



INSTITUTO DEL MAR DEL PERÚ

INFORME

ISSN 0378-7702

Volumen 38, Número 4

- Protocolo para evaluación de concha de abanico
- Protocolo para estudios sobre el proceso reproductivo de peces pelágicos y demersales
 - Sanidad en estanques de cultivo y en poblaciones silvestres de langostinos en Tumbes
- Estudios sobre el calamar gigante en primavera 2010 y verano 2011. Crucero B/P Hakurei Maru N° 8
- Experiencias en el sistema controlado para obtención de semillas de concha de abanico en Ilo, Moguequa
 - Diagnóstico y estado de la macroalga *Lessonia nigrescens* en el litoral de Arequipa



Octubre - Diciembre 2011
Callao, Perú

EXPERIENCIAS EN SISTEMA CONTROLADO PARA LA OBTENCIÓN DE SEMILLAS DE CONCHA DE ABANICO *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). ILO, MOQUEGUA

EXPERIENCES IN CONTROLLED SYSTEM FOR OBTAINING SEEDS OF SCALLOP *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). ILO, MOQUEGUA

Vicente Castañeda Muñoz Sheyla Zevallos Feria

Roger Ayerbe Ochoa Raúl Castillo Rojas

IMARPE Sede Ilo, Moquegua

RESUMEN

CASTAÑEDA V, ZEBALLOS S, AYERBE R, CASTILLO R. 2011. Experiencias en sistema controlado para la obtención de semillas de concha de abanico *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). Ilo, Moquegua. *Inf Inst Mar Perú*. 38(4): 415-427.- IMARPE Ilo obtuvo financiamiento del Gobierno Regional de Moquegua en base al proyecto "Mejoramiento de infraestructura e implementación de laboratorio de investigación de moluscos", para construir un laboratorio experimental con el objetivo de desarrollar técnicas de reproducción artificial de moluscos nativos de la Región, para la obtención de semillas principalmente de macha *Mesodesma donacium*, chanque *Concholepas concholepas* y pulpo *Octopus mimus*. Este informe contiene el resultado de las actividades realizadas el 2007, en relación a la aplicación de técnicas de cultivo de microalgas (alimento vivo) y obtención de semillas de concha de abanico.

PALABRAS CLAVE: Laboratorio experimental, semillas, concha de abanico, Ilo, Moquegua, Perú.

ABSTRACT

CASTAÑEDA V, ZEBALLOS S, AYERBE R, CASTILLO R. 2011. Experiences in controlled system for obtaining seeds of scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). Ilo, Moquegua. *Inf Inst Mar Perú*. 38(4): 415-427.- IMARPE Ilo obtained financing from Regional Government of Moquegua based on the project "Improvement of infrastructure and implementation of shellfish research laboratory" to build an experimental laboratory for the purpose to develop artificial breeding techniques of native shellfish of the region, to obtain seeds mainly of macha *Mesodesma donacium*, chanque *Concholepas concholepas*, and *Octopus mimus*. This report contains the results of the activities undertaken in 2007, in relation to the application of microalgae culture techniques (live food) and obtaining scallops seeds.

KEYWORDS: Laboratory experimental, seed, scallops, Ilo, Moquegua, Perú.

1. INTRODUCCIÓN

La captación de semillas en bancos naturales de bivalvos seguirá teniendo importancia, pero muchas de estas poblaciones naturales ya se encuentran cerca de los límites máximos sostenibles y en algunos lugares ya los han sobrepasado, situación que se puede aliviar desarrollando la acuicultura, que ofrece una alternativa a la explotación de las poblaciones naturales. Un requisito esencial para el cultivo es contar con semilla abundante, fiable y barata. Actualmente, en la mayoría de las explotaciones de bivalvos del mundo se recolecta la semilla en bancos naturales para transferirla a las zonas de engorde hasta que alcance la talla comercial. En el 2000 alrededor del 75% de la producción mundial de bivalvos procedía ya de alguna forma de cultivo (FAO 2006).

Desde 1986 el Instituto del Mar del Perú (IMARPE) en la sede central, inició la investigación de la concha de abanico sobre su cultivo en am-

biente controlado a nivel experimental (VALDIVIESO 1989, VALDIVIESO et al. 1989). Posteriormente, se incorporaron otras especies de moluscos nativos e introducidos.

La sede IMARPE Ilo, durante 2004 y 2006 mediante el proyecto *Mejoramiento de Infraestructura e Implementación de Laboratorio de Investigación de Moluscos en el Instituto del Mar del Perú* (IMARPE), obtuvo el financiamiento del Gobierno Regional de Moquegua a través de FONCOR, CANON, SOBRE CANON y recursos ordinarios, para construir un laboratorio experimental con el objetivo de *Incrementar el Desarrollo de Técnicas de Reproducción Artificial de Moluscos Nativos de la Región*, para la obtención de semillas principalmente de los recursos macha *Mesodesma donacium*, chanque *Concholepas concholepas* y pulpo *Octopus mimus*. Esta infraestructura efectuará estudios experimentales en sistemas controlados, cuyos resultados facilitarán técnicas para la obtención de semillas y la producción de moluscos. Los estudios incluirán

la obtención de lotes de reproductores, la adaptación de técnicas para reproducción, además del cultivo de microalgas.

Este informe contiene el resultado de las actividades realizadas el 2007, en relación a la aplicación de técnicas de cultivo de microalgas (alimento vivo) y de concha de abanico (larvas y post larvas), ya conocidas en la Sede Central, durante la etapa de lanzamiento del Laboratorio de Investigación de Moluscos (LIM) IMARPE Ilo, Moquegua.

1.1 GENERALIDADES DE LA ESPECIE OBJETIVO

Argopecten purpuratus Lamarck, 1819 (Pectinidae), tiene valvas circulares, moderadamente convexas, equivalvas, la valva izquierda es algo más abombada que la derecha. Periostraco opaco color blanco con púrpura, alternativamente rosado y marrón, a veces completamente blanco, crema o naranja. La coloración interna es blanca reluciente. Las valvas con 23 a

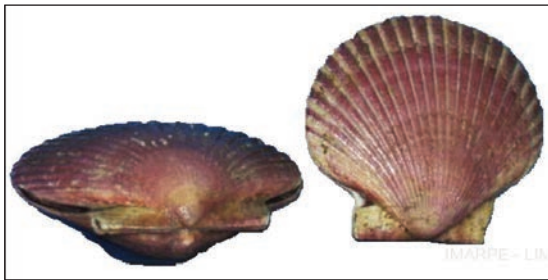


Figura 1.- Vista externa de *Argopecten purpuratus*.

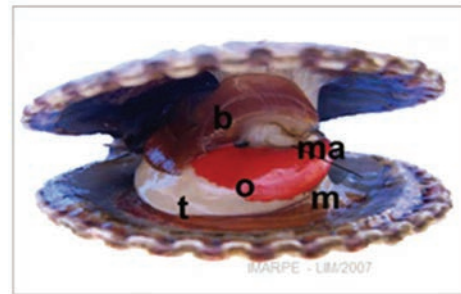


Figura 2.- Anatomía de *Argopecten purpuratus* en plena madurez: músculo aductor (ma); branquias (b) (levantadas para resaltar la gónada); manto (m); gónada femenina (o); gónada masculina (t).



