

Estudios preliminares sobre  
crianza de *Ostrea chilensis*  
en el laboratorio

LUIS RAMORINO  
Estación de Biología Marina  
Montemar  
Universidad de Chile



SERVICIO AGRICOLA Y GANADERO  
DIVISION DE PESCA  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

CONTENIDO

	Pág.
1. Introducción .....	21
2. Métodos .....	22
3. Resultados .....	23
4. Discusión .....	25
5. Resumen y Conclusiones .....	28
6. Recomendaciones .....	29
7. Agradecimientos .....	29
8. Summary and Conclusiones .....	31
9. Literatura citada .....	32



## INTRODUCCION.

El cultivo artificial de ostras y otros bivalvos ha tenido un gran éxito en muchos países que han comprendido el alto rendimiento económico que este rubro representa. Este éxito ha sido posible debido a numerosas y pacientes investigaciones realizadas en laboratorios creados exclusivamente para el estudio de la crianza de moluscos bivalvos. En estos laboratorios se han obtenido maduración de gónadas, desove inducido y larvas hasta su asentamiento fuera del período reproductivo normal. Los métodos utilizados han sido claramente sintetizados por Loosanoff y Davis (1963) y Walne (1966).

El Ministerio de Agricultura, comprendiendo la necesidad de iniciar este tipo de investigaciones, aprobó en 1966 un plan de trabajo sobre *Ostrea chilensis* para desarrollar en la Estación de Biología Marina de la Universidad de Chile, ya que en la zona ostrícola no existen laboratorios donde realizar este tipo de estudios. Aunque en la Estación de Biología Marina las condiciones de laboratorio no son satisfactorias, se estimó conveniente iniciar los trabajos en forma preliminar con posibilidad de incrementarlos en el futuro, según los resultados obtenidos.

Fue nuestro propósito determinar si *O. chilensis*, considerando las limitaciones técnicas, responde a los métodos empleados normalmente y establecer, además, la posibilidad de supervivencia de las ostras provenientes del banco natural de Quetalmahue (41° 51' 45" Lat. S. - 73° 55' 25" Long.W.), en los acuarios de Montemar.

## MÉTODOS.

### 1.- Preparación de cultivos de *Phaeodactylum* para la alimentación de ostras.

El problema común que han debido solucionar muchos investigadores que trabajan en la crianza de bivalvos, es la obtención de alimento abundante y apropiado para los adultos y sus larvas.

Durante los primeros 38 días de nuestra primera experiencia, las ostras se alimentaron con fitoplancton natural colectado en las cercanías de nuestro Instituto. Posteriormente iniciamos un cultivo de *Phaeodactylum* con el sistema comúnmente empleado, excepto algunas variaciones.

El sistema empleado fue el siguiente: Se instaló una batería compuesta por 6 frascos de vidrio de 10 litros de capacidad cada uno. Cada frasco posee un tapón de goma atravesado en el centro por un tubo plástico de 10 cm. de longitud, y en cuyos extremos hay sendos rodamientos que permiten girar a un vástago central. El vástago es metálico y cubierto con plástico, provisto en su extremo inferior de una hélice plástica que gira en cada frasco mediante un sistema de poleas unidas a un eje común, accionado por un motor eléctrico. Es necesario agitar el cultivo para mantenerlo homogéneo y asegurar una luminosidad uniforme. Además del vástago central, cada tapón posee tres orificios con sus respectivos tubos de vidrio: uno para hacer llegar aire al cultivo por medio de una bomba, otro para extraer cultivo, y el tercero para introducir el medio nutritivo junto al agua de mar cuando sea necesario. La luz la proporcionan 6 tubos fluorescentes de 40 W. cada uno.

El medio nutritivo utilizado en el cultivo de *Phaeodactylum* fue el siguiente: Solución A.- NaNO<sub>3</sub> 100 gr., Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 20 gr., E.D.T.A. 20 gr., FeSO<sub>4</sub> 2,5 gr., MnSO<sub>4</sub> 0.25 gr., Agua destilada 1.000 c.c. Solución B.- Cobalamina 1 mg., Biotina 1 mg., Tiamina 200 mg., Agua destilada 1.000 c.c.

