

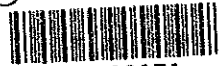
エクアドル共和国  
国立養殖・海洋研究センター計画  
巡回指導調査報告書

平成4年12月

国際協力事業団



JICA LIBRARY



1106183(5)

2518.7



エクアドル共和国  
国立養殖・海洋研究センター計画  
巡回指導調査報告書

平成4年12月

国際協力事業団

国際協力事業団

25187

## 序文

国際協力事業団は、エクアドル共和国政府からの技術協力の要請を受け、平成2年8月から同国において国立養殖・海洋研究センター計画を開始しました。

当事業団は、協力開始後3年目にあたり、本計画の進捗状況や現状を把握し、同国のプロジェクト関係者や派遣専門家に対し、適切な助言と指導を行うため、平成4年2月29日から3月14日及び、同年8月29日から9月12日の、2回にわたり、それぞれ新井 茂、水産庁養殖研究所栄養代謝部長及び、安永義暢、水産庁養殖研究所栄養代謝部長を団長とする巡回指導調査団を派遣しました。

調査団は、エクアドル共和国政府関係者との協議およびプロジェクト・サイトでの現地調査を実施し、プロジェクトの運営や事業内容等を検討し、必要な指導をおこないました。そして帰国後の国内作業を経て調査結果を本報告書に取りまとめました。

この報告書が本計画の今後の推進に役立つとともに、この技術協力事業が両国の友好・親善の一層の発展に寄与することを期待いたします。

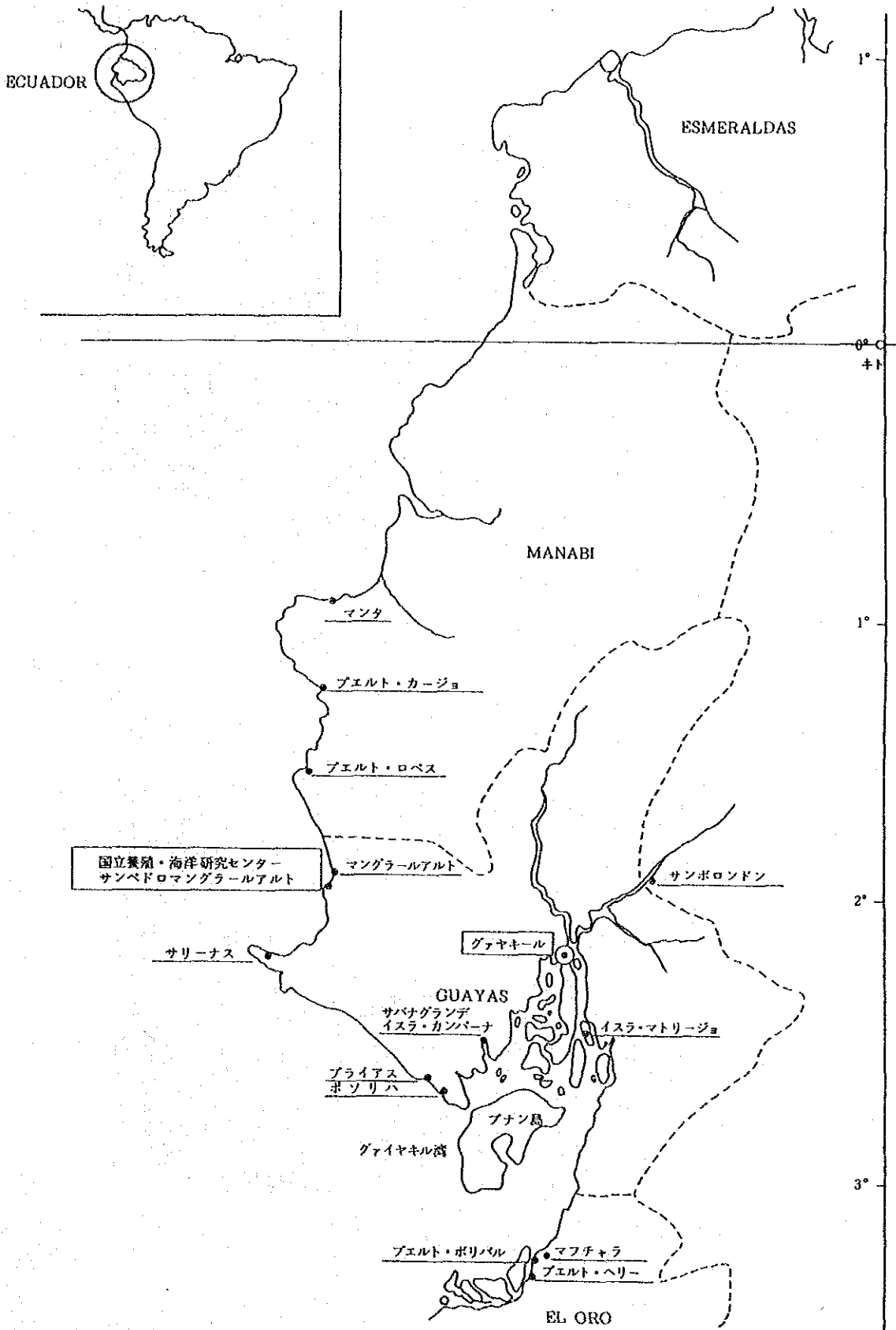
終わりにこの調査にご協力とご支援をいただいた関係者の皆様に対し、心から感謝の意を表します。

平成 4年12月

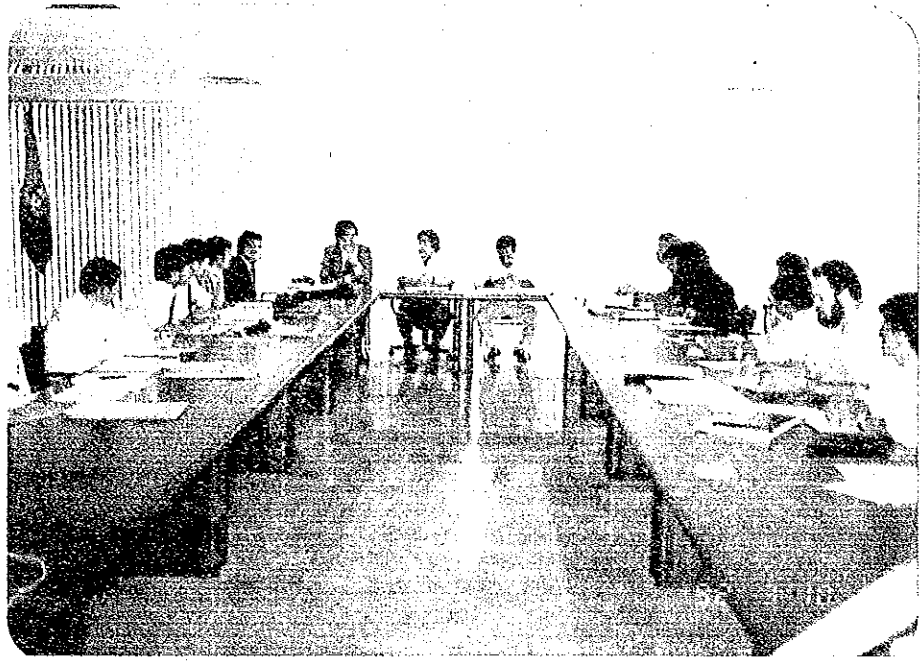
国際協力事業団  
理事 田口俊郎



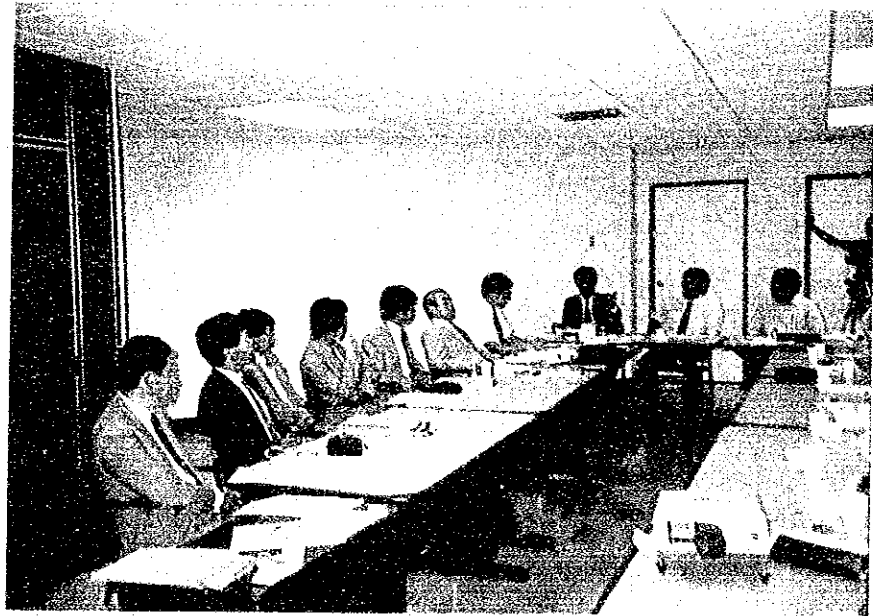






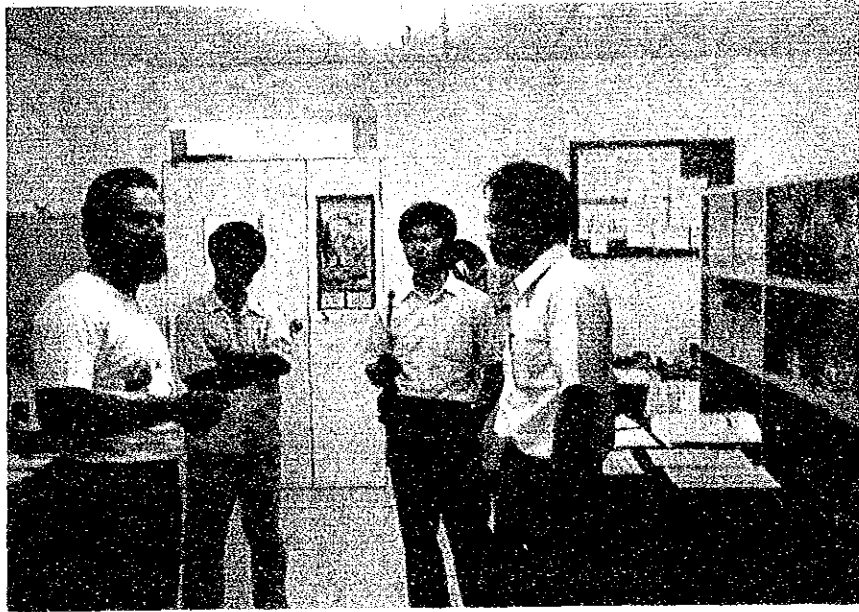


1991年度合同委員会（於 ESPOL本学会議室）

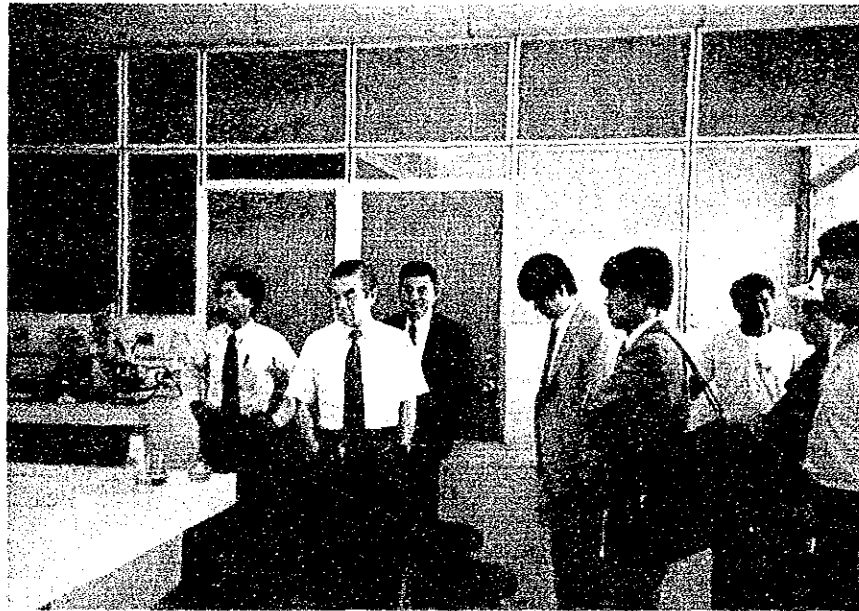


1992年度合同委員会（於 ESPOL本学会議室）





水族栄養学部門（於 CENAIM）

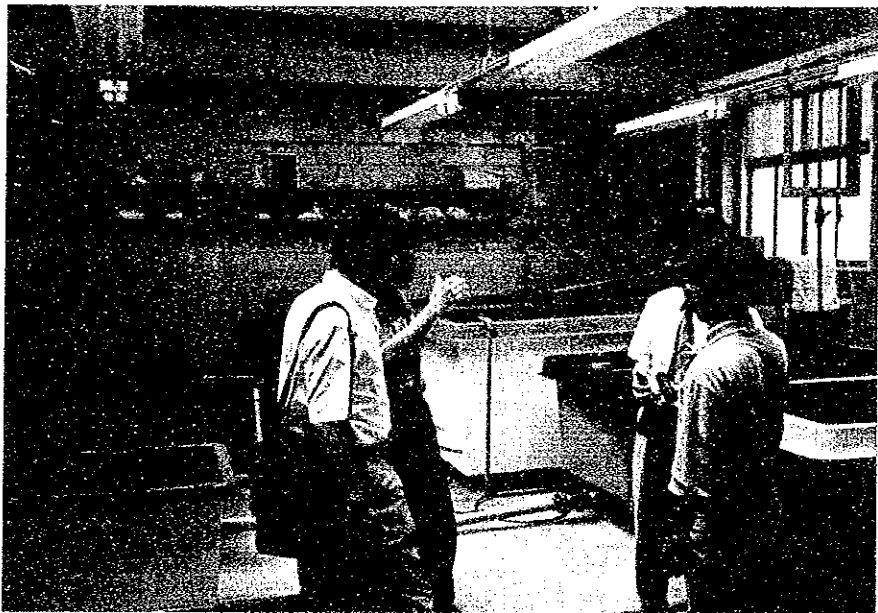


水族病理学部門（於 ESPOL海洋学部）





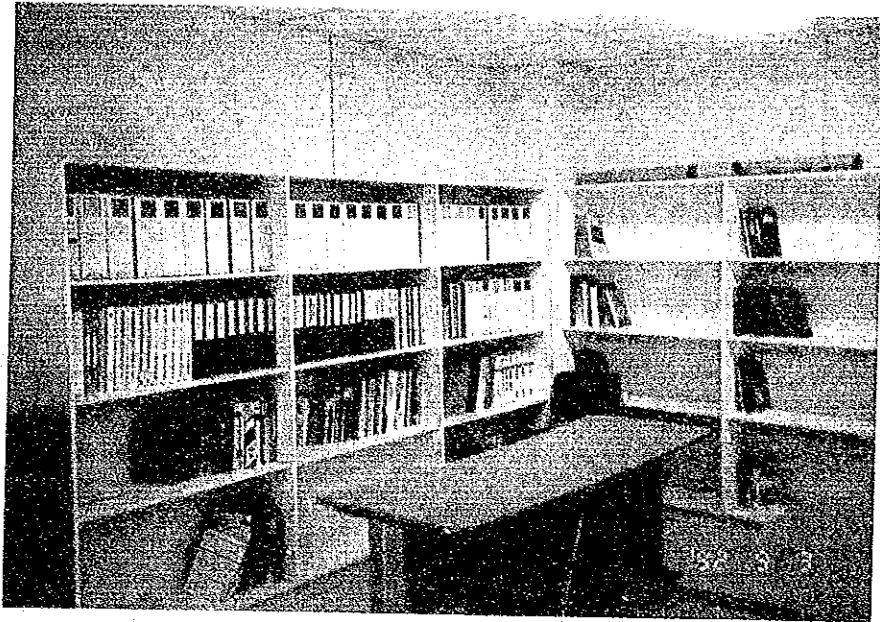
貝類養殖部門（於 CENAIM）



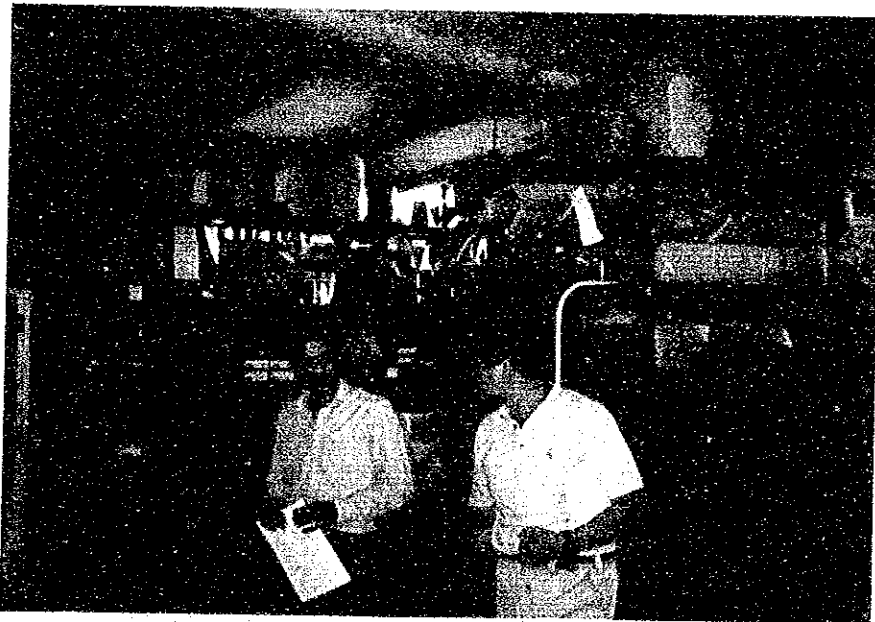
魚類養殖部門（於 CENAIM）







CENAIM研究所内の図書資料室



供与機材の保管状況



# 目 次

序文

地図

写真

目次

1. 巡回指導調査団派遣 .....	1
1-1 調査団派遣の経緯 .....	1
1-2 調査団の構成、派遣期間、日程 .....	2
1-3 主要面談者 .....	5
2. プロジェクトの進捗状況 .....	
2-1 水族病理部門 .....	6
2-2 水族栄養部門 .....	6
2-3 貝類養殖部門 .....	6
2-4 魚類養殖部門 .....	7
3. プロジェクト運営上の問題と対策 .....	10
4. 実施体制 .....	12
4-1 カウンターパートの配置状況 .....	12
4-2 運営予算 .....	12
4-3 専門家の派遣 .....	13
4-4 研修員の受入れ .....	13
4-5 供与機材の利用状況 .....	13

