

ACONDICIONAMIENTO Y REPRODUCCIÓN DE LA ALMEJA Semele solida GRAY (1828) EN AMBIENTE CONTROLADO

Rosario Cisneros B. y Jorge Bautista C.
Unidad de Investigaciones en Acuicultura
Instituto del Mar del Perú, Ap. 22 Chucuito - Callao
rcisneros@imarpe.gob.pe

RESUMEN

El cultivo de moluscos en general enfrenta el problema de escasez de semilla, y en el caso de la almeja la escasa disponibilidad de técnicas a adaptar para la producción bajo condiciones controladas. El acondicionamiento y reproducción de la almeja *Semele solida* GRAY (1828) en laboratorio, se realizó con el propósito de establecer una metodología apropiada para el acondicionamiento reproductivo de esta especie y realizar ensayos de reproducción inducida para la obtención de semillas.

Ejemplares adultos de *Semele solida*, con longitud promedio de 68,6 +/- 6,15 mm, fueron obtenidos en Bahía Independencia, Pisco, mediante buceo autónomo. Al llegar al laboratorio los ejemplares fueron colocados en una sala con temperatura ambiente, manteniéndolos en bandejas con agua de mar filtrada y aireación constante, alimentándolos por goteo con una dieta mixta de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros gracilis*, en proporción 1:1. En relación al acondicionamiento de los reproductores, los valores más altos en cuanto a tasa de filtración (F) e Ingestión (I) se obtuvieron a temperatura de 22 °C, y la dieta mixta por su mejor aceptación fue la más adecuada. A las 72 horas se obtuvo el primer estadio larvario, larva veliger de charnela recta (larva "D") o Prodisoconcha I . El rendimiento de las larvas puede ser mejorada substancialmente mediante el manejo del acondicionamiento de reproductores para maximizar la proporción de gametos viables.

Palabras clave : almeja, *Semele solida*, reproducción, dieta, temperatura

ABSTRACT

The culture of mollusks in general, faces the problem of shortage of seed, and in the case of the clam the little availability of techniques to adapt for the production under controlled conditions. The preparation and reproduction of clam *Semele solida* GRAY (1828) in laboratory, was made in order to settle down an appropriate methodology for the reproductive preparation of this species and to make tests of reproduction induced for the obtaining of seeds. Adult units with length average of 68.6 +/- 6.15 mm, were obtained in Bay Independence, Pisco, by means of independent diving. When arriving at the laboratory the units were placed with room temperature, maintaining them in trays with water of filtered sea and constant aeration, feeding them by dripping with a mixed diet of the microalga *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros gracilis* in 1:1 proportion. In relation to the preparation of the broodstock, the highest values as far as rate of filtration (F) and Ingestion (I) were obtained to 22 °C of temperature, and the mixed diet by its better acceptance was adapted. To the 72 hours the first larval stage was obtained, veliger larvae of straight hinge (larva "D") or Prodisoconcha I. The yield of the larvae can be improved substantially by means of handling of the broodstock preparation to maximize the proportion of viable gametes.

Key words: clam, *Semele solida*, reproduction, diet, temperature

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de almejas es una actividad que se encuentra en pleno desarrollo en países como España, Francia, Italia, Estados Unidos y países asiáticos, en los que se aplican técnicas de cultivo colectando semillas en el ambiente natural o produciéndolas en laboratorio, las que son engordadas hasta alcanzar el tamaño comercial; entre las especies más cultivadas están *Ruditapes decussatus* (almeja fina) y *Ruditapes philippinarum* (almeja japonesa). Existe una creciente demanda de almejas en el comercio internacional y en Japón el 90 % de sus desembarques provienen del cultivo. En China, que es el principal exportador, el 50 % de los desembarques de almejas provienen de la acuicultura. La talla en que se comercializa es de 30 a 50 mm, en Cisneros & Bautista (1997).

