Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente 27 (1 & 2): 57-62 (1988); 5 figs., 1 tabla.

EFECTO INDIVIDUAL Y COMBINADO DE LA DENSIDAD LARVAL Y LA RACION DE ALIMENTO SOBRE LA SUPERVIVENCIA Y CRECIMIENTO DE LA VIEIRA, *PECTEN ZICZAC*.

LUZ M. ROJAS, ANIBAL VELEZ y ORLANDO AZUAJE

Instituto Oceanográfico de Venezuela
Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

RESUMEN: En el presente trabajo, se ha estudiado el efecto individual y combinado de la ración y la densidad sobre la supervivencia y el crecimiento de las larvas de la vieira *Pecten ziczac*, cultivadas bajo condiciones ambientales controladas. Los efectos letales y subletales de la densidad y la ración se determinaron utilizando lotes de 1, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 larvas/ml y raciones de 30, 50, 70, 90, 110, 130, 150 y 190 (x10^3 cel/ml). Los resultados obtenidos indican que la ración y la densidad como parámetros aislados, asi como su interacción, afectan significativamente la supervivencia y el crecimiento de los cultivos larvales de *P. ziczac*. En términos de crecimiento y supervivencia larval los mejores resultados se obtuvieron con las combinaciones de 5 larvas/ml y raciones de 10 y 70 cels (x10^3 cels/ml). Por lo tanto, se recomienda iniciar los cultivos con una densidad de 5 larvas/ml y una ración de 10 cels (x10^3/ml) de una dieta a base de *Isochrysis* aff *galbana* (Clone T-ISO) y *Thalassiosira pseudonana* (Clone 3H).

ABSTRACT: In this paper we have studied the individual and combined effect of ration and density on the survival and growth of tropical scallop *Pecten ziczac* larvae under controlled conditions. Lethal and sublethal effects of ration and density were determined using larval batches of 1, 5, 10, 15, 20, 25 and 30 larvae/ml and rations of 30, 50, 70, 90, 110, 130, 150 and 190 cells (x10^3)/ml. The results obtained indicate that ration and density taken individually or combined affect significantly the survival and growth of culture *Pecten ziczac* larvae. Best results were obtained with tha combination of 5 larvae/ml and rations of 10 and 70 cells (x10^3)/ml. Therefore we recomend to start *Pecten zizac* culture with a density of 5 larvae/ml and a ration of 10 cells (x10^3)/ml on a diet based on *Isochrysis* aff *galbana* (Clone T-ISO) and *Thalassiosira pseudonana* (Clone 3H).

INTRODUCCION

El presente trabajo forma parte se una serie de estudios que se adelantan para desarrollar el cultivo de la vieira *Pecten ziczac*, con semillas producidas bajo condiciones ambientales controladas. En dicho programa, se ha considerado prioritario el estudio de la inducción de la reproducción y el desarrollo larval y postlarval. En estudios previos, se determinaron aquellos parámetros que deben ser considerados para inducir la maduración y desove de *Pecten ziczac* (VELEZ *et al*, 1990, en prensa).

Entre los factores que se han considerado como críticos, durante el desarrollo larval y postlarval de los bivalvos, se encuentran el tipo y cantidad de alimento y la densidad larval de los cultivos. La mayoría de los estudios realizados relacionan el crecimiento relativo de las larvas con el tipo de microalgas suministradas (UKELES, 1976, Revisión); relación que ha sido ampliamente utilizada para optimizar la supervivencia y crecimiento de

los cultivos larvales. LOOSANOFF, *et al* (1953, 1955), por ejemplo, observaron que altas concentraciones de *Chlorella* sp. producían altas tasas de mortalidad en los cultivos de larvas de *Mercenaria mercenaria*, mientras que las bajas concentraciones de microalgas reducían anormalmente las tasas de crecimiento. Desde entonces, varios investigadores han determinado valores óptimos de densidad larval y cantidad de alimento para cada uno de los bivalvos estudiados. La ración o concentración óptima de microalgas en los cultivos de larvas de bivalvos, varía ampliamente dependiendo del bivalvo estudiado, la especie de microalga utilizada, la edad de las larvas y la forma como sea suministrada (GUILLARD, 1958; WALNE, 1964; BAYNE, 1965; RHODES y LANDERS, 1973).