5. 実施計画 .....	14
5-1 水族病理部門 .....	14
5-2 水族栄養部門 .....	14
5-3 貝類養殖部門 .....	14
5-4 魚類養殖部門 .....	14
6. 合同委員会の協議事項 .....	17

付属資料

1. 協力後半分暫定実施計画 (T.S.I) .....	33
2. 1991年度業務実績表 .....	38
3. CENAIM職員リスト・組織体制図 .....	39~41
4. 1992年度実施計画表 .....	42
5. Activities Report JICA-CENAIM Research Project August 1990 - July 1992 .....	46

## 1. 巡回指導調査団派遣

### 1-1 派遣の経緯と目的

#### (1) 無償資金協力の経緯と目的

エクアドル政府は1970年以降石油産業の低迷に伴い、エビ養殖産業の発展を積極的に推進してきた。

その結果、エビ産業は現在エクアドル国第2位の輸出産業として同国経済に極めて重要な役割を果たしており、今後ともエビ養殖産業の安定的な発展が不可欠であるが、他方エビのみに依存する現在の単一養殖から魚貝類をも含めた多角的な養殖産業への転換が重要な課題となっている。

しかしながら、水族病理学、水族栄養学等の生物学的基礎研究、魚貝類養殖の技術開発等が立ち遅れていることから、エクアドル政府は我が国に対し、養殖の試験研究を総合的に推進するため国立養殖・海洋研究センター（Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas；以下CENAIMと呼ぶ）の建設及びCENAIMにおけるプロジェクト方式技術協力を要請してきた。

この要請に基づき、1988年3月に無償資金協力にかかる事前調査団、同年5月に同基本設計調査団が派遣され、同年11月にCENAIM建設にかかるE/Nが締結された。CENAIMは1990年8月に完成し、同年10月26日に落成式が行われた。

#### (2) プロジェクト方式技術協力の経緯と目的

##### ①事前調査団の派遣

プロジェクト方式技術協力の要請に基づき、1989年3月に事前調査団が派遣され、水族病理学、水族栄養学及び魚貝類養殖の分野での技術協力の妥当性およびエクアドル側の実施体制等が調査された。

また、プロジェクト実施の枠組みについての協議が行われ、その結果についてミニッツが取り交された。

##### ②長期調査員の派遣

エクアドル側の実施体制、要請内容、実施機関およびカウンター・パートのレベル等の詳細な調査のため1989年12月及び1990年1月に長期調査員計2名が派遣された。

③実施協議調査団の派遣

1990年 3月に実施協議調査団が派遣され、討議議事録(R/D) および暫定実施計画(T.S.I)が締結された。

④プロジェクトの開始

R/D およびT.S.I に基づき、長期専門家3名(チーフ・アドバイザー、貝類専門家、業務調整員)が派遣され、1990年 8月からCENAIMにおける技術協力プロジェクトが開始された。

⑤計画打合せ調査団の派遣

1991年 3月に計画打合せ調査団が派遣され、プロジェクトの進捗状況、問題点等が把握され、討議議事録(M/M)、暫定実施計画締結後の年次計画が策定された。

⑥巡回指導調査団の派遣

1992年 2月及び、8月に巡回指導調査団が派遣され、プロジェクトの進捗状況、問題点等を確認するとともに、これを踏まえて日本人専門家、エクアドル側関係者と協議を行って、詳細年次計画、協議議事録(M/M)が策定され、計画遂行に必要な両国のとるべき措置がなされた。巡回指導調査団は協力期間後半のT.S.I についても協議を行い、これに署名した。

協力期間後半のT.S.I については、付属資料-1を参照されたし。

1-2 調査団の構成、派遣期間、日程

1991年度から1992年度まで毎年派遣された巡回調査団の構成、派遣期間、日程は、それぞれ以下のとおりである。

《1991年度》

(団員構成)

団長	総括/水族栄養	新井 茂	水産庁養殖研究所栄養代謝部長
団員	水族病理	佐野徳夫	東京水産大学水族病理学研究室教授
団員	魚類/貝類養殖	奥石裕一	水産庁西海区水産研究所魚類増殖研究室長
団員	業務調整	三春敏夫	国際協力事業団水産業技術協力室ジュニア専門員

(派遣期間)

平成4年2月29日から3月14日までの15日間

(調査日程)

2月29日	土	東京→ロサンジェルス	移動
3月1日	日	→キト	移動
2日	月	キト→グアヤキル	移動、日本人専門家との打合せ
3日	火	グアヤキル	日本人専門家と協議
4日	水	〃	ESPOL 学長表敬、ESPOL 海洋学部視察、 日本人専門家と協議
5日	木	グアヤキル→サンベドロ	プロジェクト・サイト (CENAIM) 視察、 CENAIM関係者と協議
6日	金	サンベドロ→グアヤキル	CENAIM関係者と協議、移動
7日	土	グアヤキル	資料整理、団内打合せ
8日	日	〃	魚市場見学
9日	月	〃	合同委員会
10日	火	〃	資料整理、INP 視察
11日	水	グアヤキル→キト	日本大使館報告、 外務省経済技術協力局表敬
12日	木	キト→ロサンジェルス	移動
13日	金	ロサンジェルス	移動
14日	土	→東京	移動

① ESPOL : 国立沿岸工学院 (Escuela Superior Politecnica del Litoral)

② CENAIM : 国立養殖・海洋研究センター (Centro Nacional de Acuicultura  
Investigaciones Marinas)

③ INP : 国立漁業研究所 (Instituto Nacional de Pesca)

《1992年度》

(団員構成)

団長	総括／水族栄養・魚類養殖	安永義暢	水産庁養殖研究所栄養代謝部長
団員	水族病理	佐野徳夫	東京水産大学水族病理学研究室教授
団員	魚類養殖計画	佐藤昭人	水産庁海洋漁業部国際課海外漁業協力室 技術協力係長
団員	業務調整	三春敏夫	国際協力事業団水産業技術協力課 ジュニア専門員

(派遣期間)

平成4年8月29日から9月12日までの15日間

(調査日程)

8月29日	土	東京→ダラス	移動
30日	日	→キト	移動
31日	月	キト→グアヤキル	移動、国家開発審議委員会・外務省・日本大使館表敬、日本人専門家との打合せ
9月1日	火	グアヤキル	日本人専門家と協議、ESPOL 海洋学部視察、ESPOL 学長表敬
2日	水	グアヤキル→サンベドロ	移動、プロジェクト・サイト (CENAIM) 視察、CENAIM関係者と協議
3日	木	サンベドロ	CENAIM関係者と協議、
4日	金	サンベドロ→グアヤキル	CENAIM関係者と協議、移動
5日	土	グアヤキル	資料整理、魚市場見学
6日	日	〃	団内打合せ、日本人専門家と協議
7日	月	〃	合同委員会、調査団主催レセプション
8日	火	〃	資料整理、日本人専門家と協議
9日	水	グアヤキル→キト	移動、日本大使館報告
10日	木	キト→ニューヨーク	移動
11日	金	ニューヨーク	移動
12日	土	→東京	移動



1-3 主要面談者

(1) エクアドル側

Mr. Marcelo Chaves	国家開発審議会技術協力局局長
Dr. Fernando Flores	外務省経済技術協力局局長
Ing. Sergio Flores	ESPOL 学長
Ing. Jorge Faytons	〃 海洋工学部長
Dr. Jorge Calderon	CENAIM 所長
Mr. Victor Osorio	〃 副所長 (貝類養殖担当)
Dr. Guillremo Lopez	〃 所員 (水族病理担当)
Mr. Andres Pedrazzoli	〃 〃 (水族栄養担当)
Mr. Nelson Montoya	〃 〃 (水族栄養担当)
Mr. Raul Guartatanga	〃 〃 (魚類養殖担当)
Ms. Maria Pilar Cornejo	〃 〃 (研究管理担当)

(2) 日本側

板橋毅一	在エクアドル共和国日本大使館特命全權大使
松井正人	〃 一等書記官
増留徳郎	〃 二等書記官
山村薫	〃 専門調査員
本尾洋	派遣専門家 (チーフ・アドバイザー)
赤星静雄	〃 (貝類養殖)
黒木隆	〃 (業務調整)

## 2. プロジェクトの進捗状況

2回の巡回指導調査の際には、それぞれ日本人長期専門家、CENAIM所長及びカウンターパートを含め、年度事業について部門別に検討された。以下に示すものは、各年の部門別業務の進捗状況である。

(1991年度巡回指導)

### 2-1. 水族病理部門

必要試薬品類の購入に、立地的制約があり現地調達が難しく、タイムリーに入手が困難なものもあるが、技術移転はほぼ円滑に行われている。研究内容は、細菌・寄生虫・真菌・ウィルスおよび病理組織の5項目に別れているが、主たる内容は養殖環境ならびに養殖対象動物に常在する細菌の細菌学的調査であって、細菌種の分離・同定・薬剤感性試験の範囲におよび、その成果は90年度実績と比較して進展している。寄生虫については原生動物の分類、真菌については海産動物からの分離培養が行われ、ウィルスについてはエビ類の病原性ウィルスの病理組織学的観察が行われているが、その成果は初歩的水準にとどまっている。

### 2-2. 水族栄養部門

7名のカウンターパートを配属し、栄養部門、分析機器部門、パイロットプラント部門に責任者を置き、主任研究員が総括するという体制をとっている。現時点では基礎的な分析手法についての技術習得が主課題となっているが、現地で入手できる各種の飼料・原料・素材の分析を実施して精度の向上に努めるとともに、配合飼料作成の基礎データの蓄積に努めている。なお、機器分析に関しては部品の入手、試薬の入手に問題のあることが指摘された。

一方、飼育実験関連については本部門の短期専門家の派遣が1992年2月であったために遅れていたが、試験飼料作成の技術も習得し、現在エビを用いた栄養要求実験を開始したところで、その成果が期待されている。

### 2-3. 貝類養殖部門

在来種であるイタヤガイおよび移入種であるカキ(日本産カキ)を対象に種苗生産・養成が進められ、実験室レベルでの種苗生産が実施され成功している。カキでは海面及びエビ養殖池、イタヤガイでは養殖池でのパイロットスケールの養殖が進められている。視察した養殖池のカキ・イタヤガイは順調に成長しており、現在のところ計画通りの成果が上がっている。養われ、今後の技術開発が期待される。

## 2-4. 魚類養殖部門

年度計画に沿ってカウンターの努力が認められる。しかし、養殖を始めるにあたっての魚類の生物学的情報が不十分なため、養殖適種選定の研究に多くの労力がさかれている。採卵試験・種苗生産・育成管理に関する項目では、まだ円滑な技術移転を行える段階までに達していない。養殖適種選定が主な内容となっていることは、プロジェクトの開始まもないことから当然の結果とも言えるが、親魚養成や育成管理に関する技術開発には実際に魚を飼育して得られる経験・情報が、不可欠であり、プロジェクトの期間を考慮すると、これらについても早期に本格的な研究の着手が望まれる。

1991年度の各部門の実績については、付属資料-2を参照されたい。

(1992年度巡回指導)

## 2-1. 水族病理部門

5名のカウンターパートを配属し、92年3月の巡回指導調査時より1名の増員があり、人材確保を確実にし、カウンターパートの配置は良好である。

水族病理学関連の技術移転はほぼ円滑に行われており、その内容は各種病原体の養殖環境ならびに養殖対象動物に常在する生態学的調査であって、条件的病原細菌の分離・同定さらには薬剤感度試験の範囲に及び、その成果は初年度のそれと比較して前進している。それらの中で真菌 *Aspergillus flavus* が養殖エビ用の餌から分離・同定された内容の研究論文は、一応科学論文としての体裁はなしているものの客観性を欠き、引用文献数の乏しいことからなお一層の訓練を要すると判断され、これらの面での指導を集中的に行った。

ATCC標準株と CENAIM 分離株との生化学的比較及び真菌学関連の文献の収集の二点は、印刷公表する前に実行しておかねばならない最重要課題であり、また、所長の要求する CENAIM 所員の研究能力の開発にかかわる問題と受けとめ厳しく指導した。

## 2-2. 水族栄養部門

8名のカウンターパートが適切に配置されており、水族栄養に関する技術移転は全般的に順調に進んでいる。短期専門家の経年派遣によって分析技術、栄養要求等のプログラムもほぼ予定通り消化され、報告書の記述内容に関しても書式、データ分析等に改善の余地は残されているものの、専門家の指導の成果が認められる。当該部門に関しては、今後予定される専門家の派遣及び研修生の受け入れによる計画的な技術移転、及びこれを応用したエクアドル側の研

究計画の策定、実行を通じて所期の目標は達成されよう。

### 2-3. 貝類養殖部門

カウンターパートは主任のMsc. V. Osorio以下3名が配属され、さらに研究補助員1名が追加されたため業務の進捗は円滑に実施されている。

在来種であるイタヤガイおよび移入種であるカキ（日本産カキ）を対象に種苗生産・養成が進められ、実験室レベルでの種苗生産が実施されて成功している。カキでは海面及びエビ養殖池、イタヤガイではエビ養殖池でのパイロットスケールの養殖が進められ、成長・歩留まり等の知見を得るため養殖試験が継続されている。この試験と平行して、養殖環境の状況を知るため、外海養殖ポイント及びエビ養殖池で、水温・塩分・pH・DO・透明度・細菌等の水質検査を実施して、データの蓄積に努めている。

視察した養殖池のカキ、イタヤガイは良好な成長を示し、現在のところ計画通りの成果が上がっている。養殖池による貝類養殖については、エクアドルで広く行われているエビ養殖との混養が可能な点が注目され、今後の技術開発が期待される。

### 2-4. 魚類養殖部門

魚類養殖の技術に関しては、担当カウンターパート（5名）の意欲も高く、適種選定（スズキ類ほか3種）及び試験的の飼育実験などに所定の成果が得られているものの、プログラムを進める上で克服すべき課題がいくつか認められる。まず、実験用稚魚の入手に定形的ルートが確立されていない点が挙げられる。現在はエビ養殖場に混入して成長したスズキ類幼魚をエビの取り上げ時に立ち会って採集する、あるいは海岸の稚エビ採集場で稚エビ用網を用いてカレイ類稚魚を採集するなどの試験錯誤的手段によって入手努力が続けられているが、安定的な確保は保証されていない。

