

## REPRODUCCIÓN ARTIFICIAL DE LA OSTRA DEL MANGLE *Crassostrea rhizophorae* GUILDING, 1828 EN EL CARIBE COLOMBIANO

### ARTIFICIAL REPRODUCTION OF THE MANGROVE OYSTER *Crassostrea rhizophorae* GUILDING, 1828 IN COLOMBIAN CARIBBEAN

Luz Adriana Velasco, Darío Vega, Ernesto Acosta y Judith Barros

## RESUMEN

Con el fin de validar y optimizar el protocolo usado para la inducción al desove y fertilización de la ostra del mangle *Crassostrea rhizophorae* en Colombia, se examinó el ciclo reproductivo de las poblaciones naturales de la Ciénaga de Mallorquín y se llevaron a cabo dos experimentos de reproducción inducida. En el primero, se comparó el efecto de dos técnicas de inducción al desove (“colombiana” y “cubana”) sobre el tiempo de respuesta al desove, fecundidad y porcentajes de organismos desovados. En el segundo experimento, se evaluó la influencia de dos sistemas de fertilización (“grupál” e “individual”) sobre los porcentajes de fertilización, larvas D, supervivencia larval y crecimiento larval. Las poblaciones muestreadas exhibieron un ciclo reproductivo semianual, presentándose la mayor proporción de organismos en estado sexual maduro en junio y julio, coincidiendo con el inicio de la época lluviosa. El porcentaje de organismos desovados fue significativamente mayor utilizando la técnica de inducción al desove colombiana que la cubana. El tiempo de la respuesta de desove fue menor en los animales sometidos a la técnica de inducción colombiana y la fecundidad no fue afectada por el inductor al desove. El sistema de fertilización grupál permitió obtener mayores valores de fertilización de los oocitos y crecimiento larval que el individual. No obstante, los porcentajes de larvas D y la supervivencia larval fueron similares en estos dos tratamientos. En conclusión, la reproducción inducida de *C. rhizophorae* de la Ciénaga de Mallorquín puede ser realizada durante los periodos de lluvia (entre abril y septiembre), empleando la técnica de inducción colombiana y el sistema de fertilización grupál, sin embargo es necesario perfeccionar las técnicas de incubación y cultivo larvario con el fin de elevar los valores de supervivencia y crecimiento.

**PALABRAS CLAVE:** *Crassostrea rhizophorae*, inducción al desove, larvicultura, ostra, reproducción.

## ABSTRACT

In order to validate and optimize the protocol used for the spawning induction and fertilization of the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* in Colombia, the reproductive cycle of natural populations from the Ciénaga de Mallorquín, was examined. Two experiments of induced reproduction were performed. In the first one, the effect of two spawning induction techniques (“Colombian” and “Cuban”) were compared based on the spawning response time, the fecundity and the percentages of spawned organisms. In the second experiment, the influence of two fertilization systems (“grouping” and “individual”) was evaluated, in terms of the percentages of oocyte fertilization and larvae D as well as larval growth and survival. Populations

#### Dirección de los autores:

Laboratorio de Moluscos y Microalgas, Universidad del Magdalena, Carrera 2 No 18-27, Taganga, Santa Marta, Colombia. Tel/Fax: 57-5-4219133. E-mail: molmarcol@gmail.com. (L.A.V., J.B). INVEMAR, Cerro Punta Betín, Santa Marta, Colombia. Tel/fax: 57-5-4233280. (D.V., E.A).



studied exhibited a semiannual reproductive cycle, the highest proportion of organisms in mature sexual state were obtained between June and July, coinciding with the beginning of the rainy season. The percentage of spawned organisms was significantly higher using the Colombian spawning induction technique. The spawning response time was lesser in animals induced by the Colombian technique and the fecundity was not affected by the spawning inductor. Higher values of oocyte fertilization and larval growth were obtained with the grouping system of fertilization. Nevertheless, embryonic and larval survival values were similar for both treatments. In conclusion, the induced reproduction of *C. rhizophorae* populations from Ciénaga de Mallorquín, could be carried out during rainy season (between April and September), using the Colombian spawning induction technique and the grouping system of fertilization. However it is necessary to improve the incubation techniques and larval culture in order to increase survival and growth values.

**KEY WORDS:** *Crassostrea rhizophorae*, induced spawning, larval rearing, oyster, reproduction.

## INTRODUCCIÓN

La ostra de mangle *Crassostrea rhizophorae* es un molusco bivalvo filtrador que vive adherido a las raíces del mangle rojo o formando bancos en fondos duros del intermareal de zonas estuarinas desde las Antillas, sur del mar Caribe, hasta Brasil (Díaz y Puyana, 1994). Es una especie sin dimorfismo sexual externo, con fecundación externa, hermafrodita alternante y con varios eventos de desove en la vida (Quayle, 1981). Es frecuente que las ostras más pequeñas (jóvenes) sean en su mayoría machos (Arias et al., 1995). La primera madurez ocurre entre los 2 y 4 meses cuando tienen 20 mm de longitud (Nikolic y Alfonso, 1970). El cultivo de estas especies en Colombia se ha realizado utilizando semilla silvestre, obteniéndose animales de talla comercial (55 a 60 mm) luego de entre 6 y 8 meses de cultivo (Ciardelli, 1970; Ramírez y Salazar, 1977; Rivera, 1978; Wedler, 1978; 1980; 1983; Peláez, 1985; Barliza y Quintana, 1992; Arias et al., 1995; Rodríguez y Lagos, 2000).