Figura 3.- Ciclo biológico de la concha de abanico
http://conchasdeabanicoup.com/2010/05/estados-de-desarrollo_04.html



Figura 4.- Vista general del Laboratorio de Investigación en Moluscos (LIM). Ilo, Perú 2007

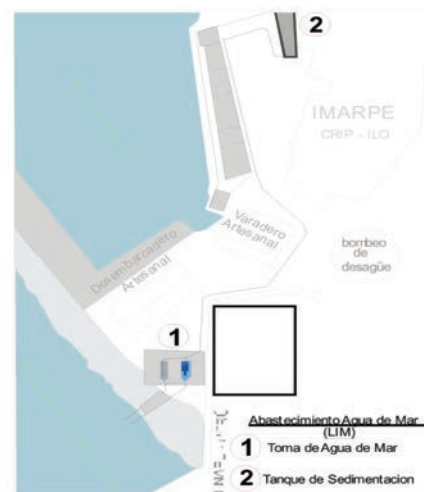


Figura 5.- Abastecimiento de agua de mar. LIM 2007.

29 costillas radiales, generalmente la derecha con una costilla menos que la izquierda. Estrías de interrupción del crecimiento concéntricas bien marcadas (Fig. 1) (Peña 2002).

Se distribuye desde Paita, Perú hasta Valparaíso, Chile (SANZANA, 1978, ÁLAMO y VALDIVIESO 1987 AVENDAÑO y CANTILLANEZ 1996); sin embargo, GRAU 1959 y URIARTE et al. 1996, la sitúan en Corinto, Nicaragua.

Se encuentra en zonas protegidas con presencia de conchuelas, fondos pedregosos, arenosos, arenofangosos, limosos y algosos, especialmente en pequeños bosques de *Rhodymenia* sp. Este molusco puede vivir con temperaturas que van desde los 13 °C a 20 °C y, puede llegar a soportar extremos de 7 °C hasta 28 °C.

A. purpuratus es una especie hermafrodita funcional. Tanto la gónada femenina como la masculina (Fig. 2) maduran de forma simultánea; expulsa los gametos de forma secuencial y alternada dentro del mismo ciclo de desove (FAO 2006).

Los ejemplares de *A. purpuratus* adquieren la primera madurez gonadal cuando alcanzan la talla de 25 mm, y efectúan el primer desove a los 30 mm, desovando de 1 a 10 millones de óvulos (VALDIVIESO y ALARCÓN 1985). El ciclo biológico comprende cuatro fases: huevo, larva, juvenil y adulto. La fase larval es planctónica y presenta tres estadios: trocófora (larva ciliada), veliger (con velo u órgano ciliado nadador) y pediveliger que se caracteriza por la formación del pie, que le sirve para adherirse al sustrato adecuado y endurecimiento de las valvas (Fig. 3).

2. INFRAESTRUCTURA UTILIZADA

El Laboratorio de Investigación de Moluscos (LIM) (Fig. 4), está ubicado en las instalaciones del IMARPE Ilo; ocupa un área de 160 m², es de material de concreto y techo aligerado de fibra fuerte. El piso tiene una pendiente de 3% y canaletas para desagües con rejillas de fibra de vidrio. Cuenta con a) sistema hidráulico, b) tratamiento de agua de mar y c) sistemas auxiliares.

El SISTEMA HIDRÁULICO está compuesto de:

- (i) Caseta de bombeo.- Ubicada dentro de las instalaciones del Desem-

barcadero Pesquero Artesanal para la captación de agua de mar, que recorre 200 m hasta llegar al tanque de sedimentación (Fig. 5);

- (ii) Ocho electro bombas autocebantes.- Para la succión e impulsión del agua de mar,

- (iii) Red de tuberías.- De resina de polietileno de alta densidad (HDPE) para agua de mar y agua dulce que abastecen al laboratorio.

EL SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUA DE MAR comprende:

- (i) Tanque de concreto armado.- Para sedimentación de agua de mar, capacidad de 21,6 m³. Sistema de filtro mecánico, con dos (02) compartimentos cribados

paralelos que permite el paso de agua y uno (01) que almacena el agua limpia (Fig. 6).

- (ii) Filtros mecánicos.- El agua sedimentada atraviesa (por presión) dos filtros de arena (*Rapad Sand Filters*) instalados en forma paralela y de funcionamiento simultáneo, a una velocidad de 106 gpm/filtro; para la separación de impurezas suspendidas y coloidales del agua se usa una cama de material granular de dos capas (capa superior arena de 1/8 e inferior de 1/32). Luego, el agua pasa por un *filtro de tierra diatomea* (alta velocidad y baja presión), generando agua con partículas menores a 50 micras, que se almacena en un tanque eleva-

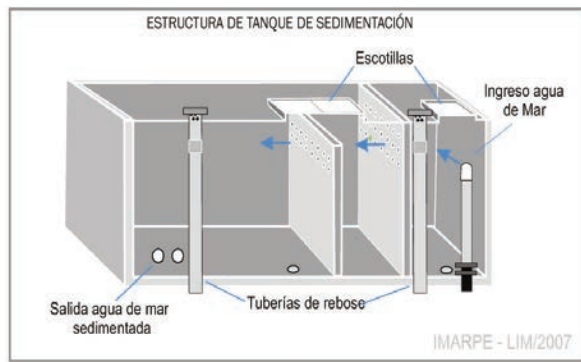


Figura 6.- Estructura del tanque de sedimentación. LIM 2007

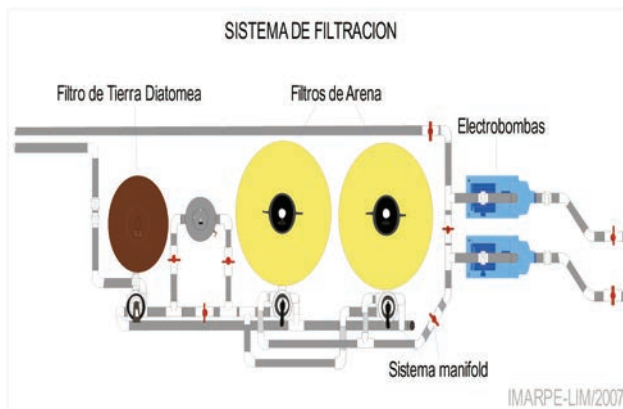


Figura 7.- Componentes del sistema de filtración de agua de mar.

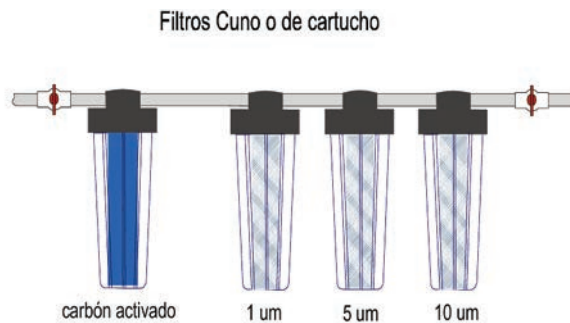


Figura 8.- Disposición de filtros Cuno. LIM 2007.



Figura 9.- Lavado de material de vidrio.



Figura 10.- Lavado de tanque.



Figura 11.- Lavado: Filtros Cuno.

do. Este filtro sirve como purificador de agua, ya que la tierra diatomea tiene la propiedad de retención de algas, bacterias, etc. (Fig. 7).

(iii) Sub sistema de microfiltración.- Constituido por tres filtros Cuno de cartucho de 10, 5, 1 micra y un filtro de carbono activado, dispuestos en serie (Fig. 8). El agua filtrada procedente del tanque elevado, luego de pasar por estos filtros, es distribuido a través de tuberías de PVC, a las salas de cepas, cultivo intermedio y masivo de microalgas, mantenimiento de reproductores, cultivo larvario y semillero.

(iv) Sub sistema de esterilización.- Conformado por 2 lámparas de luz ultravioleta (UV) dispuestos en paralelo, cuyo flujo es de 64 gpm.