Al iniciar el cultivo, en cada frasco con 10 lt. de agua de mar previamente filtrada (a veces con papel y otras con Millipore 0.45) agregamos 1 c.c./lt. de sol. A y 1 c.c./lt. de sol. B, y la correspondiente cepa de *Phaeodactylum* (60 c.c.).

Los cultivos no estuvieron libres de bacterias, e incluso en muchas oportunidades se contaminaron con protozoos, pero las concentraciones alcanzadas fueron bastantes aceptables:  $10 \times 10^6$  a  $13 \times 10^6$  células/c.c.

### 2.- Mantenimiento de ostras en acuarios y acondicionamiento.

Los ejemplares de *Ostrea chilensis*, provinieron del banco natural de Pullinque ubicado en el Golfo de Quetalmahue, frente a Ancud, en la Isla de Chiloé (41° 51' Lat. S.- 73° 55' Long. W.).

Las ostras se colocaron en acuarios plásticos de 25 lt., sobre una rejilla del mismo material ubicada a media agua con el objeto de impedir la acumulación de desechos a su alrededor. El agua se cambiaba diariamente, agregándose una ración de *Phaeodactylum* y aire en forma continua. Durante el acondicionamiento, cada acuario se equipó con un calentador y un termómetro de contacto, procurando que el agua renovada tuviera la misma temperatura.

Al iniciar la experiencia de acondicionamiento, el agua de los acuarios tenía una temperatura de 13º C., la cual subimos diariamente 1 grado hasta alcanzar la temperatura definitiva en cada acuario. En el cuadro Nº 1 se leen las temperaturas utilizadas en los 3 acuarios, el número de ostras y período de acondicionamiento.

### CUADRO Nº 1

Número de ostras, temperaturas y período de acondicionamiento en los acuarios

Acuario	Nº de ostras	Temperaturas	Período de acondicionamiento
A	20	22º C.	7 Nov. - 27 Dic.
B	20	20º C.	7 Nov. - 27 Dic.
C	15	16º C.	7 Nov. - 26 Dic.

Durante la experiencia de acondicionamiento en los días 8 y 20 de noviembre y 11 de diciembre, se aplicaron los siguientes estímulos: a) Estímulo eléctrico de 20 V. durante 3 y 5 segundos (Iwata, 1949), b) Estímulo químico con soluciones M y M/2 de KCl y NH<sub>4</sub> Cl (Iwata, 1951), el 10 y 22 de noviembre y el 13 de diciembre, c) Estímulo con suspensión de espermios el 12 y 24 de noviembre y el 15 de diciembre.

### RESULTADOS

#### I.- Mantenimiento de ostras en acuarios.

Experiencia Nº 1.- Se inició el 24 de agosto de 1966, al recibir 26 ostras enviadas por vía terrestre. Solamente 20 ejemplares llegaron en buenas condiciones; dos estaban muertos y cuatro en muy mal estado, no recuperándose después de permanecer un día en agua de mar; estos valores originan una mortalidad de un 23%. Al examinar las gónadas de los animales muertos, cuatro de ellos presentaron espermios móviles y en los otros dos fue imposible determinar sexo sin técnicas histológicas.

Los promedios mensuales de temperatura en los acuarios durante esta experiencia que se prolongó desde el 24 de agosto hasta el 12 de diciembre, fueron los siguientes: agosto 12.4º, septiembre 12.5º, octubre 13.0º, noviembre 14.0º, diciembre 15.0º.

Los resultados de esta experiencia indican que: de 20 ostras utilizadas, 3 murieron al 11º día de permanencia en los acuarios; 17 no sufrieron mortandad natural, viviendo 13 de ellas casi 4 meses. Además, 5 ostras (25%) emitieron gran cantidad de huevos de color blanquecino y de una talla entre 265 y 288 micrones, medidas éstas de un promedio menor al establecido por Walne (264-323 micrones) en 1963. Muchos de estos huevos presentaron un estado de división de hasta 12 células. No hubo incubación y el aborto fue total. El examen de las gónadas dió el siguiente resultado: 2 ejemplares con espermios a los 3 meses del desove, 1 ejemplar con espermios a las 3 semanas del desove, 2 ejemplares con espermios en el momento del desove y 2 sin elementos reconocibles.

