

Universidad de San Carlos de Guatemala
Centro de Estudios del Mar y Acuicultura

Informe final
Práctica Profesional Supervisada

Cultivo de ostra japonesa, *Crassostrea gigas* bajo condiciones de laboratorio y cultivo de fitoplancton marino en la Estación de Biología Marina “Juan Bertoglia Richards” de la Universidad Nacional de Costa Rica



Presentado por:

Elliott Iván Alfredo De León Novoa

**Para otorgarle el Título de
Técnico en Acuicultura**

Guatemala, febrero de 2018

Universidad de San Carlos de Guatemala
Centro de Estudios del Mar y Acuicultura

Informe final
Práctica Profesional Supervisada

Cultivo de ostra japonesa, *Crassostrea gigas* bajo condiciones de laboratorio y cultivo de fitoplancton marino en la Estación de Biología Marina “Juan Bertoglia Richards” de la Universidad Nacional de Costa Rica



Presentado por:

Elliott Iván Alfredo De León Novoa
Registro académico: 201440164

Para otorgarle el Título de
Técnico en Acuicultura

Guatemala, febrero de 2018

Universidad de San Carlos de Guatemala
Centro de Estudios del Mar y Acuicultura

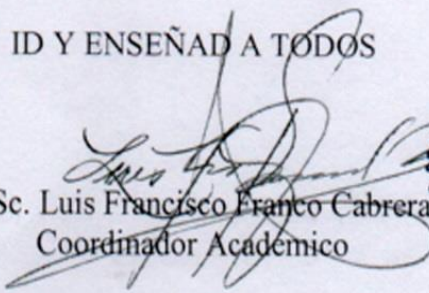
Consejo Directivo

Presidente	Msc. Héctor Leonel Carrillo Ovalle
Secretaria	Msc. Kathya Iturbide Dormon
Representante Docente	M.A. Olga Marina Sánchez Cardona
Representante Docente	Msc. Erick Roderico Villagrán Colón
Representante del Colegio de Médicos Veterinarios y Zootecnistas	Licda. Liliana Maricruz Maldonado Noriega
Representante Estudiantil	T.A. María Alejandra Paz Velásquez
Representante Estudiantil	T.A. Marcos Estuardo Ponciano Nuñez



El Coordinador Académico del Centro de Estudios del Mar y Acuicultura -CEMA-, después de conocer el dictamen de la Profesora del curso M.Sc. Irene Franco Arenales, al informe de la Práctica Profesional Supervisada, del estudiante Elliott Iván Alfredo De León Novoa, titulado "Cultivo de ostra japonesa, *Crassostrea gigas* bajo condiciones de laboratorio y cultivo de fitoplancton marino en la Estación de Biología Marina "Juan Bertoglia Richards" de la Universidad Nacional de Costa Rica", da por este medio su aprobación a dicho trabajo y autoriza su impresión.

ID Y ENSEÑAD A TODOS


M.Sc. Luis Francisco Franco Cabrera
Coordinador Académico



Guatemala, febrero 2018

Acto que dedico

A mis padres:

Rosa Novoa, por todo su amor y cuidados, por ser la persona que más respeto y admiro.
No encuentro palabras para agradecerle todo lo que me ha dado.

Alfredo De León, por ser un amigo, por sus consejos y apoyo incondicional.

A mis hermanas:

Fátima y Tracy, gracias por esta para mí en los momentos difíciles y brindarme siempre su cariño y apoyo.

A mis hermanos:

Rafael Aparicio y Brian Uzumaki.

Agradecimientos

A la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Al Centro de Estudios del Mar y Acuicultura.

A la Estación de Biología Marina Juan Bertoglia Richards, por permitirme realizar mi Práctica Profesional Supervisada (PPS) en sus instalaciones.

A M. Sc. Sidey Arias, Lic. Gerardo Zúñiga, Bach. Oscar Pacheco y Licda. Silvia Ramírez, por permitirme formar parte de su equipo de trabajo y contribuir con mi formación académica y crecimiento personal.

A Oscar Pacheco y su esposa Rebeca Quesada. Su calidad humana y experiencias vividas son algo que nunca olvidare.

A Pablo Quiró y Anthony Álvarez de la granja ostrícola Huertos Marinos, por permitirme trabajar junto a ustedes como uno más y ayudarme en todo momento.

Resumen

La Práctica Profesional Supervisada se realizó en la Estación de Biología Marina, Juan Bertoglia Richards de la Universidad Nacional de Costa Rica. Trabajando dentro de los laboratorios de Cultivo y Reproducción de Moluscos y Laboratorio de Cultivo de Plancton Marino.

El laboratorio de Producción de Plancton Marino es el encargado de proporcionar el alimento para la fase larvaria de la ostra japonesa *Crassostrea gigas*. Dentro del laboratorio se cultivan varias especies de microalgas pero la que se utiliza exclusivamente para la alimentación de las larvas es *Isochrysis galbana*. Dentro de este laboratorio se realizaron todas las actividades relacionadas a la producción de fitoplancton marino las cuales incluyeron el conteo de microalgas para determinar la densidad del cultivo, preparación de medio de cultivo, mantenimiento de cepas puras y escalamiento y desdoble del cultivo de microalgas.

Todo el proceso de larvicultura se trabaja dentro del laboratorio de Cultivo y Reproducción de Moluscos, desde la inducción al desove de reproductores hasta la comercialización de semilla. En este laboratorio se ejecutaron distintas actividades ligadas al proceso de producción de semilla de la ostra *Crassostrea gigas* tales como la limpieza, cepillado y desinfección de estanques utilizados para el cultivo, revisión superficial del estado de cultivo de las larvas, conteos poblacionales, cálculo de raciones de alimento, preparación de larvas y materiales para entrar a la etapa de fijación y biometría de larvas.

Para finalizar se le dio seguimiento a dos grupos de semillas durante su cultivo en el mar en la granja ostrícola Huertos Marinos ubicada en Costa de pájaros, provincia de Puntarenas, esto con el fin de proporcionar la sobrevivencia y crecimiento diario. También se tomaron diariamente parámetros ambientales para determinar posibles causas de mortalidad.

Índice de contenido

1. INTRODUCCION	1
2. OBJETIVOS	2
2.1. OBJETIVO GENERAL	2
2.2. OBJETIVO ESPECIFICO	2
3. DESCRIPCION GENERAL DE LA UNIDAD DE PRACTICA	3
3.1. UBICACIÓN GEOGRAFICA	3
3.2. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ENTORNO NATURAL	5
3.3. ACTIVIDADES DE LA UNIDAD DE PRACTICA	6
4. ACTIVIDADES REALIZADAS	13
4.1. DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS	13
4.2. RESULTADOS Y APRENDIZAJE ALCANZADOS	21
5. RECOMENDACIONES	25
6. BIBLIOGRAFIA	26
7. ANEXOS	27

Índice de figuras

Figura 1	Ubicación geográfica de la provincia de Puntarenas, Costa Rica.	3
Figura 2	Cantón Puntarenas, provincia de Puntarenas, Costa Rica. Vista Satelital.	4
Figura 3	Estación de Biología Marina Juan Bertoglia Richards, Puntarenas, Costa Rica. Vista Satelital	4
Figura 4	Zonas de vida en Costa Rica.	6
Figura 5	Organigrama de la Estación de Biología Marina de la Universidad Nacional, Costa Rica.	7
Figura 6	Croquis del Laboratorio del Cultivo y Reproducción de Moluscos.	9
Figura 7	Croquis del Laboratorio de Cultivo de Plancton.	10
Figura 8	Volúmenes que se utilizan en el escalamiento de microalgas.	18
Figura 9	Porcentaje de sobrevivencia diaria de semillas por tratamiento en granja ostrícola Huertos Marinos, Costa de Pajaros, Puntarenas.	21
Figura 10	Promedio de altura diario por tratamiento, en granja ostrícola Huertos Marinos, Costa de Pajaros, Puntarenas.	21
Figura 11	Promedio de longitud diario por tratamiento, en granja ostrícola Huertos Marinos, Costa de Pajaros, Puntarenas.	22
Figura 12	Promedio del comportamiento diario de la temperatura, en granja ostrícola Huertos Marinos, Costa de Pajaros, Puntarenas.	22
Figura 13	Promedio del comportamiento diario de la salinidad en granja ostrícola Huertos Marinos, Costa de Pajaros, Puntarenas.	23
Figura 14	Promedio del comportamiento diario del pH en granja ostrícola Huertos Marinos, Costa de Pajaros, Puntarenas.	23
Figura 15	Promedio del comportamiento diario del oxígeno en granja ostrícola Huertos Marinos, Costa de Pajaros, Puntarenas.	24
Figura 16	Promedio del comportamiento diario de la profundidad secchi en granja ostrícola Huertos Marinos, Costa de Pajaros, Puntarenas.	24
Figura 17	Transferencia de larvas a un nuevo estanque con la ayuda de tamices en la estación de Biología Marina de la Universidad Nacional de Costa Rica.	27
Figura 18	Enjuague con agua dulce de larvas colocadas en camas de fijación en la	

	estación de Biología Marina de la Universidad Nacional de Costa Rica.	27
Figura 19	Depuración de Ostras en la estación de Biología Marina de la Universidad Nacional de Costa Rica.	28
Figura 20	Sistema Upwelling utilizado para el cultivo de semilla en la estación de Biología Marina de la Universidad Nacional de Costa Rica.	28
Figura 21	Tamizaje de semilla en la estación de Biología Marina de la Universidad Nacional de Costa Rica.	29
Figura 22	Limpieza de estanques en la estación de Biología Marina de la Universidad Nacional de Costa Rica.	29
Figura 23	Conteo poblacional de microalgas con cámara de Neubauer en la estación de Biología Marina de la Universidad Nacional de Costa Rica.	30
Figura 24	Mantenimiento de cepas puras en la estación de Biología Marina de la Universidad Nacional de Costa Rica.	30
Figura 25	Desdobles, cultivo de fitoplancton marino en la estación de Biología Marina de la Universidad Nacional de Costa Rica.	31
Figura 26	Biometría de larvas en la estación de Biología Marina de la Universidad Nacional de Costa Rica.	31
Figura 27	Biometría de semillas en granja ostrícola Huertos Marinos, Costa de Pajaros, Puntarenas. (Trabajo de campo, 2017).	32

1. Introducción

Durante la Práctica Profesional Supervisada (PPS), se ponen en práctica todos los conocimientos adquiridos durante los tres años de formación de la carrera de Técnico en Acuicultura, ayudando al estudiante a desarrollar nuevos conocimientos y experiencias dentro de una empresa u institución dedicada a actividades de acuicultura y/o relacionadas al área.