En el presente trabajo se ha estudiado el efecto de la ración y densidad larval sobre el crecimiento y supervivencia de los cultivos de larvas de la vieira *Pecten ziczac*.

MATERIALES Y METODOS

BIOENSAYO DE ALIMENTACION Y DENSIDAD:

En la primera etapa del estudio se determinaron las raciones y densidades larvales subletales, mientras que en la segunda se determinaron los efectos de dichas variables sobre el crecimiento y supervivencia de los cultivos de larvas. En el primer bioensayo se determinaron los efectos letales y subletales (96 h y 50% de supervivencia) de las siguientes densidades: 1, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 larvas/ml, utilizando tres réplicas para cada una de ellas. Las larvas correspondientes a cada réplica se suspendieron en 10 litros de agua de mar filtrada (hasta 0,5 Um) y se mantuvieron sin alimento. Para ello se utilizaron tanques de vidrio de fondo cónico. En el transcurso del bioensayo se mantuvo la salinidad a 37‰ y la temperatura a 25 ° C ± 1. Durante los cambios interdiarios del agua de los cultivos se añadieron 0,2 ml/litro de Cloranfenicol, a fin de evitar la acción de bacterias patógenas.

En dos bioensayos subsiguientes se determinó el efecto letal y subletal (96 h y 50% de supervivencia) de distintas raciones, utilizando densidades larvales de 5 y 10 larvas/ml. En los cultivos de 5 larvas/ml se probaron raciones de 30, 50, 70, 90, 110, 130 y 150 ($x10^3$ cels/ml), y en los de 10 larvas/ ml 10, 50, 100, 150 y 190 ($x10^3$ cels/ml de una mezcla de *Thalassiosira pseudonana* e *Isochrysis* aff *galbana* (Clone T-ISO) en proporción de 1:1. En cada uno de los tratamientos se utilizaron tres réplicas, de las cuales a las tres usadas como controles no se les suministró alimento. Las raciones se suministraron en una sola porción durante las primeras horas del día. Las condiciones experimentales fueron similares a las del primer bioensayo.

Utilizando los resultados de los bioensayos anteriores, se seleccionaron dos densidades y tres raciones subletales, cuyo efecto sobre el crecimiento y supervivencia de las larvas de *P. ziczac* se determinó en un nuevo bioensayo. En general, se mantuvieron las mismas condiciones anteriores salvo que en esta ocasión el bioensayo tuvo una duración de 9 días, partiendo de larvas de 36 horas de edad y una biomasa inicial libre de cenizas de 49,4 ± 4,0 ng/larva.

Las tasas de crecimiento y supervivencia de las larvas se determinaron a través del porcentaje de incremento de la biomasa libre de cenizas y el porcentaje y de disminución del número de larvas durante el bioensayo. La biomasa se determinó deshidratando las muestras a 75°C, hasta obtener peso constante y quemando a 500°C durante dos horas. Los recuentos de larvas se efectuaron tomando tres alícuotas de 1 ml y contando con ayuda de un microscopio de disección y una lámina de plexiglass acanalada. Para los recuentos de microalgas se utilizó un microscopio binocular y un hematocitómetro Levi Hauses.

Los resultados se analizaron con la ayuda de análisis de varianzas de doble vía con réplicas (SOKAL y ROHLF, 1969).

