0.00001	0.98	52
Ancho	1.36	0.32	< 0.00001	0.97	52
Biomasa o peso seco (y)					
Largo	1.93	0.27	< 0.00001	0.96	52
Ancho	1.63	0.31	< 0.00001	0.96	52

Tabla 2.

Especie: <i>Pinctada mazatlanica</i>					
Peso vivo o húmedo (y)					
Eje de crecimiento (mm)	Intercepto a	Pendiente b	Nivel de Probabilidad p	Coefficiente de determinación r^2	Número de datos n
Largo	1.3277	0.0692	< 0.0496	0.1177	32
Ancho	1.2829	0.0755	< 0.0201	0.15766	32
Espesor	-0.3403	0.0969	< 0.0058	0.2145	32
Eje de crec. max.	1.3881	0.0578	< 0.0635	0.1035	32
Biomasa o peso seco (y)					
Largo	1.738	0.3211	< 0.0001	0.8095	32
Ancho	1.6859	0.3162	< 0.0001	0.8818	32
Espesor	0.0843	0.3351	< 0.0001	0.8172	32
Eje de crec. max.	1.7695	0.2978	< 0.0001	0.8739	32

Al aplicar la ecuación de crecimiento $y = a (x)^b$ se sabe de manera indirecta por la medición de los ejes de crecimiento de los moluscos la cantidad de biomasa seca orgánica.

APÉNDICE 6.

Tabla 5. Valores de las pruebas de Tuckey, relaciona cada eje de crecimiento respecto al tipo de dieta para *Atrina maura*.

LARGO					
Tipo de microalga	<i>T. pseudonana</i>	<i>C. calcitrans</i>	<i>T. suecica</i>	<i>C. gracilis</i>	<i>I. galbana</i>
<i>T. pseudonana</i>		0.313259	0.399369	0.000426	0.056041
<i>C. calcitrans</i>	0.313259		0.081786	0.006164	0.005426
<i>T. suecica</i>	0.399369	0.081786		0.000072	0.235033
<i>C. gracilis</i>	0.000426	0.006164	0.000072		0.000031
<i>I. galbana</i>	0.056041	0.005426	0.235033	0.000031	
ANCHO					
	<i>T. pseudonana</i>	<i>C. calcitrans</i>	<i>T. suecica</i>	<i>C. gracilis</i>	<i>I. galbana</i>
<i>T. pseudonana</i>		0.159127	0.438891	0.001205	0.079904
<i>C. calcitrans</i>	0.159127		0.039723	0.041594	0.002748
<i>T. suecica</i>	0.438891	0.039723		0.000154	0.276522
<i>C. gracilis</i>	0.001205	0.041594	0.000154		0.000033
<i>I. galbana</i>	0.079904	0.002748	0.276522	0.000033	
ESPESOR					
	<i>T. pseudonana</i>	<i>C. calcitrans</i>	<i>T. suecica</i>	<i>C. gracilis</i>	<i>I. galbana</i>
<i>T. pseudonana</i>		0.010205	0.729339	0.036926	0.843253
<i>C. calcitrans</i>	0.010205		0.004606	0.553327	0.014075
<i>T. suecica</i>	0.729339	0.004606		0.019221	0.611192
<i>C. gracilis</i>	0.036926	0.553327	0.019221		0.045648
<i>I. galbana</i>	0.843253	0.014075	0.611192	0.045648	