

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS



“RESPUESTA METABOLICA DE POSLARVAS DE
ABULÓN *Haliotis rufescens*, CON DIFERENTES
NUTRIMENTOS
DISUELTOS EN EL AGUA”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

O C E A N Ó L O G O

PRESENTA

OSCAR ALEJANDRO CHACÓN AGUIRRE



Ensenada Baja California, Mayo de 1998.

**“RESPUESTA METABOLICA DE POSLARVAS DE ABULON
Haliotis rufescens, CON DIFERENTES NUTRIMENTOS
DISUELTOS EN EL AGUA”**

**T E S I S
QUE PRESENTA:**

OSCAR ALEJANDRO CHACON AGUIRRE

APROBADA POR:

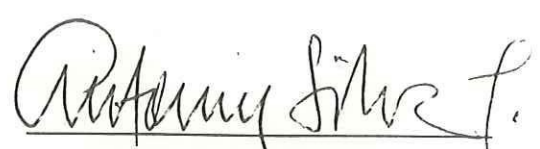


PRESIDENTE DEL JURADO.

DRA. MARIA TERESA VIANA CASTRILLON



**SINODAL PROPIETARIO
M.C. ZAUL GARCIA ESQUIVEL**



**SINODAL PROPIETARIO
M.C. ANTONIO SILVA LOERA**

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó el efecto de nutrimentos disueltos en el agua de mar en el cultivo de poslarvas de abulón rojo *Haliotis rufescens*. El experimento constó de 4 tratamientos, con 3 réplicas cada uno: 1) un control, con agua de mar cruda, 2) una solución de glucosa, 3) una combinación de 10 aminoácidos esenciales y 4) una combinación de glucosa-aminoácidos. Se realizó una prueba preliminar en el I.I.O. entre mayo-junio de 1997 y dos pruebas experimentales en Aquam durante agosto-septiembre del mismo año. Mediante mediciones de talla, peso, consumo de oxígeno y sobrevivencia, se concluyó que la glucosa tuvo efectos positivos en aumento de sobrevivencia en la prueba preliminar, cuando las concentraciones de materia orgánica disuelta (MOD) en el agua de mar eran posiblemente pobres. Al final de las pruebas experimentales, no se notaron efectos positivos con la incorporación de glucosa, posiblemente por condiciones más favorables de MOD en el agua de mar, pero después de dejarse las poslarvas en flujo continuo, el efecto de la glucosa se manifestó, en menos mortalidad en este periodo. La sobrevivencia en los tratamientos que contenían aminoácidos, para todas las pruebas, se vieron afectados por el crecimiento desmedido de microalgas bentónicas filamentosas indeseables. Sin embargo, los organismos sobrevivientes se vieron beneficiados en peso orgánico. Se sugiere que las variaciones de MOD, la alta temperatura registrada durante las pruebas y la alta mortalidad, fueron los principales factores determinantes en los resultados obtenidos en esta investigación.

AGRADECIMIENTOS:

A la Universidad Autónoma de Baja California, a la Facultad de Ciencias Marinas y al Instituto de Investigaciones Oceanológicas, por haber facilitado sus instalaciones y material para el desarrollo de este proyecto.

A la granja Abulónera Aquam Internacional, por las facilidades proporcionadas para la realización de la parte experimental de este trabajo de tesis.

A la Dra. Viana Castrillón por su excelente dirección, apoyo y amistad durante la realización de este trabajo de tesis.

A mis Sinodales M.C. Zaul García Ezquivel y M.C. Antonio Silva Loera por su apoyo y asesoramiento durante mi investigación.

A mis compañeros de generación por su amistad incondicional durante mis estudios de Licenciatura, especialmente a los CRUDACEOS fundadores.

A mis padres y Hermanos, que sin su apoyo y cariño nunca hubiera logrado llegar hasta este punto de mi vida.

DEDICATORIAS:

Especialmente a mi esposa Katia y a mi hija Karenina, porque sin su amor, comprensión y apoyo, nunca hubiera podido lograr lo hasta ahora logrado.

INDICE

| | |
|--|----|
| I. INTRODUCCION | 1 |
| II. ANTECEDENTES | 9 |
| III. OBJETIVO | 16 |
| IV. MATERIALES Y METODOS | 17 |
| IV.1. ELABORACION DE TRATAMIENTOS | 18 |
| IV.2. CONDICIONES GENERALES DEL CULTIVO | 19 |
| IV.2.1. PRUEBA PRELIMINAR | 19 |
| IV.2.2. PRUEBAS EXPERIMENTALES | 21 |
| IV.3. DESCRIPCION DEL EXPERIMENTO | 22 |
| IV.5. ANALISIS ESTADISTICO..... | 25 |
| V. RESULTADOS. | |
| V.1. SOBREVIVENCIA | 27 |
| V.2. CRECIMIENTO | 31 |
| V.2.1. LONGITUD | 31 |
| V.2.2. PESO | 34 |
| V.3. METABOLISMO | 40 |
| V.3.1. CONSUMO DE OXIGENO POR ORGANISMO | 40 |
| V.3.2. CONSUMO DE OXIGENO POR UNIDAD DE MASA CORPORAL | 43 |

| | |
|------------------------------------|----|
| VI. DISCUSIONES | 46 |
| VII. CONCLUSIONES | 59 |
| VIII. RECOMENDACIONES | 60 |
| IX. LITERATURA CITADA | 61 |
| ANEXOS | 70 |

LISTA DE FIGURAS.

| | |
|--|----|
| Figura 1. Sobrevivencia total. Porcentaje de los promedios con su error estándar, obtenidos al finalizar los tratamientos experimentales..... | 29 |
| Figura 2. Sobrevivencia total. Porcentaje de los promedios con su error estándar obtenidos después de los tratamientos experimentales, permaneciendo en flujo continuo de agua de mar..... | 30 |
| Figura 3 Crecimiento en longitud. Promedios con su error estándar obtenidos al finalizar los tratamientos experimentales..... | 33 |
| Figura 4. Crecimiento en peso seco. Promedios con su error estándar obtenidos al inicio y al finalizar de las diferentes pruebas. | 37 |

| | |
|--|----|
| Figura 5. Crecimiento dado en peso orgánico. Promedios con su error estándar obtenidos al inicio y al finalizar los tratamientos experimentales..... | 38 |
| Figura 6. Porcentajes promedio de peso orgánico e inorgánico obtenidos al finalizar los tratamientos en las diferentes pruebas | 39 |
| Figura 7. Consumo de oxígeno por organismo. Promedios con su error estándar obtenidos al inicio y al finalizar los tratamientos experimentales..... | 42 |
| Figura 8. Consumo de oxígeno por unidad de masa corporal. Promedios con su error estándar obtenidos al inicio y al finalizar los tratamientos experimentales. | 45 |

I INTRODUCCIÓN:

El abulón es un gasterópodo marino herbívoro, que presenta a todos sus especies en un solo género, *Haliotis* (cerca de 100 especies). Es uno de los gasterópodos más primitivos en forma y estructura debido, ya que no ha evolucionado notoriamente (Hanh, 1989), siendo un molusco bentónico común de aguas templadas. Su distribución se da a lo largo de las costas de regiones templadas, aunque existen algunas especies tropicales y ninguno en América del Sur. El abulón se encuentra a lo largo de la costa oeste de Norte América y de las costas del sur y éste de Asia, en la islas de océano Pacífico y en las costas de África y Europa.

Su ciclo de vida comienza con la fertilización externa de los óvulos y una posterior eclosión a larva planctónica, etapa que tarda de 5 a 7 días, comenzando después su búsqueda de sustrato en el fondo marino, para que se lleve a cabo la metamorfosis y así dar inicio a su etapa bentónica. En esta etapa habitan sobre sustrato rocoso y por presentar fototactismo negativo, se encuentra principalmente en grietas, cuevas y superficies cubiertas. En estadios juveniles tempranos se alimentan principalmente de las microalgas bentónicas que se encuentran sobre las rocas y posteriormente lo complementan con macroalgas. Su desarrollo es lento ya que dependiendo de la especie, alcanzan un tamaño para su captura comercial entre los 6 - 8 años, tiempo en el que se supone ya han pasado por al menos 3 ciclos anuales de su etapa reproductiva. En acuicultura se acepta una longitud comercial de menor tamaño

esperando que “idealmente” podría alcanzarse a los 2 o 3 años de edad.