La ostra de mangle *C. rhizophorae* por mucho tiempo fue uno de los recursos pesqueros más abundantes e importantes sociocultural y económicamente en la Ciénaga Grande de Santa Marta (CGSM), Colombia. Según Squires y Riveros (1971) de los 450 km<sup>2</sup> de este cuerpo de agua, 50 km<sup>2</sup> servían para la explotación de la ostra, llegándose a producir hasta 229 ton año<sup>-1</sup> en 1986 (INPA, 1996). El desbalance hídrico, la contaminación química y microbiológica así como la sobreexplotación de la CGSM fueron algunas de las causas que propiciaron la desaparición total de la ostra del mangle desde 1999. Considerando

esta situación, se realizaron algunas experiencias de producción de semilla en laboratorio con fines de repoblación (Caez y Vélez, 2000; Wedler, 2003; Vélez, com. pers.) logrando producir semilla siguiendo un protocolo de inducción al desove que consiste en aplicar desecación en frío por un corto periodo (20°C por 1h) y posteriormente inmersión en agua a alta temperatura (32°C) y baja salinidad (20). Aunque esta técnica permitió obtener un número considerable de larvas (Wedler, 2003), entre los estímulos de inducción más exitosos figura el aplicado en Cuba (Arias et al., 1995) en el cual también se utiliza desecación en frío pero por un periodo más largo (16°C por 12h), luego exponen las ostras al sol (45 min) y finalmente se emplea inmersión también a alta temperatura pero a alta salinidad (30) (Frías, 1995). De otro lado, la fertilización de los oocitos en las ostras del mangle tradicionalmente se hace de forma "grupal" (Frías, 1995; Caez y Vélez, 2000; Wedler, 2003) en este sistema se dejan desovar machos y hembras en un mismo acuario, dejando menos machos que hembras (cuatro hembras por un macho). Sin embargo, en otras experiencias con la misma especie y con otras especies de ostras se ha aplicado exitosamente el sistema de fertilización "individual" (Yukihira y Alarcón, 1987; Baltazar et al., 1999; Rico-Villa et al., 2006; Dégremont et al., 2007), en donde se separan los machos y las hembras desovantes y la fertilización de los oocitos se hace en una relación espermios oocitos controlada para evitar problemas de polispermia, que consiste en la entrada de más de un espermatozoide dentro de un oocito, lo que causa segmentaciones anormales y la muerte de los embriones (Santos y Nascimento, 1985; Rampersad et al., 1994).

Es posible que el protocolo de inducción al desove cubano pueda ser más eficiente que el empleado anteriormente en Colombia, así mismo, que el sistema de fertilización individual sea más exitoso que el grupal. Este trabajo se llevó a cabo con el fin de validar y mejorar el protocolo colombiano usado para la reproducción inducida de la ostra del mangle *C. rhizophorae*, con fines de repoblación. Para ello, se realizó un seguimiento del estado de madurez sexual de las poblaciones de la ostra del mangle en la Ciénaga de Mallorquín a lo largo de un año, se compararon dos técnicas de inducción al desove (“colombiana” vs “cubana”) sobre el tiempo de respuesta al estímulo, fecundidad y porcentajes de ostras desovadas. Finalmente se evaluó el efecto de dos sistemas de fertilización (“grupal” e “individual”) sobre los porcentajes de huevos fertilizados y larvas D obtenidas; crecimiento en longitud y supervivencia larval.

## METODOLOGÍA

### Obtención y mantenimiento de reproductores

Entre enero de 2004 y febrero de 2005, cada quince días, se colectó y sacrificó una muestra de al menos 10 individuos adultos de ostra de mangle *Crassostrea rhizophorae* (longitud > 50 mm) en las poblaciones naturales de Ciénaga de Mallorquín, Atlántico (11° 02' N, 74° 50' W). Se estableció el nivel de madurez sexual de cada espécimen siguiendo la escala macroscópica de Nikolic y Boffil (1971). Cuando más del 60% de las ostras se encontraban en estadio III o IV entre 80 y 120 ejemplares adultos se transportaron en frío y húmedo hasta el laboratorio de Moluscos y Microalgas de la Universidad del Magdalena en Taganga, Magdalena (11° 16' 03" N., 74° 11' 24" W). Allí, las ostras fueron limpiadas de epibiontes mediante abrasión con agua clorada a 100 ppm y posteriormente se sometieron a los experimentos de inducción al desove.

### Experimento de inducción al desove

Con animales provenientes de una misma colecta se probaron dos técnicas de inducción al desove: 1) “Cubana”: desecación a 16 °C por 12 h, luego exposición al sol (45 min) y finalmente inmersión en agua a 30 °C y 30 de salinidad (Frías, 1995), 2) “Colombiana”: desecación a 20 °C durante 1 hora y finalmente inmersión en agua a 32 °C y 20 de salinidad (Wedler, 2003; Vélez com. pers.). Cada tratamiento se aplicó en paralelo, utilizando grupos experimentales de al menos 30 ostras en cada uno. Esta operación se repitió en ocho ocasiones diferentes entre abril y septiembre de 2004. Para la inmersión de los animales y la obtención de sus desoves se utilizaron acuarios de fondo negro (30 L) con agua microfiltrada a 1 µm, esterilizada con luz ultravioleta y aireada.