Dicha práctica se realizó en la Estación de Biología Marina (EBM) Juan Bertoglia Richards trabajando en los laboratorios de Cultivo y Reproducción de Moluscos y Laboratorio de Producción de Plancton Marino. También en la fase final de la práctica se trabajó en la Granja Ostrícola Huertos Marinos ubicada en Costa de pájaros, provincia de Puntarenas.

Dentro del Laboratorio de Cultivo y Reproducción de Moluscos se realizaron las siguientes actividades: Limpieza, cepillado y desinfección de estanques de cultivo, recambios diarios, revisión superficial de larvas para verificar el estado del cultivo y la presencia de ciliados y bacterias en el mismo, alimentación de larvas, preparación de materiales para fijación de larvas, transferencia a camas de fijación, biometría de larvas y conteo poblacional de larvas.

Para la producción del alimento de las larvas se trabajó dentro del Laboratorio de Producción de Plancton Marino en el cual se realizaron las siguientes actividades: Limpieza, cepillado y desinfección de tanques, preparación de soluciones madre de metales traza y vitaminas que se utilizan como nutrientes, mantenimiento de cepas puras, escalamiento de cultivo, desdobles de cultivo y conteo de microalgas con cámara de Neubauer para determinar la densidad de algas en el cultivo.

La última fase de la práctica se realizó en la granja Ostrícola Huertos Marinos ubicada en Costa de pájaros, provincia de Puntarenas. Se midieron parámetros ambientales, se realizó biometría de semillas y se determinó la sobrevivencia diaria de la semilla con el fin de poder determinar posibles causas de mortalidad en etapas tempranas del cultivo en el mar.

1. Objetivos

2.1. Objetivo General

Confrontar al estudiante con el ambiente de trabajo de la carrera de Técnico en Acuicultura, a través de una práctica directa, en un contexto institucional o empresarial, y un espacio territorial determinado.

2.2. Objetivos Específicos

Proveer la oportunidad de participar en actividades propias de la acuicultura, pesca y/o manejo de los recursos hidrobiológicos del país, mediante la inserción en la Estación de Biología Marina Juan Bertoglia Richards de la Universidad Nacional de Costa Rica.

Retroalimentar el proceso de enseñanza-aprendizaje, mediante la integración de los conocimientos y experiencias teórico-prácticas adquiridas.

Propiciar el desarrollo y ejercicio de los valores morales y éticos del estudiante en el desempeño profesional.

3. Descripción general de la unidad de práctica

3.1. Ubicación geográfica:

La Estación de Biología Marina Juan Bertoglia Richards se encuentra ubicada en la ciudad de Puntarenas, provincia de Puntarenas a una altitud de 0 MSNM con coordenadas 9°58'35.9"Norte 84°49'44.1"Oeste.

La provincia de Puntarenas limita con las provincias de Guanacaste, Alajuela, San José, Limón y con el país Panamá. Posee una superficie de 11.266 km², lo que la convierte en la provincia más extensa de Costa Rica. Además se encuentra dividida en 11 cantones (Puntarenas, Esparza, Buenos Aires, Montes de Oro, Osa, Quepos, Golfito, Coto Brus, Parrita, Corredores, Garabito) y 43 distritos; también cuenta con 3 islas (Isla de Chira, Isla San Lucas e Isla del Coco). (Guías Costa Rica, 2015)



Figura 1 Ubicación geográfica de la provincia de Puntarenas, Costa Rica. (espanol.mapsofworld.com, 2017).

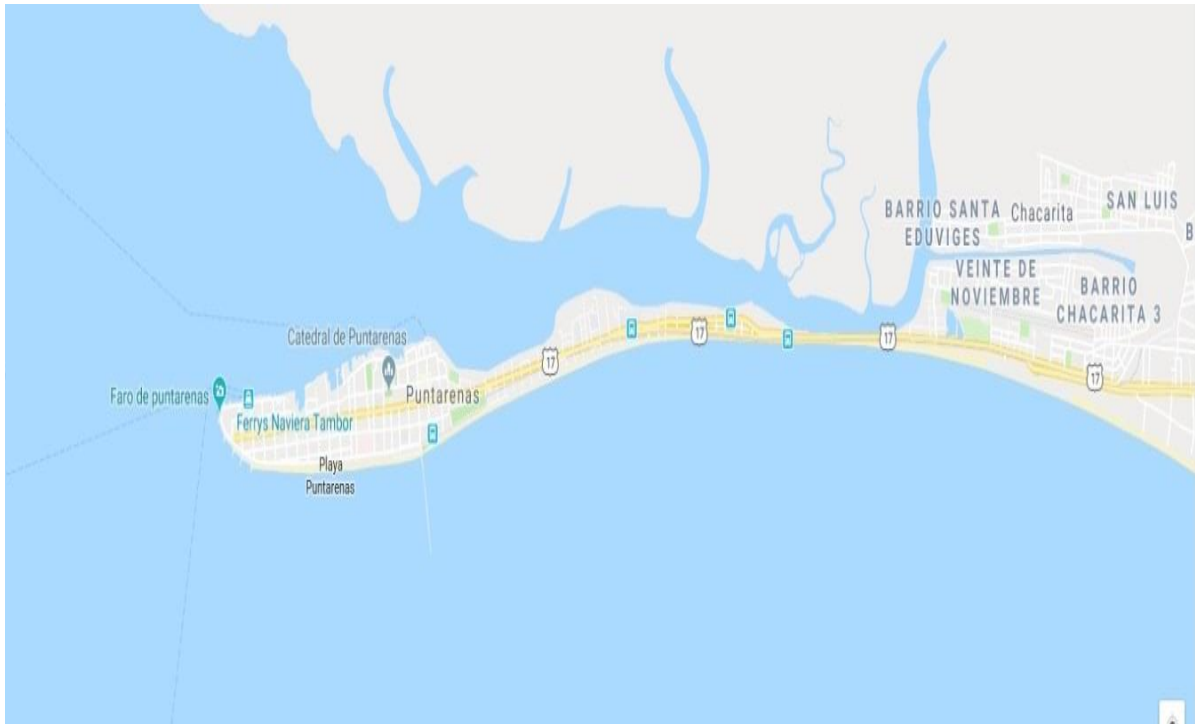


Figura 2 Cantón Puntarenas, provincia de Puntarenas, Costa Rica. Vista Satelital. (Google Maps, 2017).



Figura 3 Ubicación de la Estación de Biología Marina Juan Bertoglia Richards, en el cantón Puntarenas, Costa Rica. Vista Satelital (GoolgeMaps, 2017).

- Vías de acceso:

La provincia de Puntarenas se encuentra a 130 km de la capital de San José (Guías Costa Rica, 2015). Por tierra se puede acceder a Puntarenas desde San José a través de la ruta 27 y ruta 23. Para acceder desde Nicaragua se debe tomar la ruta 1. Ambas conducen a la ruta 17 que se dirige al centro de Puntarenas. También se puede acceder por mar, a través de distintas embarcaciones.

3.2. Descripción general del área:

Según Climate Data (2017) el clima en la provincia de Puntarenas es tropical. En comparación con el invierno, los veranos tienen mucha más lluvia. La temperatura promedio en Puntarenas es 27.2 ° C, este clima es considerado Aw según la clasificación climática de Köppen-Geiger. En el mes de abril se alcanza la mayor temperatura la cual es de 28.8 ° C y en noviembre la más baja la cual es de 26.2 ° C. La precipitación es de 1686 mm al año. El mes más seco es enero, con 5 mm de lluvia. En septiembre, la precipitación alcanza su pico, con un promedio de 314 mm. Posee vientos entre 5 a 33 km/h y se encuentra a una altitud de 0 MSNM.

- Zonas de vida: En Costa Rica el sistema de zonas de vida de Holdridge es uno de los más utilizados para clasificar las formaciones naturales. Es un sistema de clasificación ecológica realmente útil, debe tener límites bien definidos y ser sensible a los pequeños cambios que ocurren en la vegetación ya que muchas veces suele ser a corta distancia, ya sea en uno o varios de los factores ambientales que afectan el desarrollo o la presencia de los ecosistemas (Salazar, 2011).

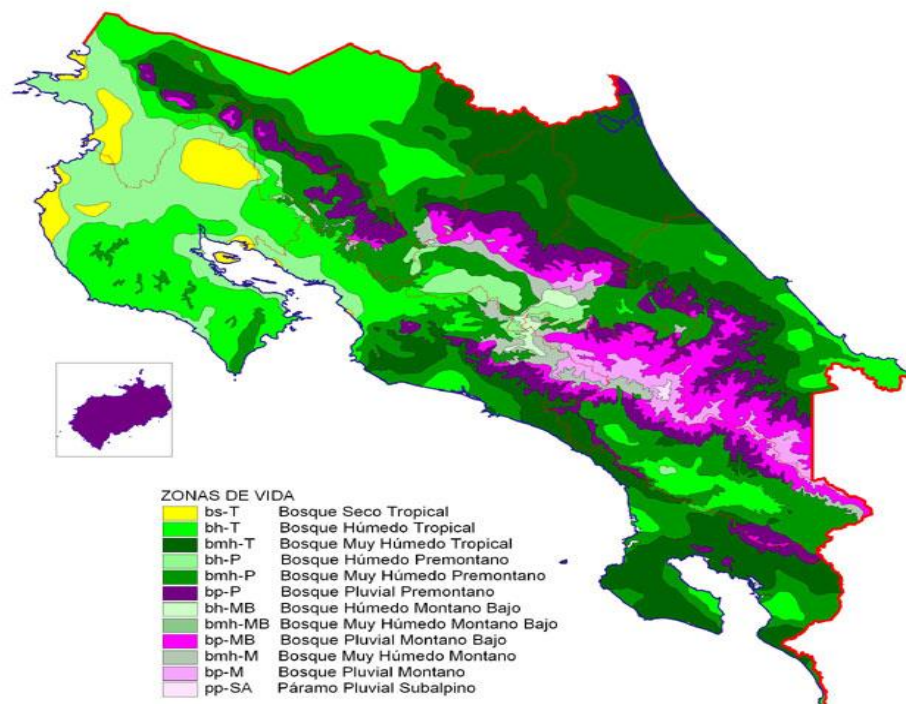


Figura 4 Zonas de vida en Costa Rica (Salazar, 2011).