El abulón es una especie muy sensible a la sobre explotación por varias razones. Primero, por su valor alto en el mercado con una relativa facilidad para su captura mediante el buceo, y en segundo lugar, debido a su lento crecimiento, hace que la recuperación de la población sea lenta.

El abulón rojo, (*Haliotis rufescens*), es históricamente la especie más importante en la pesquería comercial Estadounidense, debido a su gran tamaño y a que se distribuye a todo lo largo de la costa del estado de California. El abulón rojo se encuentra en tres regiones, las cuales varían considerablemente en disponibilidad de alimento, depredadores, presión de depredación y características físicas de su hábitat. Factores que afectan la estructura de la población, el crecimiento, la reproducción y su conducta (Tegner et al., 1992). Por lo anterior y por cambios sociales y prácticas modernas en la administración del recurso, sumando los efectos del Niño (1982-1984) que deterioraron la base alimenticia, las poblaciones del abulón rojo en 1985, declinaron de un 97% a 98% en 4 de las islas Channel de California (Davis et al., 1992). Actualmente esta pesquería se encuentra cerrada en los Estados Unidos esperando una recuperación de la misma.

En Baja California México, el registro de capturas más antiguo de la pesquería del abulón (*Haliotis spp.*), data desde el año de 1929, capturándose 1721 ton. En 1950

se alcanzó una producción récord de 6000 ton (Guzmán de Proo, 1992), y en las décadas de los sesentas y setentas, México fue el principal productor del mundo, alcanzando producciones de 2000 y 3000 ton anuales, respectivamente (Secretaría de Pesca, 1992). Hoy en día existe un estricto control para determinar las cuotas de captura, de tal manera que las zonas donde hay abulón (bancos) y están concesionadas a Cooperativas pesqueras se determinan cuotas mediante un número exacto de individuos con una longitud mínima de captura. Estas cuotas son definidas, por acuerdo, entre tres partes (Cooperativa con concesión, la Federación de Cooperativas con concesión y el Gobierno) y después de una evaluación individual de los bancos de abulón. De esta manera, entre las 19 Cooperativas existentes han llegado a tener una producción anual de 500 a 600 ton, (Guzmán de ^{et. al.} Proo, 1992), que para este año se estima que dicha cuota otorgada disminuya significativamente (Federación de Cooperativas, Com. Per.).

Como resulta lógico pensarlo, los países dedicados a la extracción del abulón, han orientado un gran esfuerzo al cultivo de esta especie, ya que, como importante recurso pesquero que se encuentra sobre explotado en sus poblaciones naturales y su alto precio en el mercado internacional, lo hacen atractivo para cultivarlo.

En el oriente esta actividad se lleva a cabo desde hace mucho tiempo, siendo Japón el pionero con 40 años. El cultivo se basa, aparte de la engorda, en la producción de juveniles en el laboratorio (Grant, 1981; Hahn, 1989), ya que la captura de éstos en el medio natural es escasa poco eficiente.

Tres son las especies de abulón que se cultivan y son comercializadas en E.U.A.; el abulón rojo, *Haliotis rufescens*; el azul, *H. fulgens* y el amarillo, *H. corrugata*; constituyendo el abulón rojo, mas del 95% de la producción (Ebert,1992). La razón por la que en California el mayor esfuerzo de cultivo se haya concentrado en el abulón rojo (*H. rufescens*) se debe por tratarse de la especie nativa más popular y tener alta calidad en su carne con un alto valor en el mercado, aparte de presentar una buena tasa de crecimiento y un fácil control en la reproducción (Hahn,1989). Por otro lado, se trata de la especie más grande de abulón en el mundo, que llega a alcanzar longitudes mayores de 27.5 cm., pesando mas de 1.7 kg en el medio natural.

En México la acuicultura ha sido una actividad que se ha ido desarrollando poco a poco, y se espera que tome una mayor importancia en el futuro. Esto, ya que permite el cultivo de organismos económicamente importantes, así como la obtención de alimentos. Este hecho, de seguro permitirá el poder seguir comercializando especies, que como el abulón, lleguen a presentar capturas controladas por medio de cuotas. Por otro lado, ya que es una especie restringida a cooperativas pesqueras, permitirá que el sector productivo en general, se dedique también a esta actividad. En México, el inicio de la acuicultura del abulón no fue pensando en la engorda comercial, sino más bien obedecido a una demanda por parte del gobierno para iniciar un programa de repoblación a aquellas cooperativas dedicadas a su captura. Esto obligó a las Cooperativas desde 1983 invirtieran en laboratorios de producción para la obtención de

semilla para restablecer los bancos naturales (Salas-Garza y Searcy-Bernal, 1990). Por otro lado, también ha surgido el interés por parte del sector productivo para el inicio de la engorda comercial de abulón mediante la acuicultura. Actividad que se realiza sin necesidad de tener una concesión siendo entonces una actividad sujeta a desarrollarse por cualquier persona o empresa. En México, existen hoy en día dos laboratorios comerciales y/o granjas de abulón, ambos operando en Eréndira, B.C., y otros por parte de las Cooperativas dentro de los programas de repoblación localizados en Bahía Tortugas, La Bocana y punta Eugenia, en B.C.S., e Isla de Cedros (José Guadalupe González, PNA, com. Per.). En todos los laboratorios, el problema principal es la alta mortalidad de larvas y poslarvas la cual es de casi un 99%, considerada esta causa como la principal por la que no se ha desarrollado ampliamente el cultivo de abulón en el país (Salas-Garza y Searcy-Bernal, 1992). México, a pesar de haber sido uno de los países pioneros, ha evolucionado lentamente en el cultivo del abulón y con diversas limitaciones de tipo técnico, profesional, jurídico y económico (Pérez-Muñoz, 1995).

De igual manera, en diversos laboratorios de investigación y producción en el mundo, se ha coincidido en señalar que el periodo de asentamiento y metamorfosis, así como los primeros uno a tres meses de vida a partir de poslarva, constituyen la etapa crítica, ya que la mortalidad asciende a niveles similares que los obtenidos aquí (90% a 99%) (Searcy et al., 1992; Grant, 1981; Ebert y Houk, 1984).

Varios aspectos se han intentado cubrir para dar solución a este grave problema como lo son: sobre saturación gaseosa, la que se presenta frecuentemente en los cultivos intensivos donde se bombea agua natural (Leitman,1992); mortalidad de larvas y poslarvas ocasionada por el crecimiento desmedido de bacterias en el cultivo, resultando en la aparición de protozoarios ciliados (Leighton, 1977; Morse et al., 1979b).

La excesiva mortalidad en los estadios tempranos también ha sido atribuido a diversos factores fisiológicos tales como una metamorfosis prolongada, un estrés excesivo durante la metamorfosis o bien por la mala calidad genética de los huevos. Esta última, debido a deficiencias nutricias de los progenitores que repercuten en la calidad de las larvas y poslarvas. Desde 1967, Imai, atribuye esta alta mortalidad durante y posterior al asentamiento, a problemas relacionados a una nutrición deficiente. Las larvas son lecitotróficas, o sea, no se alimentan de manera directa, lo cual implica que vivan de sus reservas alimenticias hasta la etapa de asentamiento y metamorfosis. Por esto, si la metamorfosis se retrasa, los organismos estarán más débiles y por ende más susceptibles a morir. Para esto, Morse (1979), considera que la mortalidad poslarval en las especies de *Haliotis* resulta en parte, del retraso del desarrollo normal, y sugiere que las sustancias requeridas morfogenéticamente de manera natural, pueden estar ausentes en los sistemas de cultivo. Por esto mismo, la edad de la larva en el momento de la inducción al asentamiento, sea un factor importante (Hahn, 1989).

Manahan (1989) establece que el abulón, al igual que otros moluscos bivalvos son capaces de absorber materia orgánica disuelta, misma que les servirá como un aporte extra energético permitiéndoles llegar con mayores reservas a esta etapa tan crítica como el asentamiento y metamorfosis. Day y Fleming (1992) establecen que la tasa de crecimiento de un juvenil de abulón depende en gran medida de su historial alimenticio, de tal manera que organismos que presenten un asentamiento y metamorfosis en zonas con escaso alimento tendrán menores oportunidades de crecer que otros que siempre tengan una buena alimentación. Este factor es importante de ser tomado en cuenta, ya que de ser cierto se podrían estandarizar patrones alimenticios desde los estadios primeros y así contar con poblaciones con tasas de crecimiento mayores.