En nuestro país tenemos las especies *Gari solida* GRAY (1828), *Semele solida* GRAY (1828) y

Protothaca thaca MOLINA (1782), las que son explotadas comercialmente por la pesquería artesanal y son de considerable importancia para el consumo local. Sin embargo a pesar de ello, poco se conoce acerca de su biología y ecología, habiéndose realizado algunos trabajos de cultivo en ambiente natural, en Cisneros & Bautista (1997). El presente trabajo se realizó con *Semele solida*, la que presenta una distribución geográfica a lo largo de la Costa Pacífica de América del Sur, 12 a 45 ° S , según Urban & Campos (1994). Presenta valvas más bien circulares, con enterramiento superficial en substrato arenoso, en Urban (1994). Pertenecer a la Super-familia Tellinaceae, Orden Veneroidea, en Alamo & Valdivieso (1987). En la actualidad la actividad productiva de moluscos en el país, se sustenta fundamentalmente en la explotación de poblaciones naturales de bivalvos de importancia comercial; el cultivo de moluscos en general enfrenta el problema de escasez de semilla, y en el caso de la almeja la escasa disponibilidad de técnicas a adaptar para la producción bajo condiciones controladas . El acondicionamiento y reproducción de *Semele solida* GRAY (1828) en ambiente controlado, se realizó con el propósito de establecer una metodología apropiada para el acondicionamiento reproductivo de almejas y realizar ensayos de reproducción inducida para la obtención de semillas.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Acondicionamiento de reproductores

Ejemplares adultos de *Semele solida*, con talla promedio de 68,6 +/- 6,15 mm de longitud, fueron obtenidos en Bahía Independencia, Pisco, mediante buceo autónomo.

Al llegar al laboratorio éstos fueron acondicionados en bandejas con agua de mar filtrada y aireación constante, alimentándolos por goteo con una dieta mixta de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros gracilis* , en proporción 1:1..

Luego los ejemplares fueron separados en dos grupos, uno en una sala a temperatura ambiente de 17 °C, y el otro en una sala con temperatura controlada a 22 °C, para probar la influencia de la temperatura sobre la filtración del alimento.

Los ejemplares de cada grupo fueron distribuidos y mantenidos individualizados en recipientes de 1 litro, con agua de mar filtrada y esterilizada, siendo sometidos a los siguientes tratamientos alimentarios, cada uno con tres réplicas : *Isochrysis galbana* (T-iso) , *Chaetoceros gracilis* e *Isochrysis galbana* + *Chaetoceros gracilis* (1:1)

En cada grupo se determinó la Tasa de filtración (F), para lo cual por espacio de 6 horas por día, durante una hora, se tomo 1 ml de medio y se fijó con lugol para contar posteriormente el número de microalgas en un hemocitómetro.

El cálculo de la tasa de filtración se realizó aplicando la siguiente ecuación, según Griffiths & King (1979):

$$F = V \times (\ln C_i - \ln C_f)$$

T

Donde :

V = Volumen de agua ;

C_i = Concentración inicial de microalgas

C_f = Concentración final de microalgas

T = Diferencia de tiempo entre las tomas de muestra inicial y final

Así mismo se determinó la Tasa de ingestión (I), la que se calculó como el producto de la tasa de filtración por la concentración total de microalgas usadas para su determinación.

Análisis estadístico : La influencia de la dieta y la temperatura sobre la tasa de filtración (F) e Ingestión (I), fueron analizadas estadísticamente aplicándose un análisis de varianza (ANOVA) de dos factores. Posteriormente se utilizó la prueba de Tukey, a fin de evaluar la significancia de las diferencias encontradas entre las medias de la tasa de filtración (F). Para estos análisis se utilizó el programa STATISTICA .

2.2 Desove y fertilización

El grupo de ejemplares acondicionados a 17 °C, luego fue trasladado a la sala de temperatura controlada a 22 °C, donde desovaron espontáneamente 2 horas después de su traslado, en recipientes individuales, obteniéndose ovocitos y espermios por separado.

La fertilización de los óvulos se realizó agregando espermios en relación 7:1 espermios/ óvulo. Luego de comprobada la fecundación, por aparición de la membrana vitelina, los huevos fueron trasladados a un tanque de fibra de vidrio de 500 l con agua de mar filtrada y esterilizada sin aireación, donde se realizó el desarrollo embrionario hasta la aparición del primer estadio larvario .