En cada tratamiento se contabilizó el número de machos y hembras desovados para determinar el respectivo porcentaje de organismos desovados. Se estableció el tiempo que tardaron en responder los organismos al estímulo inductor. Se estimó la fecundidad (cantidad de gametos femeninos producidos por cada individuo) a partir del conteo de tres muestras de agua (1 mL) tomadas del acuario de desove (para los desoves “grupales”) ó de los recipientes de concentración de productos sexuales (para los desoves “individuales”). Los conteos se hicieron mediante un microscopio de luz empleando cámaras Sedgewick Rafter para los oocitos y placas Neubauer para los espermatozoides.

### Experimento de fertilización

Se probaron dos sistemas de fertilización de oocitos: 1) “grupal”: dejando desovar machos y hembras en un mismo acuario en una relación de 1:4, 2) “individual”, separando los organismos una vez iniciaron los desoves, concentrando los productos masculinos y femeninos por separado y haciendo fertilización cruzada en una relación espermatozoides - oocitos de 50:1. Cada tratamiento se aplicó en tres ocasiones diferentes a oocitos y espermatozoides producidos mediante la técnica de inducción colombiana.

La mezcla de oocitos y espermatozoides de cada cruce se dejó reposar 30 minutos tras lo cual los oocitos fueron separados y limpiados mediante el uso de un tamiz de 30  $\mu\text{m}$ . Estos se colocaron en un balde con agua microfiltrada (10 L) y se examinó la concentración de cigotos (huevos en división o con expulsión de cuerpo polar), siguiendo la misma metodología descrita para el conteo de oocitos. Se determinó el porcentaje de fertilización de cada tratamiento como el número de cigotos en relación al número de oocitos producidos.

Los cigotos de cada grupo experimental fueron distribuidos en tres incubadoras Woynarovich de 200 L a una misma densidad, cuidando de no superar los 10 cigotos  $\text{mL}^{-1}$  y sin suplemento alimenticio. El agua de mar usada fue microfiltrada (1  $\mu\text{m}$ ), esterilizada con UV, mantenida a  $23 \pm 1$   $^{\circ}\text{C}$ , salinidad de  $20 \pm 1$  y con aireación. Luego de 48 horas, cuando las larvas alcanzaron el estado D (fase en la cual las larvas adquieren forma de una D), los tanques se drenaron y las larvas en suspensión fueron recuperadas en tamices de 30  $\mu\text{m}$  y se suspendieron en 4 L de agua de mar filtrada para estimar su concentración empleando la misma metodología descrita para el conteo de oocitos. El porcentaje de larvas D de cada réplica se estimó como el número de larvas D obtenidas en relación con el número de cigotos colocados inicialmente.

Las larvas D obtenidas en cada tratamiento, se colocaron por triplicado a una densidad de 1 larva  $\text{mL}^{-1}$  en los mismos tanques usados para la incubación provistos de agua de la misma calidad indicada. Dependiendo del tamaño de las larvas, se suministró diariamente una dieta de microalgas similar a la descrita por Arias et al. (1995). Para larvas con tamaños menores a 45  $\mu\text{m}$  se usó *Isochrysis galbana* a una concentración de  $3 \times 10^4$  células  $\text{mL}^{-1}$ , las larvas con longitudes entre 45 y 70  $\mu\text{m}$  se les aumentó la dosis a  $6 \times 10^4$  células  $\text{mL}^{-1}$ , aquellas con tamaño entre 70 y 120  $\mu\text{m}$  se alimentaron con  $3 \times 10^4$  células  $\text{mL}^{-1}$  de *I. galbana* y adicionalmente con  $2 \times 10^4$  células  $\text{mL}^{-1}$  de *Chaetoceros calcitrans*. Finalmente cuando presentaron más de 120  $\mu\text{m}$  se mantuvo esta última ración de *I. galbana* y se aumentó la de *C. calcitrans* a  $3 \times 10^4$  células  $\text{mL}^{-1}$ . Se

hicieron recambios de agua del 100 % cada 48 horas, mediante el drenaje total de los tanques, la recuperación de las larvas en el desagüe sobre un tamiz con un ojo de malla inferior al tamaño de las larvas y la reubicación de las mismas en tanques limpios. Para monitorear la supervivencia y crecimiento larvario, cada 48 horas se analizaron bajo el microscopio 3 muestras de agua (10 mL) de cada tanque réplica, haciendo un conteo total de larvas y midiendo la longitud de 15 larvas seleccionadas al azar.

## Análisis estadístico

Para determinar la existencia de diferencias significativas de las variables dependientes (porcentajes de organismos desovados, fertilización y larvas D, el tiempo de desove y la fecundidad) obtenidas entre las diferentes técnicas de inducción al desove y/o sistemas de fertilización, se realizaron análisis de varianza a una vía. Se establecieron las ecuaciones que mejor se ajustaron al crecimiento de las larvas (con base en los mayores coeficientes de determinación y menores valores de p). Se contrastó el crecimiento de las larvas procedentes de sistemas de fertilización diferentes mediante un análisis de comparación de pendientes e interceptos de las ecuaciones halladas. Finalmente, para establecer el efecto de los tratamientos sobre la supervivencia larvaria, se aplicó un análisis de varianza de medidas repetidas. Para los análisis se utilizaron los paquetes estadísticos Statgraphics y SPSS. Para todas las decisiones de significancia se empleó un alfa de 0,05.

## RESULTADOS

### Ciclo reproductivo

Las poblaciones de ostras del mangle de la Ciénaga de Mallorquín presentaron organismos en estado sexual maduro en abril y de junio a septiembre de 2004, encontrando las mayores

proporciones de organismos maduros entre junio y julio (Figura 1).