Por lo antes expuesto se piensa que si las larvas y poslarvas son capaces de asimilar materia orgánica disuelta a nivel tisular como lo ha indicado Manahan (1990), esta sería una manera "ideal" de aumentar la tasa de sobrevivencia a un bajo costo a nivel de laboratorio y comercial. Por otro lado, si como establecen Day y Fleming (1992) de que el historial alimenticio es fundamental para obtener organismos juveniles sanos, entonces, de esta manera se podrían obtener lotes más homogéneos con organismos sanos y por ende, con tasas de crecimiento más altas.

El presente trabajo forma parte de un proyecto CONACYT y U.A.B.C., donde se pretende evaluar el efecto del uso de nutrientes en el cultivo de larvas y poslarvas del abulón rojo *Haliotis rufescens*. Este trabajo aquí presentado corresponde a la etapa de

poslarva aunque se hará referencia a la parte del desarrollo de larvas presentado en otra tesis de Licenciatura.

II ANTECEDENTES:

Si bien, el material particulado, bacteriano y microalgas (como alimento) puede ser medido y controlado a lo largo de una estación de crecimiento, poco se conoce de los compuestos disueltos que entran a los cultivos larvales como parte integral del agua de mar “cruda” o proveniente del agua del medio de cultivo de las algas. Ya que se sabe que dichas sustancias en solución pueden tener un efecto marcado en el desarrollo larval (Manahan, 1983).

Es claro que componentes biológicos importantes, como monosacáridos, aminoácidos, ácidos grasos y ácidos nucleicos están presentes en forma disuelta en ambientes marinos costeros (Jaekle y Manahan, 1989).

La tradicional separación de las larvas marinas planctónicas, en tres grupos tróficos (planctotrófica, planctotrófica facultativa y lecitotrófica) está basado sobre la habilidad o carencia de ella para concentrar y captar partículas de comida del agua de mar. Sin embargo este esquema de clasificación no considera una fuente de energía disponible para todos los invertebrados de cuerpos blandos, llamada materia orgánica disuelta (MOD) en el agua de mar (Jaekle y Manahan, 1989).

Previos informes indican que el huevo y embriones, incapaces de ingerir partículas alimenticias, pueden transportar una variedad de componentes orgánicos

directamente del agua de mar. Sistemas de transporte para aminoácidos, monosacáridos y nucleósidos, están activos después de la fertilización de los huevos y oocitos de varias especies de invertebrados marinos. Embriones mayores y estadios larvales en ayuno, también se ha reportado que transportan aminoácidos y monosacáridos del agua de mar (Jaeckle y Manahan, 1989a).

La única posible fuente de nutrientes del medio ambiente disponible para estadios en desarrollo, de invertebrados marinos ayunantes, es en forma de MOD. La concentración total de carbón de la MOD en aguas costeras, es al menos diez veces mayor que aquel carbón orgánico asociado a partículas (Jaeckle y Manahan, 1989). La posibilidad de que la MOD en el agua de mar pueda ser tomada por los invertebrados marinos y contribuir en su nutrición es una idea muy atractiva y a interesado a los científicos a lo largo de un siglo. La toma de MOD (principalmente aminoácidos y azúcares) se ha encontrado que ocurre en todos los invertebrados marinos con cuerpos blandos, estudiándose representantes de 14 phylas (Manahan, 1989; Wright, 1997), siendo las formas estudiadas, anélidos, equinodermos y moluscos (Rice, 1987).

Dos criterios pueden ser empleados para determinar una apreciable contribución que la MOD proporciona al crecimiento de las larvas y poslarvas. Primero, usando cálculos de energía, que es el porcentaje de contribución que la MOD le proporciona a un componente bioquímico específico, como las proteínas, que puede ser estimado. Segundo, la importancia de la MOD hacia estos estadios puede ser probada

directamente, haciéndolas crecer en presencia de una mezcla conocida de sustancias orgánicas compuestas (Manahan, 1983).

Se ha encontrado que invertebrados marinos con cuerpos blandos son capaces de incorporar rápidamente aminoácidos libres marcados radioactivamente, en soluciones disueltas en agua de mar (Rice, 1987). Garcia-Esquivel (1997) sugiere que la toma de aminoácidos tiene un doble propósito: por una parte compensar las variaciones osmóticas del medio externo sin incurrir en gastos excesivos de energía por este concepto y por otra parte ayudar en la producción de energía, ya que los aminoácidos pueden ser oxidados directamente o transaminados para su posterior oxidación.

Aunque el tejido responsable para el transporte de aminoácidos en estadios larvales no está identificado, se sugiere que el velum (estadio véliger) representa el sitio más propicio para esta función y las branquias en adultos (Jaekle y Manahan, 1989a).

La mayoría de los estudios sobre el transporte de la materia orgánica disuelta del agua de mar por invertebrados marinos con cuerpos blandos, se ha enfocado primariamente sobre los flujos de aminoácidos libres. Es poca la literatura sobre el transporte de otros componentes que se encuentran en forma de MOD en el agua de mar por estos invertebrados, pero se ha encontrado que estos organismos son también capaces de transportar azúcares disueltos, creyéndose que la glucosa es el monosacárido dominante en el agua de mar (Welborn y Manahan, 1990).

Las reservas maternas endógenas en el huevo, o las reservas acumuladas durante su desarrollo subsecuente en formas larvales que se alimentan, ha sido considerada la única fuente de energía para los invertebrados marinos durante los estadios ayunantes de su desarrollo (Shilling et al., 1996). Las larvas lecitotróficas (ayunantes) de invertebrados marinos no pueden ingerir partículas de alimento y se asume que subsisten enteramente de sus reservas endógenas. Esta suposición, de cualquier modo, ignora la gran cantidad de material orgánico presente en el agua de mar (Jaeckle y Manahan, 1989a).

Todavía no es claro, a que grado las reservas energéticas larvales afectan los sucesos postmetamórficos. La tasa de agotamiento de las reservas energéticas para los embriones y larvas de varias especies de invertebrados marinos es insuficiente para saciar la demanda metabólica total durante su desarrollo. Aunque suficiente energía está disponible en el huevo, estas reservas no son utilizadas (Jaeckle y Manahan, 1989a). Shilling (1996) concluye que la toma de MOD del agua de mar proporciona la energía perdida. Si los embriones de invertebrados están suministrados con menor energía de reserva que la que es necesaria para desarrollarse hasta estadios de larvas y/o poslarvas, capaces de alimentarse, entonces su habilidad de tomar nutrimentos disueltos del agua de mar y metabolizarlos, puede ser de vital importancia (Manahan, 1983a).

Después del periodo larval todas las especies de moluscos entran a la fase de asentamiento y metamorfosis, durante la cual las larvas planctotróficas reducen

drásticamente su capacidad alimenticia y entran a un estado de estrés nutricional. En dicho estado, hay una utilización neta de reservas endógenas, acompañada de una disminución en las tasas metabólicas corporales y una alta mortalidad post-metamórfica (García-Esquivel y Gonzalez-Gomez, 1993). Estudios previos sugieren que la sobrevivencia de estadios post-metamórficos está muy relacionado con la dieta o tipo de reservas endógenas presentes en su fase larval, y su grado de utilización durante el desarrollo (Chu y Webb, 1984). No obstante, hasta ahora no se tiene una documentación clara del papel nutricional de las reservas corporales en larvas/poslarvas, o de su efecto en la mortalidad y estado energético-fisiológico de los juveniles.

La fase larval de los moluscos bivalvos como el ostión, dura generalmente entre 15 y 28 días. Durante este periodo las larvas acumulan reservas energéticas alimentándose principalmente de materia orgánica particulada (larvas planctotróficas). Han habido muchos estudios sobre el papel que juegan los aminoácidos disueltos, en la nutrición de bivalvos marinos. Manahan (1983a) ha demostrado que los aminoácidos son tomados del agua de mar por estadios larvales de bivalvos.

La habilidad de las larvas de bivalvos de transportar aminoácidos ácidos, básicos y neutros, es diferente a lo observado para larvas axénicas de pepinos de mar, donde solo la toma de aminoácidos neutros fue observada. Las larvas de otros moluscos, como el del gasterópodo *Haliotis rufescens*, tiene el patrón similar al observado en *Crassostrea gigas*, lo cual podría reforzar el argumento de que ambos moluscos, en estadios larvales,

juveniles y adultos, tienen sistemas de transporte para un amplio rango de aminoácidos, a diferencia de los encontrados en equinodermos (Manahan, 1989). Manahan (1990) ha demostrado también que tanto el ostión como el abulón, aparte de poder tomar del medio aminoácidos libres, tienen la habilidad de tomar azúcares sencillos.