LOS SISTEMAS AUXILIARES SON:

- (i) Tanque de almacenamiento de fibra de vidrio para agua potable de 3,5 m³ de capacidad;
- (ii) Cisterna de almacenamiento para aguas residuales de concreto de 9 m³, que al alcanzar su máximo nivel de almacenamiento se evacúa al sistema de desagüe de la red pública por medio de dos electrobombas sumergibles de 1 hp;
- (iii) Blowers de 2,5 hp, para suministrar aire a los sistemas de cultivo del laboratorio, funcionan durante las 24 horas del día;
- (iv) Dos equipos de aire acondicionado (capacidad de frío: 12000 y 24000 BTU), para mantener la temperatura constante en las salas de cultivo de microalgas;

Tabla 1.- Medio F/2 modificado (Guillard 1973)

Reactivo 1 (R 1): Nitrato y Fosfato	
Reactivos	En 1 Litro (g)
KNO ₃	75,00
NaH ₂ PO ₄ · 2 H ₂ O	5,65
Reactivo 2 (R 2): Trazas de Metales	
Reactivos	En 1 Litro (g)
EDTA Na ₂	4,360
FeCl ₃ · 6 H ₂ O	3,150
CuSO ₄ · 5 H ₂ O	0,010
ZnSO ₄ · 7 H ₂ O	0,022
CoCl ₂ · 6 H ₂ O	0,010
MnCl ₂ · 4 H ₂ O	0,180
Na ₂ MoO ₄ · 2 H ₂ O	0,006
Reactivo 3 (R 3): Mezcla de Vitaminas	
Reactivos	En 1 Litro (g)
Cyanocobalamina	0,002
Tiamina HCl	0,100
Biotina	0,001
Reactivo 4 (R 4): Solución de metasilicato de sodio por litro	
Reactivos	mL
Na ₂ SiO ₃ · 5 H ₂ O	10,00
H ₃ ClO ₄	5,00
Mientras se esté moviendo el matraz de preparación, ajustar a pH 8 con 1 M Na OH o HCl	
Preparación del Medio	En 1 Litro
Reactivo 1	1,00 mL
Reactivo 2	1,00 mL
Reactivo 3	1,00 mL
Preparación para 1 Litro con agua de mar filtrada y ajustar a pH 3.0 a 4.0 con 1M HCl	
Para cultivo masivo controlado (mayor a 4 L) Proline F/2 Algae Food (Part A y Part B)	
Preparación del Medio	En 1 litro
Solución A	0,13 mL
Solución B	0,13 mL
Na ₂ SiO ₃	0,013 g

- (v) Sistema eléctrico en general (generador eléctrico, cableado, tomacorrientes, lámparas fluorescentes, etc.).

3. METODOLOGÍA

3.1 CULTIVO DE MICROALGAS

En agosto 2007 se inició el cultivo de microalgas, con asesoramiento de personal de la Dirección de Investigaciones en Acuicultura, Gestión Costera y Aguas Continentales (DIAGCAC) del IMARPE. El personal del LIM fue entrenado en el cultivo de microalgas empleando técnicas de aislamiento y flujo de cultivo controlado. El método de cultivo de microalgas, según su naturaleza, es intensivo, por el tipo de cosecha es batch semi continuo y de acuerdo a su pureza es mono-específico. Las especies de microalgas en cepario son:

Clase Bacillariophyceae
Chaetoceros gracilis
Chaetoceros muelleri (México)
Phaeodactylum tricorutum (España)

Clase Prymnesiophyceae
Isochrysis galbana var. *tahitiana*
Pavlova lutherii (*Monochrysis lutherii*)

Clase Chlorophyceae
Nannochloris maculata
Nannochloropsis oculata

3.1.1 Técnicas de esterilización del material y del agua de mar

a) Esterilización del Material.- El material de vidrio se esteriliza en un recipiente en el que se diluye alcohol yodado en agua potable (1mL/L). Durante 24 horas, se colocan matraces, pipetas, placas, tubos, micropipetas, láminas, capilares, llaves tipo T y uniones (Fig. 9), para su posterior enjuague con abundante agua potable y finalmente agua destilada. Se seca en estufa a 150 °C durante 30 minutos y se almacena en gavetas limpias. La entrada de los matraces de Erlenmeyer y probetas se cubre con papel aluminio y las pipetas y placas se envuelven con papel Kraft, para su posterior uso. Capilares, llaves T y material plástico, se secan con aire a presión y se almacenan en envases limpios.

Las botellas de 5 L, bombonas de 20 L y tanques de fibra de vidrio de 200 L, se lavan con detergente diluido y abundante agua potable a presión, esta operación la realiza personal entrenado con la finalidad de eliminar los restos de microalgas adheridas a las paredes de los recipientes (Fig. 10).

Los difusores y mangueras de silicona se remojan en agua potable con

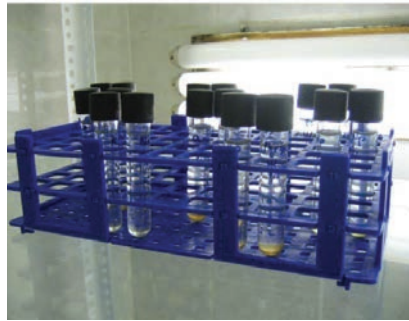


Figura 12.- Mantenimiento de cepas.

hipoclorito de sodio al 0,1% (1 mL/L) por 24 horas. Posteriormente, se enjuagan con abundante agua potable, el secado de difusores es al natural y las mangueras se secan con aire a presión. Los filtros CUNO se extraen de sus carcasas diariamente y se lavan con abundante agua potable a presión, se remojan en agua potable con hipoclorito de sodio al 0,1% (1mL/L) por 24 horas. Finalmente, se enjuagan con abundante agua potable para su reposición y posterior uso (Fig. 11).

b) Esterilización del agua de mar.- Para el cultivo de microalgas, el agua filtrada a 1 µm, es microfiltrada utilizando un sistema de bomba de vacío con filtros de nitrocelulosa de 0,45 y 0,20 µm para ser autoclavada a 15 psi y 248 °F (120 °C).

3.1.2 Fertilización del medio de cultivo

La composición química del medio de cultivo que se utilizó en el LIM, es el F/2 Modificado Guillard, 1975 (FAO, 2006), y se muestra en la Tabla 1.

3.1.3 Fases de cultivo

a) Fase cepario.- Las cepas son mantenidas en medio líquido (tubos de ensayo) (Fig. 12) y en medio sólido (placas petri), proporcionándoles nutrientes, iluminación y temperatura constante (20 ± 1 °C). Se transfieren 3 gotas de inóculo de la cepa antigua en tubos de 10 mL, utilizando una micropipeta estéril previamente flameada en el mechero y en condiciones de estricta asepsia.

b) Fase inicial.- Los cultivos se desarrollan en matraces de 250 y 500 mL de capacidad, conteniendo 150 y 300 mL de agua de mar esterilizada y enriquecida, respectivamente. En los matraces de 250 mL, se inoculan 50 mL de la cepa, flameando la boca del matraz en el momento del repique. Se rotula colocando el nombre de la especie y la fecha y se tapa con



Figura 13.- Inoculación de matraces

papel aluminio. Luego, se colocan en la estantería bajo temperatura y luz constante y se renuevan dos veces por semana (Fig. 13).