Al término de la experiencia que duró cuatro meses, las 10 ostras restantes presentaron en sus gónadas espermios en gran cantidad.

Experiencia Nº 2.- Comprendió el período entre el 2 de abril y el 6 de noviembre de 1967. Los ejemplares nos llegaron desde Quetalmahue en partidas mensuales, según se indica en el Cuadro Nº 2.

#### CUADRO Nº 2

Ostras recibidas desde Quetalmahue entre el 2 de abril y 6 de noviembre de 1967

Fecha	Vivas	Muertas	% Muertas
2 abril	19	6	24
12 mayo	16	4	20
14 junio	22	3	12
18 julio	36	5	12
30 agosto	32	3	12
28 septiembre	6	19	76
2 noviembre	1	19	95

Los promedios mensuales de las temperaturas en los acuarios fueron los siguientes: abril 14.0º, mayo 13.0º, junio 12.0º, agosto 12.5º, septiembre 13.0º, octubre 13.0º, noviembre 13.5º.

Señalaremos a continuación las principales observaciones realizadas en esta serie:

- 1.- Una de las ostras recibida el 12 de mayo, después de permanecer 2 meses en el acuario emitió una gran cantidad de huevos, los cuales, al dejarlos en una cápsula con agua de mar alcanzaron un estado de división de 4 células. Al abrir el ejemplar no se observaron huevos y tenía una gónada con espermios móviles.



2.- El 30 de julio se abrieron algunas ostras de las recibidas en los meses de abril, mayo, junio y julio; sus gónadas se presentaron sin desarrollo.

3.- El 26 de octubre y el 3 de noviembre se repitieron las emisiones de huevos en dos animales llegados al laboratorio el 30 de agosto. Al revisar inmediatamente las ostras, no se encontraron huevos en su interior y las gónadas contenían una gran cantidad de "sperm-ball" y espermios libres.

4.- El 6 de noviembre se dió por terminada esta experiencia, corroborándose el aborto, la falta de incubación y la supervivencia de las ostras en los acuarios durante un período mínimo de 4 meses y máximo de 7 meses.

II.- Acondicionamiento de ostras para la maduración de gónadas y obtención de larvas en el laboratorio.

Se utilizaron 55 ostras llegadas en julio y agosto, después de permanecer entre 2 y 4 meses en acuarios a una temperatura entre 12 y 13.5° C.

Previo al inicio de esta experiencia se analizaron (sin cortes histológicos) 10 ejemplares, todos los cuales presentaron el mismo aspecto: gónada algo arborescente, poco compacta, color blanco cremoso. En 8 gónadas se observaron "sperm-ball" y espermios libres, óvulos en ninguna.

El acondicionamiento realizado no permitió la maduración de las gónadas.

Al examinar las gónadas una vez terminada la experiencia, se presentaron sin desarrollo, y la mayoría de los ejemplares tenían un cuerpo totalmente flácido. Solamente en 6 individuos se encontraron espermios en pequeña cantidad. Al comparar las ostras con aquellas examinadas antes del acondicionamiento, presentaron un evidente estado de debilidad general y una gónada en regresión.

En relación a los estímulos aplicados, según los métodos ya descritos, no se obtuvo respuesta.

## DISCUSION

El único antecedente sobre crianza de *Ostrea chilensis* en el laboratorio es aportado por Walne (1963), quien recibió en Conway, en septiembre de 1962, ostras procedentes de Chiloé, las cuales, puestas en agua circulante abortaron embriones en sus primeros estados de desarrollo. Posteriormente en octubre, obtuvo 4 liberaciones de larvas y otras 13 en noviembre, lo cual indica que algunas ostras estaban incubando y otras con sus gónadas en estado de prontareproducción.