El abulón rojo (*Haliotis rufescens*) es un molusco archaeogasterópodo que libera un gran número de oocitos primarios, los cuales después de la fertilización, se desarrollan a larvas trocófora y posteriormente a véliger, que son funcionalmente incapaces de capturar partículas de comida y carecen de un sistema digestivo, por lo que se consideran ayunantes (lecitotróficas) en esta etapa de su vida (Jaekle y Manahan, 1989; 1989a; Manahan y Jaekle, 1992; Shilling, 1996), pero con la habilidad de tomar MOD del agua de mar. Esta habilidad parecería ser que es porque requieren de una fuente exógena de carbón orgánico para proveer la energía que no aporta el huevo y no usar las reservas endógenas en satisfacer los requerimientos metabólicos totales durante su desarrollo y metamorfosis (Jaekle y Manahan, 1989; 1989a). Por ejemplo, la tasa de incorporación de aminoácidos por las larvas véliger (aproximadamente correspondiendo a un 1% total de la MOD), comparada con las tasas metabólicas de estas larvas, podría proporcionar cantidades de energía (Jaekle y Manahan, 1989a; Manahan, 1989), que en promedio contribuiría en cubrir el 55% de las necesidades metabólicas de estas larvas (Manahan y Jaekle, 1992).

Estas observaciones conducen a la sugerencia que la MOD (principalmente

aminoácidos y azúcares) puede ser importante para la energía larval, al evitar que ocurra un agotamiento de las reservas endógenas y cubrir sus requerimientos energéticos durante el desarrollo larval. Confirmando de esta manera la conclusión de que el desequilibrio energético en estadios que sufren una metamorfosis de larva a juvenil, es explicada por el agotamiento de las reservas endógenas (Shilling, 1996).

Esta metamorfosis que sufren los invertebrados marinos al pasar de larva pelágica a juvenil, es energéticamente costosa, involucrando la reorganización de tejido existente y construcción de nuevo tejido, así como, pérdida de su vélum, desarrollo de branquias alargadas y pie, y el comienzo de la formación de la concha de los adultos, provocando el agotamiento de reservas endógenas (Shilling, 1996).

Con todo lo anterior y suponiendo que las poslarvas del abulón *Haliotis rufescens* después de la metamorfosis, no han perdido la capacidad que tuvieron de larvas para tomar la MOD del agua de mar (Manahan, 1990), podemos inferir que el enriquecimiento del medio donde se encuentran estos, con aminoácidos y azúcares, podría suministrar y sustituir las reservas endógenas que se perdieron o utilizaron durante los procesos fisiológicos de metamorfosis, reordenamiento tisular y formación de nuevo tejido. Esto para disminuir la mortalidad por deficiencias nutricias y obtener mayor y mejor número de organismos sanos que alcancen una longitud comercial.

III OBJETIVO:

Conocer el efecto fisiológico de poslarvas de abulón *Haliotis rufescens*, con diferentes nutrimentos disueltos en el agua. Para así poder predecir el tipo de reservas energéticas mas importantes, disminuir la mortalidad en estadios tempranos y aumentar las tasas de crecimiento.

IV MATERIALES Y METODOS:

El presente proyecto es financiado a través de la 2da. convocatoria de la D.G.I.P. de la U.A.B.C. y CONACYT. Este proyecto cuenta con el apoyo de la empresa Aquam Internacional, que es una granja comercial de abulón con capital extranjero, donde se realizara parte de la experimentación. Aquam está localizada en el Ejido Eréndira a 100 km. al sur de Ensenada.

El experimento puede dividirse en dos partes, una la denominaremos como prueba preliminar y la otra como prueba experimental. La primera realizándose en el Instituto de Investigaciones Oceanológicas, en la Universidad Autónoma de Baja California, unidad Ensenada y la segunda en la empresa Aquam Internacional.

La prueba preliminar, se realizó con el objeto de estandarizar los sistemas de medición y análisis como tamaños, pesos, sobrevivencia-mortalidad, tasas respiratorias, etc., para después poder llevar a cabo la prueba experimental a nivel comercial dentro de la empresa Aquam Internacional.

Con el objeto de conocer la respuesta fisiológica de poslarvas de abulón, prediciendo la cantidad de reservas energéticas, para disminuir la mortalidad en estos estadios, se pusieron a prueba poslarvas de abulón *Haliotis rufescens*, en diferentes tratamientos: 1) un control de agua de mar cruda, 2) glucosa, 3) mezcla de 10

aminoácidos esenciales y 4) una combinación de glucosa-aminoácidos. Esto para evaluar la tasa metabólica corporal de las poslarvas de abulón así como crecimiento en longitud y peso.

IV.1 ELABORACION DE TRATAMIENTOS:

1) Este tratamiento se denominará como control, ya que a este no se le suministrará ningún nutriente, siendo solo el agua de mar cruda lo que contengan los recipientes.

2) La concentración del tratamiento de glucosa, se calculó de tal manera que estuviera a una concentración molar similar a la del aminoácido referido posteriormente en el tratamiento de aminoácidos (leucina); siendo este aminoácido esencial, el que se encuentra en mayor concentración dado en porcentaje, según Fleming et al. (1996).

3) El tratamiento de la mezcla de aminoácidos se preparó con 10 aminoácidos considerados esenciales en los moluscos (Bishop et al., 1983; Fleming et al., 1996). La concentración necesaria equimolar de estos aminoácidos en el agua de tratamiento, se calculó de acuerdo a la cinética de utilización de la leucina reportado para larvas de ostión *Crassostrea gigas* (Manahan 1989). Con este propósito, se tomó el valor reportado de 7.1 μMol de leucina (K_t), y se relacionó a la concentración de leucina

reportada para el tejido seco del abulón igualando los otros aminoácidos de acuerdo a su aparición porcentual (Fleming et al., 1996).

4) En el tratamiento de la combinación de glucosa-aminoácidos, se suministraron ambas mezclas de nutrientes, en las mismas concentraciones a las que se aplicaron en los tratamientos 2 y 3 respectivamente.

IV.2 CONDICIONES GENERALES DEL CULTIVO:

IV.2.1 PRUEBA PRELIMINAR:

Se realizó en el Instituto de Investigaciones Oceanológicas la prueba preliminar, de la cual se tomaron las bases para la realización de las pruebas experimentales en la granja de abulón, Aquam Internacional. Esta se realizó bajo condiciones de laboratorio, las poslarvas de abulón rojo utilizadas, provenían de un desove realizado el 17 de abril de 1997 a las 12 AM en la granja de abulón, Abulones Cultivados, localizada también en el Ejido Eréndira. La eclosión sucedió el 18 de abril a las 9 AM y fueron transportadas por tierra al I.I.O. el 21 del mismo mes, en contenedores de 4 l, dentro de hieleras para mantener una temperatura constante de 16⁰ C. Inmediatamente a su llegada, se procedió a revisar y dividir a las larvas en cubetas diferentes para separar los grupos y proceder al desarrollo experimental con larvas. Pasada la prueba con las larvas, las poslarvas sobrevivientes fueron mezcladas y utilizadas en el desarrollo de la prueba preliminar de

este trabajo. La prueba experimental con la fase larvaria de estos organismos, forma parte del mismo proyecto pero constituye otro trabajo de tesis de licenciatura.