他方、親魚養成技術については、漁獲物から入手されたヒラメ類大型魚の室内水槽での飼育実験が試みられている。しかしながら、漁獲時の損傷、運搬時のショック及び体力消耗などに起因する餌付けの不調、高死亡率などの問題があり、魚体損傷の少ない釣り、刺し網などによる漁獲、冷却による運搬などの方法の導入を検討しない限り、今後養成用親魚を安定的に確保することは難しいと考えられる。また、入手した親魚については年齢、成熟度などが不明で、産卵までにどの程度の年数を要するかの判断も難しい状況にある。

各研究項目についての進捗状況は以下の通りであるが、今回暫定実施計画(T.S.I)で変更したように、今後、採卵試験、種苗生産、飼育管理の3項目については天然稚仔魚飼育実験、親魚飼育実験の3項目に変更縮小して、長期専門家の派遣も含めた本格的な技術移転を図る必要がある。

### 1) 養殖適種選定

プロジェクト初年度より選定のための調査が計画され、漁業実態調査、市場調査、天然種苗確保調査、文献レビュー等を通じて、Robalo(アカメ科)、Corvina(ニベ科)及びLenguado(ヒラメ科)の3種に絞り込まれている。天然種苗調査については、Esmeraldas, Manta, Puerto Cayo, San Pablo, Palmar Machalaでそれぞれ数日程度、漁民などからの聞き取りを中心とした調査を踏まえた幼稚魚の採集が実施されているが、天然種苗として安定的に採集できる状態までには至っていない。今後は少なくとも養殖実験用オーダーでの天然種苗が確保できるよう、候補3魚種に絞り込んだ聞き取り調査、文献の収集等の強化により、具体的サイトの選定や年間変動量の把握等が望まれる。なお、少数ではあるが、Lenguadoがこれに近い種類として稚魚が採集され、飼育が試みられており、急ぎ、種の同定が必要であろう。ただし、残りの期間を考えると幼稚仔の分類全般に多くの時間を割くことは得策ではないと思われる。

養殖適種の選定は、ほぼ終わったとしてよいであろうが、今後本格的な研究を実施していく際には、3魚種のうち天然種苗の確保が容易で、養殖実験が可能な魚種を中心に技術移転を図っていくことになろう。

### 2) 産卵試験

1991年8月より1992年3月にかけて親魚の採集及び移送試験がなされているが、十分な結果が得られていない。親魚を確保するための漁民とのネットワークもできておらず、研究所までの適切な輸送方法も確立されていない。また、魚のダメージが大きい上に餌も食べない状況が見られる。

これらの点から、親魚を飼育した上で種苗生産試験を行うことは、残りの期間が短いことからリスクが大きいと考えられる。

### 3) 種苗生産

種苗生産は現在のところ行なわれていない。成熟卵を持った親魚からの採卵、人工受精等によって種苗生産の技術移転を図ることも一つの方法であると考えられる。

### 4) 育成管理

育成管理については、まだ試行錯誤で基礎技術を習得している段階にあり、確実に魚を飼育することができる技術の移転が当面の重要な要素となる。特に、餌についての知識を水族栄養部門と共同研究をよって身につける必要があると考えられる。

### 5) 水質環境モニタリング

1990年より水温、塩分濃度を定期的に測定している。貝類部門との共同体制でのフィールドでの調査を図ることが必要である。

### 3. プロジェクト運営上の問題と対策

2回の巡回指導調査の際には、エクアドル側関係者及び日本人専門家との協議及び現地調査を行い、プロジェクトの進捗状況、問題点などを把握し必要な助言・指導を行った。以下に示すものは、各年度のプロジェクト運営上の問題点と指導内容である。

#### (1991年度巡回指導)

R/D (討議議事録)あるいは暫定実施計画では養殖部門についてはFish-mollusc cultureという記述になっている。そのために日本側は魚類または貝類ということで、この分野においてはMollusc cultureの長期専門家を派遣して技術移転を図ってきたが、エクアドル側は魚類養殖分野のセクションを設けてカウンターパートを配置し、かつ日本側もカウンターパート研修として受け入れている。このような状態にあるためにエクアドル側は魚類養殖の長期専門家の派遣を強く要望している。なお、プロジェクト実施前の段階ではチーフ・アドバイザーに魚類養殖の指導を要望していたが、養殖可能種の選定が絞られてきた現在ではチーフが種苗生産、稚仔魚の飼育、親魚の飼育などについて対応するのは困難と思われ、長期の魚類養殖専門家の派遣について検討する必要がある。しかし、暫定実施計画の見直しは、R/Dでプロジェクトが3年目に入る1992年8月以降に行うとして行っているので、それまでに魚貝類養殖の暫定実施計画の見直し案の作成(魚類養殖の長期専門家派遣にかかわる)に必要な資料を収集するようにエクアドル側に要請した。

CENAIMが僻地に存在するため、日本人専門家と日本大使館も含めた日本側との連絡を円滑に行うことは現状では難しい。現在、グアヤキルのESPOL本部とCENAIMの間では無線機を使用し、日本大使館とCENAIMでは電話機を使用しているが、特に電話による通話状況は非常に悪い。また、グアヤキル市内およびキト日本大使館との電話回線線の状態も悪く、緊急時の連絡のためには無線機の設置が不可欠と考えられる。無線機は日本人専門家の自宅とCENAIMおよび日本大使館にそれぞれ設置されることが望ましく、現地では無線機の選定中であり、購入費は安全対策費での対応が適切であると考えられる。日本からの連絡はグアヤキル市内の黒木調整員自宅の電話とファクシミリを主に利用しているが、本調整員はCENAIMで勤務しており、週末のみグアヤキルに帰宅するため、日本との連絡に約一週間のずれが生じる場合がある。今回の調査団では緊急時の連絡方法の確実性を高めるため、青年海外協力隊現地事務所(キト市)の電話とファクシミリの利用を取りつけたが、今後は、青年海外協力隊事務局との調整が必要である。

(1992年度巡回指導)

調査の主目的である暫定実施計画(T.S.I)の見直しに関しては、該当4部門ともにエクアドル側、及び長期専門家との話し合いを通じて問題点が整理され、残された期間のプロジェクトの運営を円滑化するための基本的な措置は図られたと判断される。しかしながら、一方では日本人専門家と調査団との協議において、チーフ・アドバイザーからカウンターパートの配置、同研修計画等に関してエクアドル側との意志疎通が十分ではないとの問題提議があった。討論の末、今後のプロジェクトの効率的推進のためには、同運営に係る両国間の情報・意見交換をさらに積極化する必要があるとの結論に至った。この点に関する具体策として、調査団はカウンターパートの研究進捗状況と問題点の把握のための月例報告会の設置、及び合同委員会の複数回開催などの基本案をまとめ、合同委員会に先立つ事前協議の席でエクアドル側に説明した。

他方、同席上でエクアドル側からはプロジェクト研究の企画、立案、解析等の長期的協議に利する部門別アドバイザー・システムの設置の希望が提示された。いずれの提案とも、コミュニケーションの充実が重要であるとの点では共通しており、双方とも意向をくみ取る必要性を認識した。

また、同席上、日本側は懸案事項であった魚類養殖の長期専門家の派遣計画について概要を説明した。この点に関し、エクアドル側から業務経験者の派遣を希望する旨が述べられた。調査団としても、同部門の実情に照らして同様な意見を有していたため異論の無いことを伝えた。

エクアドル側から魚類養殖に係る長期専門家のT/Rについて要望を聞いた結果、以下の4項目に明るい長期専門家が妥当であると思われる。

- 1) 養殖対象種の漁業生物学的情報(成長・成熟・水温・餌料等)の収集、整理。
- 2) 天然種苗の採集・運搬、及びその安定的飼育のための摂餌量、環境条件等の測定とデータの分析。
- 3) ワムシ等の生物初期餌料の大量培養。
- 4) 親魚育成、種苗生産から中間育成、養殖試験に至るまでの広範な飼育技術。

なお、日本人専門家からは、始めに述べた意志疎通の不足の問題に加え、JICAプロジェクトと第3国からのプロジェクトとの整合性、具体的には設備の使用上あるいは人員配置上の競合の恐れについての問題が提出された。本件については、調査団が持ち帰り、他国でのJICAプロジェクトにおける同様な問題の有無、SENAIMの経営方針との関係等について別途協議の上、日本人長期専門家に連絡することとした。

#### 4. 実施体制

##### 4-1. カウンターパートの配置状況

CENAIMの職員数は1991年度の34～35名から1992年 8月現在で、76名に倍増している。そのうち、JICA/CENAIM プロジェクトのカウンターパートはチーフ・アドバイザーに 1名、業務調整員に 2名、水族病理学に 5名、水族栄養学に 8名、貝類養殖に 5名、魚類養殖に 5名がそれぞれ配置されている。

CENAIM職員リスト・組織体制については、付属資料-3を参照されたし。

##### 4-2. 運営予算

予算の現状は1991年度の40千万スクレ（約296 千ドル、約3,852 万円）から1992年度の80.7千万スクレ（約598 千ドル、約7,776 万円）と倍増している。エクアドル国内のインフレ率を考慮すると実質の伸び率は低いものの、エクアドル側の本プロジェクトに対する積極的な姿勢は評価すべきであろう。CENAIM予算（貨幣単位：スクレ）の推移は以下の通りである。

	1991 年度	1992 年度	増加率
人件費	255,292,704	450,000,000	76.3%
経常経費	46,455,950	121,144,000	160.8%
消耗品費	48,952,377	137,082,000	180.0%
助成金	1,000,000	770,000	-23.0%
予備金	-	1,300,000	-
補填経費	-	10,115,000	-
(小計) 運営経費	351,701,032	720,411,000	104.8%
設備経費	48,298,968	87,129,000	80.0%
予算合計	400,000,000 (約 296千ドル) (約 3,852万円)	807,540,000 (約 598千ドル) (約 7,776万円)	101.9% 注: 1 ドル = 1,350 スクレ 1 ドル = 130 円で換算



#### 4-3. 専門家の派遣

R/D 上の協力開始日である1990年 8月 1日以降本調査団派遣時までに実施された専門家派遣実績は、長期専門家 3名、短期専門家 4名で、派遣分野および期間は以下のとおりである。

専門家氏名及び分野	期間
長期専門家	
本尾 洋 (リーダー)	1990年10月16日 ~ 派遣中
黒木 隆 (業務調整)	1990年 8月14日 ~ 派遣中
赤星静雄 (貝類養殖)	1990年10月16日 ~ 派遣中
短期専門家	
尾形 博 (水族栄養)	1990年 4月 9日 ~ 1990年 5月 6日
横川次寛 (魚類養殖)	1991年 9月30日 ~ 1991年11月29日
福田 毅穂 (水族病理)	1991年 8月 1日 ~ 1991年 8月29日
秋山敏男 (水族栄養)	1992年 2月 4日 ~ 1991年 3月 2日

#### 4-4. 研修員の受入れ

R/D 上の協力開始日である1990年 8月 1日以降本調査団派遣時までに実施された研修員受入れ実績は、7名で研修分野および期間は以下のとおりである。

研修員氏名及び分野	期間
Mr. Victor Osorio (貝類養殖)	1990年 8月23日 ~ 1990年10月24日 研修終了
Mr. Andes Pedrazzoli (水族栄養)	1990年10月 8日 ~ 1991年 3月27日 研修終了
Ms. Ppaula Pinto (水族病理)	1991年10月28日 ~ 1992年 6月 2日 研修終了
Mr. Jorge Blasio (魚類養殖)	1992年 1月 7日 ~ 1992年 8月18日 研修終了
Mr. Jorge Calderon (水族栄養)	1992年 3月15日 ~ 1992年 4月 8日 研修終了
Ms. Martina Leon-Hing (水族病理)	1992年 6月 2日 ~ 1992年12月25日 研修終了予定
Mr. Daniel Ortega (貝類養殖)	1992年 7月 7日 ~ 1992年10月11日 研修終了

#### 4-5. 供与資機材の利用状況

供与機材の総額は91年度で約 3,500万円、92年度では約 3,200万円である。機材利用・活用は円滑に行われている。機材の管理は台帳を作成し、それを現地側カウンターパートと日本人専門家が点検している。また、各部門の研究室および倉庫で適切な保管が行われている。

## 5. 実施計画

2回の巡回指導調査の際には、それぞれ日本人長期専門家、CENAIM所長及びカウンターパートを含め、年度事業計画について部門別に検討された。以下に示すものは、各年の部門別業務の実施計画である。

(1991年度巡回指導)

### 5-1. 水族病理部門

91年度とほぼ同様な内容であるが、新項目として分離細菌による感染実験ならびに迅速診断技術を加える。92年度の事業の研究成果を学術論文として学術雑誌に公表できるように、研究内容の向上を計る。

### 5-2. 水族栄養部門

水族栄養研究の実務経験が乏しいために、飼育実験の実践をとおして、研究計画の立案、試験用飼料調整、実験動物の予備飼育・選別・本飼育、実験動物のサンプリング及および分析、実験データの整理と解析、および報告書または論文の作成などに習熟する必要があるので、計画にそって実験を継続する。なお、現在はエビを実験動物として使用しているが、魚類養殖部門と連携をとりながら、魚類栄養に関する研究をも開始し、魚用の試験飼料の開発に着手する必要がある。

### 5-3. 貝類養殖部門

日本人長期専門家の意見では、教科書的技術から応用技術への技術移転をよりの確にするために種苗生産・養成試験を繰り返す必要がある。

### 5-4. 魚類養殖部門

文献のレビューにより漁業生物学的情報(成長速度・成熟年齢・適性水温)を収集する必要がある。また、養殖技術研修のために稚仔魚を採集し飼育を試みて成長と摂餌・好適環境条件等に関するデータを蓄積する必要がある。

今後は、焦点を絞り、天然種苗の採集とその飼育試験、ワムシなどの生物初期餌料の大量培養の技術の習得が必要である。

(1992年度巡回指導)

#### 5-1. 水族病理部門

第3年次および第4年次の計画は、暫定実施計画(T.S.I)の計画通であるが、新項目として 1) 感染実験、2) 迅速診断技術、3) 抗血清作成技術、4) ウイルス分離と細胞培養技術 5) バキュロウイルスの防除技術、特に魚類養殖を新しくプロジェクトに取り入れる場合には、わが国の魚類種苗生産において従来発生していた稚仔魚のウイルス病の経験から、ウイルス分離と細胞培養技術は重点課題としなければならない。

#### 5-2. 水族栄養部門

エネルギー代謝(Metabolism)のように、エクアドル側の具体的な希望内容が定まってないプログラム、あるいは希望は示されているが具体的な指導方法を詰める必要のあるプログラムがあるため、日本側としては以下の諸点に留意の上、年次計画にそって早めにエクアドル側と連絡を取り、専門家の派遣、カウンターパート研修の受入れなどについて研究骨子を策定することが必要である。

- 1) 栄養要求に関して、既に実施されたタンパク質要求実験に加え、ビタミン類等の栄養素の要求量実験を実施し、飼料の改良に資すること。
- 2) 消化・吸収に関して、対象動物の消化酵素の分析、及び消化管からの栄養素の吸収過程の追跡に関する基礎的知識、技術を習得させること。
- 3) 代謝に関して、栄養要求のプログラムとの関連性を踏まえ、基礎代謝実験その他、具体的な指導計画を立てること。
- 4) エビ類のモノカルチャーから脱するために魚類養殖技術の移転が図られている点に鑑み、上記プログラムでも魚類を扱うことが可能となるよう、急ぎその飼育の準備を進めさせること。ただし、実験用魚類の入手が困難である現状に照らし、魚類養殖部門との協力関係を作らせること。

#### 5-3. 貝類養殖部門

第3年度目の92年10月より、現在育成中のマガキが商品サイズ(全長10~15cm)となるため、人工浄化試験を実施する予定である。

93年3月以降に、マガキの肉質向上を目的とした三倍体作成試験に着手する予定である。この技術は米国で開発され、1985年以降商業ベースで種苗生産が行われて市販されつつある。当プロジェクトでは、この技術に関し米国で研究中のESPOL学生の帰国を待って、試験実験に着手する予定である。