### Experimento de inducción al desove

Las respuestas a los estímulos de inducción al desove fueron obtenidas a los 75 y 240 minutos

de haber iniciado la estimulación, usando las técnicas colombiana y cubana, respectivamente. Los machos siempre fueron los primeros en desovar. Los organismos inducidos con la técnica colombiana respondieron en un menor tiempo, en comparación con aquellos expuestos al protocolo cubano. El análisis de varianza mostró que estas diferencias son significativas ( $n = 8$ ;  $df = 1$ ;  $F = 14,46$ ;  $p = 0,0067$ ).

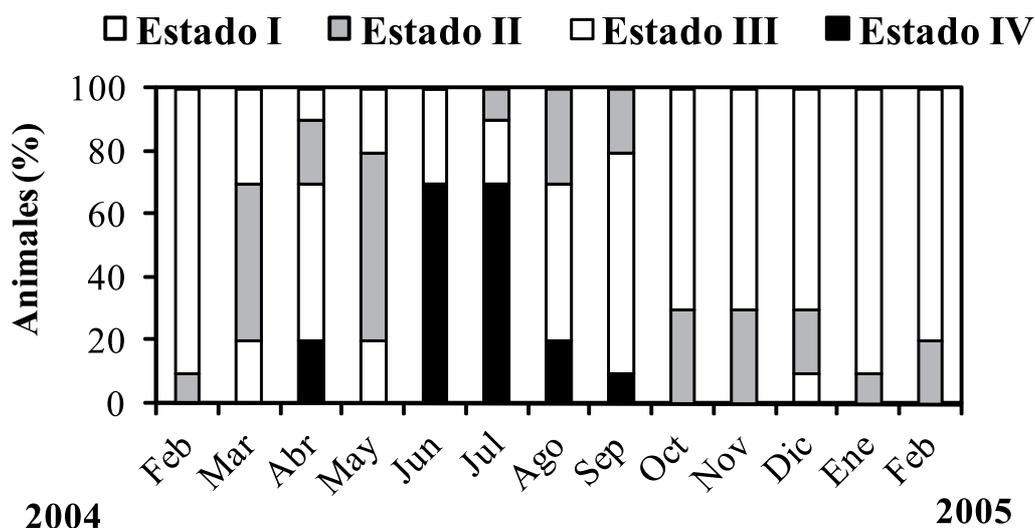


Figura 1. *Crassostrea rhizophorae*. Variación del estado de madurez sexual en las poblaciones naturales de la Ciénaga de Mallorquín (Atlántico, Colombia) entre febrero de 2004 y febrero de 2005.

Los porcentajes de machos y hembras desovados estuvieron en promedio entre 0,5 y 11,5 % siendo mayores los valores obtenidos cuando se utilizó el protocolo de inducción al desove colombiano que el cubano (Figura 2). El análisis estadístico, demostró que tales diferencias fueron significativas ( $n = 8$ ;  $p < 0,0096$ ).

La producción de oocitos osciló entre  $2,8 \times 10^6$  animal<sup>-1</sup> para la técnica colombiana y  $2,9 \times 10^6$  animal<sup>-1</sup> para la técnica cubana. No se encontraron diferencias significativas en la fecundidad obtenida mediante las dos técnicas de inducción al desove probadas ( $n = 8$ ;  $df = 1$ ;  $F = 0,0001$ ;  $p = 0,9771$ ).

### Experimento de sistema de fertilización

El porcentaje de fertilización fue de 37 % con el protocolo colombiano y 85 % con el cubano. Presentándose valores significativamente mayores empleando el sistema de fertilización grupal que el individual ( $n = 4$ ;  $df = 1$ ;  $F = 7,87$ ;  $p = 0,0378$ ).

El porcentaje de larvas D obtenido varió entre 7,8 % usando la técnica colombiana y 12,8 % con la cubana. No se encontró un efecto significativo del sistema de fertilización sobre el porcentaje de larvas D ( $df = 1$ ;  $F = 0,32$ ;  $p = 0,5952$ ).

Las larvas procedentes del sistema de fertilización individual permanecieron vivas por 11 días de vida, sin llegar a la fase pediveliger, alcanzaron longitudes de concha de 101  $\mu\text{m}$  y tasas de crecimiento promedio de 9  $\mu\text{m día}^{-1}$  (Figura 3A). De otro lado, las larvas derivadas de una fertilización grupal presentaron la aparición de la mancha ocular el día 15, culminando con su fase larval planctónica a los 17 días de vida. Alcanzaron una longitud de 180  $\mu\text{m}$ , presentando una tasa de crecimiento promedio de 15  $\mu\text{m día}^{-1}$ . Las ecuaciones que mejor describieron el crecimiento de las larvas de *C. rhizophorae* fueron de tipo exponencial ( $p < 0,0001$  y  $r >$

0,96) (Figura 3A). El crecimiento de las larvas producidas mediante la fertilización grupal fue significativamente mayor que el de aquellas obtenidas mediante la fertilización individual ( $df = 1$ ;  $F = 201,52$ ;  $p = 0,0000$ ). La supervivencia acumulada al final del experimento osciló entre 0 y 3,4 % (Figura 3B). Esta variable no se vio afectada significativamente por el sistema de fertilización empleado ( $df = 1$ ;  $F = 0,56$ ;  $p = 0,4970$ ). Los valores de porcentajes de fertilización, larvas D obtenidas, crecimiento y supervivencia larval estuvieron dentro de los valores obtenidos en otros estudios (Tabla 1).