En los matraces de 500 mL se inoculan 50 a 100 mL de la producción obtenida en los matraces de 250 mL, flameando la boca del matraz en el momento del repique, no se debe transferir células sedimentadas (concho). Los matraces rotulados (nombre de la especie y fecha) disponen de un tapón con un capilar para el suministro de aire. Su renovación depende de la producción requerida.

c) Fase de cultivo intermedio.- El cultivo intermedio se desarrolla en volúmenes de 1 a 5 L, para el primer caso se utilizan los matraces de 1000 mL (con 800 mL de agua de mar esterilizada y enriquecida), en los cuales se adicionan 100 mL del inóculo de la especie de interés; se les coloca el tapón y capilar; se rotulan con el nombre de la especie sembrada, fecha y se disponen en la estantería con temperatura y luz constante. Su renovación depende de la producción requerida (Fig. 14). Para el segundo caso, se usan botellas de 5 L de capacidad, que son "cebadadas" con agua de mar esterilizada (3 repeticiones), para evitar la acumulación de residuos contenidos en el agua potable. En estas botellas se vierten 4 L de agua de mar filtrada (1µ), irradiada por UV y "envejecida"; luego, se adicionan 0,13 mL de Proline F/2 Algae Food (Part A y Part B) por cada litro de agua de mar esterilizada y 0,01 g de Metasilicato de Sodio para el caso de diatomeas. Se inoculan con cultivos de los matraces de 1 L que presenten las mejores características de crecimiento (color característico y morfología óptima). Finalmente, se colocan las tapas y el capilar para el suministro de aire (Fig. 15).

d) Fase de cultivo masivo.- Los volúmenes de cultivo van de 20 a 150 L (Fig. 16). Las bombonas de 20 L



Figura 14.- Matracas inoculados con microalgas



Figura 16.- Microalgas en bombonas de 20 L



Figura 15.- Botellas de 5 L, cultivo de microalgas



Figura 17.- Tanques de 250 L

son cebadas 3 veces con agua de mar esterilizada. Se suministra 15 L de agua de mar filtrada (1 μ), irradiada por UV y “envejecida” y se adicionan 0,13 mL de Proline F/2 Algae Food (Part A y Part B) por cada litro de agua de mar esterilizada y solo para diatomeas 0,01g de Metasilicato de Sodio. Se inocula con cultivos de las botellas de 5 L con mejores características de crecimiento (color y morfología óptima). Se coloca papel aluminio y el capilar para suministro de aire.

Los tanques verticales de fibra de vidrio de 250 L de capacidad (Fig. 17), son cebados con agua de mar microfiltrada hasta 1 μ e irradiada con UV, con flujo bajo. Se agrega 130 L de agua esterilizada; se adicionan 0,13 mL de Proline F/2 Algae Food (Part A y Part B) por cada litro de agua de mar esterilizada y 0,01g de Metasil-

icato de Sodio para el caso de diatomeas. Se suministra aire constante y moderado para agitar la columna de agua y se inocula con la especie de interés procedente de las bombonas de 20 L (2 bombonas por tanque). Las botellas de 20 L deben permanecer sin aire (1 hora aproximadamente) antes de su inoculación, para que sedimenten las células muertas (“concho”) y no se transfieran al tanque vertical. Se rotulan los tanques (especie y fecha de inoculación), se mantienen bajo temperatura y luz constante.

3.1.4 Cuantificación de las microalgas

a) Calidad de microalgas.- Se monitorea microscópicamente la calidad de las microalgas (características de las células: forma y movimiento) (Fig. 18). La calidad se establece de acuerdo a la Tabla 2.

Tabla 2.- Control de Calidad en Cultivo de microalgas

Calidad	Características
1	Sin bacterias
2	Presencia de bacterias en algunos campos
3	Bacterias presentes en todos los campos
X	Con protozoos

b) Densidad Celular- Para el conteo de células se utiliza la cámara de Neubauer (Fig. 19), que tiene 25 cuadrantes de 0,2 x 0,2 mm, se efectúa el recuento en 5 cuadrantes (se asume que el registro de células es similar en cada cuadrante). Se obtiene el promedio de los 5 cuadrantes

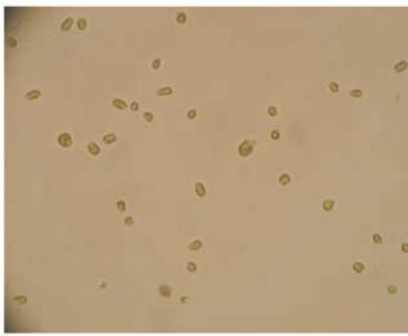


Figura 18.- Observación de calidad de *I. galbana*.

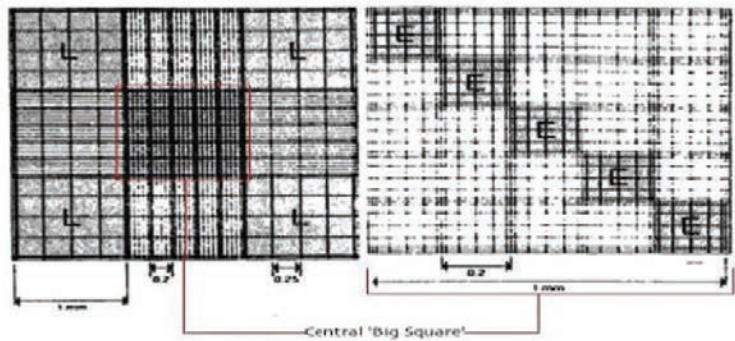


Figura 19.- Cámara de Neubauer

muestreados y se pondera para toda el área de la cámara, multiplicando este promedio por 5 y luego por 10.000 (volumen de la cámara 1×10^{-4} mL), para obtener las concentraciones de microalgas en células por mL.

c) Cosecha.- Para realizar la cosecha de microalgas, se debe tener en cuenta la concentración de la misma en cel/mL y el volumen a obtener estará dado por la siguiente fórmula:

$$V1 \times C1 = V2 \times C2$$

Dónde:

- V1 Volumen de microalgas que se desea obtener.
- C1 Concentración de la microalga en el tanque de cultivo.
- V2 Volumen de agua de mar del cultivo larval.
- C2 Concentración requerida por el cultivo larval, dependiendo del tiempo de cultivo de las larvas.

Todos los datos obtenidos durante estos procedimientos se registran y analizan diariamente en hojas de cálculo Excel.

3.2 TECNOLOGÍA DE CULTIVO DE CONCHA DE ABANICO ARGOPECTEN PURPURATUS

3.2.1 Mantenimiento de reproductores en sistema de cultivo suspendido

El cultivo de concha de abanico en condiciones controladas depende fundamentalmente de la dotación de reproductores adultos, que se pueden obtener de bancos naturales o de sistemas de cultivo suspendido (long line). En la región sur del Perú, no existen bancos naturales importantes de esta especie, y para proveer al LIM se implementó un long line en la Concesión de Pescadores Artesanales Cruz de Picata, localizada en la caleta del mismo nombre, Región



Figura 20.- Ubicación de la línea de cultivo experimental de concha de abanico en la caleta Punta Picata, Tacna

Tacna (Fig. 20). El sistema de cultivo, requirió la construcción e instalación de dos fondos (muertos) de concreto armado de 500 kg, que se trasladaron mediante una balsa artesanal de propiedad de la Asociación; armándose e instalándose el long line con la participación de los pescadores artesanales. La ubicación del sistema fue georreferenciada con un GPS Garmin III plus.

Para abastecer la línea de cultivo, en junio 2006, se colectaron 298 ejemplares de concha de abanico mediante buceo semiautónomo del banco natural de Pozo de Lisas y de la bahía de Ilo, los que se trasladaron en coolers e instalaron en linternas de 10 pisos cada una. Se monitoreó mensualmente para obtener información sobre: longitud total, ancho, peso total, peso eviscerado y peso de la gónada, además de algunas variables oceanográficas (temperatura, oxígeno, salinidad superficial, dirección y velocidad de las corrientes: superficial y de fondo). Entre julio 2006 y setiembre 2007, se renovaron los ejemplares de

concha de abanico del sistema de cultivo en Punta Picata, por ocurrencia de mortalidad natural, pérdidas y/o deterioro de linternas, etc.