3.3. Actividades principales de la unidad de práctica:

La Estación de Biología Marina de la Escuela de Ciencias Biológicas es un centro de investigación, extensión y producción para generar pautas para el aprovechamiento sostenible de los recursos marino costero y la formación de profesionales con conocimientos en la sostenibilidad de dichos recursos.

3.3.1. Aspectos filosóficos:

Misión: La Estación de Biología Marina de la Escuela de Ciencias Biológicas es un centro de investigación, docencia, extensión y producción para generar pautas para el aprovechamiento sostenible de los recursos marinos costeros, y la formación de profesionales con conocimiento en las sostenibilidad de dichos recursos.

Visión: Ser líder en la generación y difusión del conocimiento de los recursos marinos y costeros, mediante la investigación, extensión, producción y en la formación de profesionales competitivos, interdisciplinarios y de alto nivel, comprometidos científica, ética y moralmente, con el fin de responder eficazmente a las necesidades de desarrollo de las áreas marino-costeras en armonía con el medio ambiente.

3.3.2. Organización Administrativa:

- Organigrama

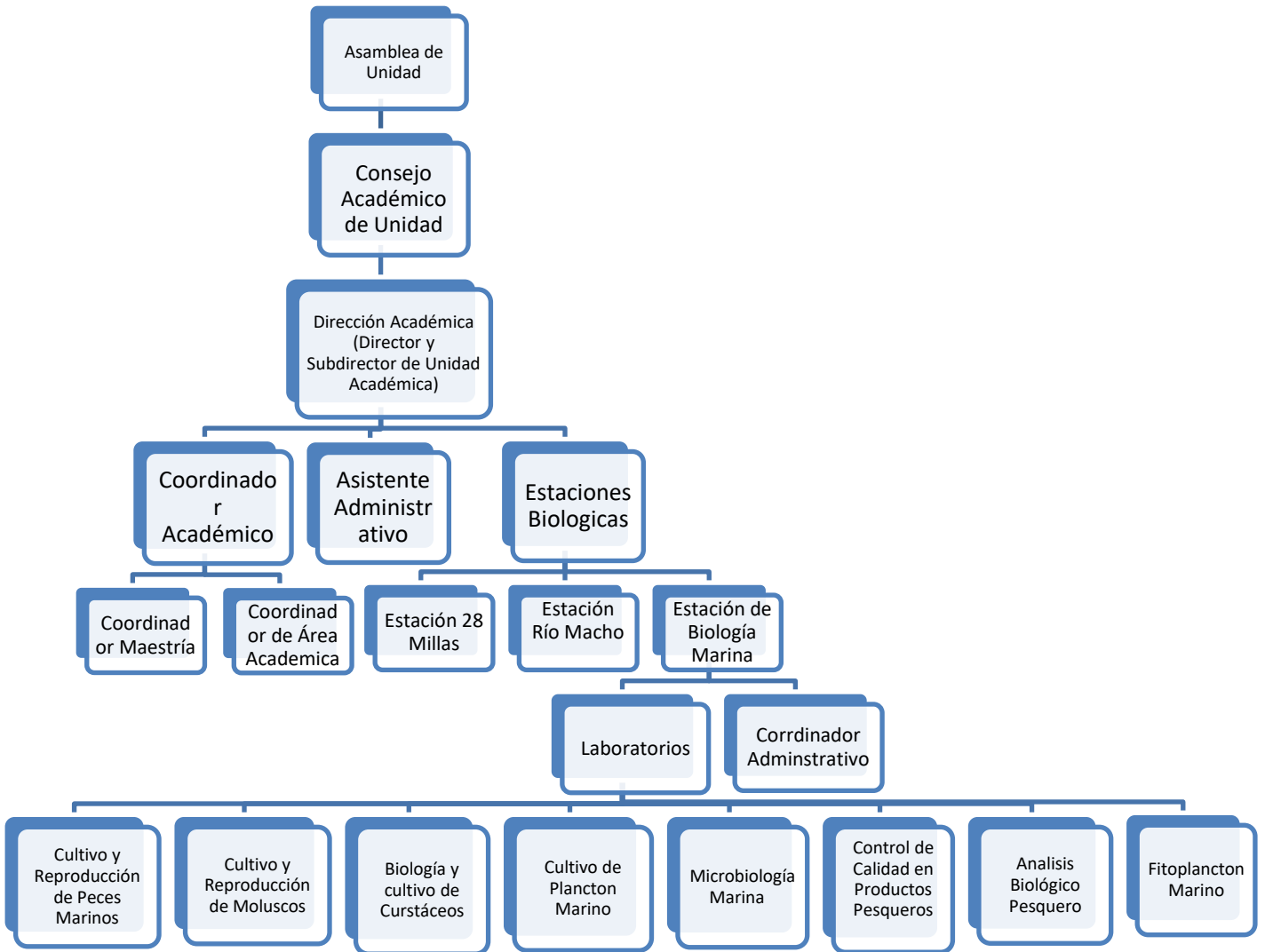


Figura 5 Organigrama de la Estación de Biología Marina de la Universidad Nacional, Costa Rica (Trabajo de Campo, 2017).

- Cantidad y calidades de personal

La estación cuenta con 26 trabajadores divididos en el área administrativa, laboratorios, seguridad, limpieza y mantenimiento.

- ❖ Coordinador Administrativo
 - Lic. Rodolfo Li Pinel
- ❖ Laboratorio de Cultivo y Reproducción de Peces Marinos
 - M. Sc. Jorge Boza
- ❖ Laboratorio de Cultivo y Reproducción de Moluscos
 - Lic. Gerardo Zúñiga Calero, M. Sc. Sidey Arias y Bach. Oscar Pacheco.
- ❖ Laboratorio de Biología y Cultivo de Crustáceos
 - Dr. Jorge Alfaro y M. Sc. Luis Vega
- ❖ Laboratorio de Cultivo de Plancton Marino
 - Licda. Silvia Ramírez
- ❖ Laboratorio de Microbiología Marina
 - Licda. Carolina Marín
- ❖ Laboratorio de Control de Calidad en Productos Pesqueros
 - M. Sc. Cristian Fonseca
- ❖ Laboratorio de Análisis Biológico Pesquero
 - M. Sc. Rosa Soto y Bach. Luis Hernández
- ❖ Laboratorio de Calidad de Agua
 - Licda. Hannia Vega y Bach. Rebeca Quesada

3.3.3. Croquis:

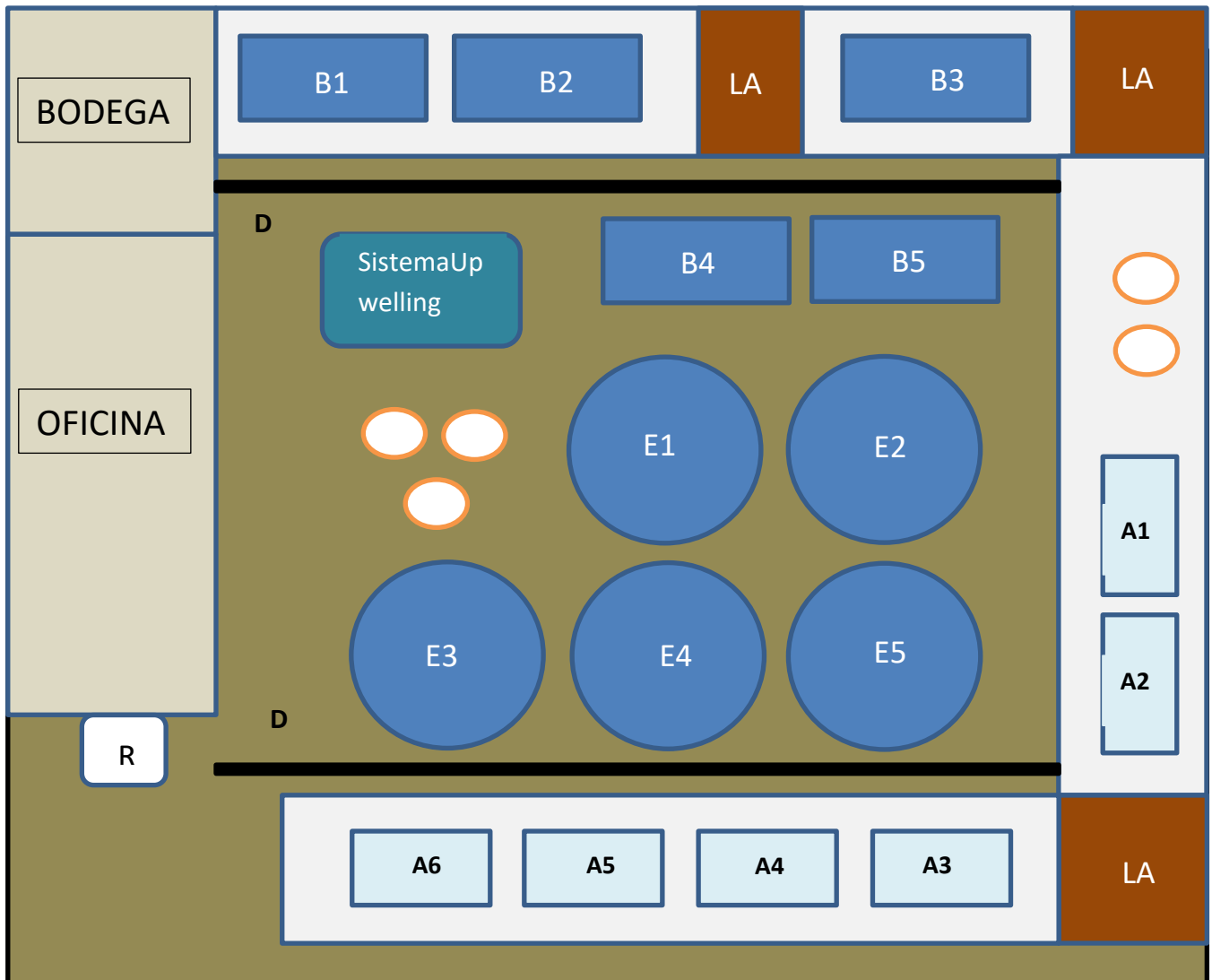


Figura 6 Croquis del Laboratorio del Cultivo y Reproducción de Moluscos. B1-B5: Estanques para larvas en fijación. E1-E5: Estanques de Larvicultura. A1-A6: Estanques para aclimatación de reproductores. LA: Lavadero. D: Drenaje. Sistema Upwelling: Cultivo de semilla. R: Refrigerador. (Trabajo de Campo, 2017)