#### 5-4. 魚類養殖部門

魚類養殖に係るプログラムを効率的に進めるためには、長期専門家の派遣の事前の措置として、チーフ・アドバイザーを通じ、以下の諸点を準備させることが望ましい。

- 1) 養殖対象種として選定された3魚種の分布生態、成長、採集方法等に関する資料を整理すること。日本側も日本に分布する近縁種の資料提供など、協力を努めること。
- 2) 上記資料から得られる知見の応用、及び漁協関係者、漁業者からの聞き取り調査を通じて対象種の幼稚魚あるいは産卵魚が分布する確率の高い水域・時期等を推定、さらには可能であれば試験的な採集調査によって特定し、事後の採卵、種苗生産等の実験計画の立案に資すること。
- 3) 水族栄養部門に関して触れたように、魚類養殖の開発に当たっては飼料研究が不可欠であるから、試験用魚類の入手・運搬、飼育実験等について両部門の協力体制を組むこと。

92年度の詳細年次計画については、付属資料-4を参照されたし。

## 6. 合同委員会の協議事項

2回の巡回指導調査の際には、グアヤキル市内の ESPOL本部で合同委員会が開催された。4部門の責任者から、各年度の活動実績報告と実施計画の説明がなされた。おもな協議内容は以下の通りである。

### (1991年度巡回指導)

JICA- CENAIM, CENAIM- ESPOL との間でより緊密な連絡とるように改善すること。その一つとして ESPOL 学内に JICA 専門家のための連絡室を設置する。

魚類養殖部門は親魚養成、人工種苗生産のみでなく天然稚仔魚の採集と飼育を平行して実施すること。また、水族栄養部門はエビのみでなくて魚類についても魚類養殖部門と共同して研究を進める必要がある。このことについては予算措置の必要性が強く訴えられた。

報告書についてはより学術的なスタイルで作成し、さらに次年度は、各部門で最低1編は学術誌に投稿できるような成果を上げることが要請された。また、CENAIM 所長はこれら研究報告・研究論文に目を通し作成を指導すること。さらに、日本人専門家とのコミュニケーションを改善するために、研究員の英語力の向上が要請された。

合同委員会の詳細については次項の議事録 (M/M) を参照されたし。



**MINUTES OF THE SECOND JOINT COMMITTEE OF THE  
CENAIM-JICA PROJECT**

PLACE: ESPOL Conference room, Guayaquil  
DATE & TIME: March 9, 1992, 15:30 - 18:30  
PRESIDING: Ing. Sergio Flores M., ESPOL President  
PRESENT: 16 participants in all  
Japanese mission: 4 persons  
The JICA experts: 3 persons  
Ecuadorian staff: 9 persons

**ITEMS:**

The second meeting of the Joint Committee of the CENAIM-JICA Project was called to order at 15:00 hrs. at the conference room by Ing. Flores. He made the opening ceremony at 15:30 hrs.

1. The opening address was given by Ing. Flores and Dr. Jorge Calderón, welcoming the members of the Japanese mission. Ing. Flores pointed out the importance of this second joint committee meeting, because this allows both sides to know how the project is developing since last October. It has been only under the Japanese assistance that ESPOL started to work seriously in aquaculture research. He also referred to the high expectations of this project. Confident in receiving the mission's cooperation, Ing. Flores granted the continuous effort from the Ecuadorian side.  
Dr. Calderón, besides enforcing Ing. Flores speech, insisted on the fact that ESPOL as an institution has achieved a big effort to comply with the agreement of this project. Dr. Calderón encouraged the participants to take this opportunity to identify the existing problems, find solutions and improve project results, so everything can be better in the near future.
2. The members of the Japanese and Ecuadorian staff were introduced by Dr. Hiroshi Motoh and Dr. Calderón, respectively.



3. Separated and detailed reports on the research results for the fiscal year 1991 (March 1991 - February 1992) were presented by each project chief as follows:

- (1) Dr. Guillermo López, acting chief of aquatic pathology, presented their report of scientific activities and achievements during the past fiscal year.
- (2) M.Sc. Víctor Osorio, CENAİM Sub-Director and chief of mollusc culture, informed that CENAİM has been working with three main species, two of them native and one imported from Chile on March and November, 1991. M.Sc. Osorio explained the main culture systems applied in CENAİM: the one at open sea and another one at shrimp farms, their techniques, and favorable results.
- (3) Ing. Qco. Andrés Pedrazzoli, aquatic nutrition coordinator, made their information regarding the achievements in this area. The objective of this report was divided into three levels for the period 1991-1993. The first level is basic methodology of analysis; the second nutritional requirements; and the third feeding.
- (4) Acuí. Raúl Guartatanga, acting chief of fish culture, described the activities carried out under this area, such as species selection, egg collection, and seed production.

4. Dr. Calderón made a brief summary for the participants, pointing out how the three JICA projects fit in CENAİM Research program. He mentioned that out of the 12 laboratories in CENAİM, 6 labs were involved in JICA projects. Dr. Calderón informed about fish culture achievements for 1991, as to the selection of two species "Robalo" and "Lenguado", but taking into consideration that problems in how to handle and collect brood stock will show up soon.

Dr. Calderón explained the preliminary trials performed with oysters and shrimps with positive results. The proposed project for 1992 includes reproduction of oysters in laboratory.

The present status of the local budget for the project facility and staffing of the counterpart personnel was explained by Dr. Calderón. In order to comply with the commitments of this project, new personnel was hired in all areas except in mollusc culture. This shows a clear effort to improve the efficiency of the project.



Within the organization chart, some changes were introduced, not effective prior to the board's approval. The budget allocation for each area was exhibited on the projector. The Ecuadorian government provided with 700 million sucres for the 1992 budget which is mostly devoted to services, supplies and salaries. Within the service figures, maintenance of the CENAIM building is included, such as painting, mechanical and electrical works, etc. In the supply figures, chemicals, materials, and live animals (brood stock) must be considered (36%). These figures do not include gasoline, diesel nor any other item except those needed to carry on the research. Salaries for Ecuadorians make up the 31% of the budget. For training, there is a fund of 151 million sucres which are covering the training of two technicians who will be posted to Belgium, one to Israel, and three to Japan.

Dr. Calderón took the opportunity to present the first book published with the JICA assistance entitled "A FIELD GUIDE FOR THE EDIBLE FISHES AND SHELLFISHES IN COASTAL WATERS OF ECUADOR".

5. The report on the results of discussion for major problems arising from the project was first informed by Dr. Calderón. He summarized all the inconveniences presented in just one problem which is lack of appropriate communication. In 1991, many coordination problems could have been solved if travelling of trainees to Japan would have been informed with sufficient advance. Dr. Motoh made no more comments. M.Sc. Miharu expressed that communication among CENAIM-ESPOL, and Japan is going to be improved. Concerning this matter, Ing. Flores informed that ESPOL will provide space in the Campus for the JICA experts. Regarding the technical part, Ing. Flores announced that in May a new communication system that handles voice and data is going to be installed in ESPOL.

Dr. Arai was concerned about the aquatic nutrition field. He suggested the counterpart to continue with nutrition experiments not only for shrimp but also for fish, applying the acquired knowledge and scientific data. On the other hand, Dr. Calderón expressed the lack of funding for the additional experiments. The mission proposed to rear fish and shrimp, and to nourish them with diets. They strongly recommended to be able to make fish diets so that no special technique is required. Again as Dr. Calderón emphasized the budgeting problem, if fish is added, it will demand more time and money, unless reducing the effort to shrimp.

Dr. Sano expressed his support to the aquatic pathology and qualified its results as quite good. Furthermore, he would like to receive CENAIM reports in a more scientific style.

M.Sc. Koshiishi asked for more information regarding distribution of aquaculture potential fish species. Dr. Arai shared with the audience his experience at the fish market in Guayaquil. He was surprised at the high prices and there were many people buying fish or shellfish. As a conclusion, the mission requested statistical data of internal consumption, prices, annual production of fish, and socio-economical importance, so they can submit this information to JICA headquarters.

Dr. Arai highly evaluated the results of the mollusc culture.

Dr. Calderón focussed the importance of splitting the fish-mollusc culture project. The mission understood the importance and requested more supporting information until August, 1992.

Ing. Flores expressed his concern about how the Japanese mission was going to evaluate the CENAIM results and when a publication may be expected.

Technical aspects were observed such as how the Ecuadorians should evaluate results. This can be achieved after teaching them how to implement experiments and to evaluate these results.

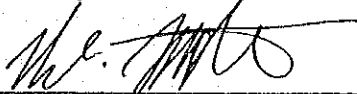
6. The annual programme on the results of discussion for the monthly research activities of the fiscal year 1992 was presented by each project chief. These were basically the same as in the previous year. The mission expressed their requirement of at least one scientific paper from each project for next year.
7. Dr. Motoh informed about the schedule of Ecuadorian trainees and Japanese short term experts by JICA for fiscal year 1992. This includes three trainees who will be sent around June for the three projects. It was also mentioned the possibility of two trainees for 8 months each and one trainee for 6 months, while short term experts will be staying for one or two months.
8. Dr. Motoh indicated that the fish culture expert will be in ~~low~~ fish fry survey and related fields because it was suggested by the mission to put more emphasis on fish fry culture than spawner collection. Dr. Calderón pointed out that 10 or 15 years ago the shrimp industry depended

mainly on wild shrimp larvae. The lag between fry and reproduction research could produce results similar to the one that the shrimp industry is facing at this moment. Therefore, fry and brood stock problems must be studied simultaneously, so that something can be done to sustain the natural resources.

Dr. Calderón mentioned that there are no experts for fry collection, but for fry surveys. There is no experience with marine fish in Ecuador. Thus, the mission recommended to carry out experiments of both the fry and brood stock rearing.

9. Closing address was given by Dr. Arai who was very pleased to find this joint committee between JICA and CENAİM very fruitful and friendly. He was surprised to see how CENAİM is well equipped, and encouraged the Ecuadorian staff to use efficiently the apparatus and machines because only human beings can make them work. Dr. Arai called the CENAİM staff the "golden eggs" because of their big possibilities for the future. Finally, he expressed the importance and responsibility of CENAİM authorities in the development of basic and applied research and emphasized on the leading role in Ecuador and South America. On behalf of JICA, he expressed their sincere thanks to the Ecuadorian staff for their kindness and cooperation during the mission's visit in Ecuador.
10. Closing ceremony was made by Ing. Flores and the meeting adjourned at 18:30 hrs.

Respectively submitted,




Dr. Hiroshi Motoh  
Japanese Project Team Leader  
Japan International Cooperation Agency  
(JICA)



Jorge Calderón V., Ph. D.  
Director  
Centro Nacional de Acuicultura  
e Investigaciones Marinas  
(CENAİM)

Respectively endorsed,



Ing. Sergio Flores M.  
President  
Escuela Superior Politécnica del Litoral  
(ESPOL)

SCHEDULE OF THE SECOND JOINT COMMITTEE  
(Technical Cooperation Project of JICA)

DATE : March 9, 1992  
PLACE : Conference room of ESPOL (new campus)  
PARTICIPANTS: (7 Japanese and 9 Ecuadorians)  
CHAIRMAN: ESPOL President, Ing. Sergio Flores M.

Items:

- 15:00 hrs.      Opening ceremony  
                  Opening address (ESPOL President, Ing. S. Flores and  
                  CENAIM Director, Dr. J. Calderón)
- 15:20 hrs.      Introduction of the participants  
                  (Japanese by Dr. H. Motoh and Ecuadorians  
                  by Dr. J. Calderón)
- 15:35 hrs.      Report on the research results for the fiscal year  
                  1991: March 1991 to February 1992  
                  (Dr. Guillermo López-Aquatic Pathology)  
                  (Ing. Qco. Andrés Pedrazzoli-Aquatic Nutrition)  
                  (MSc. Victor Osorio-Mollusc Culture)  
                  (Acui. Raul Guartatanga-Fish Culture)
- Present status of the local budget for the project  
                  facility and staffing of the counterpart personnel  
                  (Dr. J. Calderón)
- Report on the results of discussion for major  
                  problems arising from the project (Dr. J.  
                  Calderón and Dr. H. Motoh)
- 16:20 hrs.      Report on the results of discussion for the monthly  
                  research activities of the fiscal year 1992:  
                  April 1992 to March 1993 (each project chief)
- Schedule of Ecuadorian trainees and Japanese  
                  short term experts by JICA for fiscal year 1992  
                  (Dr. H. Motoh)
- 16:40 hrs.      Others
- 16:50 hrs.      Closing address (Leader of the Japanese mission,  
                  Dr. S. Arai)
- 16:59 hrs.      Closing ceremony

## LIST OF PARTICIPANTS OF THE SECOND JOINT COMMITTEE

### JAPANESE SIDE

#### I. The Mission

Dr. SHIGERU ARAI	Head of Fish Nutrition Division, National Research Institute of Aquaculture
Dr. TOKUO SANO	Professor and Chairman, Laboratory of Aquatic Pathology Tokyo University of Fisheries
MSc. YUICHI KOSHIISHI	Chief of Fish Culture Section, Seikai National Fisheries Research Institute
MSc. TOSHIO MIHARU	Associate Specialist, Fisheries Technical Cooperation Division, JICA

#### II. The JICA Experts

Dr. HIROSHI MOTOH	Japanese Project Team Leader
Dr. SHIZUO AKABOSHI	Mollusc Culture Expert
Ing. TAKASHI KUROKI	Japanese Project Team Coordinator

### ECUADORIAN SIDE

Ing. SERGIO FLORES	ESPOL President
Ing. RAUL COELLO	CENAIM Administrative Supervisor
Dr. JORGE CALDERON	CENAIM Director
MSc. VICTOR OSORIO	CENAIM Sub-Director
MSc. MARIA PILAR CORNEJO	CENAIM Scientific Supervisor
Sr. STANISLAUS SONNENHOLZNER	CENAIM Scientific Assistant Coordinator
Ing.Qco. ANDRES PEDRAZZOLI	CENAIM Aquatic Nutrition Coordinator
Dr. GUILLERMO LOPEZ	CENAIM Acting Head of Aquatic Pathology
Acui. RAUL GUARTATANGA	CENAIM Acting Head of Fish Culture

(1992年度巡回指導)

合同委員会では、まずエクアドル側からプロジェクト4部門の担当責任者による年度成果報告、ローカルコスト負担に関する説明があったのち、プロジェクトの運営方法についての両国間協議に移った。日本側はプロジェクトの運営が概ね順調であると評価される旨を述べたのち、さらに円滑化を期するために「Monthly Technical Progress Meeting の設置」、「年2回の合同委員会の開催」を提案した。同提案に対し、エクアドル側から後者の開催時期、議題に関する討議の必要性の有無について質問があったが、日本側は開催時期は半年間隔を目処とすること、議題は前者の経過を見て決めたい旨を回答し、合意を得た。

エクアドル側からはプロジェクト各部門の長期の相談相手となる「Permanent Technical Adviser System の設置」が提案された。同案に対し、日本側は現在設置準備を進めている「JICA水産分野・国内支援委員会」の場で検討する予定である旨を回答し、了承された。

次いで、日本側から水族病理、水族栄養の両部門に対する短期専門家、及び前回合同委員会以来の懸案であった魚類の長期専門家の派遣計画に関して説明がなされ、了承された。

最後に、エクアドル側に専門家の安全への特段の配慮を申し入れ、了承された。

合同委員会の合意事項である、「Monthly Technical Progress Meeting」、「年2回の合同委員会」の開始に当たっては、日本人専門家とエクアドル側責任者との十分な協議を通じ、継続的実行に向けた実りある制度となることが希望される。

合同委員会の進行上、年度成果は概要の説明にとどめ、詳細な報告は部門別の協議の場で事前に済ませることが希望される。

合同委員会の詳細については次項の議事録(M/M)を参照されたし。

## MINUTES OF THE THIRD JOINT COMMITTEE OF THE CENAIM-JICA PROJECT

PLACE : ESPOL Conference room, Guayaquil  
DATE & TIME : September 7, 1992, 10h25-13h30  
PRESIDING: Ing. Sergio Flores M., ESPOL President  
PRESENT : 21 participants in all  
Japanese mission: 4 persons  
The JICA experts: 3 persons  
Japanese Embassy: 2 persons  
Ecuadorian staff: 12 persons

### ITEMS:

The third meeting of the Joint Committee of the CENAIM-JICA Project was called to order at 10:25 hours, at the conference room by Ing. Flores. He made the opening ceremony at 10:30 hours.