Para que las poslarvas utilizadas en este preliminar no tuvieran ya un historial nutricional antes del experimento, debido a la exposición de éstas a los tratamientos en estadios larvales, todas las nuevas poslarvas provenientes de todos los tratamientos, fueron revueltas y divididas en 12 cubetas de 4 l de capacidad, previamente inoculadas con diatomeas bentónicas, en densidades similares, que iban entre 900 y 1000 poslarvas por cubeta. El inicio de los tratamientos fue el 12 de mayo de 1997 y finalizó el 5 de junio del mismo año. El manejo durante el experimento y las mediciones realizadas a las poslarvas antes y después de los tratamientos, fueron las mismas que las hechas en las pruebas experimentales 1 y 2 realizadas en la granja de abulón Aquam Internacional. La temperatura a la que estuvieron expuestas estas poslarvas durante la prueba preliminar fue de 18⁰ C, ya que este experimento se desarrollo dentro de un laboratorio con temperatura controlada. El agua con la que se hacían los cambios cada tercer día, era pasada primero por filtros CUNO de 5 y 1µm y pasada por luz ultravioleta. Luego, era introducida en depósitos, uno o dos días antes del cambio, dentro del laboratorio para que adquiriera la temperatura ambiental de este. Este procedimiento se realizaba porque las temperaturas registradas en el agua proveniente directamente del mar, registraban temperaturas más altas, cercanas a los 21⁰ C. Los depósitos con el agua de mar eran mantenidos con aireación para evitar el empobrecimiento de oxígeno por consumo bacteriano.

IV.2.2 PRUEBAS EXPERIMENTALES:

Para la prueba experimental se realizaron dos corridas con los 4 tratamientos, sobre dos lotes distintos de poslarvas. El desove del primer lote fue el 24 de julio de 1997 a las 11 AM. Su eclosión se realizó el 25 del mismo mes a las 6 PM. El sembrado de las larvas listas para asentarse se realizó según lo recomendado por Hanh (1989) y fue el 29 del mismo mes, siendo una densidad aproximada de 5,000 larvas, y el inicio de los tratamientos fue el 2 de agosto. El desove del segundo lote fue el 29 de julio a las 11 AM, su eclosión el 30 del mismo mes a las 4 AM, el sembrado se realizó el 2 de agosto a las 10 AM, aproximadamente 2,500 larvas por cubeta. El inicio de los tratamientos en esta corrida fue el 5 de agosto. Los inicios de los tratamientos fueron 3-4 días después del sembrado, ésto, para asegurar un mayor número de poslarvas recién metamorfozadas.

IV.3 DESCRIPCION DEL EXPERIMENTO:

El experimento constó de los 4 tratamientos ya descritos, los cuales se realizaron por triplicado en cubetas de 20 l de capacidad con volúmenes de 16 l de agua de mar cruda. Estas no tuvieron flujo continuo de agua de mar cruda, pero contaron con aireación continua con cambios de agua del 100% cada tercer día. Los cambios se realizaban pasando el agua contenida en la cubetas por tamices de $79\mu\text{m}$ y lo detenido en el tamiz era devuelto a las cubetas, esto para regresar las poslarvas vivas desprendidas por el manipuleo y las conchas de las poslarvas muertas, para evaluar mortalidad al final del tratamiento. Cada cubeta contenía una misma densidad de organismos (aproximadamente 3 poslarvas por cm^2). Todas las cubetas fueron inoculadas con diatomeas bentónicas antes de sembrar las poslarvas e iniciar los tratamientos, para suministrarles a las poslarvas una segura alimentación, ya que los tratamientos tenían como objetivo proveerles a las poslarvas una fuente exógena alterna de nutrimento y no, el ser la única fuente de alimentación. Con objeto de favorecer el crecimiento de las diatomeas, las cubetas fueron iluminadas permanentemente con lamparas fluorescentes. Las temperaturas durante el periodo de experimentación para ambas pruebas experimentales, fue muy cambiante, entre un rango de $20.17\pm 0.3^\circ\text{C}$ a $21.7\pm 0.7^\circ\text{C}$; y la salinidad entre 33.2 y 35.3 ppm. (ver Anexo I).

Se hicieron mediciones iniciales de longitud, peso y consumo de oxígeno, antes de someter a las poslarvas a los tratamientos. El período del tratamiento fue de 2

semanas, haciendo cambios de agua del 100% cada tercer día y adicionando los nutrimentos después de cada cambio. A todos los tratamientos se les suministró un antibiótico de uso probado con poslarvas de abulón (clorafenicol, 5 mg / l) según comunicación personal (Searcy-Bernal), para evitar el crecimiento desmedido de estos microorganismos, ya que el medio estuvo enriquecido con los nutrientes y sin flujo. Al finalizar el periodo de tratamiento (2 semanas), se tomaron mediciones finales de sobrevivencia-mortalidad, tamaño, peso y consumo de oxígeno.

1.- Sobrevivencia-Mortalidad: La mortalidad se evaluó por medio del conteo directo de los organismos vivos que quedaron en cada uno de los recipientes contenedores, después de terminados los tratamientos (al 18vo día de experimentación). Además de la recolección y conteo de los organismos muertos (conchas), para conocer la cantidad exacta de organismos con los que se inició el experimento. También se realizó una valoración de sobrevivencia sobre las cubetas después del experimento habiendo sido dejadas con flujo continuo de agua de mar, hasta 64 días para la corrida 1 y 41 días para la corrida 2.

2.- Longitud: Se midió la longitud alcanzada por las poslarvas al final de los tratamientos por medio de microscopio compuesto. Para esto, se tomaron 30 organismos de cada tratamiento y réplicas, para valorar la longitud media de cada tratamiento.

3.- Peso seco: Este se obtuvo filtrando a las poslarvas que se utilizaron para evaluar el consumo de oxígeno, en filtros pesados y quemados previamente, de fibra de vidrio con un tamaño de malla de $1.2 \mu\text{m}$ (G/FC), y se secaron en estufa por 24 hrs. a 60°C . Posteriormente fueron pesados y por diferencia con el peso del filtro, se obtuvo el peso neto, libre de humedad de los organismos.

4.- Peso orgánico: Los filtros con los organismos ya secos y pesados, fueron puestos en la mufla durante 24 a 48 hrs. a 450°C . Ya fríos en un desecador, se volviéron a pesar para determinar el contenido de materia orgánica por diferencia del peso seco con el peso de las cenizas (Jaeckle.y Manahan, 1989).

5.- Tasa Metabólica: La tasa metabólica se cuantificó mediante la incubación de un número determinado de poslarvas de los diferentes tratamientos en cámaras respirométricas. De esta forma se detectó el consumo de oxígeno ($\text{ml O}_2/\text{organismo/h}$) con sensores polarográficos (Hansatech oxygen sensor), siguiendo el método descrito por Bricelj y Garcia-Esquivel (1995).

Las mediciones de longitud, peso seco y peso orgánico se realizaron con los mismos organismos que fueron incubados en las cámaras respirométricas de cada tratamiento y réplica. Esto, para obtener el crecimiento y el consumo neto de oxígeno por organismo y por unidad de masa del organismo. Estas mediciones fueron realizadas

en el I.I.O. en la U.A.B.C. unidad Ensenada, por lo que las muestras fueron transportadas dentro de una solución de formol al 10%.

IV.5 ANALISIS ESTADISTICO:

A todos los datos se les probó el ajuste a la distribución normal por el método de “Kolmogorov-Smirnov”. La homogeneidad de varianzas entre tratamientos y réplicas se analizó mediante la prueba de “Levene”.

Se utilizó el análisis de varianza de una vía (ANOVA) para comparar tratamientos, con las variables ya descritas, para cada experimento. En caso de detectar diferencias significativas, se practicó la prueba de comparaciones múltiples con el método “Student-Newman-Keuls” (SNK). Para las variables que no pasaron la prueba de normalidad y/o homogeneidad de varianza se les aplicó la prueba de análisis de varianza de una vía no paramétrico por rangos de Kruskal-Wallis. Las comparaciones múltiples en caso de significancia se realizaron mediante el método “Student-Newman-Keuls” (SNK).

Todos los datos arrojados por ambas pruebas (preliminar y experimental) sobre;

- a)** sobrevivencia-mortalidad (al finalizar el tratamiento y después de un tiempo en flujo continuo),
- b)** crecimiento (peso seco, peso orgánico y longitud) y
- c)** metabolismo

(consumo de O_2), por las poslarvas en los tratamientos, fueron evaluados con análisis de varianza paramétrica o no paramétrica según la prueba de normalidad y varianza, con un nivel de significancia al 0.05 %.

El paquete estadístico de Sigma Stat 2.0 para Windows (Jandel, 1995) fue utilizado para todas las pruebas.