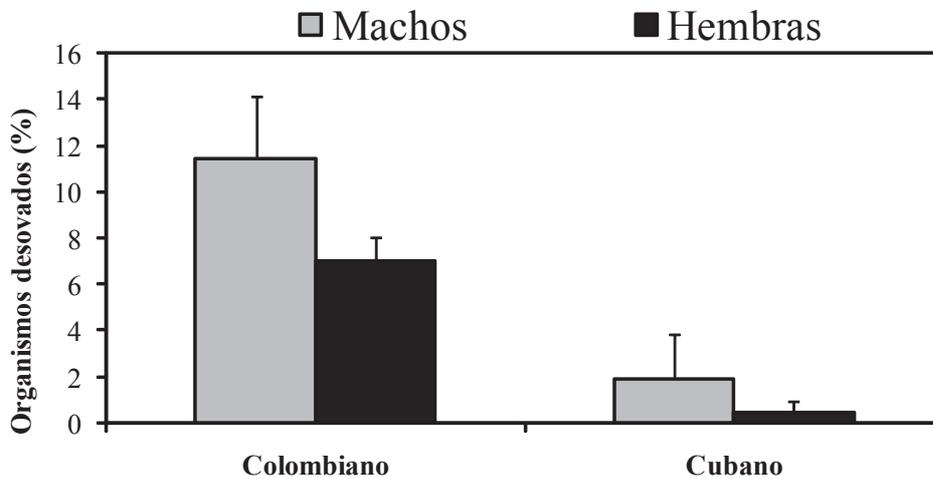
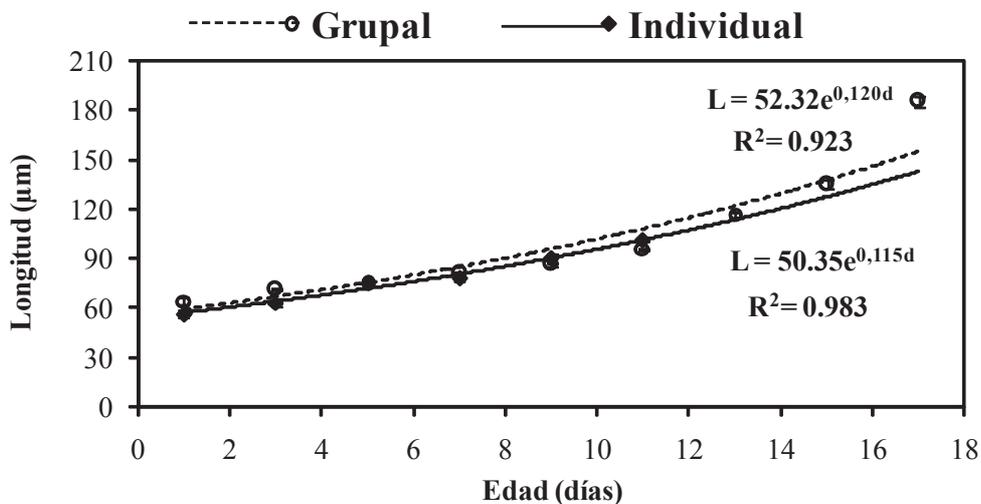


Figura 2. *Crassostrea rhizophorae*. Porcentaje de organismos desovados en cada uno de los estímulos de inducción probados ( $\pm$  EE).



(A)



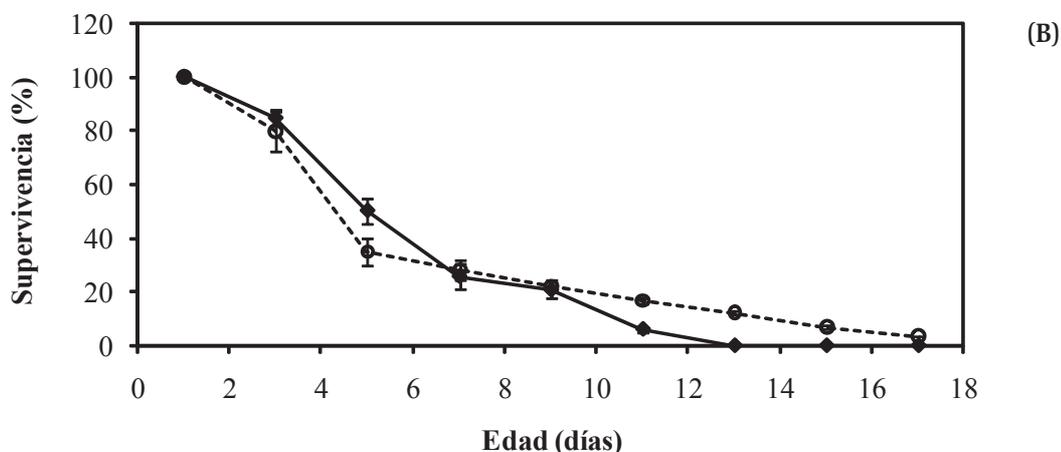


Figura 3a y 3b. *Crassostrea rhizophorae*. Cultivo larval bajo diferentes sistemas de fertilización. (A) Supervivencia acumulada (B) Longitud. ( $\pm$  EE).

Tabla 1. Parámetros de cultivo larval obtenidos en diferentes especies de ostras.