En nuestra experiencia N° 1, a fines de agosto de 1966, utilizamos ostras provenientes de su ambiente natural, por lo tanto esperábamos que sus gónadas estuviesen lo bastante desarrolladas como para obtener larvas en pocas semanas. Sin embargo, solamente obtuvimos huevos abortados en estado de desarrollo de

hasta 12 células, provenientes de 5 ejemplares, en el período entre uno y tres y medio meses de estar sometidas a las condiciones del laboratorio. Esto significa que el 25% de las ostras alcanzó el desarrollo de sus gónadas hasta huevo, cifra aceptable y comparable a las obtenidas por Walne (1966) en *Ostrea edulis* si la incubación hubiera llegado a término. El mismo fenómeno abortivo ocurrió en la experiencia N° 2 con ostras capturadas también en agosto, pero del año siguiente.

Si comparamos nuestros resultados con los de Walne (1963), observamos que si bien en las experiencias del autor mencionado se produjo aborto de huevos y embriones, este no fue total, ya que las mismas ostras incubaron el resto de huevos y embriones retenidos; sin embargo, en nuestro caso el aborto fue total.

Varios autores han señalado casos de aborto parcial o total en el género *Ostrea* (Loosanoff 1955, Aboul-Ela 1960, Loosanoff y Davis 1963), debido a distintas causas. Walne sugiere que el aborto observado por él en *O. chilensis*, podría deberse al gran tamaño del huevo, lo cual dificulta su paso hacia la cámara inhalante. Si bien esta causa de aborto sería válida en su experiencia de aborto parcial, podría no ser la única en nuestro caso, ya que el aborto fue total. Desgraciadamente no disponemos de mayores antecedentes para explicar el fenómeno producido en nuestra experiencia.

La obtención de larvas provenientes de ostras colectadas en su ambiente al principio del período de liberación, es relativamente sencilla, ya que las gónadas están totalmente recuperadas de la postura de la temporada anterior. El problema se dificulta al tratar de obtener larvas en los meses de invierno, lo cual implica una recuperación de la gónada en condiciones de laboratorio.

Las condiciones necesarias para la crianza de adultos no han sido estudiadas en profundidad en *Ostrea edulis*, la pariente más cercana de *Ostrea chilensis*, y los métodos descritos han sido desarrollados más bien basados en la experiencia de los investigadores que en la experimentación metódica (Walne, 1966). A pesar de todo, en muchos laboratorios se han criado con éxito ejemplares de *Ostrea*, obteniendo sus larvas en los meses de invierno.

Desgraciadamente, en nuestras experiencias, no hemos obtenido los resultados esperados, ya que fue imposible la recuperación total de las gónadas de los ejemplares traídos desde los bancos naturales en los meses de invierno y sometidos a las condiciones del laboratorio durante 4 a 7 meses.

Aunque no estamos en condiciones de analizar con exactitud los factores limitantes en el desarrollo de la gónada, o una probable involución de ésta en aquellos ejemplares levemente desarrollados, debemos considerar lo siguiente:

Las diferencias de salinidades entre Quetalmahue y Montemar (Anexo 2), no son muy altas, por lo que no se puede considerar este factor como un hecho

limitante, ya que las ostras aceptan un amplio rango de salinidad (Galtsoff, 1964).

Las temperaturas utilizadas en nuestros acuarios fueron superiores solamente 1 a 2,5° C. a las de Quetalmahue, lo cual tampoco puede ser considerado como factor limitante.

Sin embargo, no sucede lo mismo con la alimentación, ya que la mayoría de los autores recomiendan una dieta a base de mezclas de algas unicelulares y flagelados desnudos, y no solamente a base de *Phaeodactylum*. De todas maneras, muchos investigadores han obtenido larvas en *Ostrea edulis* utilizando una dieta de *Phaeodactylum* (Walne, 1965), pero este hecho lo atribuye el mismo autor (1966), a la posibilidad de que la mayoría de la producción larval en laboratorio provenga de los recursos alimenticios presentes en la ostra antes de llegar al laboratorio, ya que el índice de condición y glicógeno disminuyen a la mitad después de 6 a 9 semanas en las ostras que permanecen en los acuarios. Probablemente esto ocurrió en nuestro caso, y la alimentación dada a las ostras solamente aseguró la supervivencia de ellas, no siendo suficiente para asegurar la recuperación de las gónadas.