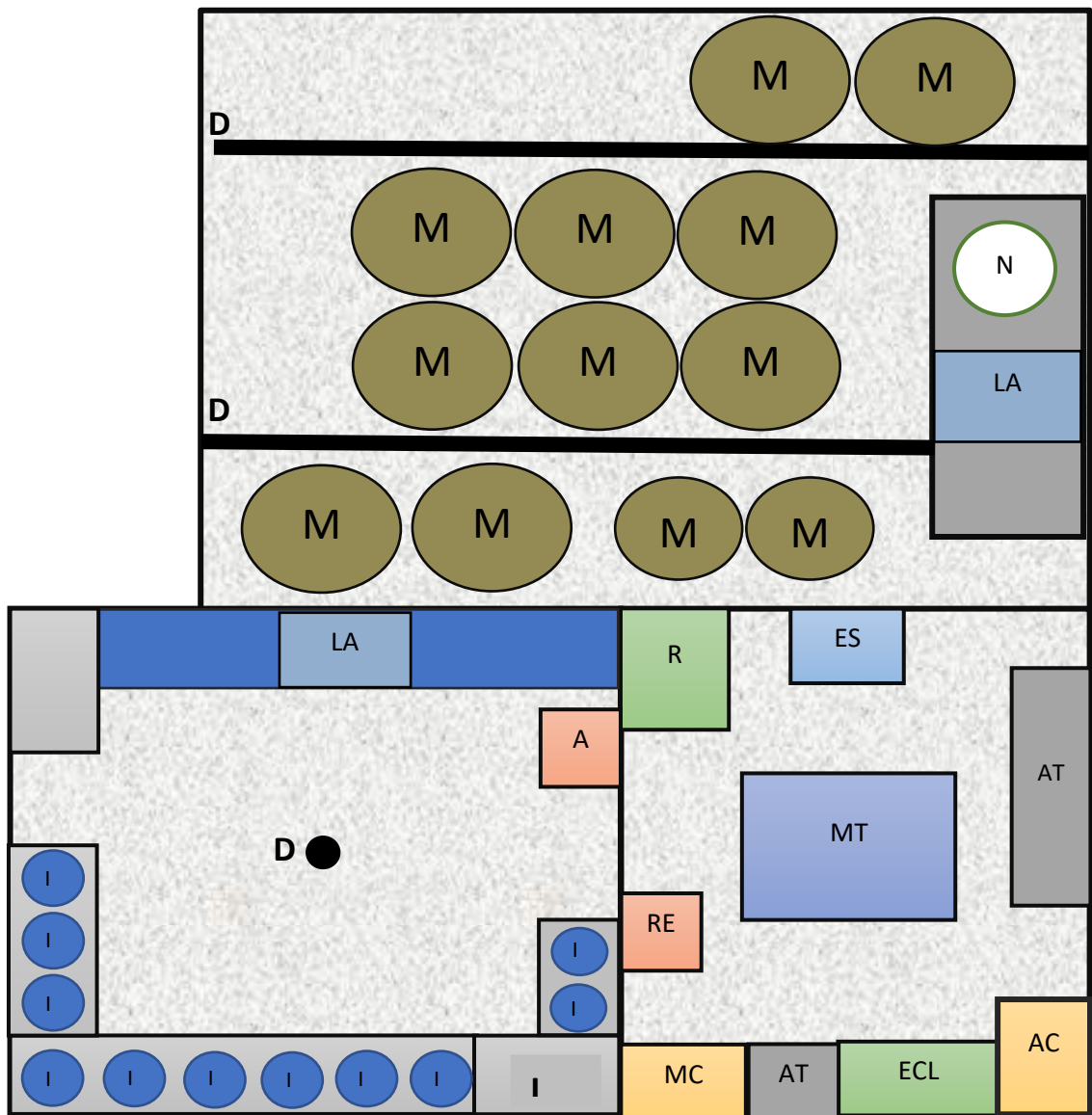


Figura 7 Croquis del Laboratorio de Cultivo de Plancton. M: Tanques de cultivo masivo. N: Tanque con nutrientes. D: Drenaje. LA: Lavadero. I: Cultivos intermedios. A: Autoclave. R: Reactivos. RE: Refrigerador. ES: Escritorio. AT: Área de Trabajo. AC: Almacenamiento de cepas puras. ECL: Estantería Cultivos de Levante. MC: Área de medios de cultivo. MT: Mesa de trabajo. (Trabajo de Campo 2017).

3.3.4. Infraestructura y Equipo:

La estación cuenta con aulas y un centro de cómputo para impartir los diferentes cursos de las carreras. También cuenta con un área de cocina equipada y comedor, una bodega de utilería y limpieza, un taller de reparaciones y mantenimiento, un cuarto de maquinaria, un reservorio/sedimentador y un reservorio en forma de pirámide ubicado a cuatro metros de altura.

Cuenta con laboratorios debidamente equipados y acondicionados para realizar cultivos de moluscos, peces y camarones. Laboratorios para realizar microbiología, control de calidad de los productos pesqueros, fitoplancton marino, histología y evaluación pesquera.

La estación posee dos bombas marca Jacuzzi de 7.5HP para la extracción de agua directamente del mar. Para tratar el agua la estación posee filtros de arena FSI de 50 μm y lámparas de luz UV de marca RainbowLifeGar.

Para el desplazamiento en el mar, la estación cuenta con una embarcación equipada con cocina y literas, así como tres lanchas rápidas con motor fuera de borda.

El Laboratorio de Cultivo y Reproducción de Moluscos se divide en las siguientes tres áreas: oficina, bodega y producción.

El área de producción cuenta con: 5 estanques de 2 toneladas (2000 l) utilizados para larvicultura o almacenamiento de agua tratada, 5 bandejas de 550 l utilizadas para larvas en fijación, camas de fijación, 6 estanques de 350 l para el acondicionamiento de reproductores y un Sistema Upwelling de 2000 l para el cultivo de semillas. También cuenta con dos lavaderos, escobas para cepillado de estanques, cloro y detergente para limpieza y desinfección de estanques, tamices de distintas medidas, y una refrigeradora multiusos. Para el trabajo en campo posee un refractómetro, una sonda multiparamétrica, un disco de Secchi, una balanza semianalítica y una lupa con lámpara.

Dentro del área de oficinas se cuenta con dos microscopios, un microscopio de escala para biometría de larvas, pipetas Pasteur, cajas de Petri, portaobjetos, una cámara de Neubauer, formol al 10% y lugol para la fijación de muestras.

El Laboratorio de Producción de Plancton Marino se divide en dos áreas: levante/cultivos intermedios y producción masiva. El área de levante y cultivos intermedios cuenta con un lavadero, una cámara para el almacenamiento de cepas puras, una estantería para la fase de levante, un área para almacenar medios de cultivo, un refrigerador para almacenar nutrientes y otros químicos, dos microscopios, una cámara de Neubauer, cristalería –tubos de ensayo, beakers, erlenmeyers, pipetas pasteur, botellones de 3 l, porta objetos-, tanques de 30 y 100 l, mecheros, aireadores, reguladores e iluminación en los cultivos. El área de producción masiva cuenta con dos estanques de 500 l y 10 estanques de 2000 l, un lavadero, piedras aireadoras, y equipo para la limpieza y desinfección de estanques –cloro, detergente, escobas-.

4. ACTIVIDADES REALIZADAS

4.1. Descripción de las actividades realizadas:

4.1.1. Actividad No. 1: Manejo del cultivo larvario de la Ostra japonesa *Crassostrea gigas*.

El cultivo larvario de la ostra japonesa requiere de un manejo diario, esto con el fin de aumentar la eficiencia del cultivo. Las larvas se encuentran contenidas en dos tanques de 2000 l, el manejo se inició tomando tres muestras de cada estanque de larvas en placas de 5 ml para realizar una observación superficial en microscopio, con la cual se pudo determinar la capacidad natatoria de las larvas, contenido de la glándula digestiva, presencia de ciliados, y población bacteriana. Luego se realizó un conteo de larvas dentro de las placas para poder determinar la densidad de larvas en el cultivo (larvas/ml).

Luego de la toma de muestras se realizó limpieza y recambio del 100% a los estanques de cultivo, esto con la finalidad de evitar la acumulación de metabolitos potencialmente dañinos para el desarrollo de las larvas y disminuir la presencia de ciliados y la carga bacteriana. Al momento de vaciar el estanque se debe colocó en la tubería de salida un tamiz de 75 μm para que las larvas queden retenidas en él. Las larvas recolectadas en los tamices fueron transferidas a otros estanques previamente llenados con agua de mar filtrada y tratada con luz UV.