3.2.2 Obtención de reproductores

En setiembre del 2007 se trasladaron del sistema de cultivo de Punta Picata reproductores a las instalaciones del LIM, para iniciar los estudios de reproducción y obtención de semillas en ambientes controlados.

Para la estimación del peso corporal y de las gónadas se utilizó una balanza electrónica HW KESEL SA (precisión 0,01 g). Se evaluó el Índice Gonadosomático (IGS), para asegurar el éxito en la inducción al desove de los reproductores, mediante la siguiente ecuación:

$$IGS = \frac{\text{Peso Gonadal (g)}}{\text{Peso Corporal (g)}} \times 100$$

Debido a los bajos IGS que presentaron los reproductores de Punta

Picata, se utilizó reproductores de la concesión privada SOMEX-PERÚ, Pucusana-Lima, que al muestrearse también presentaron bajos IGS, por lo que se dispuso de un tercer lote de ejemplares procedente del “fondeadero” de la Bahía de Ilo (12 a 21 m de profundidad).

3.2.3 Acondicionamiento y selección de reproductores

Los ejemplares se colocaron en tanques rectangulares de FRP (Fiberglass Reinforced Plastic) con capacidad de 288 L. A cada tanque se proporcionó 180 L de agua de mar sin filtrar y 20 L de *I. galbana*, con adición de oxígeno. A las 24 horas, los reproductores fueron limpiados, eliminando el sedimento y la epifauna (epibiontes e incrustantes) adherida a sus valvas, regresándolos a tanques limpios para su acondicionamiento.

A cada tanque se adicionó 100 L de agua de mar sin filtrar, la ración diaria de alimento fue 30 L de microalgas, compuesta por *P. lutherii* e *I. galbana* ricos en HUFA (Highly Unsaturated Fatty Acids), *Ch. muelleri* y/o *Ch. gracilis*.

La limpieza de los tanques y renovación del agua se efectuó diariamente, durante toda la etapa de acondicionamiento de los reproductores en el laboratorio.

3.2.4 Inducción al desove

Los reproductores fueron inducidos al desove mediante la aplicación de dos técnicas: sobrealimentación y shock térmico.

Técnica por sobrealimentación: consiste en retirar totalmente el agua de mar de los tanques, exponiendo a los reproductores en seco por 15 minutos; luego se añade 40 L de la microalga *I. galbana* en una concentración de 2 a 5 x10⁶ cel/mL, sin suministro de oxígeno.

Técnica por shock térmico: en un recipiente calentar el agua de mar sin filtrar, hasta alcanzar ± 27 °C de temperatura (los registros térmicos se realizaron con el oxímetro/termómetro digital YSI 550 A). Se suministra *I. galbana* en una concentración de 2 a 5 x10⁶ cel/mL, sin adición de oxígeno.

Estas técnicas fueron aplicadas durante un período de 12 días (4 veces/día).



Figura 21.- Homogenizado de los gametos (óvulos y espermios) de concha de abanico.

Después de aplicar las técnicas a los reproductores provenientes de las tres localidades, solamente los procedentes de la bahía de Ilo (técnica por sobrealimentación), lograron desovar, mostrando los espermios una tonalidad lechosa (forman burbujas en la superficie del tanque cuando éste es aireado) y los óvulos una coloración anaranjada. Los reproductores se separan individualmente, en recipientes plásticos que contienen 2 litros de agua filtrada y esterilizada, para evitar la autofecundación o polispermia.

3.2.5 Fertilización de gametos

En un balde de PVC de 20 L de capacidad se colocan los óvulos (previo tamizado en mallas nylal de 105 µm, con la finalidad de eliminar fecas y residuos orgánicos), luego con agua de mar filtrada/esterilizada se completa 10 L de volumen. Del recipiente con espermios, con una pipeta de vidrio (esterilizada) se toma 10 mL, que se añaden al balde que contiene los óvulos, de inmediato se homogeniza (Fig. 21) para lograr la fertilización. Producida la fertilización (validada por observación microscópica), los huevos se transfieren al tanque de cultivo de larvas que contiene 200 L de agua de mar filtrada/esterilizada (Fig. 22).

3.2.6 Desarrollo embrionario

Del tanque de cultivo, con una pipeta descartable, se toma una alícuota de 1 mL (cada 2 horas). Esta muestra se coloca en una “luna de reloj” para observar el desarrollo embrionario mediante un microscopio ZEISS Axiostar Plus (objetivo 10 x).

3.2.7 Cultivo larval

Este proceso se realizó en tanques rectangulares de FRP, con adición de



Figura 22.- Tanque de cultivo de larvas de 200 L

agua filtrada/esterilizada, aireación moderada y constante.

El desarrollo larval de concha de abanico se inicia en el paso de la fase trocófora a larva D; esta larva D alcanzó 97µm de longitud promedio. Al tercer día de cultivo, se suministró la primera ración de alimento consistente en 25.000 cel/mL de *I. galbana*. A partir de esta etapa, el recambio de agua fue interdiario, utilizándose tamices de PVC (Ø 10”) con fondo de malla Nylal con cocadas de 35 a 250 µm según talla promedio de las larvas. Las larvas resultantes se colocaron en recipientes de 2 L con agua de mar filtrada y esterilizada.

El recambio de agua de los tanques se hace para eliminar residuos orgánicos, larvas deformes o muertas. El lavado se hace con agua potable y una mezcla de alcohol yodado/agua potable (proporción 1:1), al término se llenan con 200 L de agua de mar filtrada/esterilizada. Inmediatamente, se adicionan las larvas.

Para calcular la densidad larval se toma una alícuota de 0,5 mL con una pipeta desechable, la muestra se fija en una “luna de reloj” para el conteo y biometría larval, mediante un estereoscopio AO AMERICAN OPTICAL y un microscopio ZEISS AXIOSTAR PLUS (objetivo 10x).

3.2.8 Metamorfosis y fijación

En esta etapa, la larva experimenta importantes cambios anatomorfológicos; la velígera nadadora pierde los cilios, comienza a secretar la concha definitiva y entra en la etapa de post-larva o juvenil temprano.

El proceso de fijación se efectuó en tanques de FRP de 250 L de capacidad. Las post larvas se fijaron en mallas colectoras (malla netlon azul de 10 mm de cocada), permanecien-

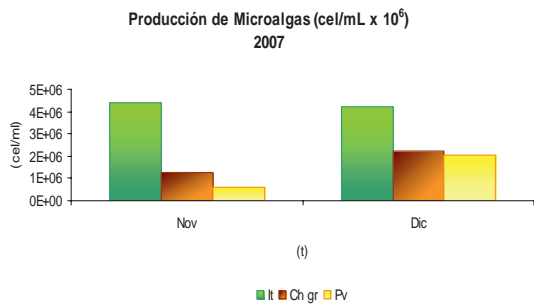


Figura 23.- Producción de microalgas (cel/mL.10⁶)

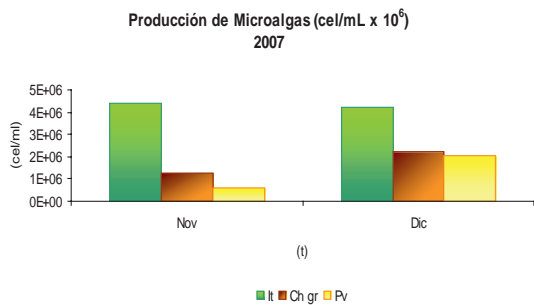


Figura 24.- Producción de Microalgas (L)

do 35 días. Las post-larvas recibieron diariamente alimento constituido por *I. galbana*, *Ch. gracilis* y *P. lutherii*. Se registraron datos abióticos (temperatura y salinidad) para estudiar la relación especie-ambiente.