2.3 Desarrollo larvario

Después de la aparición del primer estadio, las larvas obtenidas fueron tamizadas y colocadas en un recipiente de 50 litros, a proporción de 5 larvas.ml⁻¹

El cultivo larvario fue realizado básicamente de acuerdo a la técnica descrita por Loosanoff & Davis (1963), utilizando como alimento la microalga *Isochrysis galbana* (T-iso) durante los tres primeros

días, luego de lo cual se proporcionó una dieta mixta con *Chaetoceros gracilis* en proporción 1 : 1

Los cambios de agua fueron interdiarios, reteniendo las larvas en tamices de malla nitex de diferentes tamaños, de acuerdo a la talla de estas.

Las mediciones de crecimiento larval se realizaron interdiario en microscopio con ocular micrométrico a 100 x, usando como criterio las variaciones de la longitud que corresponden a la mayor amplitud de la concha en un eje paralelo a la línea de la charnela, según Olavarria et al. (1996).

Durante todo el proceso se utilizó agua de mar filtrada a 1 u y esterilizada por radiación ultravioleta.

Se tomaron microfotografías del desarrollo embrionario y larvario, a 100x y 400x en un microscopio con cámara incorporada, .

3. RESULTADOS

3.1 Acondicionamiento de reproductores

En la tabla 1; figura 1 se muestran los resultados de la tasa de tasa de filtración (F) promedio (litro/hora/individuo) con las tres dietas evaluadas a 22 y 17 °C. Observándose valores de 0,6721 con T-iso; 0,5699 con *Chaetoceros* y 1,1184 con la dieta mixta, a temperatura de 22 °C. Los valores fueron 0,1347 con T-iso; 0,0856 con *Chaetoceros* y 0,1618 con la dieta mixta a 17 °C.

TABLA 1. Media de la tasa de filtración (F) +/- DS, de la almeja *Semele solida* durante el acondicionamiento con diferentes dietas y temperaturas en laboratorio.

Dietas (n = 3)	F (litro/hora/indiv.)	
	22 °C	17 °C
T-iso	0.6721+/- 0.1252	0.1347 +/- 0.1271
<i>Chaetoceros</i>	0.5699 +/- 0.0085	0.0856 +/- 0.0290
Mixta	1.1184 +/- 0.0449	0.1618 +/- 0.6472

Los resultados de la tasa de tasa de ingestión (I) promedio (célula/hora/individuo) con las tres dietas evaluadas, fueron $4,5 \times 10^8$ con T-iso; $1,5 \times 10^9$ con *Chaetoceros* y $2,2 \times 10^9$ con la dieta mixta, a temperatura de 17 °C. En el experimento realizado a 22 °C, los valores fueron $9,1 \times 10^7$ con T-iso; $1,8 \times 10^8$ con *Chaetoceros* y $3,1 \times 10^8$ con la dieta mixta.

En la tabla 2 se presentan los resultados del análisis de varianza de dos factores, observando el efecto de la dieta y temperatura sobre la tasa de filtración (F), los resultados muestran diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos.

TABLA 2. Análisis de varianza de dos factores, observando el efecto de la dieta y temperatura sobre la tasa de filtración (F) de la almeja *Semele solida* . (nivel de significación alpha 0,05).

	g.l.	F	p
Dietas	2	19.1860	0.000182789
Temperatura	1	235.7130	2.97798E-09
Interacción	2	12.0888	0.00133182
Dentro del grupo	12		
Total	17		

En la tabla 3 se observan los resultados de la prueba de Tukey, para los 2 grupos de experimentación. En la prueba a 17 °C no se observaron diferencias entre las medias de la tasa de filtración (F) con diferentes dietas, mientras que a 22 °C se observan diferencias, comprobándose que con la dieta mixta, la tasa de filtración fue más rápida.

TABLA 3. Prueba de Tukey (HSD) aplicada a la Tasa de filtración (F) de la almeja *Semele solida* en ambiente controlado con diferentes dietas y temperaturas (alfa 0,05).