Especie	Fertilización	Larvas D	Tasa de crecimiento	Supervivencia	Referencia
	(%)	(%)	( $\mu\text{m día}^{-1}$ )	larval (%)	
<i>Crassostrea belcheri</i>	-	17-83	6-13	0-20	Tan y Won (1996)
<i>C. gigas</i>	75	-	-	-	García et al. (1982)
	100	-	-	-	Baltazar et al. (1999)
	-	2-80	-	-	Song et al. (2009)
	-	5-80	-	-	Suquet et al. (2007)
<i>C. nippona</i>	62-88	31	-	7	Yoo y Kant (1996)
<i>C. rhizophorae</i>	-	-	7	0-10	Caez y Vélez (2000)
	-	67	-	-	Rampersad y Ammons (1992)
	37- 85	7,8- 12,8	9	0- 3	Presente estudio

## DISCUSIÓN

### Ciclo reproductivo

El ciclo reproductivo semianual que presentaron las poblaciones de *C. rhizophorae* de la Ciénaga de Mallorquín en este estudio, coincide con el patrón reproductivo encontrado previamente en otras zonas del Caribe colombiano como la CGSM, Ciénaga de Mestizos (Córdoba) y Ciénaga de Mallorquín (Wedler, 1983; Caez y Vélez, 2000) así como en el Caribe de Costa Rica (Alarcón y Zamora, 1993). Sin embargo no coincide con

el patrón reproductivo continuo descrito para las poblaciones de esta especie en la CGSM (Hernández y Márquez, 1987; Arias et al., 1995) y el Caribe venezolano Venezuela (Vélez, 1977). Tales diferencias pueden ser atribuidas a los patrones de temperatura y salinidad que se dan en los sitios y años. En este estudio, la época de mayor madurez gonadal de *C. rhizophorae* coincidió con el inicio del período de lluvias en la zona (Universidad del Norte, 2005), similar a lo observado en todos los estudios antes mencionados. Aparentemente el descenso en la salinidad y/o el aumento en la temperatura del

agua, característica de la época de lluvias activan el proceso de maduración final de los gametos y el desove de la ostra.

### Efecto de la técnica de inducción al desove

La obtención de desoves utilizando las dos técnicas de inducción (cubana y colombiana) indica que la desecación y el aumento en la temperatura son factores que activan el desove de *C. rhizophorae*. No obstante, los mayores porcentajes de organismos desovados así como los menores tiempos de respuesta obtenidos con el estímulo de inducción colombiano, sugieren que las ostras de la Ciénaga de Mallorquín son más sensibles a esta técnica. En el protocolo colombiano, el menor tiempo de desecación, la mayor velocidad del cambio de temperatura y/o el choque osmótico pudieron determinar

la activación de la contracción de la gónada en una mayor proporción de organismos y en un menor tiempo. Es probable que el factor más determinante en la respuesta de desove haya sido la disminución de la salinidad, ya que en el medio natural se ha reportado la mayor abundancia de larvas y fijaciones en condiciones de baja salinidad (Wedler, 1980; 1998, Arias et al., 1995; Rodríguez y Lagos, 2000).

Los valores de porcentaje de organismos desovados, tiempo de respuesta al estímulo de inducción al desove y fecundidad obtenidos en este estudio, estuvieron entre los reportados para la misma especie y para otras del mismo género (Tabla 2). Las diferencias halladas entre los diferentes estudios con *C. rhizophorae* pueden ser atribuidas a factores como el tamaño de los reproductores, la madurez de sus gametos, como se ha observado en otros bivalvos (Paulet et al., 1988; Vélez et al., 1993).

Tabla 2. Parámetros de inducción al desove obtenidos en diferentes especies de ostras.

Especie	Tiempo de respuesta (h)	Organismos desovados (%)	Fecundidad (x 10 <sup>6</sup> oocitos animal <sup>-1</sup> )	Referencia
<i>Crassostrea gigas</i>	0,3-0,5	-	2,8	Baltazar et al. (1999)
	-	-	7-12	Helm et al. (2006)
<i>C. belcheri</i>	2,5-3,0	-	-	Sahavacharin et al. (1988)
<i>C. nippona</i>	-	0-30	0,3-1,1	Yoo y Kant (1996)
<i>C. rhizophorae</i>	0,2-0,4	-	1,7	Caez y Vélez (2000)
	1,3-4,0	0,5 -11,5	2,8-2,9	Presente estudio

### Efecto del sistema de fertilización

Los mayores valores de fertilización de las larvas de *C. rhizophorae* procedentes del sistema de fertilización grupal en comparación con el individual, pueden ser explicados por la mayor concentración de espermatozoides por oocito (aproximadamente 6000:1) utilizada en el sistema de fertilización grupal en comparación con la aplicada en el sistema individual (50:1). En otros trabajos llevados a cabo con la misma especie se reportan mayores proporciones de oocitos fertilizados cuando se utilizan mayores relaciones de espermatozoides por oocito, tales

como 100 a 5000:1 (Santos y Nascimento, 1985) o 1400 a 2800:1 (Rampersad et al., 1994). Adicionalmente, el tiempo transcurrido entre la expulsión de los gametos y su unión con los oocitos fue menor en la fertilización grupal en comparación con la individual. En el sistema grupal la fertilización ocurrió tan pronto las hembras expulsaron los oocitos al agua, mientras que en el sistema individual la fertilización se llevó a cabo luego de un periodo adicional de hasta 30 minutos, durante el cual se llevaron a cabo las operaciones de conteo de gametos y cálculo del volumen de espermatozoides a usar para la fertilización. Aunque se ha reportado que

los oocitos desovados de ostras como *C. gigas* pueden permanecer hasta cuatro horas en el agua sin que se afecte la fertilización ni la producción de larvas D (Song et al., 2009), cuando se usan espermatozoides luego de 45 minutos de haber sido expulsados, estos parámetros descienden (Santos y Nascimento, 1985; Helm et al., 2006), posiblemente debido a que los espermatozoides de los bivalvos disminuyen su motilidad y capacidad para fertilizar a los oocitos con el tiempo (Velasco y Barros, 2008).