A los estanques vacíos se les realizó un enjuague con agua dulce, seguido de un cepillado para eliminar la materia orgánica adherida a las paredes del estanque, seguido de otro enjuague con agua dulce. Luego se realizó otro cepillado agregando detergente y cloro, se realizó un enjuague con agua dulce para eliminar el exceso de cloro-detergente y se realizó un último enjuague con agua salada. Para finalizar los estanques fueron llenados nuevamente con agua salada filtrada y tratada con luz UV, dejándolos preparados para ser utilizados al día siguiente.

4.1.2. Actividad No. 2: Fijación de larvas.

Con la ayuda de una maquina moladora se realizó una molienda de concha y se pasó por tamices de 480 μm y 250 μm , la concha molida que queda entre estas dos medidas tiene el

tamaño ideal para ser utilizada como sustrato para la fijación de las larvas. Se llenaron dos bandejas de 550 l y se colocaron 2 camas de fijación en cada estanque, a las camas de fijación se les colocó 250 ml de concha molida (sustrato) a cada una. El número de camas por bandeja va a variar conforme empiecen a entrar una mayor cantidad de larvas a la etapa de fijación.

Se colectaron todas las larvas mayores a 250 μm de los estanques de cultivo con la ayuda de un tamiz de dicha medida y son fueron colocadas en un tanque de 100l, las larvas menores a esa medida continuaron con el proceso normal de cultivo. Luego en cuatro tamices menores a 250 μm se colectaron 25L en cada tamiz del tanque de larvas de 100L para obtener la misma cantidad de larvas en cada tamiz.

Los cuatro tamices se protegieron con papel periódico humedecido y se refrigeraron por una hora a 5 °C. Esta técnica es utilizada para estimular y potenciar la fijación de las larvas. Luego de una hora los tamices fueron retirados del refrigerador y se colocaron las larvas contenidas en los tamices en las camas de fijación (un tamiz por cama).

4.1.3. Actividad No. 3: Biometría de larvas que entran a fijación.

Del tanque de larvas que entran a fijación se tomó una muestra y se fijó con formol al 10%, se le realizó biometría a 30 larvas.

Para realizar las mediciones se utilizó un microscopio con escala incorporada en el ocular izquierdo, se utilizó el aumento 10x y se procedió a medir la altura y la longitud. La escala esta enumerada del 0 al 5 y entre cada número se pueden contar 20 rayas. Para obtener la medida de la larva en micras se de multiplicar el número de rayas que mide por el factor de conversión 5.3.

Esto se realizó con cada grupo de larvas que entró a fijación.

4.1.4. Actividad No. 4: Limpieza y recambio de agua de estanques de larvas en fijación y recién fijadas.

Dentro del laboratorio se utilizaron cinco bandejas de 550 l que pueden tener hasta un máximo de tres camas que se utilizan para la fijación de larvas. A estas bandejas se les

realizó recambios diarios del 100% para eliminar el exceso de materia orgánica, disminuir la presencia de ciliados y la carga bacteriana.

A las camas que contienen las larvas se les realizó un enjuague con agua dulce (las larvas o semillas en este punto ya toleran cantidades bajas de agua dulce) y luego con agua salada, para disminuir ciliados y bacterias. Luego con una brocha o cepillo se le realizó una limpieza a las paredes internas y externas de las camas para eliminar la materia orgánica adherida.

A las bandejas se les realizó un cepillado y luego con una manguera se provocó un efecto vortex para que toda la materia orgánica se acumulara en el centro de la bandeja y pudiera ser sifoneada con mayor facilidad. Luego se realizó el llenado de las bandejas con agua de mar filtrada y tratada con luz UV.

4.1.5. Actividad No. 5: Alimentación de larvas de cultivo y larvas en fijación de la Ostra japonesa *Crassostrea gigas*.

La alimentación se llevó acabo de manera diaria con el fin de restaurar la concentración de células alimenticias para compensar aquellas células consumidas durante el período anterior de 24 horas, añadiendo algas recién cosechadas y se realizaba luego de hacer los recambios de agua en los estanques o bandejas.

El encargado de proporcionar el alimento para las larvas es el laboratorio de Producción de Plancton Marino, a pesar que este laboratorio cuenta con cepas de distintas especies de microalgas para su cultivo se utilizó exclusivamente la especie *IsochrYSIS galbana* para la alimentación en el laboratorio de moluscos. El alimento es bombeado hacia el laboratorio de producción de moluscos a través de un sistema de tuberías que conecta a ambos laboratorios.

A las larvas se les proporcionó una ración diaria de alimento, con la cual se buscó mantener una concentración de 80,000 microalgas/ml en los estanques de cultivo y 150,000 microalgas/ml en las bandejas que contienen a las larvas en fijación. Para calcular la ración que nos permite mantener esas densidades en los estanques se utilizó la formula $C_1V_1 = C_2V_2$.

4.1.6. Actividad No. 6: Preparación de medios de cultivo y nutrientes en el Laboratorio de Producción de Plancton Marino.

El Laboratorio de Producción de Plancton Marino se trabajaron los cultivos de microalgas utilizando el medio llamado F/2 y su solución madre se preparó con 5 nutrientes esenciales agregando un nutriente extra cuando se quieren cultivar diatomeas, estos nutrientes son: Cloruro de Amonio, Nitrato de Sodio, Fosfato de Potasio, Metales Traza, Vitaminas, y para cultivar diatomeas se debe agregar Metasilicato de Sodio. Estos nutrientes siempre se mantienen en refrigeración para que no pierdan su eficiencia.

- Preparación de medios de cultivo:
 - Nitrato de Sodio 1 ml/l
 - Cloruro de Amonio 1 ml/l
 - Fosfato de Potasio 1 ml/l
 - Vitaminas 1 ml/l
 - Metales Traza 0.5 ml/l
 - Metasilicato de sodio 1 ml/l

Luego de preparar el volumen deseado, es colocó el medio en erlenmeyers y botellas de vidrio de distintos volúmenes para luego ser introducidos en la autoclave para su esterilización a 121 °C por 8 minutos a 1 atm de presión.

Dentro del laboratorio también se prepararon soluciones madre de los siguientes nutrientes:

- Metales Traza:
 - Hierro 3.5 g/l
 - EDTA 4 g/l
 - ZnSO₄ 1 ml/l
 - CuSO₄ 1 ml/l
 - NaMoO₄ 1 ml/l
 - CoCl₂ 1 ml/l
 - MnCl₂ 1 ml/l

- Vitaminas:
 - Vitamina (B12) 1ml/l
 - Tiamina 0,2 g/l
 - Biotina 10 ml/l

- Nutrientes para el cultivo masivo:
 - Nitrato de potasio cristalino 91.16 g/l
 - Fosfato monoamónico (MCP Técnico Soluble) 4.2 g/l.

4.1.7. Actividad No. 7: Escalamiento del cultivo de microalgas.

La producción semanal de microalgas varía entre 8 10 toneladas (1TON = 1000 l).

El escalamiento de microalgas se realizó cada tres días en el siguiente orden:

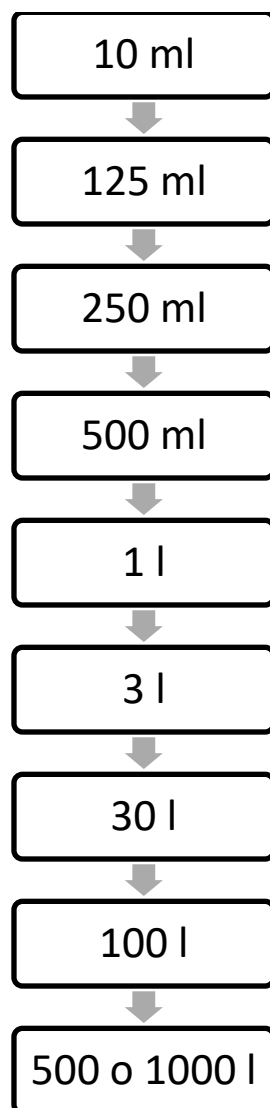


Figura 8 Volúmenes que se utilizan en el escalamiento de microalgas (Trabajo de Campo, 2017).

4.1.8. Actividad No. 8: Mantenimiento de cepas puras en el Laboratorio de Producción de Plancton Marino.

Para realizar el mantenimiento de las cepas se debe renovar el medio de cultivo que las contiene. El nuevo medio que se utilizó llevó el siguiente proceso: Primero se autoclavea agua marina previamente clorada a 121 °C por 8 minutos a 1 atm de presión. Luego de retirar el agua marina de la autoclave se le adicionaron los nutrientes esenciales incluyendo los silicatos, el medio de cultivo preparado se distribuyó en los tubos de ensayo a utilizar y se volvió a introducir a la autoclave para realizar una segunda esterilización.

Con el medio de cultivo preparado se procedió a limpiar y esterilizar el área de trabajo con alcohol y cloro. Se colocaron las cepas para realizarles el mantenimiento y siempre se debe trabajó cerca de la llama de un mechero para disminuir las probabilidades de contaminación de las cepas. Se vertió el 50% del contenido de las cepas en un tubo de ensayo con el medio de cultivo nuevo al 50% de su capacidad, cuando se finaliza la renovación de medios de una especie de microalga se debe desinfectar nuevamente el área y los guates de trabajo antes de empezar a trabajar con una especie diferente, para evitar contaminar los cultivos con especies de cepas distintas.

Al finalizar se rotuló con la fecha en que se realizó el mantenimiento y código de la especie trabajada.

Se le realizó una renovación de medios a las siguientes especies:

- *Chaetoceroscalcitrans*
- *Phaeodactylumtricornutum*
- *Nitzschiabrevirostris*
- *Dunaliellatertiolecta*
- Sp. de aislamiento 002-11

4.1.9. Actividad No. 9: Levantamiento de datos: crecimiento y sobrevivencia de semilla durante los primeros días de cultivo en el mar y parámetros ambientales en granja ostrícola Huertos Marinos ubicada en Punta de Pájaros, Puntarenas.

Durante 13 días se tomaron datos de crecimiento y sobrevivencia a dos tratamientos de semillas distintos, al tratamiento 1 se le tomó los datos ya mencionados diariamente y al

Tratamiento 2 se tomaban datos cada 3 días. En cada tratamiento se tenía un total de 6000 semillas y se encontraban distribuidas en dos linternas que contenían 3000 semillas cada una.