La causa anteriormente mencionada explicaría también el fracaso en nuestra experiencia de acondicionamiento con aumento de temperatura, ya que a pesar de emplear ostras de los meses de julio y agosto, cuyas gónadas se encuentran en estado de desarrollo más avanzado, el hecho de permanecer en los acuarios entre 2 y 4 meses, produjo una involución en sus gónadas no del todo recuperadas. Este proceso de reabsorción gónadica fue acelerado durante el acondicionamiento, hecho que se constató al término de la experiencia.

Las ostras que abortaron durante su permanencia en los acuarios habrían sido aquellas que estaban totalmente recuperadas en su ambiente natural.

Indudablemente, al no disponer de ostras totalmente maduras, no podía esperarse que durante el acondicionamiento respondieron positivamente a los distintos estímulos aplicados, los cuales, incluso no siempre dan resultado en todos los bivalvos, a pesar de que sus gónadas estén totalmente maduras.

Otro hecho que merece ser analizado, es que 5 de 7 ostras presentaron espermios móviles en el momento del desove y aborto, lo cual coincide con observaciones realizadas en *O. edulis* y *O. lurida*, especies en las cuales es posible encontrar en sus gónadas espermios y óvulos funcionales, simultáneamente. Este fenómeno implica una posible autofertilización, la cual constatamos en un ejemplar que abortó huevos después de permanecer dos meses en el laboratorio; dichos huevos, al dejarse en una cápsula, alcanzaron un estado de división de 12 células. La autofertilización ha sido citada entre otros, por Coe (1932) en *O. lurida*.

## RESUMEN Y CONCLUSIONES

1.- El propósito del presente trabajo ha sido determinar la posibilidad de obtener larvas de *Ostrea chilensis* procedentes de Quetalmahue (41° 51' S.- 72° 55' W.) durante los meses de invierno, bajo las mínimas condiciones de laboratorio existentes en Montemar: carencia de agua de mar circulante a temperaturas adecuadas y alimentación poco apropiada a base de *Phaeodactylum*. Además, experimentar métodos de acondicionamiento y adquirir experiencia en la crianza de la ostra chilena para la planificación de trabajos futuros.

2.- El envío de ostras desde Quetalmahue a Montemar, demoró como mínimo tres días. Se produjo una mortalidad máxima de 76 a 95% en los meses de primavera, y una mínima de un 12% en invierno (cuadro N° 2). Las ostras prácticamente no sufrieron mortalidad natural durante una permanencia máxima de 7 meses en los acuarios.

3.- No se obtuvo la recuperación de las gónadas en las ostras llegadas en invierno desde su ambiente natural (abril a julio), después de estar sometidas a las condiciones de laboratorio durante un período entre 4 y 7 meses, lo cual se debería a la pobre alimentación basada exclusivamente en *Phaeodactylum*. La temperatura en el laboratorio fue solamente 1 a 2,5° C. superior a la del ambiente. Las condiciones de laboratorio sólo permitieron la sobrevivencia de las ostras.

4.- Las ostras llegadas desde su ambiente natural en julio y agosto, y sometidas a un acondicionamiento térmico (cuadro N° 1), respondieron negativamente. Las causas podrían deberse al hecho que las ostras permanecieron previamente entre 2 y 4 meses en el laboratorio, lo cual produjo la involución de las gónadas que no se habían recuperado totalmente en el ambiente.

Como puede suponerse, tampoco respondieron a los estímulos aplicados durante el acondicionamiento (electricidad, soluciones M y M/2 de KCl y NH<sub>4</sub>Cl y suspensión de espermios).

5.- El 25% de las ostras llegadas al laboratorio en el mes de agosto y después de permanecer de uno a tres y medio meses en él, abortaron huevos hasta un estado de desarrollo de 12 células. Esto indica que dichas ostras estaban con sus gónadas totalmente recuperadas en su ambiente natural. El aborto fue total en todos los ejemplares, no lográndose la incubación y la posterior obtención de larvas. Las causas de este fenómeno no pudieron establecerse, pero la sugerencia de Walne (1963) que la causa de un aborto parcial se debería al gran tamaño de los huevos de *Ostrea chilensis*, no puede ser válida en el caso de aborto total.