V. RESULTADOS:

V.1. SOBREVIVENCIA:

PRUEBA PRELIMINAR:

La prueba de análisis de varianza por rangos de Kruskal-Wallis muestra diferencias significativa entre los porcentajes de sobrevivencia de cada tratamiento ($P=0.0381$, $H=6.11$), pero la prueba de comparación múltiple (SNK), no distingue entre cuales tratamientos hay diferencia, siendo todos iguales (ver Anexo V). La mayor sobrevivencia se registró en el tratamiento con glucosa (**GLU**) con un 18.33%, seguida por el tratamiento control (**AC**) con un 2.33%. Los tratamientos con aminoácidos (**AA**) y glucosa-aminoácidos (**GAA**) registraron sobrevivencias menores al 1%, 0.2% y 0.15%, respectivamente (ver Anexo VIII, Figura 1).

PRUEBA EXPERIMENTAL #1:

En la sobrevivencia al final del experimento, se encontró diferencia significativa entre los tratamientos ($P=0.000267$), siendo similares el tratamiento control (**AC**) y el de **GLU** (ver Anexo VI), con promedios de 10.6% y 12.2%, respectivamente, pero diferentes a los tratamientos de **AA** y **GAA**, en donde sus promedios fueron de 0.8% y 0.25%, respectivamente (ver Anexo VIII, Figura 1). La sobrevivencia en las cubetas posterior al experimento, al dejarse con flujo continuo durante 64 días, disminuyó en todos los tratamientos, pero siendo menor la mortalidad en la cubetas con el tratamiento

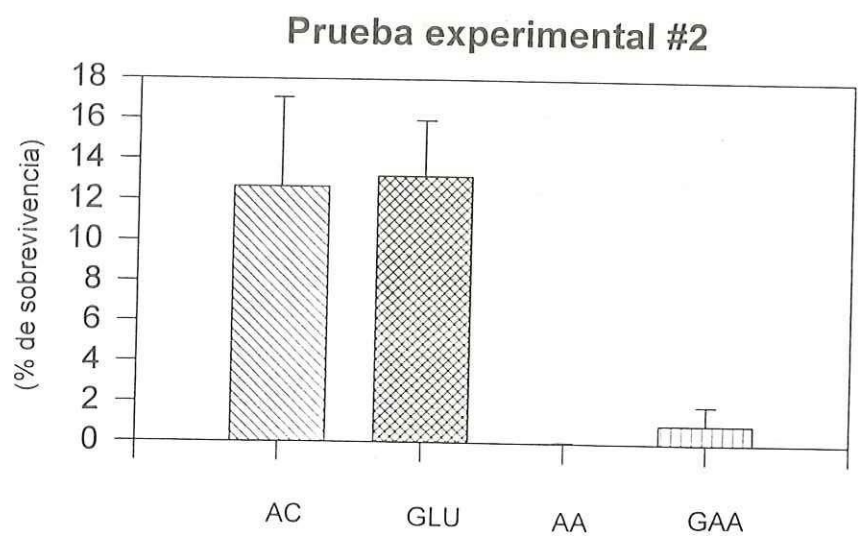
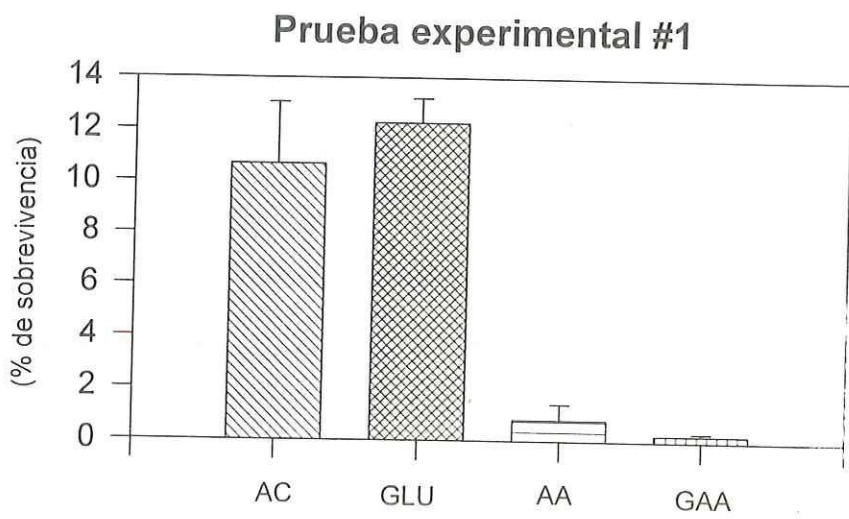
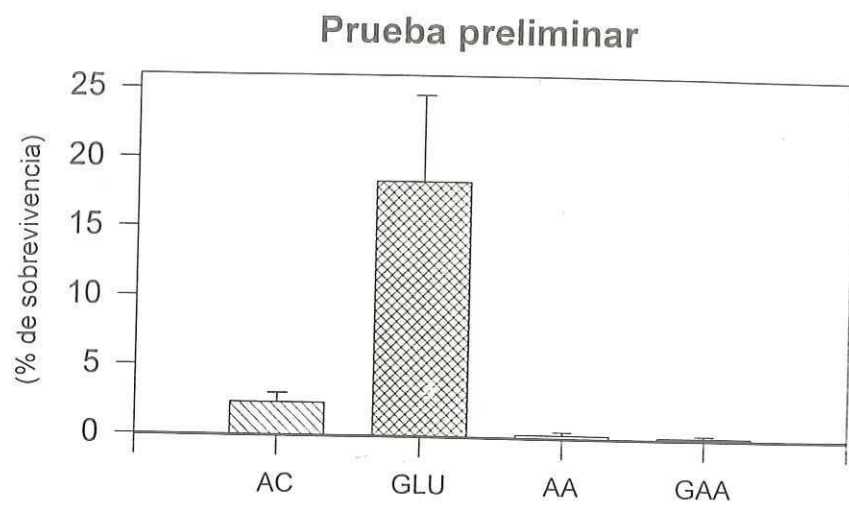


Figura 1. Sobrevivencia total. Porcentaje de los promedios con su error estándar, obtenidos al finalizar los tratamiento experimentales.

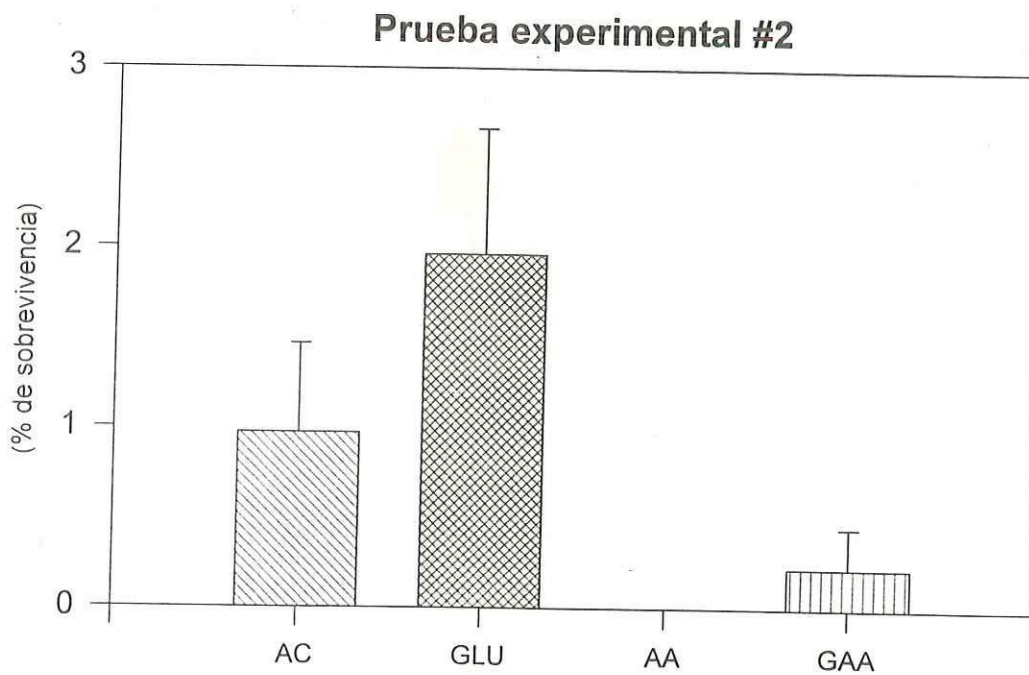
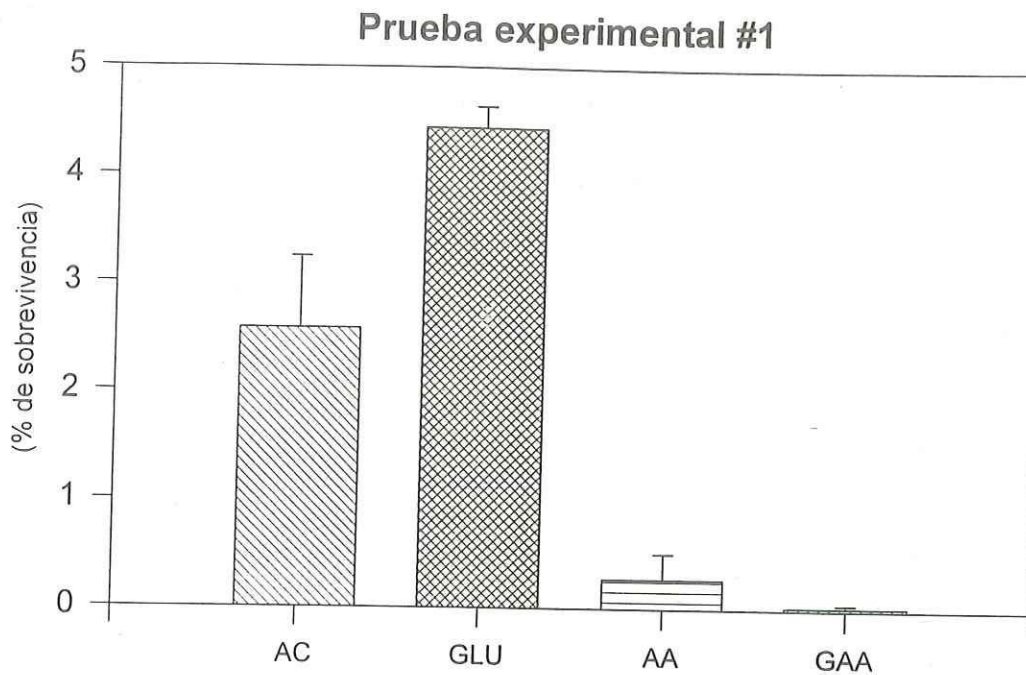