Dietas	1	2	3
Temperatura 22 °C	M= .67213	M= .56993	M= 1.1184
<i>Isochrysis galbana</i> (1)		0.306058	0.001138 *
<i>Chaetoceros gracilis</i> (2)	0.306058		0.000495 *
T-iso + <i>Chaetoceros</i> (3)	0.001138 *	0.000495 *	
Temperatura 17 °C	M= .13470	M= .08557	M= .16180
<i>Isochrysis galbana</i> (1)		0.834462	0.945366
<i>Chaetoceros gracilis</i> (2)	0.834462		0.658247
T-iso + <i>Chaetoceros</i> (3)	0.945366	0.658247	

Comparaciones múltiples

Variable dependiente : Tasa de filtración (F)

* La diferencia de la media es significativa a un nivel alfa 0,05

3.2 Desarrollo embrionario y larvario



Figura 1. Ovulo de *Semele solida* en proceso de fecundación. 50 X

Los óvulos evacuados presentaron diámetro promedio de 67, 2 micras (figura 1). A los 20 minutos después de realizada la fertilización, se observó la formación de la membrana vitelina alrededor del huevo y dos horas después se observó la primera división del huevo en forma desigual (figura 2).

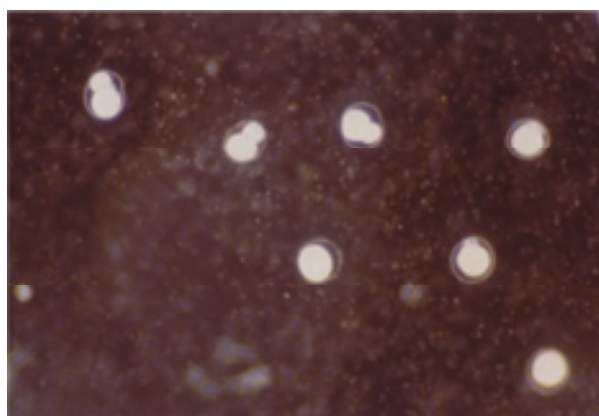


Figura 2. Huevo fecundado de *Semele solida* con 1ª división . 50X

Alrededor de las 6 horas comenzó la división masiva del huevo (figura 3). A las 48 horas, se observó el embrión en estado de pre-veliger, con longitud de 96 micras (figura 4).

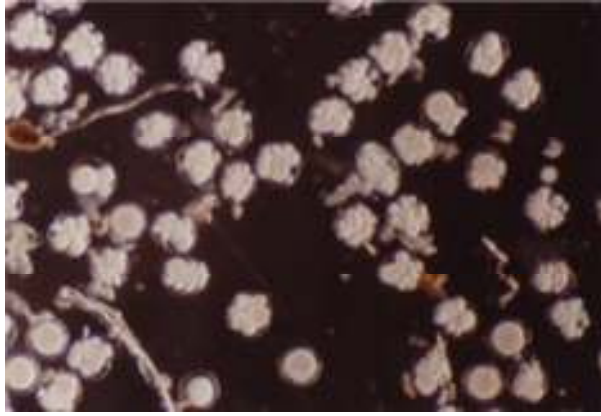


Figura 3. Huevo de *Semele solida* en estado de morula. 50 X



Figura 4. Embrión pre-veliger de *Semele solida*. 400 X

A las 72 horas se obtuvo el primer estadio larvario, larva veliger de charnela recta, larva "D" o Prodisoconcha I, la que aún conserva restos del saco vitelino, con longitud de 108 micras (figura 5).



Figura 5. Larva veliger de *Semele solida* con restos de saco vitelino. 400 X

A los 4 días se observaron larvas veliger preumbonadas con longitud de 121,62 micras (figura 6).