6.- Cinco de las siete ostras que abortaron, presentaron en sus gónadas espermios móviles. Luego, en *Ostrea chilensis* también es posible encontrar óvulos y espermios funcionales en forma simultánea, produciéndose autofecundación, hecho que fue constatado en el laboratorio.

## RECOMENDACIONES

El futuro de la industria ostrícola del país dependerá de los conocimientos de los factores bióticos y abióticos que regulan el proceso reproductivo de las ostras. Por lo tanto, es urgente crear en el área ostrícola de Chile un laboratorio para llevar a cabo dichas investigaciones, ya que considerando la magnitud del problema y los equipos utilizados en resolverlos no puede pensarse en los laboratorios existentes en el país, como solución definitiva. En dicho laboratorio deberán desarrollarse las técnicas y métodos apropiados para obtener semillas de ostras en pequeña escala y posteriormente en escala comercial. Luego, deberá disponer entre otras, de secciones para el acondicionamiento de gónadas, postura, cultivo de larvas, asentamiento de larvas, crianza de semillas, cultivos de algas y flagelados para alimentar larvas, etc. Esto supone la existencia de recursos técnicos y humanos de la mejor calidad.

Mientras las autoridades no decidan la creación de dicho laboratorio, será imposible iniciar la industria ostrícola en forma científica e intensiva en Chile. Debemos recordar que países con una industria ostrícola avanzada, realizan sus estudios por más de 40 años, en laboratorios creados exclusivamente con este propósito.

### Agradecimientos.

Agradecemos sinceramente a los señores Iván Solís y Julio Orrego, Biólogos de la División de Pesca del Ministerio de Agricultura, la colaboración prestada en el envío de ostras desde Quetalmahue, como también al señor Hernán Iribarra, técnico de la Estación de Biología Marina, por su ayuda en la confección del equipo técnico necesario y los controles realizados.

ANEXO 1

Temperaturas superficiales (°C) de Quetalmahue (Solís, 1966) y Montemar durante el período comprendido entre enero de 1965 y mayo de 1966

Meses	QUETALMAHUE			MONTEMAR		
	máxima	mínima	promedio	máxima	mínima	promedio
Enero	21.0	15.0	17.3	18.6	12.4	15.0
Febrero	20.0	14.0	17.2	19.5	11.6	14.3
Marzo	18.5	13.5	16.8	17.0	12.2	14.3
Abril	18.0	10.5	12.9	17.4	13.0	14.2
Mayo	14.0	7.0	10.5	15.0	11.7	13.2
Junio	13.0	7.5	10.4	14.5	12.1	13.5
Julio	12.5	7.0	10.2	13.8	11.2	12.8
Agosto	12.0	7.0	9.6	14.0	11.0	12.8
Septiembre	14.5	7.0	10.7	14.2	11.0	12.8
Octubre	16.0	9.0	12.3	15.5	12.0	13.3
Noviembre	19.5	12.5	15.8	15.5	12.0	13.4
Diciembre	21.0	13.0	16.4	15.8	12.2	14.0
Enero	21.5	15.0	18.0	17.6	13.0	15.0
Febrero	21.0	15.0	17.1	16.0	12.4	14.2
Marzo	18.0	14.5	16.0	15.6	12.0	13.8
Abril	17.5	12.0	14.4	16.0	13.3	14.5
Mayo	15.0	10.0	12.7	13.4	11.3	13.0

ANEXO 2

Valores de salinidad superficial en Quetalmahue y Montemar en p.p. mil. Los datos correspondientes a Quetalmahue corresponden a información personal del señor Iván Solís y comprenden algunos meses de 1967 y 1968.

QUETALMAHUE

1968:

Junio=26.3	Septiembre=27.2	Enero=30.0
Julio=27.5	Octubre=28.9	Febrero=31.0
Agosto=26.9	Noviembre=29.3	
	Diciembre=29.5	

MONTEMAR

La salinidad de Montemar se mantiene con pequeñas variaciones, en 34,5.