- **Biometría:** Por cada linterna se tomaba una muestra de 50 semillas a las cuales se les realizaba una medición de altura y longitud con la ayuda de un vernier de reloj y una lámpara con lupa.
- **Determinación de sobrevivencia:** por cada linterna se tomaban 3 grupos de 100 semillas y se les extraía la humedad colocándolas sobre papel toalla. Luego con la ayuda de una balanza semianalítica se tomaban los pesos de los tres grupos de semillas, luego se promediaba el peso de las 100 semillas y se pesaba la totalidad de las semillas que se encontraban en la linterna. Con el peso promedio de las 100 semillas y el peso total de todas las semillas se realizaba una regla de 3 sencilla para determinar la población total y poder tener el % de sobrevivencia diario.

Diariamente con la ayuda de una sonda multiparamétrica se tomaron los siguientes parámetros en el sistema de cultivo en el mar por la mañana y por la tarde: Temperatura (°C), Salinidad (ppm), pH y oxígeno disuelto (mg/l). También se tomó diariamente la profundidad Secchi.

Conforme avanzaron los días de cultivo el crecimiento y la sobrevivencia de las larvas mostro variaciones significativas, esto se debe a que las semillas no tienen una misma velocidad de crecimiento y provocando que se tomara como muestra muchas veces ostras muy pequeñas u ostras muy grandes. A partir del día 11 se realizó una separación de tallas con el objetivo de obtener datos más exactos.

Los parámetros ambientales en el cultivo se mostraron estables y parecieran no afectar de ninguna manera al cultivo.

4.2. Resultados y aprendizaje alcanzados:

4.2.1. Determinación de sobrevivencia de semilla:

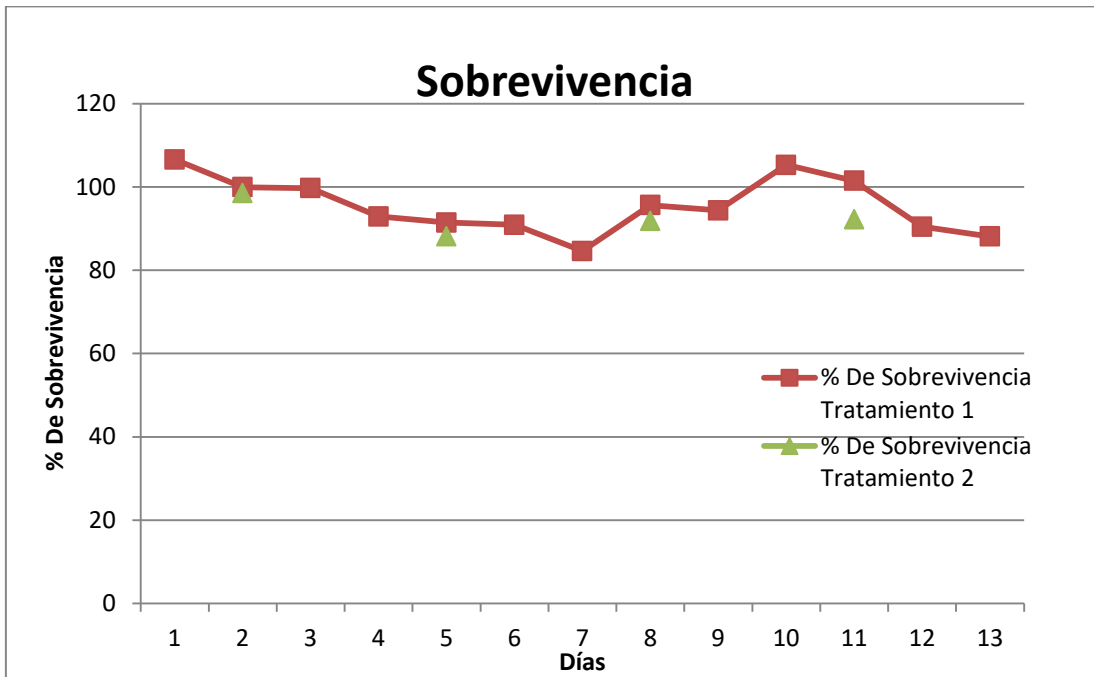


Figura 9 Porcentaje de sobrevivencia diaria de semillas por tratamiento en granja ostrícola Huertos Marinos, Costa de Pajaros, Puntarenas. (Trabajo de Campo, 2017)

4.2.2. Crecimiento de semilla:

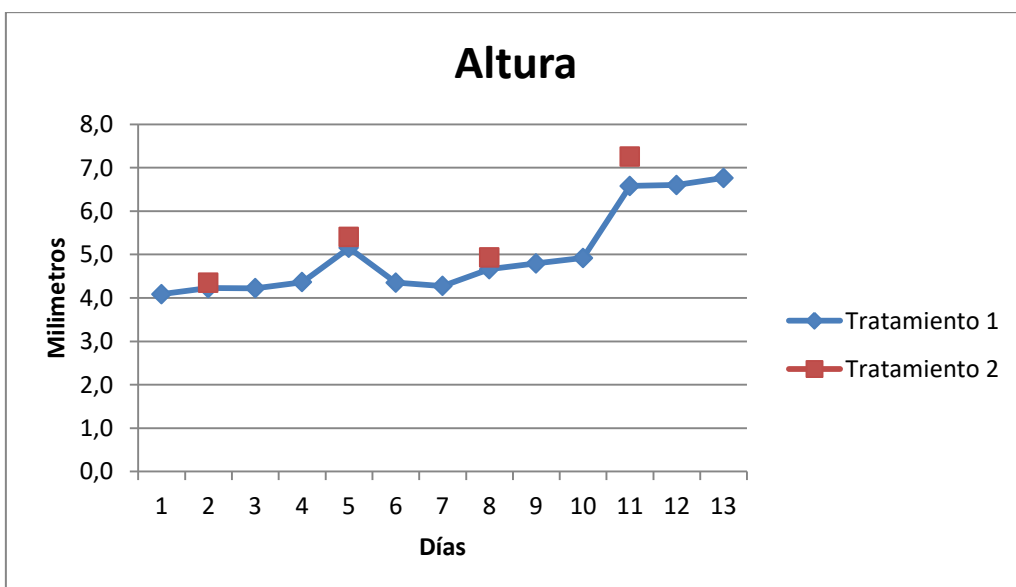


Figura 10 Promedio de altura diario por tratamiento, en granja ostrícola Huertos Marinos, Costa de Pajaros, Puntarenas. (Trabajo de Campo, 2017)

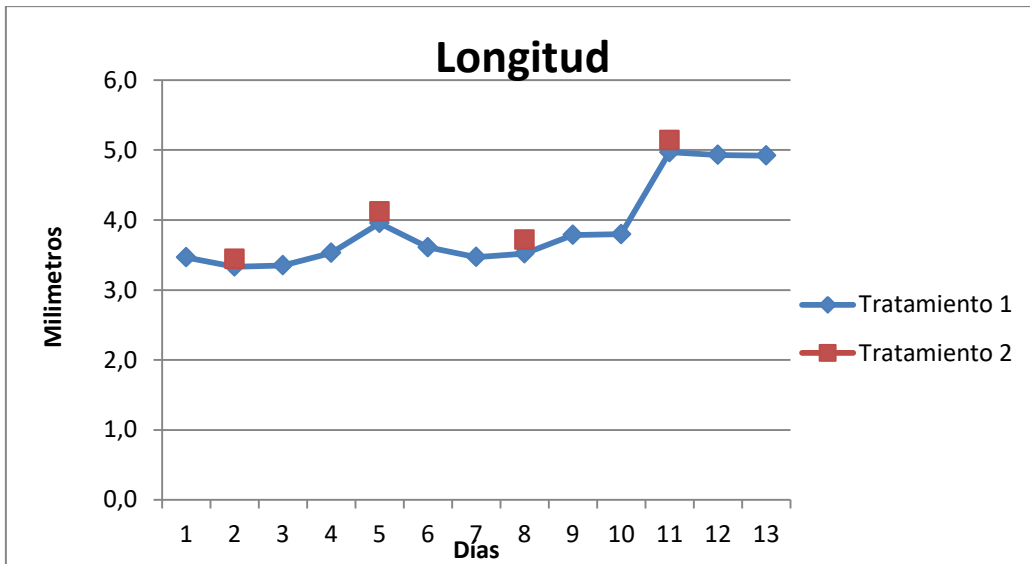


Figura 11 Promedio de longitud diario por tratamiento, en granja ostrícola Huertos Marinos, Costa de Pajaros, Puntarenas. (Trabajo de Campo, 2017)

4.2.3. Parámetros ambientales:

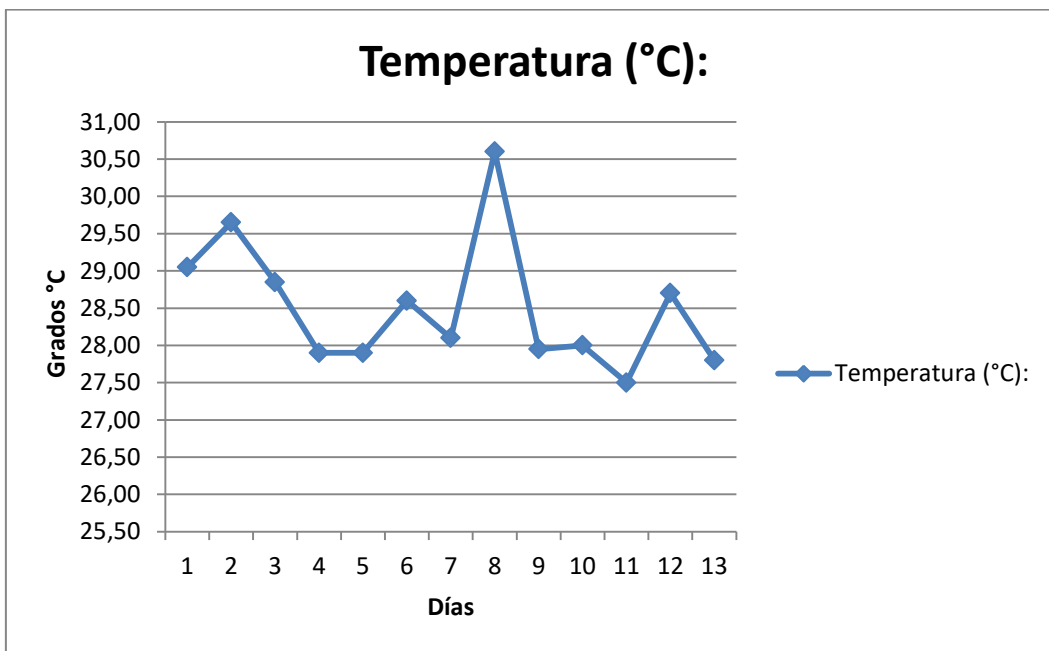


Figura 12 Promedio del comportamiento diario de la temperatura, en granja ostrícola Huertos Marinos, Costa de Pajaros, Puntarenas. (Trabajo de Campo, 2017)