CULTIVO DE MICROALGAS:

La dieta utilizada para los distintos bioensayos estuvo compuesta por una mezcla de *Isochrysis* aff *galbana* (Clone T-ISO) y *Thalassiosira pseudonana* (Clone 3H), en proporción de 1:1. La producción de ambas microalgas se llevó a cabo mediante cultivos monoespecíficos no libre de bacterias y bajo condiciones controladas de luz, temperatura y nutrientes, siguiendo los métodos descritos por GUILLARD (1974). Diariamente los cultivos se cosecharon parcialmente siendo reemplazado el volúmen retirado por nuevo medio enriquecido.

CULTIVO DE LOS STOCKS DE LARVAS

El estudio se llevó a cabo a través de una serie de bioensayos en los cuales se utilizaron distintos stocks de larvas de 36 horas de edad, obtenidas a través de la inducción de la reproducción de varios lotes de reproductores, según la metodología establecida por VELEZ *et al* (1990, en prensa). Las poblaciones "stocks" de larvas se cultivaron en tanques cónicos de 400 litros de capacidad

con agua de mar filtrada hasta 0,5 Um y mantenida a 25 °C ± 1 y 37‰ de salinidad.

RESULTADOS Y DISCUSION

TOLERANCIA LETAL Y SUBLETAL:

La tolerancia de las larvas de *P. ziczac* a la densidad, está representada en la figura 1. Como se puede apreciar, los valores máximos de supervivencia fueron de 87,9% ± 8,9 y 91,3% ± 12,6, los cuales correspondieron a los tratamientos de 5 y 10 larvas/ml respectivamente. Estos resultados no se corresponden con el tratamiento de 1 larva/ml, donde probablemente se cometieron errores en la toma de las alícuotas utilizadas para efetuar los recuentos. Los tratamientos de 15, 20, 25 y 30 larvas/ml presentaron tasas de supervivencia alrededor del 50%.

En general, el incremento de la densidad provoca una interacción intraespecífica tolerable hasta 10 larvas/ml, ya que a partir de esta densidad la supervivencia se reduce drásticamente. Estos resultados indican que la tolerancia a la densidad es relativamente baja si se le compara con los valores de 32 y 52 larvas/ml que tolera la ostra americana *Crassostrea virginica* (LOOSAOFF *et al*, 1955). Como resultado de esta comparación se puede concluír que la densidad larval es un parámetro crítico en *P. ziczac*. LOOSANOFF y DAVIS (1963) han señalado que el aumento de las colisiones y la descomposición de los desechos metabólicos probablemente sean los principales responsables de la mortalidad larval.

Los niveles de tolerancia letal y subletal de las larvas de *P. ziczac* a la ración suministrada se determinó, solamente para las densidades de 5 y 10 larvas/ml. Como se puede apreciar en la figura 2, para una densidad de 5 larvas/ml, casi todos los niveles de las raciones experimentadas fueron letales, ya que la mayoría de los tratamientos presentaron tasas de supervivencia alrededor del 50%, salvo en las raciones de 30, 50 y 90 (x10^3 cel/ml) donde la supervivencia alcanzó el 60%. El grupo control, al cual no se le administró alimento, presentaron tasas de supervivencia ligeramente superiores al 50%.

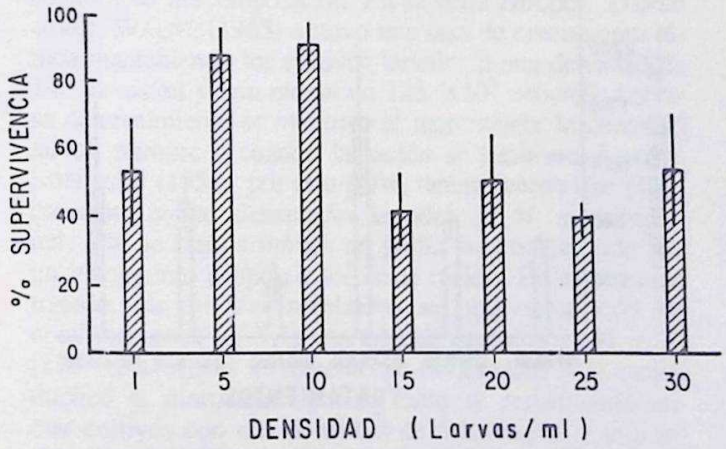


Fig. 1.- Tolerancia letal y subletal de los cultivos de larvas de *P. ziczac* a la densidad (96 horas y 50% de supervivencia).