El mayor crecimiento de las larvas procedentes de los desoves grupales en comparación a los individuales sugiere que la manipulación de los gametos que se debe hacer cuando se aplica el sistema individual, incide negativamente sobre el crecimiento larval. Así mismo, la falta de influencia del sistema de fertilización sobre la supervivencia de los embriones y larvas, indica que no ocurrió poliespermia cuando se aplicó la fertilización grupal, o que sus efectos fueron despreciables.

En conclusión, la reproducción inducida de las poblaciones de *C. rhizophorae* de la Ciénaga de Mallorquín con fines de repoblación o cultivo puede ser realizada durante los periodos de lluvia de cada año (entre abril y septiembre), empleando la técnica de inducción al desove colombiana y el sistema de fertilización grupal. Sin embargo, es necesario perfeccionar las técnicas de incubación y cultivo de larvas con el fin de elevar la producción larvaria.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo de G. Blanco en las diferentes fases que permitieron llevar a cabo este trabajo. A la financiación de la Universidad del Magdalena, bajo el proyecto FONCIENCIAS 06-03 y el Programa de Jóvenes Investigadores de COLCIENCIAS, convenio 032-2003.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alarcón, F. y E. Zamora. 1993. Ciclo de maduración sexual y hermafroditismo en las poblaciones de *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) en Estero Negro y Estero Vizcaya, Limón, Costa Rica. Simposio Investigación Acuicola en Centroamérica. Heredia, Costa Rica: 19-36.
- Arias, L.M., J.A. Frias, P. Daza, H. Rodríguez y P. Dueñas. 1995. El cultivo de la ostra de mangle *Crassostrea rhizophorae*. En: Rodríguez, H., G. Polo, y O. Mora. (Eds). INPA, Colombia, Serie Fundamentos 2: 153-208.
- Baltazar, P., P. Bermúdez y W. Rivera. 1999. Cultivo de la ostra *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1795) en un vivero artesanal, La Arena, Casma. Revista Peruana de Biología 6(2). Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/biologia/v06\\_n2/culti\\_ostra.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/biologia/v06_n2/culti_ostra.htm).
- Barliza, F. y C. Quintana. 1992. Contribución al desarrollo de la ostricultura en la Ciénaga Grande de Santa Marta. Tesis de grado de Ingeniero Pesquero. Universidad del Magdalena. 159 p
- Cáez, J. y G. Vélez. 2000. Reproducción artificial y levante de larvas de la ostra de mangle *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) con el fin de elaborar un método aplicable a procesos de repoblamiento de la especie en la CGSM. Santa Marta. Tesis de grado de Ingeniero Pesquero. Universidad del Magdalena. 250 p.
- Ciardelli, F. 1970. Estudio preliminar de las ostras de la Ciénaga Grande de Santa Marta y base para mejorar su producción. Barranquilla, INDERENA, Centro de Investigaciones de Ciencias Marinas. 28 p.
- Dégremont, L., B. Ernande, E. Bédier y P. Boudry. 2007. Summer mortality of hatchery-produced Pacific oyster spat (*Crassostrea gigas*). I. Estimation of genetic parameters for survival and growth. Aquaculture 262: 41-53.
- Díaz, J.M. y M. Puyana. 1994. Moluscos del Caribe Colombiano. Un catálogo ilustrado. COLCIENCIAS-Fundación Natura-INVEMAR, Bogotá. Colombia. 291 p
- Frias, J. A. 1995. Memorias curso cultivo de la ostra del mangle. Hotel Santamar, Santa Marta, Mayo 18 - 20 de 1995.
- García, J., H.M. González., N. Ayala y C.F. Félix. 1982. Producción de semilla de ostión Japonés *Crassostrea gigas* en el ejido de Eréndira, B. C. México. Revista Latinoamericana de Acuicultura 13: 52-59.
- Helm, M.M., N. Bourne, N. y A. Lovatelli. 2006. Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico. FAO Documento Técnico de Pesca 471. Roma. 184 p.
- Hernández, J.C.A. y C.G Márquez. 1987. Potencial cosechable de la ostra *Crassostrea rhizophorae* Guilding, 1828, en la Ciénaga Grande de Santa Marta, Colombia. Acta Biol. Colombiana 1(3): 25-40.
- INPA Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura. 1996. Boletín Estadístico Pesquero. 107 p.
- Nikolic, M. y S.J. Alfonso. 1970. El ostión de Mangle *Crassostrea rhizophorae*, Guilding 1828. Cuba, Explotación del recurso y posibilidades del cultivo. FAO, Fish-Rep. Roma. 220 p.
- Nikolic, M. y J. Boffil. 1971. El ostión de Mangle *Crassostrea rhizophorae*, Guilding 1828. Algunas observaciones sobre sus dimensiones, pesos y sexos. FAO, Fish-Rep. Roma. 220 p.