## SUMMARY AND CONCLUSIONS

1. The purpose of this work has been to find out if *Ostrea chilensis* from Quetalmahue (41° 51' S.-72° 55' W.), can live in laboratory conditions at Montemar, and it attempts the possibility of conditioning oysters for spawning during winter time under minimal laboratory facilities, no circulating sea water system with adequate temperature, and only *Phaeodactylum* as food. Finally, the experiment should yield experience on the rearing of Chilean oysters in the laboratory, that will help in the planning of future work.

2. The delivery of oysters from Quetalmahue to Montemar takes three days as a minimum. During this period the maximum mortalities were 76 and 95% in spring months and a minimum of 12% in winter months (Cuadro 2). Practically, no mortality was detected in the stocking aquarium over 7 months period.

3. It was impossible to obtain a recovery of the gonads in oysters collected from the natural beds in winter time (April to July), after being in laboratory conditions from 4 to 7 months. The lack of this recovery was due to the poor food. The temperature was only 1 to 2.5° C. higher in the laboratory than in the natural environment. The oysters, could only survive in laboratory conditions, nothing more.

4. The oysters coming from the natural beds in July and August could not be conditioned to spawn. The reason could be that previously the oysters were in the aquarium over a 2 to 4 months period, which produced the reabsorption of the gonads. As it can be supposed they become useless as spawners, as they did not respond to stimulation (electricity, M and M/2 KCL and NH<sub>4</sub>CL solutions or suspension of spermatozoa in sea water).

5. 25% of the oysters sent from the natural beds in August, aborted eggs to 12-cell stage after being 1 to 3.5 months in the laboratory. This means that these oysters had their gonads completely recovered in the natural bed. It is interesting to remark, that abortion was complete in all the specimens and no broods was recorded. It was impossible to find out the reasons for this phenomenon, but the suggestion of Walne (1963) that the partial abortion is caused by the large size of *O. chilensis* eggs, can't be valid in a total abortion.

6. Five out of seven oysters had motile spermatozoa in their gonads when they aborted. This means that it is possible to find simultaneously functional spermatozoa and eggs, so, as we witnessed, self-fertilization occurs.

## LITERATURA CITADA

- ABOUL-ELA, I.A. 1960 Conditioning *Ostrea edulis* from the Limjford for reproduction out of season. Medd. Komm. Havundersg., Kbh. (Ny ser.), 2 (25): 1-15.
- COE, W.R. 1932 Development of the gonads and the sequence of the sexual phases in the California oyster (*Ostrea lurida*). Bull. Scripps Inst. Oc. Tecn. ser., 3 (6): 119-144.
- GALTSOFF, P.S. 1964 The American Oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. Fishery Bull., 64: 1-480.
- IWATA, K.S. 1949 Spawning of *Mytilus edulis*. II. Discharge by electrical stimulation. Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries, 15: 443-446.
- IWATA, K.S. 1951 Spawning of *Mytilus edulis*. IV Discharge by KCL injection. Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries, 16: 393-394.
- LOOSANOFF, V.L. 1955 The european oyster in American water. Science, 121 (3135): 119-120.
- LOOSANOFF, V.L. and H.C. Davis 1963 Rearing of Bivalve Mollusks. Adv. mar. Biol., 1: 1-136.
- SOLIS, I. 1967 Observaciones biológicas en ostras (*Ostrea chilensis*) de Pullinque. Biol. Pesq. Chile, 2: 51-82.
- WALNE, P.R. 1956 Observations on the oyster (*Ostrea edulis*) breeding experiments at Conway. 1939-1953. Rapp. et proc. Conseil permanent intern. exploration mer., 140: 10-13.
- WALNE, P.R. 1963 Breeding of the Chilean Oyster (*Ostrea chilensis*) in the laboratory. Nature, 197 (4868): 676.
- WALNE, P.R. 1965 Observations on the influence of food supply and temperature on the feeding and growth of the larvae of *Ostrea edulis*. Fishery invest., ser. 2, 24 (1): 1-45.
- WALNE, P.R. 1966 Experiments in the large -scale culture of the larvae of *Ostrea edulis*. Fishery invest., ser. 2, 25 (4): 1-53.