1. The opening address was given by Ing. Flores welcoming the members of the Japanese mission. Ing. Flores pointed out the importance of this third joint committee meeting, because this allows both sides to know how the project is developing since last March. He also referred to the high expectations of this project. Confident in receiving the mission's cooperation, Ing. Flores granted the continuous effort from the Ecuadorian side.

2. The members of the Japanese and Ecuadorian staff were introduced by Dr. Motoh and Dr. Calderón, respectively.

3. Summary reports on the research activities for the period August 1990-July 1992 were presented by CENAIM coordination staff as follows:

(1) Mr. Stanislaus Sonnenholzner, CENAIM Coordinator, indicated that coordination will present a summary of the project activities, and that a detailed report has been presented to all Joint Committee members. Also, he explained that detailed information could be obtained from the quarterly activities report at CENAIM. Then he presented a summary of the activities developed in Aquatic Pathology and Aquatic Nutrition.

(2) M.Sc. M. Pilar Cornejo, CENAIM Head of Coordination Division, informed the participants the activities developed in the Mollusc-Fish Culture project with separated summaries. She also mentioned that the most important results from all the projects will be presented later by each JICA project area as scientific papers.

(3) Dr. Guillermo López, acting chief of Aquatic Pathology Division, presented the paper entitled "Identification of *Aspergillus flavus* in abioassay of artificial diets with *Penaeus vannamei* juveniles".

Author: Dr. Guillermo López Mendoza. (The paper is included in the activities report submitted to the JICA mission.)

(4) Q. Far. César Molina, chief of Nutrition Lab, presented the paper entitled "Protein requirements in artificial diets of *Penaeus vannamei* juveniles". Authors: E. Camba, A. Pedrazzoli, and T. Akiyama. (The paper is included in the activities report submitted to the JICA mission.)

(5) M. Sc. Victor Osorio, chief of Mollusc Culture Division, presented the paper entitled "Policulture of the pacific oyster (*Grassosostrea gigas*) and white shrimp (*Penaeus vannamei*) in Ecuador". Authors: V. Osorio, S. Akaboshi, R. Alvarez, P. Lombeida and D. Ortega. (The paper is included in the activities report submitted to the JICA mission.)

(6) Mr. Raúl Guartatanga, acting chief of Fish Culture Division, presented the paper entitled "Shrimp fry collecting gear used in Ecuador today". Authors: Hiroshi Motoh, Raúl Guartatanga and Enrique Blacio. (The paper is included in the activities report submitted to the JICA mission.)

(7) M.Sc. María Herminia Comejo, CENAIM, Fish Culture Advisor, presented the paper entitled "Relationship between fish and shrimp larvae catches". Authors: M.H. Comejo Rodríguez, E. Blacio, R. Guartatanga and L. Schwarz. (The paper is included in the activities report submitted to the JICA mission.)

4. The report on the results of discussion for major problems arising from the project was first informed by Dr. Calderón. He summarized all the inconveniences presented in just one problem which is lack of appropriate coordination with the Japanese side as was pointed out in the previous Joint Committee. He also presented a possible solution as follows:

i) It is necessary to have permanent technical advisors in Japan, especially in Aquatic Nutrition and Aquatic Pathology. They should be liaison persons between the CENAIM-JICA Project and the other experts in Japan. They could advise us in designing experiments, writing research proposals and scientific papers, and also recommending short-term experts and trainees programs, even more, equipments and supplies obtained. Concerning Mollusc Culture we already have a long-term expert, but as fish culture does, we need also a long-term expert here in Ecuador. If this is not possible then one in Japan.

ii) Regarding the Mollusc - Fish Culture project it is necessary to split it into two separated projects: one for Mollusc Culture and the second for Fish Culture. (A document has also been submitted to the chief of the JICA mission in Ecuador). With respect to the desirable characteristics of the long-term expert in fish culture, Dr. Calderón said that he must be a person with practical experience, for example somebody working on a hatchery, who knows fish culture procedures in general, focusing on broodstock collection and maintenance, rearing seed and fry/juvenile collection.



MSc. Miharu replied to these statements, saying that:

- i) The coordination problems will be solved with the establishment of a technical advisor committee in Japan. This would start next fiscal year (probably April 1993), and it would cover the JICA project.
- ii) Concerning the fish culture long-term expert, ESPOL must submit the A-I form with an official letter to JICA, and this must be forwarded to the Japanese Embassy.

5. Dr. Motoh informed that the mission has reviewed the activities report submitted by CENAIM, and after the visit to the center and discussions with each of the areas, the JICA mission didn't find major problems. Instead the mission evaluated the project being generally well conducted. However the mission made several recommendations in order to be more efficient as follows:

- i) One long-term expert for fish culture will be dispatched for two years.
- ii) Monthly technical progress meeting between both counterparts is very important in order to discuss, to present, to exchange ideas and to understand the project activities mutually.
- iii) One Joint Committee per year is not enough, therefore they proposed that two Joint Committees should be held per year.

6. Ing. Sergio Flores indicated that it is necessary to define the items for the next Joint Committee. MSc. Miharu suggested that the next Joint Committee (4th) without JICA delegation to be held at project site in February and the fifth at ESPOL in June-July next year.

7. MSc. Miharu informed the schedule of Ecuadorian trainees and Japanese short-term experts by JICA for the fiscal years 1992 and 1993.

- i) For the rest of 1992 one trainee will go to Japan and two short-term experts will come: Dr. Akiyama for Fish Nutrition in October 1992 and Dr. Hatai for Aquatic Pathology in January or February 1993.
- ii) During the fiscal year 1993, two short-term experts will come, one for Aquatic Nutrition and the other for Aquatic Pathology. Three trainees would be also dispatched.

8. Dr. Sano expressed again the importance of the advisors, the technical advisor committee and that CENAIM must work independently after the JICA project ends. He also mentined the importance to publish research results in journals after the project ends with the economic support from the Ecuadorian government.

Dr. Calderón pointed out that CENAIM has already planned to publish regular issues of the CENAIM Magazine, CENAIM Newsletter and CENAIM Data Report for the Ecuadorian personnel to publish their results either as technical or scientific papers. The technical staff are also encouraged to present their research results in international journals. To improve also the research

capabilities of the technical staff, they are encouraged to write research proposals in order to gain experience in writing projects as well as getting fund from other sources. He also expressed the commitment of CENAIM to continue to work with the Japanese even after the five years technical cooperation project ends. This can be probably achieved by maintainig constant relationship with the technical advisor committee members in Japan.

9. In accordance with Dr. Sano's question, Ing. Flores replied that it is in general difficult to sustain the previous financial level of the CENAIM without JICA support after terminating the project. As it seems to be impossible to obtain more budget from Ecuadorian government, the CENAIM itself has to look for other financial sources.

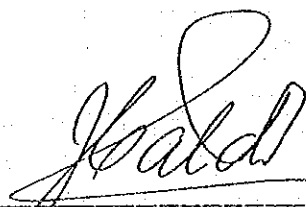
10. Dr. Yasunaga explained his expectation of more advancement of researches in the JICA project through the technical progress meeting (and two joint committees), and gave thanks to staffs of ESPOL and CENAIM with the Japanese mission and experts of JICA.

Closing ceremony was made by Dr. Yasunaga and the meeting adjourned at 13:30 hours.

Respectively submitted,



Dr. Hiroshi Moth  
Japanese Project Team Leader  
Japan International Cooperation  
Agency (JICA)



Jorge Calderón V., Ph.D.  
Director  
Centro Nacional de Acuicultura  
e Investigaciones Marinas  
(CENAIM)

Respectively endorsed,



Ing. Sergio Flores M.  
President  
Escuela Superior Politécnica del Litoral  
(ESPOL)

annex: List of participants  
Schedule of the Joint Committee

**SCHEDULE OF THE THIRD JOINT COMMITTEE  
(Technical Cooperation Project of JICA)**

DATE : September 7, 1992  
PLACE : Conference room of ESPOL (new campus)  
PARTICIPANTS : 8 Japanese and 13 Ecuadorians  
CHAIRMAN : ESPOL Rector, Ing. Sergio Flores M.

Items:

- 10:00 hrs. Opening ceremony  
Opening address (ESPOL Rector, Ing. Sergio Flores)
- 10:20 hrs. Introduction of the participants  
(Japanese by Dr. H. Motoh and Ecuadorians by Dr. J. Calderón)
- 10:35 hrs. Report on the research results for the fiscal years  
August 1990 to July 1992 (Coordination Division)
- Scientific Presentation:  
(Dr. Guillermo López-Aquatic Pathology)  
(Q.F. César Molina-Aquatic Nutrition)  
(MSc. Victor Osorio-Mollusc Culture)  
(Acui. Raul Guartatanga-Fish Culture)
- Present status of the local budget for the project facility and  
staffing of the counterpart personnel (Dr. J. Calderón)
- Report on the results of discussion for major problems  
arising from the project (Dr. J. Calderón and Dr. H. Motoh)
- Schedule of Ecuadorian trainees and Japanese short-term  
experts by JICA for fiscal year 1993, (MSc. Miharu)
- 12:50 hrs. Miscellanies
- 13:00 hrs. Closing address (Leader of the Japanese Mission, Dr. Y. Yasunaga)
- 13:10 hrs. Closing ceremony

## LIST OF PARTICIPANTS OF THE THIRD JOINT COMMITTEE

### I. Japanese mission

Dr Yoshinobu Yasunaga	Leader of Technical Guidance Team Director of Nutrition Division National Research Institute
Dr. Tokuo Sano	Professor and Chairman Laboratory of Aquatic Pathology Tokyo University of Fisheries
M.Sc. Akito Sato	Unit Chief Overseas Fishery Cooperation Office International Division, Fisheries Agency
M.Sc. Toshio Miharū	Associate Specialist, Fisheries Cooperation Division, JICA

### II. Embassy of Japan

M.Sc. Tokuro Masudome Dr. Miguel Pazmiño	Second Secretary of the Embassy of Japan Japanese Embassy Personnel
---	--

### III. Jica Experts

Dr. Hiroshi Motoh Dr. Shizuo Akaboshi Ing. Takashi Kuroki	Japanese Project Team Leader Mollusc Culture Expert Japanese Project Team Coordinator
---	---

### IV. Ecuadorian Side

Ing. Sergio Flores	ESPOL Rector
Ing. Jorge Faytong	Dean of Marine Engineering and Sea Sciences Dpt.
Ing. Raul Coello	CENAIM Administrative Supervisor
Dr. Jorge Calderón	CENAIM Director
M.Sc. M. Pilar Comejo	CENAIM Scientific Coordinator
Mr. Stanislaus Sonnenholzner	CENAIM Scientific Assistant Coordinator
M.Sc. Victor Osorio	CENAIM Chief of Mollusc Culture
Q.F. Nelson Montoya	CENAIM Acting Chief of Aquatic Nutrition
Dr. Guillermo López	CENAIM Acting Chief of Aquatic Pathology
Mr. Raúl Guartatanga	CENAIM Acting Chief of Fish Culture
M.Sc. Elba Camba	CENAIM Associate Researcher
M.Sc. M. Herminia Comejo	CENAIM Associate Researcher
Q.F. César Molina	CENAIM Chief of Nutrition Laboratory

## 附 属 资 料



THE MINUTES OF MEETING  
ON  
THE TECHNICAL COOPERATION  
FOR

THE NATIONAL AQUACULTURE AND MARINE RESEARCH CENTER PROJECT

The Japanese Technical Guidance Team (hereinafter referred to as "The Team") organized by the Japan International Cooperation Agency (JICA) and headed by Dr. Yoshinobu YASUNAGA, National Research Institute of Aquaculture, Fisheries Agency, has visited the Republic of Ecuador from August 30 of September 10, 1992 for the purpose of monitoring the activities of the above project and discussing the tentative schedule of the project implementation for the remaining time of the technical cooperation.


The Team exchanged views and had a series of discussions with the Ecuadorian authorities concerned in respect of necessary measures to be undertaken by both the Japanese and Ecuadorian sides for the effective implementation of the project.

As a result of the discussions, both sides agreed upon the Tentative Schedule of Implementation for the remaining time of the technical cooperation as attached hereto.

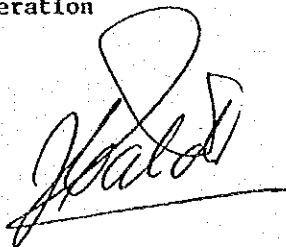
Guayaquil, September 7, 1992

安永義暢

Dr. YOSHINOBU YASUNAGA  
Leader,  
Technical Guidance Team,  
Japan International Cooperation  
Agency, JAPAN



Ing. SERGIO FLORES M.  
Rector,  
Escuela Superior Politécnica  
del Litoral  
REPUBLIC OF ECUADOR



TENTATIVE SCHEDULE OF IMPLEMENTATION

A. Annual Programme

I T E M / Y E A R	3 r d	4 t h	5 t h
-------------------	-------	-------	-------

I. Aquatic pathology

- |                 |  |          |         |
|-----------------|--|----------|---------|
| (1) Diagnosis   |  |          |         |
| (2) Prophylaxis |  | Selected |         |
| (3) Treatment   |  |          | Subject |

II. Aquatic nutrition

- |  |  |  |  |
|--|--|--|--|
| (1) Basic methodology of analysis              |  |  |  |
| (2) Nutritional requirements                   |  |  |  |
| (3) Feeding                                    |  |  |  |
| (4) Digestion and absorption                   |  |  |  |
| (5) Metabolism                                 |  |  |  |
| (6) Preliminary study for development of diets |  |  |  |

III. Fish-mollusc culture

- |                                    |  |  |  |
|------------------------------------|--|--|--|
| (1) Species selection              |  |  |  |
| (2) Egg collection                 |  |  |  |
| (3) Seed production                |  |  |  |
| (4) Rearing management             |  |  |  |
| (5) Aquatic environment monitoring |  |  |  |
| (6) Fry collection                 |  |  |  |
| (7) Seed rearing                   |  |  |  |
| (8) Culture experiment             |  |  |  |

11

字元表



B. Technical Cooperation Programme

ITEM/YEAR	3 r d	4 t h	5 t h
-----------	-------	-------	-------

I. Japanese side:

- (1) Long-term experts \_\_\_\_\_
  - a. Chief adviser
  - b. Coordinator
  - c. Mollusc culture
  - d. Fish culture
- (2) Short-term experts ..... ( When necessity arises ) .....
  - a. Aquatic pathology
  - b. Aquatic nutrition
  - c. Mollusc culture
  - d. Fish culture
- (3) Counterpart training ..... ( A few persons every year ) ...  
in Japan
- (4) Provision of machinery \_\_\_\_\_  
and equipment
- (5) Dispatch of survey ..... ( When necessity arises ) .....  
mission

II. Ecuadorian side:

- (1) Counterpart \_\_\_\_\_
  - a. Director of the National  
Aquaculture and Marine  
Research Center
  - b. Counterpart personnel to  
Japanese experts
  - c. Clerical personnel
- (2) Provision of running \_\_\_\_\_  
cost of the Project
- (3) Provision of land, \_\_\_\_\_  
building and facilities

安永義暢

業務実績表 (平成3年度)

(含第1、2四半期; 一完全実施, 一不完全実施, ...未了)

項目	Apr.	May	Jun.	July	Aug.	Sept.	Oct.	Nov.	Dec.	Jan.	Feb.	Mar.
I. 水族病理学	(1) 診断											
	(2) 予防, 治療											
II. 水族栄養学	(1) 基礎食品化学分析法											
	(2) 栄養要求											
	(3) 飼餌											
	(4) 消化吸収											
	(5) エネルギー代謝											
	(6) 飼料開発研究											
III. 魚貝類養殖 1. 貝類養殖	(1) 繁殖適種選定											
	(2) 採卵試験											
	(3) 種苗生産											
	(4) 育成管理											
	(5) 水族環境モニタリング											
2. 魚類養殖	(1) 繁殖適種選定											
	(2) 採卵試験											
	(3) 種苗生産											
	(4) 育成管理											
	(5) 水族環境モニタリング											
IV. 日本側負担業務	(1) 長期専門家派遣: a) プロジェクトリーダー b) 調整員 c) 魚貝類養殖専門家											
	(2) 短期専門家派遣: a) 水族病理学専門家 b) 水族栄養学専門家 c) 魚貝類養殖専門家											
	(3) 研修員受入れ (4) 機材供与 (5) 各調査団の派遣											
V. エクアドル側負担業務	(1) カウンター・パート: a) センター所長 b) 各専門家のC/P c) センター職員											
	(2) プロジェクト運営子算											
	(3) 土地, 建物											
	(4) 便宜供与											