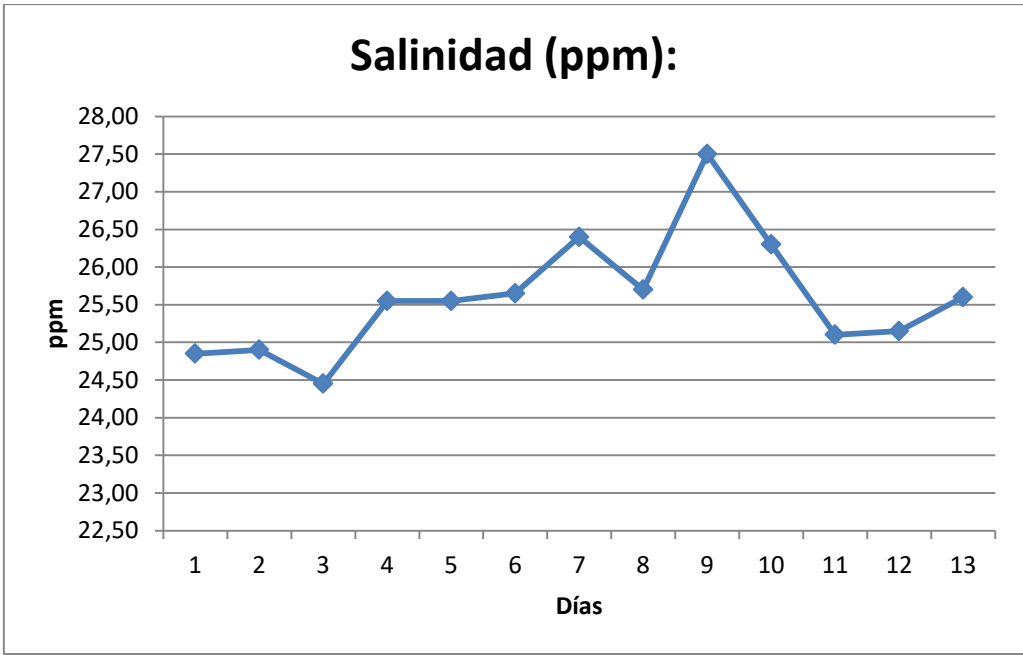


Figura 13 Promedio del comportamiento diario de la salinidad en granja ostrícola Huertos Marinos, Costa de Pajaros, Puntarenas. (Trabajo de Campo, 2017)

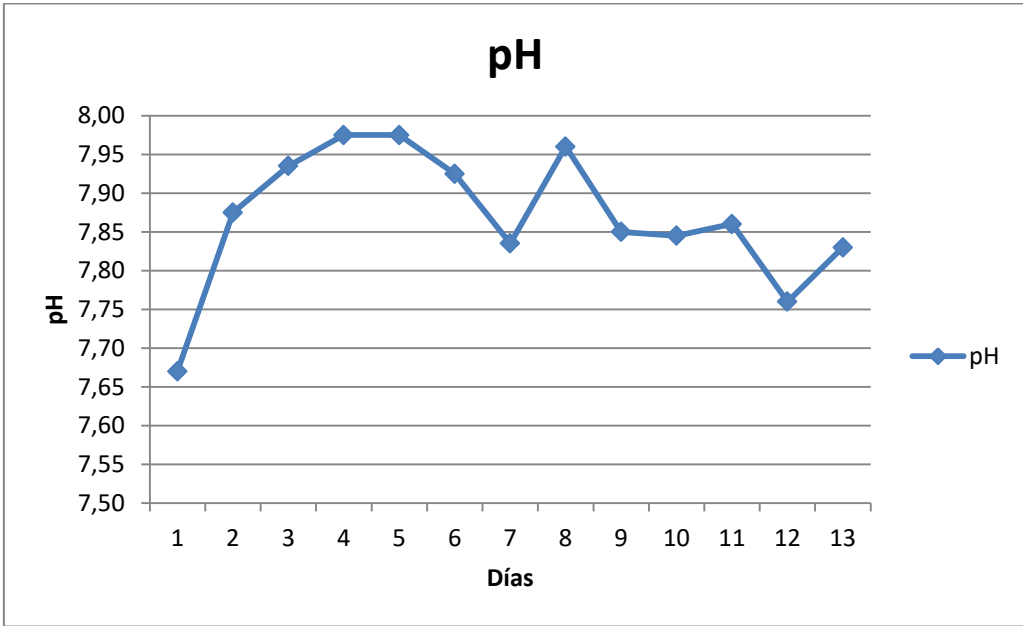


Figura 14 Promedio del comportamiento diario del pH en granja ostrícola Huertos Marinos, Costa de Pajaros, Puntarenas. (Trabajo de Campo, 2017)

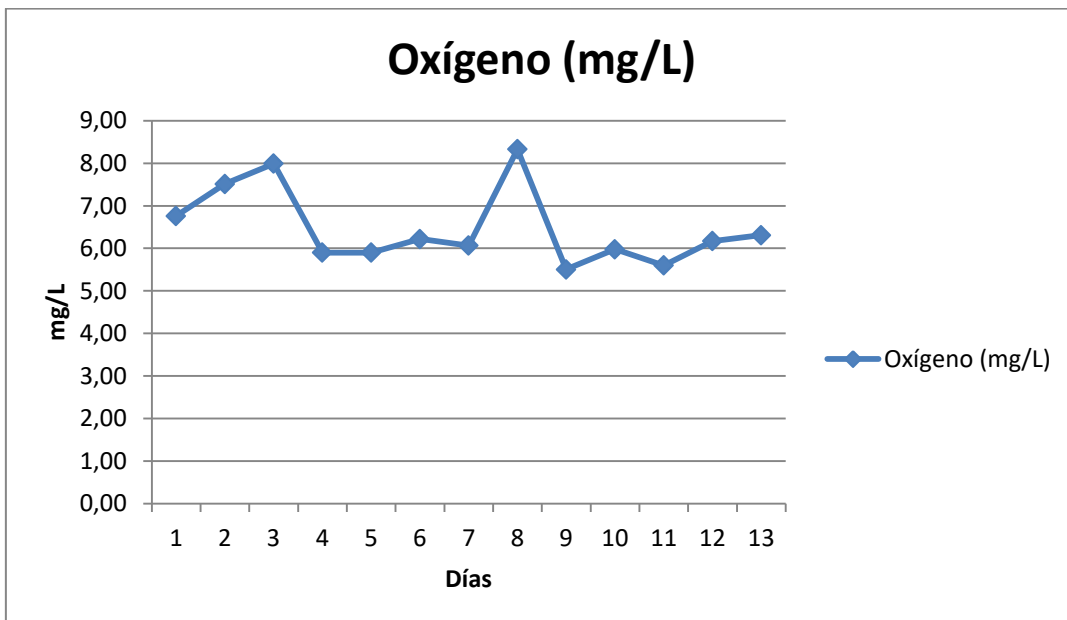


Figura 15 Promedio del comportamiento diario del oxígeno en granja ostrícola Huertos Marinos, Costa de Pajaros, Puntarenas. (Trabajo de Campo, 2017)

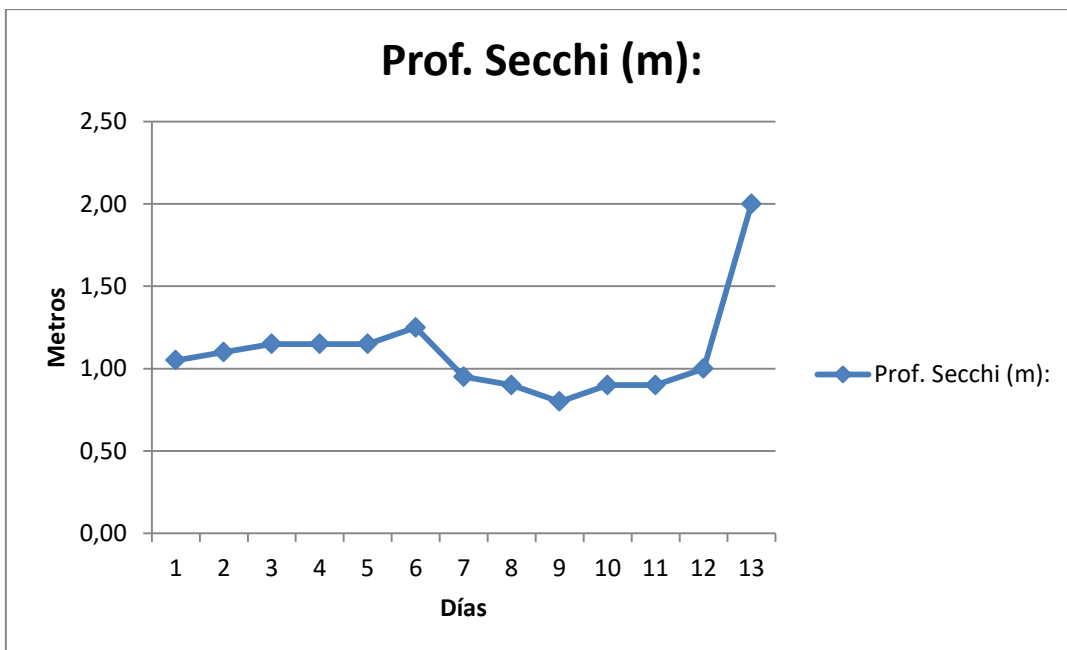


Figura 16 Promedio del comportamiento diario de la profundidad secchi en granja ostrícola Huertos Marinos, Costa de Pajaros, Puntarenas. (Trabajo de Campo, 2017).