Figura 2. Sobrevivencia total. Porcentaje de los promedios con su error estándar obtenido después de los tratamientos experimentales, permaneciendo con flujo continuo de agua de mar.

V.2. CRECIMIENTO:

V.2.1. LONGITUD:

PRUEBA PRELIMINAR:

No se encontraron diferencias estadísticas en crecimiento (longitud) de las poslarvas entre tratamientos, en comparación con los valores de longitud obtenidos al inicio del experimento (INI)($P=0.2397$, $H= 5.5$)(ver Anexo VI). Los valores promedio de los tratamientos fueron, para AC de $714.6\mu\text{m}$, GLU de $722.1\mu\text{m}$, AA de $1075.4\mu\text{m}$ y GAA de $750.9\mu\text{m}$, promedios mayores al promedio inicial ($464.4\mu\text{m}$) (ver Anexo VIII, Figura 3).

PRUEBA EXPERIMENTAL #1:

Se encontró un crecimiento significativo en todos los tratamientos al finalizar el experimento, comparados con el valor de longitud encontrado antes de someterse a los tratamientos ($344.7\mu\text{m}$)(INI). El crecimiento en el tratamiento control (AC) y en el tratamiento con GLU fue estadísticamente similar ($696.1\mu\text{m}$ y $677.3\mu\text{m}$ respectivamente), pero diferentes a las longitudes encontradas en los tratamientos con AA y GAA ($524.6\mu\text{m}$ y $507.2\mu\text{m}$, respectivamente),($P=0.0000307$). (ver Anexo VI, Anexo VIII y Figura 3).

PRUEBA EXPERIMENTAL #2:

Se observó diferencia significativa en el crecimiento entre la longitud iniciales (INI) y al finalizar el experimento en todos los tratamientos, pero no se encontraron diferencias entre los tratamientos ($P=0.0000219$) (ver Anexo VII). El tratamiento con mayor promedio de crecimiento en longitud fue el que contenía **GLU** ($674.1\mu\text{m}$). Los promedios de los demás tratamientos fueron, para **AC** de $638\mu\text{m}$, **AA** de $602.7\mu\text{m}$ y **GAA** de $666.5\mu\text{m}$ (ver Anexo VIII, Figura 3).

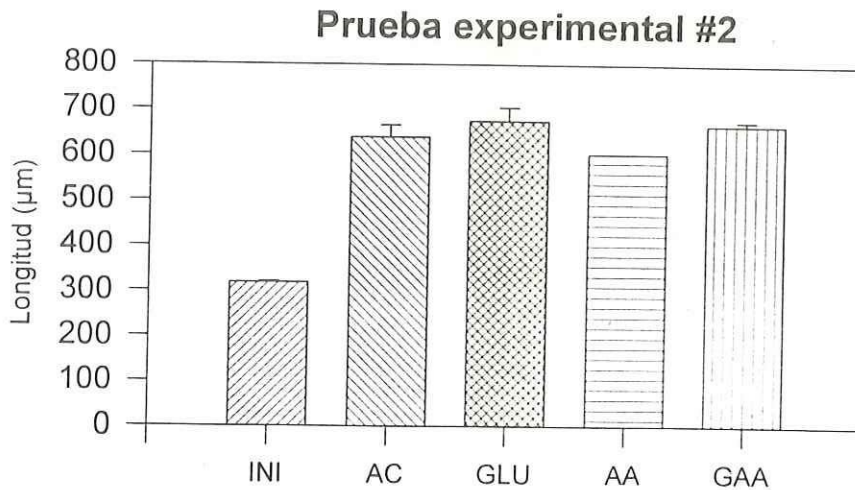
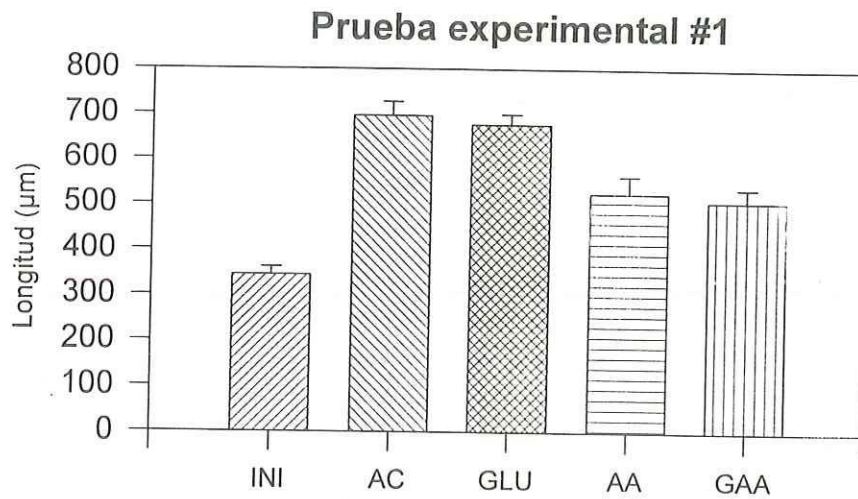
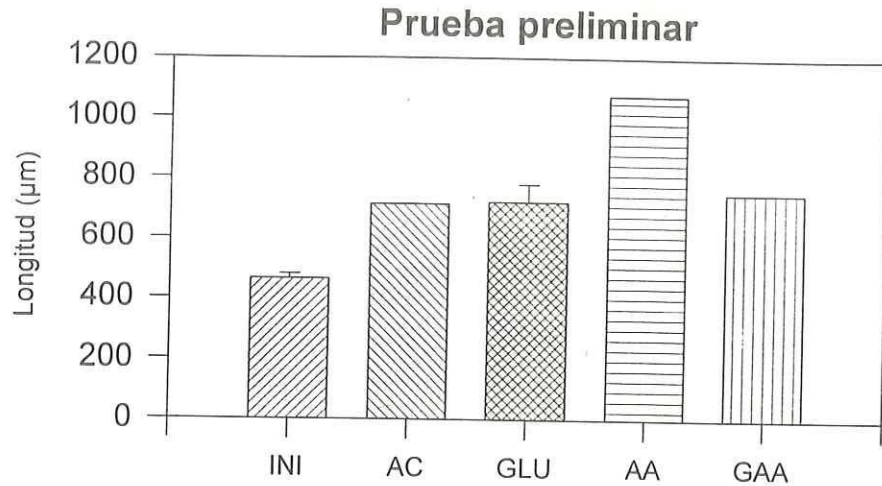


Figura 3. Crecimiento en longitud. Promedios con su error estándar obtenidos al finalizar los tratamientos experimentales.