4. RESULTADOS

4.1 TECNOLOGÍA DE CULTIVO DE MICROALGAS

En el LIM entre agosto y diciembre 2007, se mantuvieron siete cepas: *Chaetoceros gracilis*, *Ch. muelleri* (México), *Phaeodactylum tricornutum* (España), *Isochrysis galbana* var. *tahitiensis*, *Pavlova lutherii*, *Nannochloris maculata* y *Nannochloropsis oculata*. Las cepas empleadas de acuerdo a los requerimientos nutricionales de la concha de abanico fueron: *Ch. gracilis*, *I. galbana* y *P. lutherii*.

Por especie la densidad promedio fue: *I. galbana* 4,31x10⁶ cel/mL; *Ch. gracilis* 1,76x10⁶ cel/mL y *P. lutherii* 1,32x10⁶ cel/mL.

En esta primera experiencia se tuvo diferentes concentraciones, en noviembre 2007 se obtuvo 4,28x10⁶ cel/mL para *I. galbana*, siendo menores en *Ch. gracilis* (1,18x10⁶ cel/mL) y *P. lutherii* (5,19x10⁵ cel/mL), mientras que en diciembre se incrementó la concentración promedio de *Ch. gracilis* (2,06x10⁶ cel/mL) y *P. lutherii* (1,92x10⁶ cel/mL), bajando *I. galbana* (3,92x10⁶ cel/mL) (Fig. 23). Los volúmenes co-

sechados fueron 27 L de *I. galbana*, 48 L de *Ch. gracilis* y 25 L de *P. lutherii*.

Es importante destacar que la producción de microalgas está sujeta fundamentalmente a la demanda alimenticia de la concha de abanico, en vista de ello los volúmenes fluctuaron en función a la densidad microalgal requerida por las larvas, existiendo una relación inversamente proporcional entre la concentración y el volumen de cosecha otorgado como alimento vivo; es así que durante noviembre se proporcionaron volúmenes bajos para *I. galbana* (16 L), *Ch. gracilis* (32 L) y *P. lutherii* (11 L), mientras que en diciembre se incrementaron los volúmenes de *I. galbana* (39 L) *Ch. gracilis* (65 L) y *P. lutherii* (38 L) (Fig. 24).

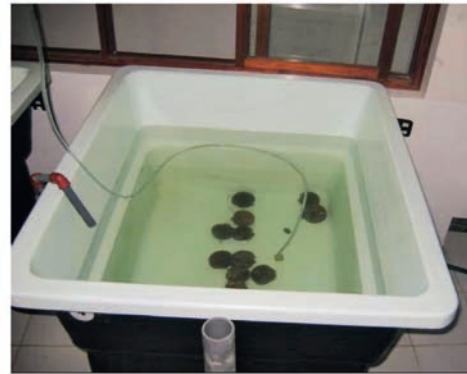


Figura 25.-Acondicionamiento de *A. purpuratus*.



Figura 26.- Inducción al desove de *A. purpuratus* en el LIM

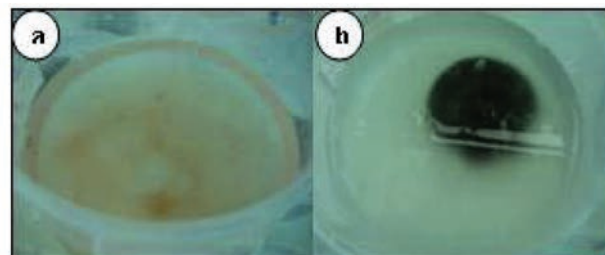


Figura 27.- a) óvulos y b) espermios de *A. purpuratus*.

4.2 TECNOLOGÍA DE CULTIVO DE CONCHA DE ABANICO ARGOPECTEN PURPURATUS

Obtención de reproductores.- Se utilizaron reproductores de concha de abanico (*A. purpuratus*) procedentes de Punta Picata (Tacna), Pucusana (Lima) y bahía de Ilo (Moquegua).

Determinación de la madurez gonadal.- Con el Índice Gonadosomático (IGS), se evaluó el desarrollo de la madurez gonadal. Se analizaron reproductores de Punta Picata en setiembre 2007 y Pucusana en octubre 2007. El valor promedio de IGS fue 11,01 para los ejemplares de Pucusana, mientras que el IGS promedio de 8,43 fue de los ejemplares de Punta Picata.

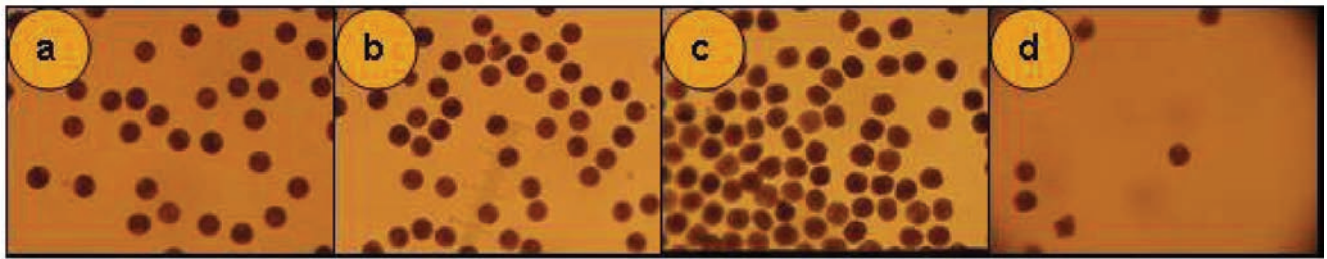


Figura 28.- Desarrollo embrionario de *A. purpuratus*: a) Óvulo fecundado, b) Mitosis celular, c) Mórula, d) Trocófora.

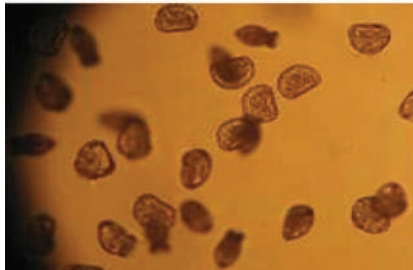


Figura 29.- Larva Veliger D, o de charnela recta, de *A. purpuratus*.



Figura 33- Postlarvas de *A. purpuratus* en malla netlon de fijación.

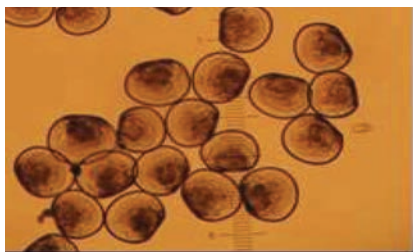


Figura 30.- Larva Pre-umbonada de *A. purpuratus*.

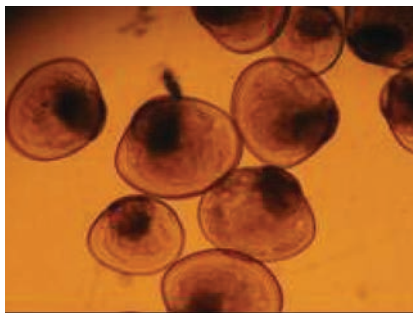


Figura 31.- Larva Umbonada de *A. purpuratus*.



Figura 32.- Larva Pediveliger de *A. purpuratus*.