CENAIM職員リスト  
(JICAプロジェクト外関係を中心に、1992年8月1日現在)

1) 執行： 2名

Dr. Jorge Calderon Velasquez*	所長	(リーダーC/P)
Srta. Lourdes Reyes Bermeo	所長秘書	

2) 総務： 6名

Ing. Raul Coello Fernandez*	非常勤顧問	
Ec. Maura Flores Garcia*	経理担当	(調整員C/P)
Sr. Jimmy Lucero Mansilla	用度担当	
Srta. Cecilia Campoverde Rubira	秘書	
Srta. Laura Mejia Cabrera*	秘書	
Srta. Jenny Rios Severino*	経理補佐	

3) 企画・調整： 4名

M.Sc. Ma. Pilar Cornejo Rodriguez*	企画・調整責任者	
Sr. Stanislaus Sonnenholzner	企画・調整補佐	(調整員C/P)
Tecn. Med. Ingrid Banda Tapia	広報担当	
Srta. Leonor Intriago Diaz	図書担当	

4) 出版・訓練： 2名

M. Sc. Abel Alban*	出版・訓練責任者	
Srta. Ma. Gabriela Pileggi Veliz*	出版・訓練補佐	

5) 水族病理・微生物： 5名

Dr. Guillermo Lopez Mendoza	主任研究員	(短専C/P)
Tecn. Alim. Paula Pinto Bonilla de Espinoza	研究員	(短専C/P)
Acui. Sonia Mendoza Lombana	研究員	(短専C/P)
M. Sc. Philip Buire	研究員	
Srta. Fany Panchana Gonzales	研究作業員	

6)水族栄養・生化学： 8名  
 Ing. Andres Pedrazzoli Reyes  
 Q. F. Elva Camba Campos  
 Q. P. Cesar Molina Poveda  
 Q. F. Nelson Montoya Villamar  
 Tecn. Alim. Soraya Townsend Piedra  
 Tecn. Alim. Aurora Leon-Hing Kujan  
 Q. F. Yela Paredes  
 Sr. Victor Hugo Borbor Borbor

主任研究員 (短専C/P)  
 特別研究員 (短専C/P)  
 研究員 (短専C/P)  
 研究員 (短専C/P)  
 研究員 (短専C/P)  
 研究員 (短専C/P)  
 研究員 (短専C/P)  
 研究作業員

7)貝類養殖： 5名  
 M.Sc. Victor Osorio Cevallos\*  
 Sr. Daniel Ortega Alarcon  
 Sr. Pablo Lombeida Terranova  
 Tecn. Pesq. Rafael Alvarez Noboa  
 Sr. Carlos Quirumbay Baquerizo

主任研究員 (専門家C/P)  
 研究員 (専門家C/P)  
 研究員 (専門家C/P)  
 研究員 (専門家C/P)  
 研究作業員

8)魚類養殖： 5名  
 Acui. Enrique Blacio Game  
 Sr. Raúl Guartatanga Inga  
 Srta. Lorena Schwartz Gilabert\*  
 M.Sc. Herminia Cornejo Rodriguez  
 Sr. Kleber Santos Pozo

部門責任者 (短専C/P)  
 研究員 (短専C/P)  
 研究員  
 非常勤顧問  
 研究作業員

9)水質・環境部： 2名  
 11)エビ類性成熟部： 5名  
 13)動物プランクトン： 3名  
 15)保守・管理作業： 11名

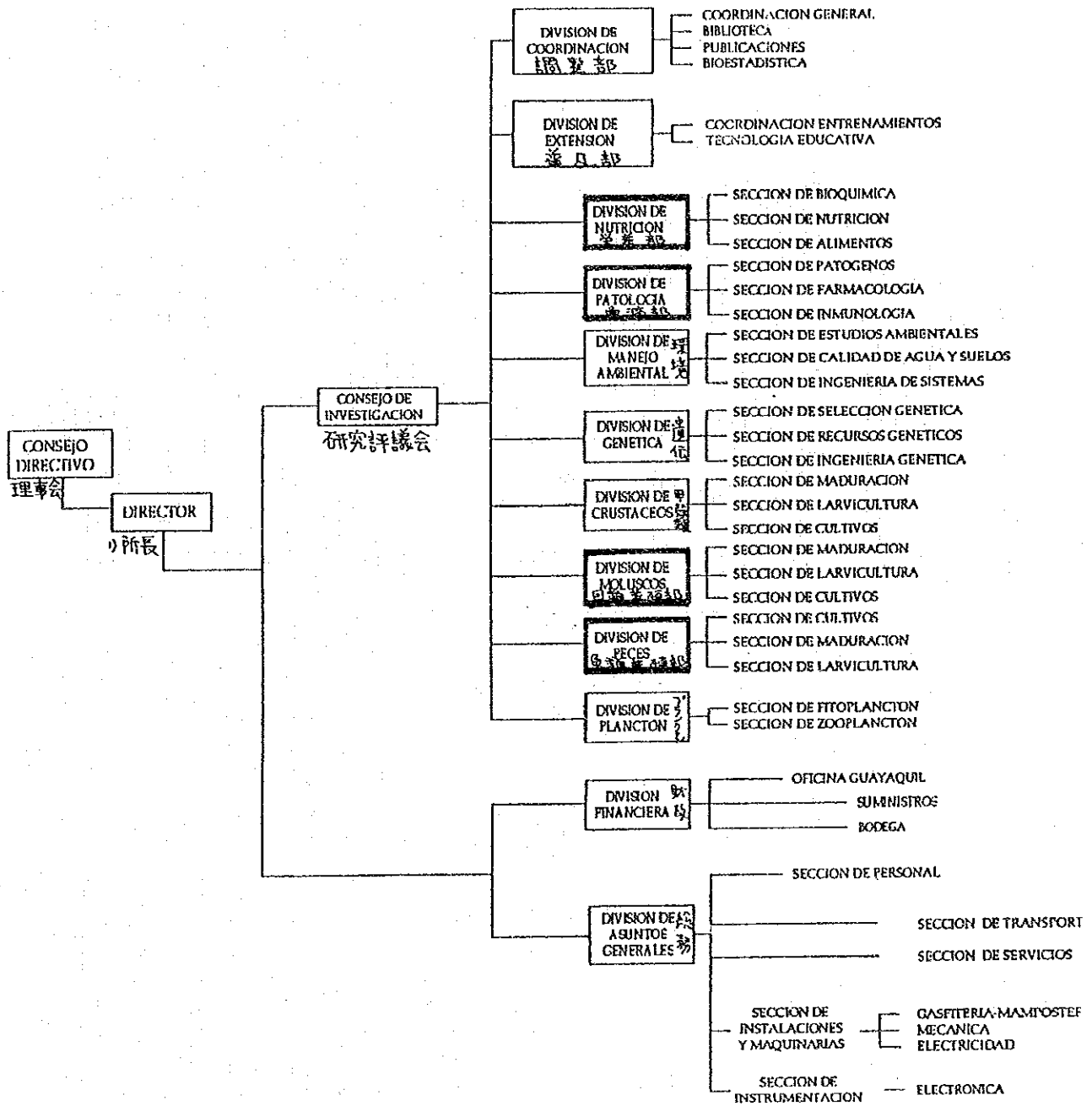
10)エビ類種苗生産部： 6名  
 12)植物プランクトン： 5名  
 14)生理・遺伝： 2名  
 16)船舶運行・管理部： 5名

以上総数

76名

〔注〕\*：グアヤキル勤務（常時ないしは部分）

# CENAIMの組織体制



PLAN OF RESEARCH ACTIVITIES FOR THE FISCAL YEAR 1992 (FROM APRIL 1992 TO MARCH 1993)  
Aquatic Pathology

		APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC	JAN	FEB	MAR
Diagnosis	Objectives	As basic knowledge to master anatomical and histological skill as well as related cultivation and identification methods											
	Small items	Anatomical observation											
		Histopathology											
		Isolation and identification of bacteria / fungi / virus											
		Fluorescence technique											
		Cell culture technique Koch postulate (virus / bacteria)											
Prophylaxis & Treatment	Objectives	Establish dosage sensitivity on various pathogenic bacteria and fungi Study the effect of antibiotics on marine organisms											
	Small items	Dosage sensitivity on bacteria / fungus											
		Chemotherapeutic bioassay											

PLAN OF RESEARCH ACTIVITIES FOR THE FISCAL YEAR 1992 (FROM APRIL 1992 TO MARCH 1993)  
Aquatic Nutrition

		APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC	JAN	FEB	MAR	
Basic methodology	Small items													
	Practical acquirement of GC/HPLC in use and maintenance	To master GC/HPLC in use and maintenance												
Nutritional requirements	Small items													
	Practical acquirement of biochemical analysis	To master methods of biochemical analysis												
Feeding, Digestion & Absorption	Small items													
	Basic protein and lipid requirements for larval and juvenile shrimp & fish	To obtain basic data on nutritional requirements of shrimp and fish												
	In vitro experiment on feeding digestion and absorption in shrimp In vitro experiment on feeding digestion and absorption in fish	To obtain basic data on feeding habits and digestibility of shrimp & fish												
Development of diets	Small items													
	Pellets for juvenile & adult shrimp	Produce pellets and microcapsules on pilot scale												
	Feed for fish Microcapsules for larval shrimp													
Energy metabolism	Small items													
Metabolic route study on shrimp	Study metabolic route of shrimp													

PLAN OF RESEARCH ACTIVITIES FOR THE FISCAL YEAR 1992 (FROM APRIL 1992 TO MARCH 1993)

III. Fish-mollusc culture

III-1. Mollusc culture

Medium items	Small items	Objectives	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC	JAN	FEB	MAR
1. Species selection	1) Stock assessment of native species	To determine the location of banks and to obtain brood-stock for production												
	2) Conditioning of brood stock of native and introduced species	To provide necessary brood-stock for the production of larvae for three native species.												
	3) Introduction of non-native species	To introduce non-native species for culture.												
2. Egg collection	1) Experimental spawning	For maturation and spawning of native and introduced species.												
	1) Micro algal culture	To provide food for brood-stock and larvae.												
	2) Larval culture of native and introduced species	For hatchery production and rearing of larvae.												
3. Seed production	3) Triploid production of oysters	To obtain high quality seed												
	1) Seed acclimatization	To obtain high survival rate and efficient operation for culture.												
	2) Experimental culture of native and introduced species	Determination of growth and survival of native and introduced species using different culture systems.												
4. Rearing management	1) Water quality monitoring in culture areas	Monitoring and determination of the optimum water quality parameters for culture.												
	2) Depuration systems	Elimination of bacteria and other microorganisms from the cultured species.												



PLAN OF RESEARCH ACTIVITIES FOR THE FISCAL YEAR 1992 (FROM APRIL 1992 TO MARCH 1993)

III. Fish-mollusc culture

III-2. Fish culture project

		APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEPT	OCT	NOV	DEC	JAN	FEB	MAR
		Objectives											
		To obtain information for selecting optimal species on aquaculture.											
		To provide necessary spanners including males and to secure enough numbers of fertilized eggs.											
		To utilize natural resources.											
		To supply adequate feed.											
		To obtain efficient rearing technique.											
		To obtain efficient rearing technique using not only artificially produced fry but also wild fry.											
		To understand natural habitat											
		To obtain high survival rate and efficient operation in the hatchery.											
		Small items											
1. Species selection	1) Literature review 2) Survey on fish market and hearsay evidence 3) Ecological survey on selected fish 1) Adult collection and transport 2) Brood stock rearing 3) Artificial fertilization 4) Handling of fertilized eggs												
2. Egg collection													
3. Seed production	1) Fry/juvenile collection 2) Food organisms culture 3) Experimental rearing of wild fry/juvenile												
4. Rearing management	1) Wild fry/juvenile 2) Artificially produced fry/juvenile												
5. Aquatic environment monitoring	1) Hydraulic parameters in captivity 2) Physico-chemical parameters in captivity 3) Observation of fish pond												



**CENTRO NACIONAL DE ACUICULTURA E INVESTIGACIONES MARINAS  
"EDGAR ARELLANO M."**

Campus Politécnico P.O. Box 09-01-4519 Telf.: 593(4) 765153 - 765119 Fax: 593 (4) 203248  
Guayaquil - Ecuador

**ACTIVITIES REPORT  
JICA - CENAIM RESEARCH PROJECT  
AUGUST 1990- JULY 1992**

**NATIONAL AQUACULTURE AND MARINE RESEARCH  
CENTER "EDGAR ARELLANO M."**

**SAN PEDRO DE MANGLARALTO- ECUADOR**



**CENTRO NACIONAL DE ACUICULTURA E INVESTIGACIONES MARINAS**  
**"EDGAR ARELLANO M."**

Campus Politécnico P.O. Box 09-01-4519 Telf.: 593(4) 765153 - 765119 Fax: 593 (4) 203248  
Guayaquil - Ecuador

INDICE

1.	Activities Report "Aquatic Pathology Report"	1
2.	Identification of <i>Aspergillus flavus</i> in a bioassay of artificial diets with <i>Penaeus vannamei</i> juvenile	13
3.	Activities Report "Aquatic Nutrition Project"	26
4.	Protein requirements in artificial diets of <i>Penaeus vannamei</i> juveniles	42
5.	Activities Report "Mollusc Culture Project"	52
6.	Polyculture of the Pacific Oyster <i>Crassostrea gigas</i> and the white shrimp <i>Penaeus vannamei</i> in Ecuador	68
7.	Activities Report Fish Culture Project	82
8.	Shrimp Fry Collecting gear used in Ecuador today	99
9.	Relationship between fish and shrimp larvae catches	116



**CENTRO NACIONAL DE ACUICULTURA E INVESTIGACIONES MARINAS  
"EDGAR ARELLANO M."**

Campus Politécnico P.O. Box 09-01-4519 Telf.: 593(4) 765153 - 765119 Fax: 593 (4) 203248  
Guayaquil - Ecuador

## Activities Report " Aquatic Pathology Project"

### INTRODUCTION

The Aquatic Pathology Program was established around two research objectives. The first one is to establish the methodologies to diagnose the main diseases that affect marine organisms (fish, molluscs and crustacean), caused by bacteria, viruses, fungus and parasites. The second objective is to establish prevention methods (prophylaxis) and treatment (therapy) for the affected organisms.

The following activities were carried out:

### DIAGNOSIS

- Anatomic observations.
- Identification and isolation techniques for bacteria, virus, fungi and parasites.
- Histological techniques.
- Bacteria culture.
- Microbiological monitoring of the marine environment, CENAIM facilities and marine organisms.

### PROPHYLAXIS AND TREATMENT:

- Bacteria sensitivity and resistance to antibiotics.
- Bacterial growth inhibition in relation to antibiotic concentration.

### 1.0 DIAGNOSIS

Several techniques have been used for the identification and isolation of pathogens in marine organisms and the environment.

- 1.1 Biochemical techniques for bacteria and fungi identification
- 1.2 Fluorescence techniques for bacteria and virus identification
- 1.3 Histological techniques for bacteria, fungi and virus identification
- 1.4 Photometric techniques for bacteria identification

### 1.1 Biochemical techniques for bacteria and fungi identification

Biochemical techniques allow the identification of marine bacteria and their characterization by its genus, specie and serotype. These techniques are based on the reaction capacity of enzymes on different agar



**CENTRO NACIONAL DE ACUICULTURA E INVESTIGACIONES MARINAS**  
**"EDGAR ARELLANO M."**

Campus Politécnico P.O. Box 09-01-4519 Telf.: 593(4) 765153 - 765119 Fax: 593 (4) 203248  
 Guayaquil - Ecuador

substrates. These techniques were applied accordingly with the standard methods (See Manual of Clinical Microbiology, American Society for Microbiology, 1985). In order to determine the bacteria strain, the following reagents were used for the biochemical tests:

TABLE 1.- REAGENTS FOR BIOCHEMICAL TESTS

Agar-Agar	Sugar		Reagents		
TCBS	Arabinose	Galactose	Catalase	Citrate	Oxidase
KIA	Sucrose	Trhalose	O-F Test	Pyruvate	Urease
Mac Conkey	Lactose	Cellobiose	Indole	Alginate	Formate
Brilliant	Xylose	Melibiose	MR Test	Catechol	Acetate
TSI	Glycerol	Raffinose	VP reaction	Malonate	Lactate
LIA	Mannitol	Starch	Oxalate	Tartrate	Malate
	Sorbitol	Dextrin	Tryptophan	Succinate	
	Salicin	Adonitol	Nitrate reduction	Rennet production	
	Inositol	Dulcitol	Hydrogen sulfide	2, 3-butandiol	
	Maltose	Esculin	Gluconate oxidized	Arginine hydrolysis	
	Laevulose	Mannose	Starch hydrolysis	Tributyryn digestion	
	Glucose		Xantine dissolution	Chitin decomposition	
			Hide powderlysis	Lysine decarboxylase	
			Arginine decarbox.	Ornithine decarboxy.	