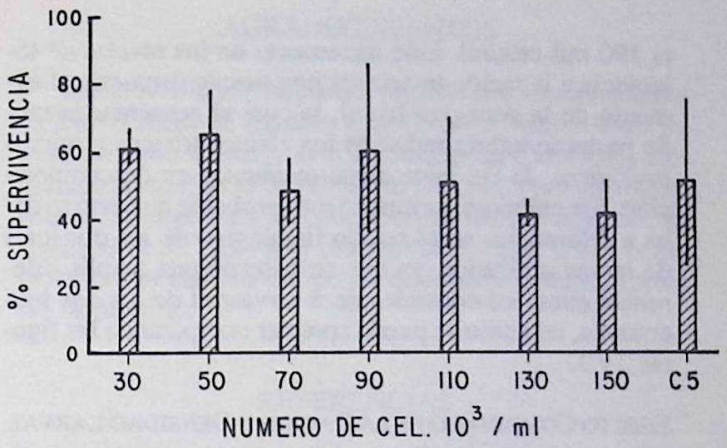


Fig. 2.- Tolerancia letal y subletal de los cultivos de *P. ziczac* de 5 larvas/ml sometidos a distintas raciones (96 horas y 50% de supervivencia). C5 grupo control.

La tolerancia de las larvas de *P. ziczac* a la ración incrementó significativamente en los tratamientos de 10 larvas/ml, tal como se puede apreciar en la figura 3. En esta ocasión las larvas toleraron todos los tratamientos de la ración, aún cuando esta se amplió desde 10 mil has-

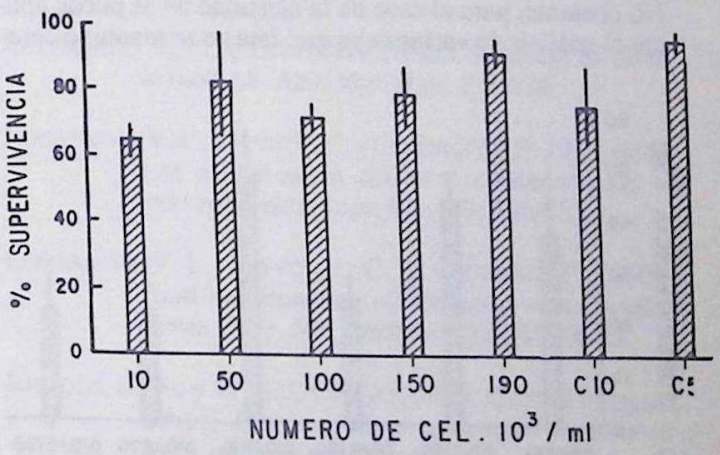


Fig. 3.- Tolerancia letal y subletal de los cultivos de *P. ziczac* de 10 larvas/ml sometidos a distintas raciones (96 horas y 50% de supervivencia). C5 y C10 grupos controles de 5 y 10 larvas/ml.

ta 190 mil cels/ml. Este incremento en los niveles de tolerancia a la ración podría ser una simple respuesta al aumento de la densidad larval, la cual al aumentar la tasa de pastoreo habría reducido los efectos tóxicos y microbiológicos de las microalgas residuales en descomposición. Sin embargo, es mucho más probable que esto se deba a diferencias en el estado fisiológico de los dos lotes de larvas utilizados, ya que se observó una amplia diferencia entre los controles de 5 larvas/ml de los dos bioensayos, tal como se puede apreciar comparando las figuras 2 y 3.