- Paulet, Y.M., A. Lucas y A. Gerard. 1988. Reproduction and larval development in two *pectin maximus* (L.) populations from Brittany. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 119: 145-156.
- Peláez, L. 1985. Ensayos sobre el cultivo de la ostra *Crassostrea columbiensis* en la ensenada de Tumaco. Tesis de Pregrado. Universidad del Valle.
- Quayle, D. B. 1981. Ostras tropicales; cultivo y métodos. Ottawa: CIDD. 84 p
- Ramírez, M. y A. Salazar. 1977. Estudio preliminar sobre el cultivo artificial del ostión del mangle *Crassostrea rhizophorae*, Guilding (1828) en la Bahía de Cispatá, Córdoba. Tesis de biología marina. Universidad Jorge Tadeo Lozano. Bogotá. 139 p.
- Rampersad, J.N. y D.R. Ammons . 1992. Production of *Crassostrea rhizophorae* (Guilding) spat from hatchery-reared larvae. Aquaculture 106: 253-260.
- Rampersad, J. N., J.B. Agard y A. Ammons. 1994. Effects of gamete concentration on the in vitro fertilization of manually extracted gametes of the oyster (*Crassostrea rhizophorae*). Aquaculture 123: 153-162.
- Rico-Villa, B., J.R. Le Coz, C. Mingant y R. Robert. 2006. Influence of phytoplankton diet mixtures on microalgae consumption, larval development and settlement of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). Aquaculture 256: 377-388.
- Rivera, L.F. 1978. Experiencias en el cultivo de ostra *Crassostrea rhizophorae* en la Ciénaga Grande de Santa Marta y estudio preliminar en la dinámica de su población. Tesis de biología marina. Universidad Jorge Tadeo Lozano. Cartagena. 95 p.
- Rodríguez, H. y A. Lagos. 2000. Cultivo de la ostra de mangle *Crassostrea rhizophorae*. Colombia Ciencia y Tecnología 18: 17-20.
- Sahavacharin, S., A. Chindanond, S. Amornjaruchit, J. Nugrand, K. Silapajarn, V. Chawivansorn, S. Limsurat, C.L. Angell, E.W. McCoy, K. Mutarasint y M. Potaros. 1988. Hatchery techniques for tropical bivalve molluscs, pp 19-30. En: E. W. McCoy y T. Chongpeepien. (Eds.). Bivalve molluscs culture research in Thailand. ICLARM Technical reports 19. 170 p.
- Santos, A. E. y I. A. Nascimiento. 1985. Influence of gamete density, salinity and temperature on the normal embryonic development of the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* Guilding, 1828. Aquaculture 47: 335-352.
- Song, Y.P., M. Suquet, I. Quéau, y L. Lebrun. 2009. Setting of a procedure for experimental fertilisation of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) oocytes. Aquaculture 287: 311-314.
- Squires, H.J. y G. Riveros. 1971. Algunos aspectos de la biología del ostión (*Crassostrea rhizophorae*) y su producción potencial en la ciénaga grande de Santa Marta. Proyecto para el desarrollo de la pesca marítima en Colombia, Serie Estudios e Investigaciones 6: 1-16.
- Suquet, M., C. Amourda, C. Mingant, I. Quéau, L. Lebrun y R. Brizard. 2007. Setting of a procedure for experimental incubation of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) embryos. Aquaculture 273: 503-508.
- Tan, S.H. y T.M. Won. 1996. Effect of salinity on hatching, larval growth, survival and settling in the tropical oyster *Crassostrea belcheri* (Sowerby). Aquaculture 145: 129-139.
- Universidad del Norte. 2005. Caracterización y diagnóstico analítico de la cuenca hidrográfica de la Ciénaga de Mallorquín. Plan de ordenamiento y manejo de la cuenca hidrográfica de la Ciénaga de Mallorquín. 37 p.
- Velasco, L.A. y J. Barros 2008. Puesta y fertilización en los pectínidos de Colombia. En: Velasco, L.A. (Ed.). Biología y cultivo de los pectínidos de interés comercial de Colombia 4. Fondo Editorial Universidad del Magdalena. 258 p.
- Vélez, A. 1977. Ciclo anual de reproducción del ostión *Crassostrea rhizophorae* (Guilding) de Bahía de Mochima. Bol. Inst. Ocean. 16:87-98.
- Vélez, A., E. Alifa y L. Freitas. 1993. Inducción a la reproducción de la viera *Euvola ziczac* (Mollusca: Bivalvia), maduración y desove. Caribb. J. of Sci. 29: 209-213.
- Wedler, E. 1978. Ostricultura en la Ciénaga Grande de Santa Marta – Proyecto Especial de COLCIENCIAS Primera Etapa. 64 p.
- Wedler, E. 1980. Experimental spat collection and growing of the oyster, *Crassostrea rhizophorae*, Guilding, in the Ciénaga Grande de Santa Marta, Colombia. Aquaculture 21: 251-259.
- Wedler, E. 1983. El cultivo de la ostra *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) en el Caribe Colombiano. Revista Ingeniería Pesquera 3. 76 p.
- Wedler, E. 1998. Introducción en la acuicultura, con énfasis en los neotrópicos. Universidad del Magdalena. Santa Marta (Colombia). 388 p.
- Wedler, E. 2003. Informe final proyecto: Desarrollo de un programa de tecnologías de acuicultura como combinación entre producción pesquera y manejo ambiental en lagunas eutrofizadas. COLCIENCIAS-UNIMAG. 200 p.
- Yoo, S.K. y K.H. Kant. 1996. Spawning induction according to stimulating treatment and influence of water temperature on egg development and larvae rearing of oyster, *Crassostrea nippona*. Korean J. Malacol. 12(2): 91-97.
- Yukihira, H y F. Alarcón. 1987. Guía ilustrada: producción artificial de semilla del ostión de mangle a nivel experimental. San José, Costa Rica: CONICIT-UNA-JOVC. 53 p.

Fecha de recepción: 04/12/2009  
 Fecha de aceptación: 30/04/2010