The bacteria isolated from different sources (CENAIM water system, culture tanks, seawater, marine organisms, artificial food and algae) are shown in the following table:



**CENTRO NACIONAL DE ACUICULTURA E INVESTIGACIONES MARINAS**  
**"EDGAR ARELLANO M."**

Campus Politécnico P.O. Box 09-01-4519 Telf.: 593(4) 765153 - 765119 Fax: 593 (4) 203248  
 Guayaquil - Ecuador

TABLE 2.- BACTERIA STRAINS ISOLATED AT THE MICROBIOLOGY LABORATORY

Bacteria	Code	Bacteria	Code
<i>Vibrio sp.</i>	B 310 I	<i>Enterobacter sp</i>	B 204 B
	B 202 A		B 204 D
	B 278 B	<i>Pseudomonas sp</i>	B 321 A
	B319 C		B 219 A
	B 275 D	<i>Pasteurella -sp</i>	B 321 B
	B 277 H		B 204 A
<i>Vibrio anguillarum</i>	B 311 A		B 325 F
<i>Vibrio anguillarum</i>	-----	<i>Moraxella sp</i>	-----
<i>Vibrio anguillarum</i> Sero type II	B 311 D	Luminiscent bacteria	B 228
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	B 078 B	<i>Flavobacterium sp</i>	B 310 B
	B 310 A		B 320 D
	B 209 E		B 322 C
	M5-060	<i>Burdotella sp</i>	M4-051

TABLE 3.- BACTERIA STRAIN BROUGHT FROM JAPAN

Bacteria	Code	Bacteria	Code
<i>Vibrio fisheri</i>	ATCC 7744	<i>Aeromonas salmonicida</i>	SA-1
<i>Vibrio harveyi</i>	ATCC 14126	<i>A. salmonicida</i>	SA-3
<i>Vibrio plaguis</i>	ATCC 25916	<i>Aeromonas hidrófila</i>	SC-1
<i>Vibrio neris</i>	ATCC 25917	<i>Pseudomona sp</i>	-----
<i>Vibrio hollisae</i>	JCM 01283	<i>Streptococcus sp</i>	ST-H
<i>Vibrio alginolyticus</i>	NCMB 1903	<i>Streptococcus sp</i>	ST-L
<i>Vibrio paraheamolyticus</i>	ATCC 17802	<i>Streptococcus sp</i>	ST-S
<i>Pasturella piscida</i>	PPS	<i>Edwarsiella tarda</i>	1
<i>Vibrio diazothropicus</i>	ATCC 33466	<i>Edwarsiella tarda</i>	2
<i>Benecka proteolytica</i>	NCMB 1326	<i>Edwarsiella tarda</i>	4
<i>Proteus sp</i>	Pro	<i>Micrococcus</i>	-----

Actually we are using more specific reagents in order to identify the bacteria to their serotype.



**CENTRO NACIONAL DE ACUICULTURA E INVESTIGACIONES MARINAS**  
**"EDGAR ARELLANO M."**

Campus Politécnico P.O. Box 09-01-4519 Telf.: 593(4) 765153 - 765119 Fax: 593 (4) 203248  
 Guayaquil - Ecuador

### 1.1.1 Bacteria Strain Maintenance

To preserve the identified and isolated bacteria it is necessary to use storage techniques that avoid mortality or viability losses. The maintenance of a pure bacteria strain is very important for bioassays, sensitivity tests, minimum inhibitory concentrations, pathogenicity levels, etc.

Bacteria strain maintenance is done following the procedure described in the Merck Handbook: Culture Media 1981. This technique uses Malt Extract Broth enriched with TSA as nutritive media, afterwards it is incubated and centrifugated, and then it is placed in a nutrient gelatin and frozen at  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### 1.1.2 Microbiological Monitoring

Bioassays were carried out to determine the bacteria pathways and the factors that contribute to an increase in bacteria levels in shrimp larvae culture tanks. Several test were done, which are describe below.

#### Test 1:

The commercial diets, Frippak 1 and Frippak 2, were added to two tanks containing sea water. Water was previously filtered through UV. Initial bacteria concentrations were: *Moraxellas sp*  $8 \times 10^1$  CFU/ml, *Pasteurellas sp.*  $1 \times 10^2$  CFU/ml and *Vibrio alginolyticus*  $2.5 \times 10^2$  CFU/ml (Table 4).

TABLE 4.- BACTERIA IN WATER SAMPLES

Feed	Bacteria	Concentration (CFU/ml)		
		1 hr	3 hr	6 hr
Frippak 1	<i>V. alginolyticus</i>	$2.4 \times 10^2$	$6.5 \times 10^2$	$4.3 \times 10^4$
	<i>Vibrios sp.</i>	-----	$2.0 \times 10^2$	$3.0 \times 10^2$
	<i>Moraxellas sp.</i>	$1.0 \times 10^2$	$2.0 \times 10^2$	$5.0 \times 10^2$
	<i>Pasteurellas sp.</i>	$1.0 \times 10^2$	$2.0 \times 10^2$	$3.0 \times 10^2$
Frippak 2	<i>V. alginolyticus</i>	$1.1 \times 10^2$	$2.5 \times 10^3$	$3.0 \times 10^4$
	<i>Vibrios sp.</i>	$5.5 \times 10^2$	$5.0 \times 10^2$	$9.3 \times 10^3$
	<i>Moraxellas sp.</i>	$8.0 \times 10^2$	$9.0 \times 10^2$	$3.0 \times 10^3$
	<i>Pasteurellas sp.</i>	$1.0 \times 10^2$	$4.0 \times 10^2$	$1.4 \times 10^3$

The results showed that there is an increment of *V. alginolyticus* and other *Vibrio spp.* in the seawater samples when Frippak is added.

*Test 2:*

The second bioassay registered bacteria levels during the culture of *Chaetoceros sp.* and *Isochrysis sp.* (Table 5).

TABLE 5.- BACTERIA CONCENTRATION ON PHYTOPLANKTON CULTURES

Phytoplankton	Bacteria	Concentration (CFU/ml)			
		1st day	2nd day	3rd day	4th day
<i>Chaetoceros sp.</i>	<i>V. alginolyticus</i>	$1.6 \times 10^3$	$7.5 \times 10^2$	$1.4 \times 10^4$	$2.1 \times 10^4$
	<i>Moraxellas sp.</i>	na	$1.0 \times 10^3$	$1.1 \times 10^4$	$3.7 \times 10^4$
	<i>Pasteurellas sp.</i>	$1.0 \times 10^3$	$2.0 \times 10^3$	$3.5 \times 10^2$	$4.6 \times 10^3$
		1st day	2nd day	3rd day	4th day
<i>Isochrysis sp.</i>	<i>V. alginolyticus</i>	$2.5 \times 10^2$	$7.3 \times 10^2$	$1.5 \times 10^4$	$1.1 \times 10^4$
	<i>Moraxellas sp.</i>	$8.0 \times 10^1$	$1.0 \times 10^3$	$6.0 \times 10^3$	$1.1 \times 10^3$
	<i>Pasteurellas sp.</i>	$1.0 \times 10^2$	na	na	$1.6 \times 10^3$

The bacterial concentration increases with time until it reaches levels of  $10^4$  CFU/ml. This shows that feeding shrimp larvae with algae will increase the bacteria concentration levels in the tank.

*Test 3:*

Sea water from two aquaria were monitored for bacteria levels. One tank with no water exchange and the other with 300% daily exchange rate (Table 6).

TABLE 6.- BACTERIAL LEVELS FOR DIFFERENT WATER EXCHANGE RATES

Bacteria	Concentration CFU/ml	
	no exchange	300% water exchange
<i>V. parahaemolyticus</i>	$1.0 \times 10^3$	$1.0 \times 10^1$
<i>V. alginolyticus</i>	-----	$2.4 \times 10^2$
<i>Vibrio sp.</i>	$1.0 \times 10^6$	-----
<i>Pasteurellas sp.</i>	-----	$1.0 \times 10^1$
<i>Enterobacter sp.</i>	$1.0 \times 10^5$	-----
Total Bacteria	$1.1 \times 10^6$	$2.6 \times 10^2$

The water exchange allows to maintain the bacteria levels at relatively low concentrations  $10^1$ - $10^2$  CFU/ml. Water exchange rates greater than 300%/day are appropriate for larvae culture.





**CENTRO NACIONAL DE ACUICULTURA E INVESTIGACIONES MARINAS**  
**"EDGAR ARELLANO M."**

Campus Politécnico P.O. Box 09-01-4519 Telf.: 593(4) 765153 - 765119 Fax: 593 (4) 203248  
 Guayaquil - Ecuador

**Test 4:**

Bacteria levels in artemia nauplii. The nauplii were washed with fresh water at different time intervals after hatching (Table 7).

**TABLE 7.- BACTERIA IN ARTEMIA NAUPLII**

Bacteria	Concentration CFU/ml			
	Control	5 minutes	10 minutes	15 minutes
<i>V. alginolyticus</i>	$1.1 \times 10^8$	$7.3 \times 10^7$	$1.1 \times 10^7$	$1.3 \times 10^8$
<i>V. parahaemolyticus</i>	$4.1 \times 10^6$	$2.2 \times 10^5$	$1.6 \times 10^5$	$4.5 \times 10^7$
<i>Vibrio sp.</i>	$7.6 \times 10^6$	$2.7 \times 10^6$	$5.7 \times 10^6$	$6.5 \times 10^5$

The data shows that cleaning the nauplii with fresh water after being harvested, does not reduced the bacteria levels.

**1.1.3 Fungi identification (morphology and biochemistry)**

Several fungi specie have been isolated and identified morphologically. This is done, under the microscope, looking at the structure of the hyphas produced by colonies cultured in agar media at 2°C and 24°C.

The agar-agar used for the fungi culture were:

- Sabroud Dextrose Agar
- Brain Heart Agar CC
- Czapek Agar
- Malt Extract Agar

Fungi were identified according to its morphological structure. However, moss and spores cannot be identified morphologically and it is necessary to identify their biochemical characteristics.

Fungi have been found in the gills, intestinal tractus and exoskeleton of shrimp broodstock (*P. vannamei*), oysters (*Crassostrea gigas*), CENAIM water system, foodstuff in rotifer culture and shrimp larvae culture water.

The foodstuff used in juvenile shrimp culture bioassays and rotifers cultures showed a reddish coloration. Microscopically we found moss mixed with foodstuff particles. After being cultivated in agar-agar to check for dimorphism, *Aspergillus sp.* and *Trichoston sp.* were identified. The reddish coloration was associated with the presence of aflatoxine produced by the *Aspergillus sp.*, which might have killed the rotifers. A scientific paper has been written about this problem.



**CENTRO NACIONAL DE ACUICULTURA E INVESTIGACIONES MARINAS**  
**"EDGAR ARELLANO M."**

Campus Politécnico P.O. Box 09-01-4519 Telf.: 593(4) 765153 - 765119 Fax: 593 (4) 203248  
Guayaquil - Ecuador

Also a manual for morphological identification of fungi related to marine organisms diseases have been compiled, including the pictures of those identified at CENAIM.

The fungi isolated by the microbiology lab are listed below:

<i>Aspergillus terreus</i>	<i>Candida albican sp.</i>	<i>Coccoidis inmitis</i>
<i>Aspergillus niger</i>	<i>Mucor rouxii</i>	<i>Geotrichum sp.</i>
<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Saskenea sp</i>	<i>Epidermofiton sp.</i>
<i>Rhizopus mucor</i>	<i>Syncephalastrum sp.</i>	<i>Neurospora crasa</i>

#### 1.1.4. Morphologic Identification of Protozoa

Several species of protozoa have been observed through biological examinations of *P. vannamei*, like *Vorticella sp.*, *Zoothamium sp.*, *Leucothrix sp.* (gills), *Gregarins sp.* (midgut), and filamentous bacteria. A photographic record has been prepared.

#### 1.2. Fluorescence Microscopic Technique

It was first implemented in March 1992 as an alternative technique for bacteria and virus indentification, using the methodology by Clark, 1981. This technique allows the identification of nucleic acids and viral inclusion in the animal tissue (midgut, hepatopancreas, etc.) as well as flagellated bacteria and rickettsias in the antennal gland and cells from the Y organ of penaeid shrimps. The advantage of this technique lies on its ability for a fast diagnosis of the affected organism.

A fluorescence microscope was used to observed bacteria that has been previously identified by means of biochemistry, as well as virus inclusions of Baculovirus Penaeid (BP) and IHHNV determined histologically. One of the limiting factors of this technique is the cost of the fluorescence lamp (200 hours life).

#### 1.3. Histological Technique

This technique have been applied successfully in the Pathology area to identify diseases. The technique is described in histological manuals (Preece, 1972) and the recommendations given by Dr. Hideo Fukuda (JICA adviser) were followed. Actually the microbiological personnel is working with fixation, desidratation, paraffin inclusion, cutting and staining procedures of organs and tissues. By means of this technique IHHNV and BP inclusions in shrimp hepatopancreas and other tissues have been studied.



**CENTRO NACIONAL DE ACUICULTURA E INVESTIGACIONES MARINAS**  
**"EDGAR ARELLANO M."**

Campus Politécnico P.O. Box 09-01-4519 Telf.: 593(4) 765153 - 765119 Fax: 593 (4) 203248  
 Guayaquil - Ecuador

## 2.0 PROPHYLAXIS AND TREATMENT

### 2.1. Bacteria sensitivity and resistance to antibiotics

Standard methods have been used to test the sensitivity and resistance of bacteria to antibiotics, following the recommendations given by Kirby-Bauer. The technique implies that the bacteria strain has to be placed in TSB agar, and concentrated up to  $3 \times 10^8$  CFU/ml (compared with Mac Farland #1 tubes) and incubated during 18 hours. Afterward the bacteria is cultivated in Muller Hilton agar with antibiotic disks. The bacteria sensitivity was determined according to the diameter of inhibition circle around the antibiotic disk (Table 8).

TABLE 8.- BACTERIA SENSITIVITY

Antibiotics	Conc. Disk mg/ml	Diameter (mm) Inhibition Zone			Reading of strains (mm)		
		R <	I =	S >	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Vibrio</i> Luminescent	<i>Vibrio</i> <i>Parahaemolyticus</i>
Oxytetraciline	30	14	15-18	19	21	26	19
Nitrofurantoina	300	14	15-16	17	00	19	16
Cloramphenicol	30	12	13-17	18	00	20	00
Neomycine	30	12	13-16	17	00	17	00
Erithromycine	15	13	14-17	18	00	18	18
Kanamycine	30	13	14-17	18	00	16	00
Nalidixic Acid	30	13	14-18	19	00	30	28
Oxolinic Acid	30	10	11-13	14	--	19	22

Luminescent *Vibrio* was sensible to almost all the antibiotic. *V. parahaemolyticus* was resistant to Cloramphenicol, Neomycine and Kanamicine. *Pseudomonas sp.* is only sensible to Oxitetraciline.

### 2.2. Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

Several MIC tests were done to establish the bacteria sensitivity to different antibiotic concentrations.

#### Test 1:

Plates of TSA agar mixed with antibiotic at different concentrations were used. The bacteria were subcultivated and incubated in a liquid



**CENTRO NACIONAL DE ACUICULTURA E INVESTIGACIONES MARINAS**  
**"EDGAR ARELLANO M."**

Campus Politécnico P.O. Box 09-01-4519 Telf.: 593(4) 765153 - 765119 Fax: 593 (4) 203248  
 Guayaquil - Ecuador

media (Tryptic Soy Broth) to a concentration next to the scale #1 of Mac Fahrland turbidimeter. The inoculant of the bacterian suspension on the medicated plates was done by the touching technique with a calibrated platinum handle (Table 9).