EFECTO COMBINADO DE LA RACION Y DENSIDAD LARVAL:

El efecto de la ración y densidad larval sobre la supervivencia y crecimiento de la biomasa de las larvas de *P. ziczac* se determinó solamente para aquellos niveles que resultaron tolerables en la primera serie de bioensayos. Por lo tanto, solamente se utilizaron las densidades de 5 y 10 larvas/ml y las racionres de 10, 70 y 130 cels/ml, con las cuales prepararon 6 combinaciones, cuyos resultados se han representado en las figuras 4 y 5. Como se puede observar, la máxima supervivencia fue del 48%, la cual se obtuvo con la combinación D1O-R1O. Sin embargo, también se observaron tasas de supervivencia del orden del 38 y 43% con las combinaciones D5-R1O y D5-R70, mientras que las combinaciones D5-R130, D10-R70 y D10-R130 presentaron tasas de supervivencia inferiores al 30%. Al aplicar el análisis de varianza, a estos resultados, se encontró que la ración como un parámetro aislado, así como la interacción entre la ración y la densidad afectan significativamente ($P \leq 0{,}01$) la supervivencia larval (Tabla 1). La densidad como un parámetro aislado no habría afectado la supervivencia. No obstante, para el caso de la densidad no se puede aplicar el análisis de varianza ya que ésta no se mantuvo constante durante el transcurso del bioensayo. Algunos de los grupos, por ejemplo, se iniciaron con 5 y 10 larvas/ml y finalizaron con 2 larvas/ml, como es el caso de D5-R10, D5-R70, D1O-R70 y D10-R130. Otros como D5-R130 y D10-R10 concluyeron con 1 y 5 larvas/ml respectivamente. Esto demuestra que hubo una mayor tasa de mortalidad en los grupos de mayor densidad, habiendo una marcada tendencia a estabilizarse los cultivos alrededor de 2 larvasZ/ml, al aproximarse la metamorfosis, independientemente de la densidad inicial de los cultivos. Comparativamente, este valor es más bajo que el tolerado por la almeja *M. mercenaria* y la ostra *C. virginica*, en cuales las larvas pueden alcanzar la metamorfósis en densidades tan altas como 50 y 32 larvas/ml respectivamente (DAVIS, 1953: LOOSANOFF *et al*, 1955).

Los efectos de la ración sobre la supervivencia larval se pueden apreciar en la figura 4. El incremento de la ración de 10 a 70 ($x10^3$ cels/ml) mejoró las tasas de supervivencia de los grupos de 5 larvas/ml, pero su efecto fue contraproducente en los grupos de 10 larvas/ml, probablemente como resultado del bajo nivel de tolerancia de las larvas de *P. ziczac* a la densidad. Estos resultados sugieren que el punto óptimo de la ración podría ubicarse entre 10 y 70 ($x10^3$ cels/ml), el cual seguramente fluctuará de cuerdo a la edad y tamaño de las larvas. RHODES y LANDERS (1973), por ejemplo, determinaron en *C. virginica* un incremento del consumo de *Isochrysis galbana* de 40 a 350 ($x10^3$ cel/ml), durante el desarrollo larval. LOOSANOFF *et al* (1953 y 1955), por otra parte, determinaron para larvas de *M. mercenaria* una ración diaria promedio de 50 ($x10^3$) células grandes/ml de *Chlorella* sp. y 400 ($x10^3$) células pequeñas de otra especie de *Chlorella*.