Acondicionamiento de reproductores.-

Los reproductores de Punta Picata (Tacna) se acondicionaron 5 días, a temperaturas de 17 a 20 °C. En este proceso la mortalidad fue de 8 ejemplares (3,25% del total).

Los reproductores de Pucusana (Lima), se acondicionaron durante 24 horas, a temperaturas de 17 a 20 °C. En este grupo no se presentó mortalidad.

Los reproductores de la bahía de Ilo (Moquegua), se acondicionaron durante 4 horas, a una temperatura de 19 °C, debido a que algunos ejemplares presentaban indicios de desove (expulsión de gametos) (Figs. 25, 26).

Desove.- Sólo desovaron los reproductores de Pucusana (7,0% del total) y de la bahía de Ilo (9,4% del total), luego de permanecer 40 minutos en tanques sin agua de mar. En total se obtuvo 24.540.000 óvulos para fertilización, contenidos en 8 L (11.840.000 óvulos, Pucusana) y 10 L (12.700.000 óvulos, bahía de Ilo) de agua de mar filtrada/esterilizada. Los espermios (Fig. 27), se pusieron en un volumen de 2 L de agua de mar filtrada/esterilizada.

Fertilización.- Para verificar la fertilización, se realizaron exámenes microscópicos, luego de 20 minutos se observaron los óvulos fecundados a lo que siguió el inicio de la división celular.

Desarrollo embrionario.- El desarrollo de los embriones pasa por las siguientes etapas: óvulo fecundado (Fig. 28a), formación del primer corpúsculo polar y mitosis celular (Fig. 28b), mórula (Fig. 28c) y larva trocófora (Fig. 28d)

Desarrollo larval

Larva de charnela recta o larva D.- La longitud promedio de la larva veliger D, o de charnela recta, fue de 97 ±13 µm, que a los cinco días alcanzaron a 114 µm (Fig. 29).

Larva pre-umbonada.- A partir del día 6 post-fecundación, se observó larvas pre-umbonadas con 125 µm de longitud promedio, las que al décimo día alcanzaron 158 µm (Fig. 30).

Larva umbonada y umbonada avanzada.- Al día 11 post-fecundación, se evidenciaron las veliger umbonadas (Fig. 31), con 182 µm de longitud promedio y al día 15 alcanzaron las 200 µm. El día 21 post- fecundación pasaron al estadio umbonado avanzado fluctuando entre 216 a 234 µm de longitud promedio.

Larva pediveliger.- El día 22 post-fecundación se apreció esta última fase con 234 µm de longitud valvar. En este estadio se observó el desarrollo del órgano pedal o pie en cuya base se apreció la mancha ocular, que es semejante a un “punto” de coloración café oscuro (Fig. 32).

Tabla 3.- Concentraciones de microalgas respecto a días de cultivo para *A. purpuratus*.

Día de cultivo	Descripción	Concentración Cel/mL	<i>Ch. gracilis</i> (%)	<i>I. galbana</i> (%)	<i>P. lutherii</i> (%)
1	embrionario				
2 – 6	larva veliger D	20000		100	
7 – 10	pre-umbonada	25000	40	60	
11 – 15	umbonada	25000	50	50	
16 – 20	umbonada avanzada	25000	50	50	
21 – 29	premetamórfica	20000	40	40	20
30 – 35	postlarva 1	25000	40	40	20
35 – 41	postlarva 2	25000	40	30	30
42 – 50	postlarva 3	30000	35	35	30

Tabla 4.- Densidad larval según días de cultivo de *A. purpuratus*, reproductores de Pucusana

Día de cultivo	Número de tanques	Larvas de Pucusana	
		Nº Larvas/Tanque	Densidad Larvas/mL
02	6	12.700.000	10
04	6	9.700.000	8
12	6	5.510.000	5
25	1	1.080.000	2

Tabla 5.- Densidad larval según días de cultivo de *A. purpuratus*, reproductores de la Bahía de Ilo.

Día de cultivo	Número de tanques	Larvas de la Bahía de Ilo	
		Nº Larvas/Tanque	Densidad Larvas/mL
02	4	11840000	15
04	4	5740000	7
06	4	4120000	5
13	2	506000	2
15		0	0

Tabla 6.- Frecuencia de longitudes de semilla de *A. purpuratus*.

Longitud (mm)	65 días cultivo		80 días cultivo	
	Frecuencia (n)	%	Frecuencia (n)	%
1	2	4,0	0	
2	4	8,0	0	
3	7	14,0	0	0
4	10	20,0	7	7,8
5	11	22,0	25	27,8
6	6	12,0	30	33,3
7	6	12,0	21	23,3
8	4	8,0	3	3,3
9	0	0,0	3	3,3
10			1	1,1
TOTAL	50	100	90	100
Long. Promedio	4,7		6,0	

Fijación o asentamiento larval.- A partir de los 25 días de cultivo se instalaron las mallas de fijación. En esta etapa las larvas tuvieron alta mortalidad encontrándolas asentadas al fondo del tanque, donde se observó presencia de protozoarios, copépodos, larvas de poliquetos, restos de microalgas. No se cuantificó la población debido a la sensibilidad de las larvas al manejo (Fig. 33).

Alimentación larval y post larval de *Argopecten purpuratus*.- La tasa alimentaria se muestra en la Tabla 3; pero es importante indicar que a las 40 horas post-fecundación se proporcionó la primera alimentación con *I. galbana*, a una concentración de 20000 células/mL que se mantuvo hasta el sexto día.

Densidad larval.- Al segundo día de cultivo se efectuó el primer conteo larval determinándose 12.700.000 larvas en etapa veliger (reproductores de Pucusana) que se distribuyeron en seis (06) tanques a una densidad de 10 larvas/mL; posteriormente la mortalidad fue de 11.620.000 larvas, llegando 1.080.000 larvas a la etapa de fijación o asentamiento al día 25 de cultivo (Tabla 4). Las larvas de los reproductores de la Bahía de Ilo (11.840.000 ejem.), debieron ser desechadas en el día 15 debido a la alta tasa de contaminación (Tabla 5).

Crecimiento larval.- El crecimiento larval se desarrolló a 21,9 °C de temperatura promedio, renovación del 100% del agua de mar tratada y alimentación cada 24 horas. A los 21 días post fecundación las larvas ingresaron a la etapa de asentamiento con 234 µm de longitud promedio; la tasa de crecimiento fue de 7,6 µm/día (Fig. 34); los primeros 8 días el crecimiento se mantuvo constante (5,3 µm/día) y tuvo un incremento a 7,3 µm/día promedio hasta el 21 día de cultivo. Es probable que el incremento de la dieta alimentaria (25.000 cel/mL), a partir del octavo día de cultivo, haya favorecido al crecimiento de la larva.

Producción y estructura de tallas de semilla.- A los 65 días de cultivo se obtuvo 462 ejemplares de semillas con rangos de 1 a 8 mm de talla, longitud promedio de 4,7 mm y moda de 5 mm, a los 80 días de cultivo y en su medio natural los rangos de talla pasaron de 4,0 a 10,0 mm, moda de 6,0 mm, y mortandad de 1,1% (Tabla 6).