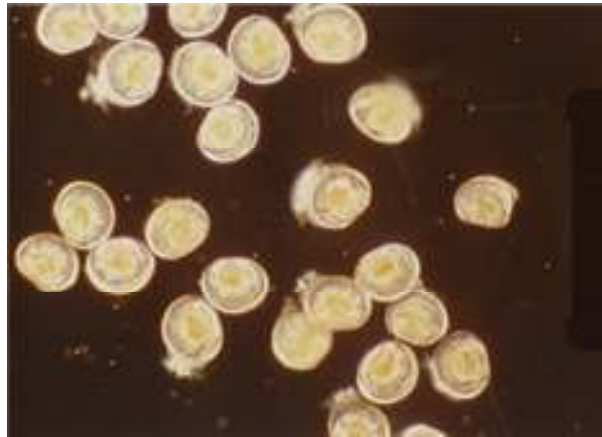


Figura 6. Larvas pre-umbonadas de Semele solida. 100 X

Alrededor de los 9 días al comenzar a umbonarse, la larva presentó una longitud de 157,37 micras y se observó la aparición de una estructura delgada, alargada que se proyectaba hacia la parte externa (figura 7). A los 12 días se observó el estadio de pediveliger con una talla de 255,7 micras (figura 8).



Figura 7. Larva pre-umbonada de Semele solida. 400 X

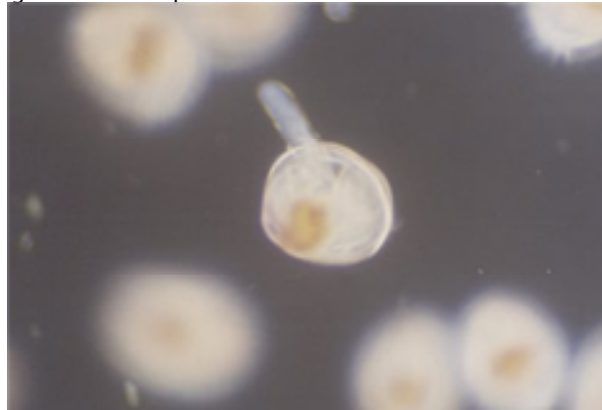


Figura 8. Larva Pediveliger de Semele solida. 100 X

4. DISCUSION Y CONCLUSIONES

En relación al acondicionamiento de los reproductores, los valores más altos en cuanto a tasa de filtración (F) e Ingestión (I) se obtuvieron a temperatura de 22 °C, y la dieta mixta por su mejor aceptación fue la más adecuada.

De acuerdo a estudios bioenergeticos realizados en bivalvos, los lípidos y proteínas constituyen las principales fuentes energéticas de estos, las que son utilizadas durante el desarrollo larval y metamorfosis, según Martínez et al. (2000). En este sentido la microalga Isochrysis galbana tiene 300 Kcal en lípidos y 55 Kcal en carbohidratos; Chaetoceros gracilis presenta 150 Kcal en lípidos y

100 Kcal en carbohidratos (Kcal/100 g), según Uribe (1992), esta última es adicionada como alimento cuando la larva ha alcanzado 150 micras, observado por Utting (1991), complementándose ambas para la obtención de un buen nivel de lípidos y carbohidratos. En este sentido es necesario considerar la cantidad y calidad del alimento a suministrar, pues muchos factores que afectan la condición de los reproductores, modifican el rendimiento de las larvas y juveniles, según Díaz et al. (1992).

Los reproductores requieren de un periodo de acondicionamiento y adaptación previo al desove, pues en experiencias anteriores no se lograron buenos resultados realizando la inducción mediante "shock" térmico inmediatamente después de llegar los ejemplares al laboratorio. Sobre este punto, Bustos y Olavarría (2000) mencionan que debido a que el periodo en el cual es posible encontrar ejemplares maduros en el medio ambiente corresponde a la época primavera-verano y el grado de maduración no es homogéneo entre los diferentes ejemplares, se recomienda el acondicionamiento para la maduración en condiciones controladas y luego la inducción al desove con aumento de la temperatura hasta 23 °C. En el caso de este trabajo el desove se produjo espontáneamente cuando los reproductores fueron trasladados a un ambiente con mayor temperatura (22 °C). Varios son los estímulos que pueden ser aplicados para inducir el desove, los más exitosos son aquellos que son naturales y minimizan el estrés de los animales, según Jones et al. (1993).

En el caso de este trabajo fue difícil reconocer el estado de madurez de los reproductores, pues las almejas presentan sexos separados y a diferencia de otros moluscos cuyos sexos se distinguen macroscópicamente, por el color que adoptan las gónadas cuando los gametos están maduros, en almejas no se observan características externas que posibiliten diferenciar sexos a simple vista, según Bustos & Olavarría (2000), por lo que solamente se pueden definir los estados gonadales mediante cortes histológicos del tejido reproductivo.