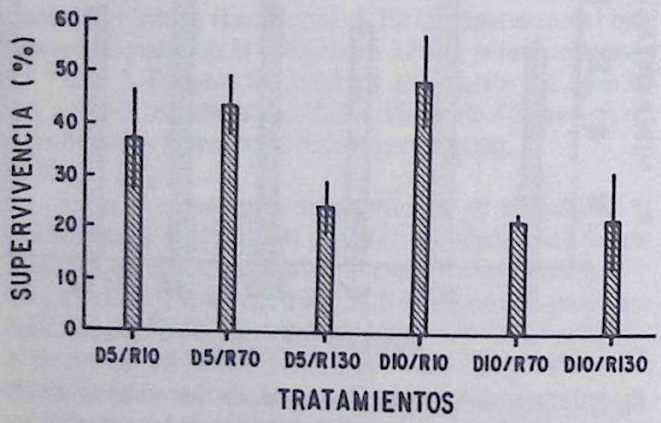


Fig. 4.- Efecto individual y combinado de la ración y la densidad larval sobre la supervivencia de las larvas de *P. ziczac*.

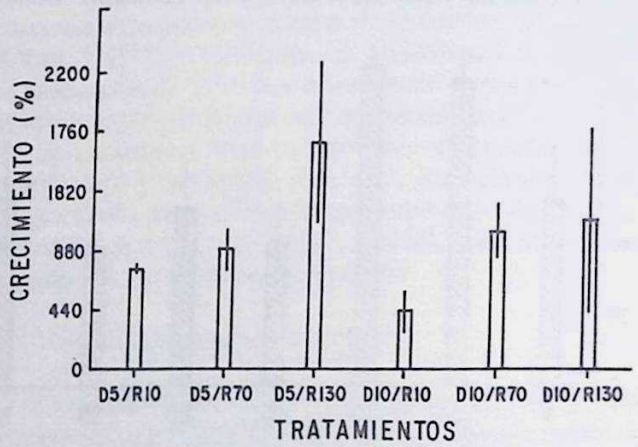


Fig. 5.- Efecto individual y combinado de la ración y la densidad larval sobre el crecimiento de las larvas de *P. ziczac*. El crecimiento se expresa en porcentaje de incremento de la biomasa inicial.

TABLA 1. Análisis de varianza para comparar el efecto combinado de la densidad larval y la ración alimenticia sobre la supervivencia de *Pecten ziczac*. Los valores representan el promedio y la desviación típica de tres réplicas.

F. de Var.	gL	Sc	Mc	Fs
E.G.	5	3228,83	645,83	
Cols. (Densidad)	1	169,27	160,27	1,858, NS
Filas (Ración)	2	1847,80	923,90	10,711 **
Cols. x Filas	2	1220,76	610,38	7,076 **
Error	12	1035,13	86,26	

F0,05 (1/12) = 4,75
F0,01 (2/12) = 6,93

Las tasas de crecimiento fueron inversamente proporcionales a las de supervivencia, independientemente de la ración, tal como se puede apreciar al comparar las figuras 4 y 5. La tasa de crecimiento más alta fue de 1700%, obtenida por el grupo D5-R130, cuya densidad se redujo de 5 a 1 larva/ml. En los grupos D5-R10, D5-R70, D10-R130, donde la densidad se estabilizó en 2 larvas/ml, la tasa de crecimiento osciló alrededor de 800%.

Sobre la base de los resultados obtenidos se puede concluir que la densidad y la ración como parámetros aislados, así como su interacción afectan significativamente la supervivencia y el crecimiento de *P. ziczac*. LOOSANOFF y DAVIS (1963) atribuyeron los efectos negativos de la interacción entre el incremento de la densidad larval y la ración, al aumento tanto de la frecuencia de colisiones como a los desechos metabólicos y microalgas residuales en descomposición. En la ostra europea *Ostrea edulis*, WALNE (1965) obtuvo una tasa de crecimiento rápida manteniendo los cultivos larvales a una densidad de 140 larvas/ml y una ración de 123 ($x10^3$ cels/ml). La tasa de crecimiento se mantuvo al incrementar la densidad larval, siempre y cuando la ración se triplicara. LOOSANOFF *et al* (1955), por otra parte, determinaron que el incremento en las densidades larvales de *M. mercenaria* más allá de ciertos límites no podía ser compensado por un incremento proporcional en la ración. En el presente trabajo, los mejores resultados se obtuvieron con las combinaciones de 5 larvas/ml con raciones de 1 y 70 ($x10^3$ cels/ml). El incremento en la densidad y la ración duplicó la mortalidad: por lo tanto se recomienda iniciar cultivos con una densidad de 5 larvas/ml y una ración de 10 ($x10^3$ cels/ml). Al finalizar la primera semana, convendría reducir la densidad a 2-3 larvas/ml y aumentar la ración a 70 ($x10^3$ cels/ml).