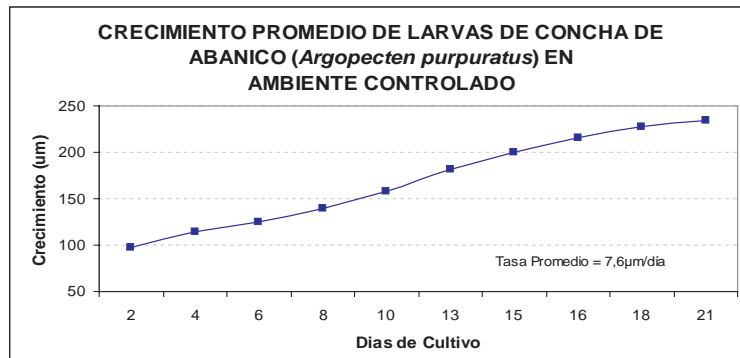


Figura 34.- Curva de crecimiento larval de *A. purpuratus*. 2007

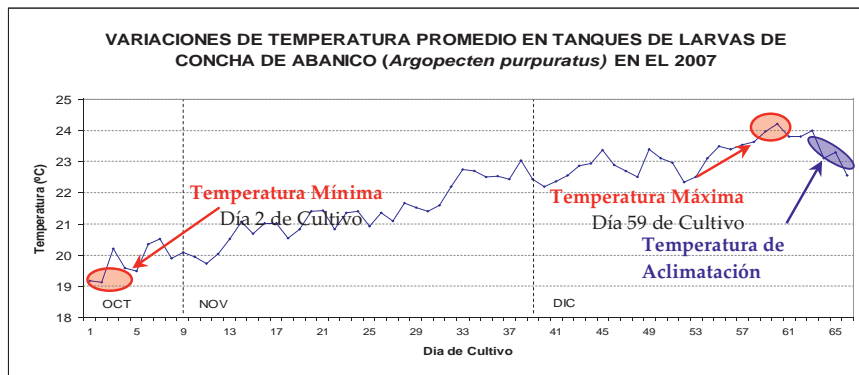


Figura 35.- Valores mínimos y máximos en el cultivo de larvas y post-larvas de *A. purpuratus*. 2007.

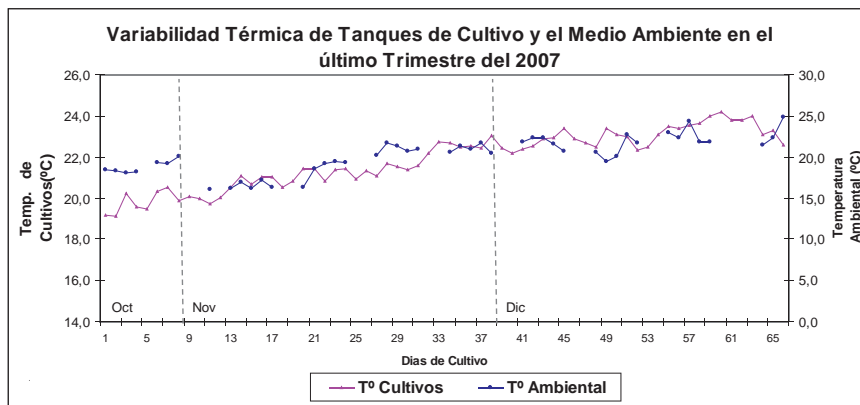


Figura 36.- Variabilidad térmica de los tanques de cultivo con relación a la temperatura del medio ambiente

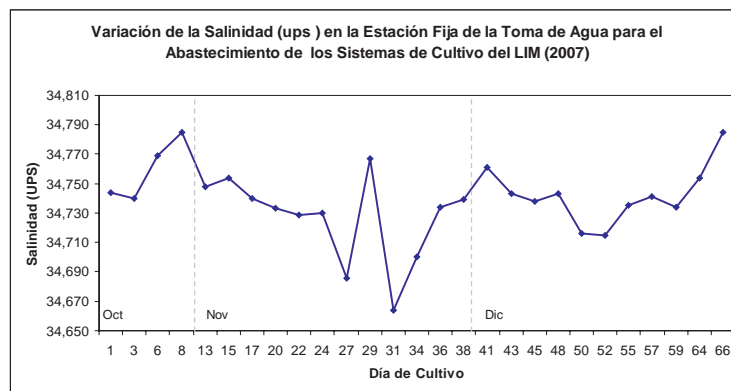


Figura 37.- Variaciones de la salinidad en la estación costera de la bahía de Ilo

4.3 CONSIDERACIONES ABIÓTICAS

4.3.1 Temperatura

El registro fue diario (08:00, 12:00 y 18:00 h); el promedio más alto se registró en diciembre y el más bajo en octubre 2007. El segundo día de cultivo (25 de octubre) se registró la temperatura más baja con 19,1 °C y la más alta el día 59 de cultivo (21 de diciembre) con 24,0 °C (Fig. 35), lo que indica que la temperatura tuvo un incremento progresivo propio del cambio estacional, favorable para el desarrollo de las larvas.

Con fines de aclimatación de las post larvas para el traslado a su medio natural, se procedió a bajar la temperatura del agua de los tanques de cultivo mediante circulación constante con un caudal de 10 gl/min, disminuyéndose hasta 22,0 °C. El incremento de la temperatura de los tanques de cultivo fue directamente proporcional con el incremento de la temperatura medioambiental del LIM (Fig. 36).

4.3.2 Salinidad

Los valores de salinidad en la toma de agua durante el último trimestre del año 2007 fueron de 34,728 ups

promedio, fluctuando entre 34,727 a 34,760 ups, lo que indicó la presencia de Aguas Costeras Frías en este sector de la bahía. Las fluctuaciones de la salinidad (Fig. 37) mostraron un rango mínimo de 34,664 ups (23 noviembre) y máximo de 34,785 ups (30 noviembre); lo que indica la influencia de las corrientes frías del sur, observando un ligero incremento en la última semana de diciembre 2007, producto del descenso de los vientos alisios e ingreso a la estación de verano.

5. REFERENCIAS

- ÁLAMO V, VALDIVIESO V. 1987. Lista sistemática de moluscos marinos del Perú. Boletín Instituto del Mar del Perú (IMARPE), volumen extraordinario. 205 pp.
- AVENDAÑO M, CANTILLANEZ M. 1996. Efectos de la pesca clandestina, sobre *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819), en el banco de La Rinconada, II Región. Ciencia y Tecnología Marina (Chile) 19: 57-65.
- GRAU G. 1959. Pectinidae of the Eastern Pacific. Allan Hancock Pacific Expeditions, 23: 1-308.
- PEÑA J. 2002. Taxonomía, morfología, distribución y hábitat de los pectínidos iberoamericanos. En: Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura. A.N. MAEDA-MARTÍNEZ (ED.) CAP.1: 1-25.
- SANZANA J. 1978. Estudios preliminares del ostión (*Chlamys purpurata*, Lamarck, 1819) de la zona de Valparaíso. Tesis, Esc. Ciencias del Mar y de los Alimentos, UCV, 57 PP.
- URIARTE I, FARÍAS A, MUÑOZ C. 1996. Cultivo en hatchery y pre-engorde del Ostión del Norte, *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819), en el Sur de Chile. Revista Biología Marina (Chile) 31: 81-90.
- VALDIVIESO V, ALARCÓN V. 1985. Comportamiento del ciclo sexual y cambios en la abundancia relativa de la concha de abanico *Argopecten purpuratus* (L), en el área del Callao durante el fenómeno El Niño 1982-1983. CONCYTEC 1985. Ciencia, tecnología y agresión ambiental: Fenómeno El Niño 455-482 pp.
- VALDIVIESO V. 1989. Cultivo de moluscos en el Perú. En: Cultivo de moluscos en América Latina. Ed. Armando Hernández, Centro Internacional de Investigaciones para el desarrollo: CIID-CANADÁ. 329-343.
- VALDIVIESO V, LOYOLA C, GALLEGOS F. 1989. Producción experimental de semillas de concha de abanico en ambiente controlado. Callao-Perú. Bol. Red Acuicultura, 2 (1,2): 20-22.