5. Recomendaciones

- Realizar investigaciones de capacidad de carga en los sitios de cultivo de ostras para que los productores sepan el potencial real de producción que pueden llegar a tener sin afectar el ecosistema que utilizan para cultivar.
- Durante la alimentación de larvas, se podría suministrar 2 o 3 especies de microalgas en lugar de una para que el alimento tenga un mejor valor nutritivo y así aumentar la velocidad de crecimiento y desarrollo de las larvas.

6. BIBLIOGRAFÍA

- CLIMATE-DATA.ORG. (2017). *Clima: Puntarenas* [en línea]. Recuperado enero 10, 2018, de <https://es.climate-data.org/location/28554/>
- Google Maps. (2017). Estación de Biología Marina “Juan Bertoglia Richards”: Vista satelital [en línea]. Recuperado enero 10, 2018, de <https://www.google.com/maps/@9.9738441,84.7822078,12445m/data=!3m1!1e3>
- Mapsofworld.com. (2017). *Mapa de Puntarenas* [en línea]. Recuperado enero 10, 2018, de <https://espanol.mapsofworld.com/continentes/norte-america/costa-rica/provincias/puntarenas.html>
- Guías Costa Rica. (2015). *Puntarenas* [en línea]. Recuperado enero 10, 2018, de <https://guiascostarica.com/provincia-puntarenas/>
- Google Maps (2017). *Ciudad de Puntarenas: Vista satelital* [en línea]. Recuperado enero, 10, 2018, de <https://www.google.com.gt/maps/@9.9790561,-84.8136386,14z>
- Salazar, M. (2011) *Zonas de vida de Costa Rica: Ecosistemas* [en línea]. Recuperado enero 10, 2018, de <http://ecosystems-ecosistemas.blogspot.com/2011/08/zonas-de-vida-de-costa-rica.html>

7. ANEXOS



Figura 17 Transferencia de larvas a un nuevo estanque con la ayuda de tamices en la estación de Biología Marina de la Universidad Nacional de Costa Rica. (Trabajo de campo, 2017).



Figura 18 Enjuague con agua dulce de larvas colocadas en camas de fijación en la estación de Biología Marina de la Universidad Nacional de Costa Rica. (Trabajo de campo, 2017).



Figura 19 Depuración de Ostras en la estación de Biología Marina de la Universidad Nacional de Costa Rica. (Trabajo de campo, 2017).

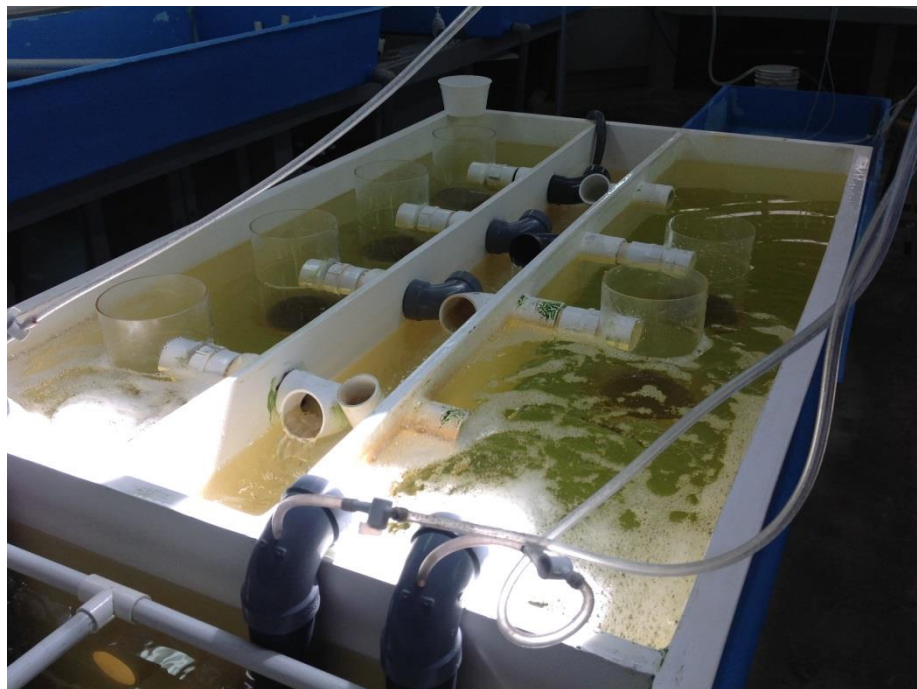


Figura 20 Sistema Upwelling utilizado para el cultivo de semilla en la estación de Biología Marina de la Universidad Nacional de Costa Rica. (Trabajo de campo, 2017).



Figura 21 Tamizaje de semilla en la estación de Biología Marina de la Universidad Nacional de Costa Rica. (Trabajo de campo, 2017).



Figura 22 Limpieza de estanques en la estación de Biología Marina de la Universidad Nacional de Costa Rica. (Trabajo de campo, 2017).



Figura 23 Conteo poblacional de microalgas con cámara de Neubauer en la estación de Biología Marina de la Universidad Nacional de Costa Rica. (Trabajo de campo, 2017).



Figura 24 Mantenimiento de cepas puras en la estación de Biología Marina de la Universidad Nacional de Costa Rica. (Trabajo de campo, 2017).



Figura 25 Desdobles, cultivo de fitoplancton marino en la estación de Biología Marina de la Universidad Nacional de Costa Rica. (Trabajo de campo, 2017).

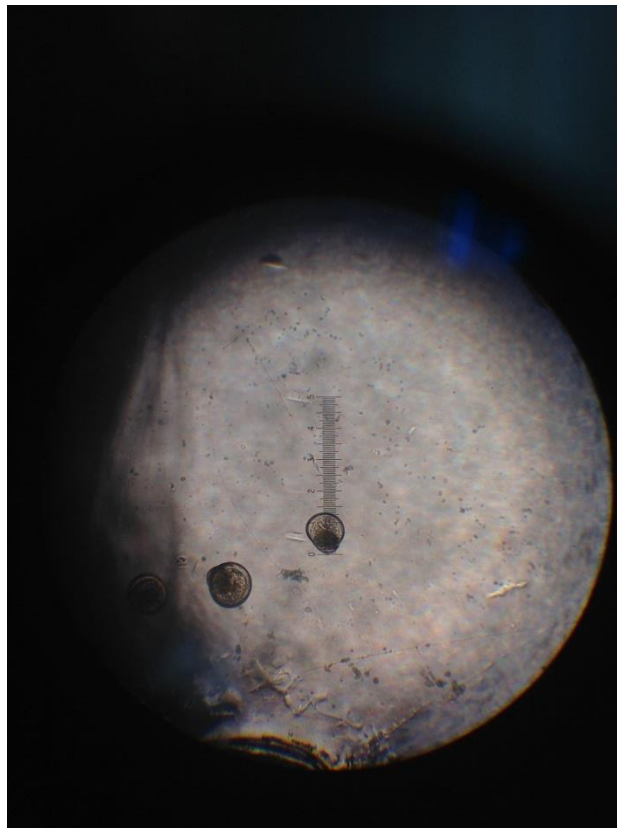


Figura 26 Biometría de larvas en la estación de Biología Marina de la Universidad Nacional de Costa Rica. (Trabajo de campo, 2017).

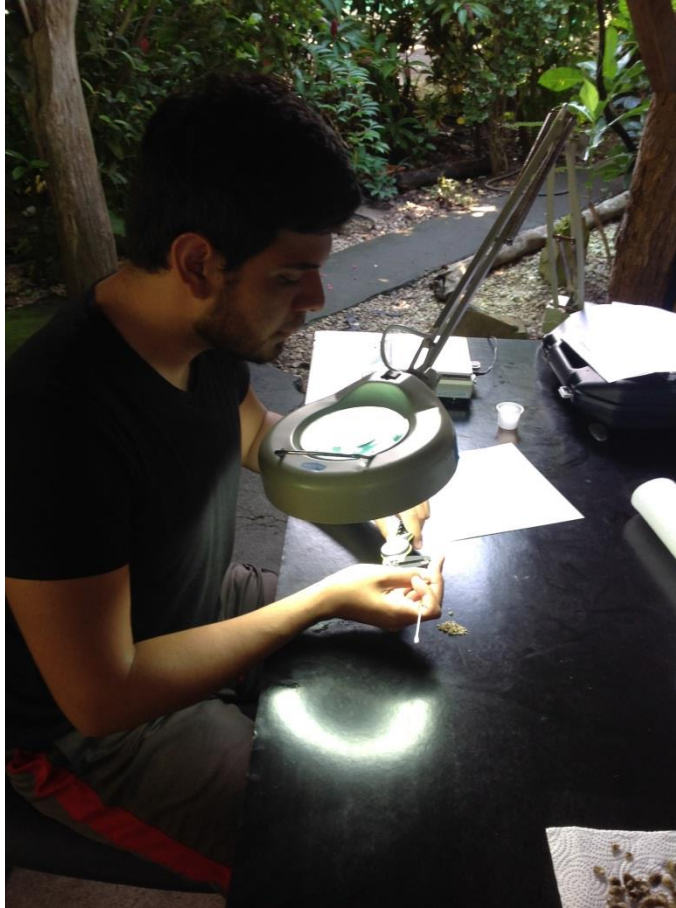


Figura 27 Biometría de semillas en granja ostrícola Huertos Marinos, Costa de Pajaros, Puntarenas. (Trabajo de campo, 2017).