AGRADECIMIENTOS

La presente investigación ha sido subvencionada por la Universidad de Oriente y el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas CONICIT. Los autores agradecen al Sr ANTONIO SOTILLET por su valiosa asistencia técnica en la realización de la investigación. Asimismo al Sr. EPIFANIO HERNANDEZ y Sra. DILIA MARQUEZ por la elaboración de las gráficas y la transcripción del manuscrito.

REFERENCIAS

BAYNE B.L.,1965. Growth and the delay of metamorphosis of the larvae of *Mytilus edulis* (L). *Ophelia*. 2: 1-4

DAVIS, H.C., 1953. On food and feeding of larvae of the American Oyster, *Crassostrea virginica*. *Biol. Bull., Woods Hole*, 104: 334-350.

GUILLARD R. 1958. Relative value of ten genera of microorganisms as food for oyster and clam larvae. *U.S. Fish Wildl. Serv. Fish. Bull.* 58: 293-304.

GUILLARD R. 1975. *Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrate animals*. (W.L.Smith and M.H. Chanley Editors) *Plenum Press, New York - London.*

LOOSANOFF V. L. 1953. Behavior of clam larvae in different concentración of food organism. *Anat. Rec.* 117: 586-587.

LOOSANOFF V. L., y DAVIS H.C, 1963. Rearinfg of bivalve mollusk. *Adv. Mar. Biol.* 1: 1-136.

LOOSANOFF V. L., DAVIS H. C. y CHANLEY P.E. 1953. Behavior of larvae in different concentrations of food organism. *Anat. Rec* 117: 586-587.

LOOSANOFF V. L., DAVIS H. C. y CHANLEY, P.E. 1955. Food requirements of larvae of some bivalve larvae. *Proc. Nat. Shellfish. Ass.* 45: 66-83.

RHODES, E. W. y W. S. LANDERS, 1973. Growth of oyster larvae, *Crassostrea virginica*, of various sizes in different concentrations of the *Chrysophyte, Isochrysis galbana*. *Proc. Natl. Shellfish. Ass.* 63, 53-59.

SOKAL R. & ROHLF J. 1969. *Biometry: the principles and*

practice of statistics in biological research. (R. Sokal and J. Rohlf Editors). W. H. Freeman and Company, San Francisco. 743 pg.

UKELES R. 1976. *Views on bivalve larvae nutrition. IN: Proceedings of the First International Conference on Aquaculture Nutrition.* (Price, K. Shaw W. Y Danberg K. Editors). *College of Marine Studies, University of Delaware, Lewes, Delaware.*

VELEZ A., ALIFA E. y AZUAJE O. 1990. Inducction of spawning by temperature and serotonin in the hermaphroditic tropical scallop *Pecten ziczac. Aquacculture*, 84: 307-313.

VELEZ A., ALIFA E. y FREITES L. En prensa . Inducción de la reproducción de la vieira *Pecten ziczac.* I) Inducción de la maduración y desove. Carib. J. Sci.

WALNE P. R. 1964. *The culture of marine bivalve larvae.* In: K. M. WILBUR and C. M. YONGE (Editors), *Physiology of Mollusca. Academic Press, Inc. New York and London*, 197-210.

WALNE P. R. 1965. Observations on the influence of food supply and temperature on the feeding and growth of the larvae of *Ostrea edulis* L. *Fish. Invest., Minist. Agric. Fish. Food ser.* 224: 1-45.

(Manuscrito recibido el 8 de Mayo de 1989)