En relación al desarrollo larvario, los resultados en cuanto al tamaño de la larva veliger, fueron similares a los encontrados por Olavarría et al. (1996) para otras especies de almeja cultivadas en laboratorio; quienes encontraron para *Gari solida* y *Venus antiqua* también una talla de 109 micras, como en este trabajo para *Semele solida*.

El desove se produjo luego de 20 días de acondicionamiento en el laboratorio y respecto a este punto Bustos y Olavarría (2000) en un manual para el cultivo de la almeja *Venus antiqua*, mencionan que para la obtención de larvas y juveniles en laboratorio es necesario contar con gametos que provengan de ejemplares sexualmente maduros y el periodo de acondicionamiento para reproductores en estado inmaduro o premaduro lleva aproximadamente de 45 a 60 días. Igualmente Lannan et al. (1980) mencionan que la supervivencia de larvas es particularmente dependiente de las reservas energéticas almacenadas derivadas de los huevos, y pueden ser mejoradas substancialmente mediante el manejo del acondicionamiento de reproductores para maximizar la proporción de gametos viables.

Por lo expuesto es necesario continuar con las investigaciones a fin de lograr la producción masiva de semillas del recurso almeja.

5. REFERENCIAS

- Alamo V. & V. Valdivieso. 1997. Lista sistematica de moluscos marinos del Perú (2da. Edición). Publicación especial IMARPE, Callao, Perú, pp. 123-141.
- Bustos E. & E. Olavarría. 2000. Manual para el cultivo de la almeja *Venus antiqua*. División de Acuicultura, Instituto de Fomento Pesquero, Chile. 21 pp.
- Cisneros R. & J. Bautista. 1997. Avances en el cultivo de la almeja *Protothaca thaca* en ambiente natural. Inf. Prog. Inst. Mar Perú, Nº 57.
- Díaz M. & G. Martínez. 1992. Efecto de diferentes dietas sobre el balance energético en juveniles de *Argopecten purpuratus* L. Rev. Biol. Mar., Valparaíso, 27 (2): 163-173.
- Griffiths C. L. & A. King. 1979. Some relationships between size, food, availability and energy balance in the ribbed mussel *Aulacomya ater*. Marine Biology, Vol : 51 – Nº 2, pp. 141-149.
- Jones G. G., C. L. Sanford & B. L. Jones. 1993. Manila Clam: Hatchery and Nursery Methods. Innovative Aquaculture Products Ltd. 50 pp.
- Martínez G., C. Aguilera & L. Metiffogo. 2000. Interactive effects of diet and temperature on reproductive conditioning of *Argopecten purpuratus* broodstock. Aquaculture 183 (2000): 149-159.
- Olavarría E., A. Farías & I. Uriarte, 1996. Morfometría y tasas de crecimiento larvario y post-larvario de los bivalvos *Venus antiqua* y *Gari solida* cultivados en laboratorio. Rev. Biol. Mar., Valparaíso, 31 (2): 107-116.
- Loosanoff V. L. & H. C. Davis. 1963. Rearing of bivalve mollusc. Adv. Mar. Biol., 1:1-136.
- Utting S. D. & B. E. Spencer. 1991. The hatchery culture of bivalve mollusc larvae and juveniles, Laboratory Leaflet Number 68.
- Urban H. J. y B. Campos. 1994. Population Dynamics of the bivalves *Gari solida*, *Semele solida* and *Protothaca thaca* from a small bay in Chile at 36° S. Mar. Ecol. Prog. Ser. Vol. 115:93-102.
- Urban H. J. 1994. Preliminary estimates of growth parameters for three comercial bivalve species of Perú *Gari solida*, *Aulacomya ater* and *Semele solida*). Fishbyte 9:4-6.

Uribe E. 1992. Cultivo de microalgas. 5º Curso Internacional en Cultivo de Moluscos. Programa de Cooperación Técnica Chile-Japón. 19 octubre-13 noviembre 1992, pp. 39-79 pp. Coquimbo, Chile.