TABLE 9.- ANTIBIOTIC INHIBITORY CONCENTRATION

Antibiotic	Inhibition Reading Concentration mg/ml		
	Bacteria Strain		
	Luminiscent Vibrio	<i>Vibrio</i> <i>Alginolyticus</i>	<i>Pseudomona</i> <i>sp</i>
Oxytetraciline Base 0x01-B	NI	NI	6.25 - 100% 3.13 - 50%
Oxytetraciline Hydrochlorine 0x01-A	1.56 - 100% 0.78 - 50%	NI	6.25 - 100% 3.13 - 50%
Tetracycline Chlorhidrate TH03-A	1.56 - 100%	NI	12.5 - 70%
Neomicin Sulphate USP	NI	6 - 50%	NI
Neomicin Sulphate N001-A	NI	10 - 50%	NI
Kanamycin Sulphate KN01-A	NI	NI	NI
Oxolinic Acid A003-A	2 - 100%	2 - 100%	6 - 100%
Nalidixic Acid AN04-A	2 - 100%	2 - 100%	NI
Furazolidone FR01-L	6 - 100%	NI	NI
Streptomycin Sulphate ES03	12.5 - 100%	NI	NI
Chloramphenicol USP	1 - 100%	NI	NI
Chloramphenicol base CL03-B	1 - 100%	NI	NI
Chloramphenicol base E	1 - 100%	NI	NI
Eritromicina Base	8 - 100%	NI	NI

Note: Initial bacterial concentration  $10^8$ CFU/ml  
 NI = Non inhibitor

It was observed that Oxolinic acid exerts a major inhibitory action in all the bacteria tested. The Nalidixic acid inhibited *Vibrio sp.* growth but has a null inhibitory action on *Pseudomonas sp.* Neomicin and Kanamicin did not inhibit the growth of the bacteria strain analyzed, even at high concentrations. Chloramphenicol had a strong inhibitory action over Luminiscent *Vibrio* at concentrations of 1 ppm, but not over *V. alginolyticus* and *Pseudomonas sp.*

Generally, smaller antibiotic concentrations are required to inhibit Luminiscent *Vibrio* growth.

Antibiotics such as Furazolidone partially inhibit *V. alginolyticus* and *Pseudomonas sp.* strains.



**CENTRO NACIONAL DE ACUICULTURA E INVESTIGACIONES MARINAS**  
**"EDGAR ARELLANO M."**

Campus Politécnico P.O. Box 09-01-4519 Telf.: 593(4) 765153 - 765119 Fax: 593 (4) 203248  
 Guayaquil - Ecuador

**Test 2**

A second MIC test was performed to determine the sensitivity of some other bacteria strains isolated at the Microbiology lab (Table 10).

**TABLA 10.- ANTIBIOTIC INHIBITORY CONCENTRATION**

Bacteria	Antibiotic - Concentration mg/ml (ppm)			
	Oxitetraciline	Eritromicine	Chloramphenicol	Furazolidone
<i>Flavobacteria sp</i>	> 0.3 (I)	> 4.0 (I)	> 8.0 (I)	NI
<i>Vibrios sp.</i>	> 3.13 (I)	NI	NI	> 4.0 (I)
<i>V. anguillarum</i>	> 3.13 (I)	NI	NI	NI
<i>Pasteurella sp.</i>	> 0.78 (I)	NI	> 1.0 (I)	> 1.0 (I)
<i>Enterobacter sp.</i>	> 0.3 (I)	> 4.0 (I)	> 8.0 (I)	NI

Note: Initial concentration  $10^8$  cell/ml

**Test 3**

A MIC test was performed with a luminescent bacteria isolated from the shrimp larvae culture tanks, code B228. The method used was that of Daguet (1977). The bacteria resistance to the antibiotics was also tested by means of a revaluation of the bacteria replanted in four stages I, C, D y E (Table 11).

**TABLA 11.-BIOLUMINESCENT BACTERIA ANTIBIOTIC INHIBITORY CONCENTRATION**

Antibiotic	Code	MIC (ppm)					
		128	64	32	16	8	4
Eritromicine	B 228 I	NI	NI	NI	NI	NI	NI
Furazolidone		I	I	I	I	I	I
Chloramphenicol		I	I	I	I	NI	NI
Oxitetraciline		I	I	I	I	I	I
Eritromicine	B 228 C	NI	NI	NI	NI	NI	NI
Furazolidone		I	I	I	I	NI	NI
Chloramphenicol		I	I	I	I	I	I
Oxitetraciline		I	I	I	I	I	I
Eritromicine	B 228 D	NI	NI	NI	NI	NI	NI
Furazolidone		I	I	I	I	NI	NI
Chloramphenicol		I	I	I	NI	NI	NI
Oxitetraciline		I	I	I	I	I	I
Eritromicine	B 228 E	NI	NI	NI	NI	NI	NI
Furazolidone		I	I	I	I	I	I
Chloramphenicol		I	I	I	I	NI	NI
Oxitetraciline		I	I	I	I	I	I
Oxolinic Acid		NI	NI	NI	NI	NI	NI



**CENTRO NACIONAL DE ACUICULTURA E INVESTIGACIONES MARINAS**  
**"EDGAR ARELLANO M."**

Campus Politécnico P.O. Box 09-01-4519 Telf.: 593(4) 765153 - 765119 Fax: 593 (4) 203248  
Guayaquil - Ecuador

Oxitetraciclina completely inhibits the bacterial growth, being the most effective for treatments. Eritromicine and oxolinic acid are the least effective, even at high concentrations.

The oxitetraciclina maintains the inhibition of the bacterial growth in the replanted bacteria culture. Furazolidone and Chloramphenicol decreases its inhibition power during stages I, C y D. It is observed that the bioluminiscent bacteria develops a resistance to Furazolidone and Chloramphenicol antibiotics.

#### Bibliography

- Clark G., 1981: Staining procedures, Williams and Wilkins ed., fourth edition.
- Daguet G. and Y.A. Chabbert, 1977: Técnicas en bacteriología, Editorial JIMS, Barcelona.
- Preece A., 1972: A manual of histologic technicians, Little Brown and Comapny, Third edition, Boston.



CENTRO NACIONAL DE ACUICULTURA E INVESTIGACIONES MARINAS  
"EDGAR ARELLANO M."

Campus Politécnico P.O. Box 09-01-4519 Telf.: 593(4) 765153 - 765119 Fax: 593 (4) 203248  
Guayaquil - Ecuador

Identification of *Aspergillus flavus* in a bioassay of artificial diets  
with *Penaeus vannamei* juvenile.

Dr. Guillermo López Mendoza  
Department of Microbiology and Pathology  
CENAIM-San Pedro de Manglaralto - Ecuador

Abstract

Juvenile *P. Vannamei* were fed with an artificial diet and microscopic observation of the hepatopancreas indicated necrosis of the hepatopancreatic membrane. High concentrations of fungal hyphae were found in the midgut region. Fungus was also noted on the surface of the artificial diets used during the trial and a red colour was seen on the tank bottoms. A culture of the diet in Sabouraud Dextrose, Czapek-Dox, Brain Heart CC Agars, modified with 2 % ClNa, produced *Aspergillus flavus* and *A. niger*. The fungi was identified, characterized and codified according to their morphology and biochemistry in serotypes HBMC - 314, and HBMC - 322 respectively.

It is tentatively suggested that the hepatopancreas superficial membrane necrosis was caused by the Aflatoxins of *Aspergillus flavus* fungi, based on the presence of the pathogenic agent and it is characteristic expression in the test shrimp.

Key words: *Aspergillus flavus*, *A. niger*, Identification, Morphology, Biochemistry, Aflatoxin.

Introduction

Artificial diets are susceptible to fungal contamination both during the manufacturing process and subsequent storage periods, New (1987). Among the fungi that have produced the biggest economic loss is the *Aspergillus* genus, a group of more than one hundred species, commonly referred to as "storage fungi". Formulated feeds subjected to storage under humid tropical conditions are commonly infested with the fungus *Aspergillus flavus*, Divakaran (1960).

*Aspergillus flavus* belongs to the class of ascomycetes, Fungi imperfect; subclass, Hyphomyceteae; order, Plectascineae, mucedineae; family: Aspergillaceae, mucedinaceae; genus, *Aspergillus* (Thom and Church 1928).



CENTRO NACIONAL DE ACUICULTURA E INVESTIGACIONES MARINAS  
"EDGAR ARELLANO M."

Campus Politécnico P.O. Box 09-01-4519 Telf.: 593(4) 765153 - 765119 Fax: 593 (4) 203248  
Guayaquil - Ecuador

Due to evolutionary pressure, *Aspergillus flavus*, originally an obligative terrestrial fungus, has now fully adapted to live in marine environment. It is known *A. flavus* and *A. parasiticus* produce aflatoxin B<sub>1</sub>, (Hodgson and Levi,1987). Aflatoxicosis is the name given to the condition and is characterised by necrosis of the hepatopancreatic tubular epithelium of Penaeid shrimp, followed by intertubular hemocytic inflammation , encapsulation , and finally fibrosis of affected tubules. General hepatopancreatic atrophy usually accompanies these specific pathological changes. The gross pathology of infection has not yet been described, but higher than normal daily mortality rates, and general signs of poor health in the culture population may be attributed to aflatoxicosis. (Sindermann and Lightner 1988). Other investigators have also considered aflatoxicosis as an etiological agent in diseases of cultured penaeid shrimp. (Arafa,Hams,Miles and Bloomer.1979).

The present study was primerally carried out in order to identify the *A. flavus* by morphology and determine the serotipe according biochemical characteristics. With biochemical characterization fungi can be identified rapidly avoiding tedious morphological tests to establish the level of pathogenisity to shrimps. The biochemical characterization permit's to obtain a tentative diagnosis when shrimp present decreasing growth and high mortality.

#### Materials and Methods

The samples of artificial food were taken from tanks of the shrimp culture system used at CENAIM, during a feed trial performed on juvenile shrimps *P. vannamei*. The sample was observed on microscopy x 40 (Olympus BH - 2), and a red color and mold were observed.(fig. 1 ).

The initial isolates of fungi were done on Sabouraud dextrose agar plates(Difco) supplemented with 2% NaCl (Hose,Lightner,Redman and Danald. 1984), inoculating the sample directly on the culture medium and incubating at 25 °C. for 96 hours. They were then subcultured on Czapek-Dox agar, Brain Heart CC agar and SDA with chloranphenicol at 0.05 gram per liter to inhibit bacterial growth, (Golvan and Drouet,1977), all supplemented with 2% NaCl. After 48 - 72 hours of incubation ,fungal colonies were first detected. Cultures were taken from SDA plates and transferred to PYGS broth (same formula as Difco-cantino) with chloramphenicol at 0.05 grams per liter.

Morphological observation was carried out using a phase contrast inversion microscope (LH 50 A ) with an incorporated FENWAL incubator. The inoculum was placed on concave slides with the range of agars described above and incubated under moist atmosphere conditions at 25 oC. The





**CENTRO NACIONAL DE ACUICULTURA E INVESTIGACIONES MARINAS**  
**"EDGAR ARELLANO M."**

Campus Politécnico P.O. Box 09-01-4519 Telf.: 593(4) 765153 - 765119 Fax: 593 (4) 203248  
Guayaquil - Ecuador

slides were observed every 8 hours to monitor the morphological evolution over a 4 day period.

Biochemical characterization of fungi was done using as the formulation of Sabouraud dextrose agar as a basal media (peptone 10 g, bacto agar 15 g and Sigma carbohydrate 40 g per liter of water) with pH 5.6 and 2% NaCl and 0,05 g of Chloramphenicol per liter, but the carbohydrate was substituted by adonitol, arabinose, cellobiose, D- sorbitol, dextrose, dulcitol, galactose, glucose, lactose, levulose, maltose, manitol, mellibiose, mioinositol, rafinose, sucrose, trehalose, xilose. Biochemical characterization was carried out with the salts, sodium formate, potassium nitrate, sodium citrate and salt acids, malonate acid, alginic acid, tartaric acid according to the modified formula for differential acetate (Bacto agar 20 g, Magnesium sulphate 0.1 g, chloramphenicol 0.05 g, Sodium chloride 2% and Sigma salts or salt acids 2 g per liter of water). Brom thymol blue 0,008 grams per liter was used as an indicator for carbohydrate and salts. The urea test was used to demonstrate nitrogen assimilation. The substrate was placed in tubes and mycelium was inoculated over the surface. The metabolic activity (asimilation and fermentation) of colonies was observed throughout the period. Incubation temperature was 25 ° C over the 4 days.

Amonium hidroxide 30% concentration (Baker Analyzed), and concentrated acetic acid (Wako) was used for environmental saturation of the HBMC - 314 colonies. The strain was grown on Czapek-Dox and SDA with pH 1-14 using NaOH and HCl 0.1N to provide a range of pH.

## Results

Juvenile shrimp were taken from those tanks having the red mould and the hephatopancreases were extracted and observed microscopically. Superficial necrosis was detected (fig. 2 ), together with high concentrations of mould in the intestinal tract region. At the same time the hephatopancreases of juvenile shrimp from another tank where no moulds had been detected, were analised and no necrosis was found.

The sample of artificial diet inoculated on SDA showed growth of several fungal species. Subcultures of HBMC - 314 and HBMC - 322 strains developed light green and dark brown colonies respectively. The table 1 gives the growth of mycelium on different agars.

Table 1. Influence of substratum on HBMC-314 and HBMC-322 strains

Agars	Strains	
	HBMC - 314	HBMC - 322
Sabouraud dextrose	yellow colonies: 3-4 days light green: 7 days	dark brown colonies
Brain Heart CC	brown yellow: colonies : 7 days	dark brown colonies
Czapex-Dox	olive green colonies: 7 days	dark brown colonies
PYGS	dark-grey yellow colonies: 7 days	dark brown colonies

The observation of conidial heads grown on SDA, using stereomicroscope, indicated that the strain HBMC-314 was a light green colour and the strain HBMC 322 was dark brown.

The strain HBMC-314 was then subcultured on Czapek-Dox media in a atmosphere of Amonium Hydroxide and there was a change of colour of the mycellium from olive green to yellow, the yellow colour of the mycellium then changed to bright green in at atmosphere of Acetic Acid.

The sterigmatas of the strain HBMC-314 grown on different agars, changed in size and numbers during the formacion of the conidia chains (average length of 10 microns). The greenish shade of the conidia (Fig. 3,4,5) and the presence of uniseriated and biseriatted sterigmata was observed using a x100 lens . The perithecia was not observed.

In a PYGS broth, the foot cells of conidiophores of the strain HBMC-314 were submerged. The hyphae had an average length of 800 microns and were 4-5 microns wide. The range of diameter of vesicle was from 15 to 25 microns with small heads. In some cases, the sterigmata of this strain were uniseriated and biseriatted in the same conidial head. The conidia were round shaped, yellow to green color and the size range was from 2 to 4 microns.

The size of conidia of the strain HBMC-322 varied from 4 to 6 microns in diameter and were dark brown in color. The sterigmata were 6 to 10 microns in length while the conidiophores had an average length of 300 to 400 microns with a width of 6 to 8 microns.(fig. 6) The vesicle had the characteristic large, globose head. Both strains displayed asexual reproduction on ascospores with formation of hyphae, vesicles and conidia (fig.7).

Biochemical characterization test:



**CENTRO NACIONAL DE ACUICULTURA E INVESTIGACIONES MARINAS**  
**"EDGAR ARELLANO M."**

Campus Politécnico P.O. Box 09-01-4519 Telf.: 593(4) 765153 - 765119 Fax: 593 (4) 203248  
 Guayaquil - Ecuador

**Table 2.- Biochemical Characteristic of HBMC-314 and HBMC-322 strains.**

	HBMC - 314	HBMC - 322
<b>Carbohidrates</b>		
Adonitol	+	+
Arabinose	(*)	(*)
D- Sorbitol	-	(*)
Dextrose	+	+
Dulcitol	+	+
Galactose	+	+
Glucose	+	+
Lactose	-	+
Levulose	+	+
Maltose	+	+
Manitol	-	(*)
Melibiose	+	+
Mioinositol	-	+
Rafinose	+	+
Sucrose	+	+
Trehalose	+	+
Xilose	+	+
<b>Urea</b>	+	-
<b>Salts and acids</b>		
Sodium formate	+	+
Potassium nitrate	+	+
Sodium citrate	+	-
Alginic acid	-	-
Malonate acid	+	+
Tartaric acid	-	-

(\* = No growth

+ = Growth, asimilation , fermentation of carbohydrates or salts transformation

- = Growth, asimilation , no fermentation of carbohydrates or salts transformation

The strain HBMC - 314 was grown on Czapek-Dox and SD agars with range of pH and temperature. Growth was observed between pH 4 to 8 in