V.2.2. PESO:

PRUEBA PRELIMINAR:

Estadísticamente no se encontraron diferencias en peso seco (PS) y peso orgánico (PO) ($P= 0.1497$, $H= 6.75$) en las poslarvas de todos los tratamientos comparados con los valores iniciales (PS: $6.83\mu\text{g}$, PO: $1.26\mu\text{g}$) (INI) (Anexo V). Los promedios de las poslarvas sobrevivientes de los tratamientos con AA y GAA, obtuvieron los mayores valores (PS: $150\mu\text{g}$ y $66\mu\text{g}$, PO: $125\mu\text{g}$ y $33.3\mu\text{g}$, respectivamente) (ver Anexo VIII, Figuras 4 y 5). El tratamiento que registró menor crecimiento tanto en PS y PO fue el de GLU (PS: $31.27\mu\text{g}$ y PO: $5.32\mu\text{g}$) comparado con el control AC (PS: $42.72\mu\text{g}$, PO: $23.63\mu\text{g}$). En relación porcentual, comparando con el contenido orgánico inicial (18.58%), las poslarvas que se encontraron en el tratamiento control experimentaron un aumento en el contenido orgánico a un 55.3%. En el tratamiento con GLU el contenido orgánico permaneció similar al porcentaje inicial de las poslarvas (17.03%). Los tratamientos con AA y GAA, experimentaron un aumento en contenido orgánico, siendo de un 83.3% para el tratamiento con AA y un 50% para el de GAA (ver Anexo IX, Figura 6).

PRUEBA EXPERIMENTAL #1:

No se encontraron diferencias significativa en PS ($P= 0.088$, $H= 8.1$) entre los tratamientos y los valores iniciales ($5.4\mu\text{g}$) (INI), pero en PO ($P= 0.0148$, $H= 12.4$) si se observaron diferencias entre los tratamientos contra los valores iniciales ($3.15\mu\text{g}$) (INI).

aunque fueron similares entre tratamientos (ver Anexo VI). Los pesos mayores (en PS y PO) se encontraron en las poslarvas de los tratamientos con **AA** y **GAA** (PS: 25.69 μ g y 52.15 μ g, PO: 22.27 μ g y 36.3 μ g, respectivamente). El menor peso tanto en PS y PO se registró en el tratamiento con **GLU** (PS: 16.16 μ g, PO: 6.72 μ g) a diferencia del control (**AC**) que registró 19.43 μ g en PS y 9.24 μ g en PO (ver Anexo VIII, figuras 4 y 5). En relación porcentual, comparado con el contenido orgánico inicial (58%), los únicos que aumentaron su porcentaje en contenido orgánico fueron las poslarvas de los tratamientos con **AA** y **GAA**, donde el incremento del primero fue hasta un 86.7% y el del segundo un 69.6%. En los demás tratamientos, el porcentaje de contenido orgánico disminuyó, a 47.5% el del tratamiento control y 41.6% para **GLU**.(ver Anexo IX, figura 6).

PRUEBA EXPERIMENTAL #2:

No se encontraron diferencia significativa en PS ($P= 0.0753$, $H= 8.49$) y PO ($P= 0.78$, $H= 8.4$) en todos los tratamientos contra los valores iniciales (PS:2.25 μ g, PO:1.55 μ g) (**INI**), ni entre tratamientos (ver Anexo VII). Los tratamientos con **AA** y **GAA** registraron los mayores promedios (PS: 120 μ g y 114.43 μ g, PO: 50 μ g y 95 μ g, respectivamente). Los valores mas pequeños se encontraron en las poslarvas expuestas al tratamiento con **GLU** (PS: 13.79 μ g, PO: 9.52 μ g) comparados contra el control (PS: 15.54 μ g, PO: 9.77 μ g) (ver Anexo VIII, Figuras 4 y 5). En relación porcentual comparada con el contenido orgánico inicial (68.8%), el único tratamiento que aumentó considerablemente este contenido, fue el tratamiento con **GAA**, en el cual aumentó hasta un 83.02%. El tratamiento control (62.8%) y el de **GLU** (69.09%), permanecieron

similares al porcentaje inicial. El tratamiento con AA fue el único que registro un decremento hasta un 41.6%.(ver Anexo IX, Figura 6).

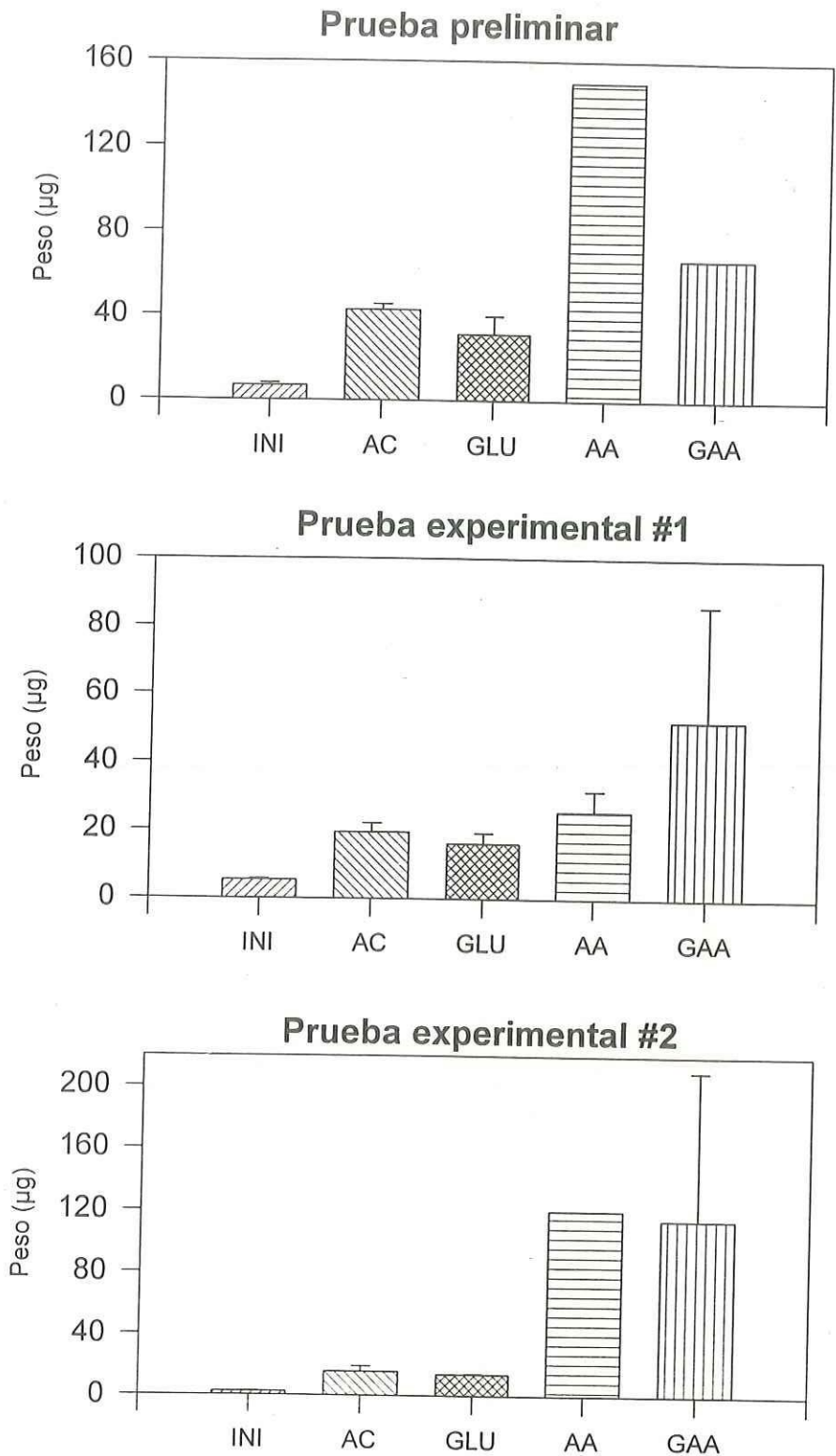


Figura 4. Crecimiento en peso seco. Promedios con su error estándar obtenidos al inicio y al finalizar las diferentes pruebas.

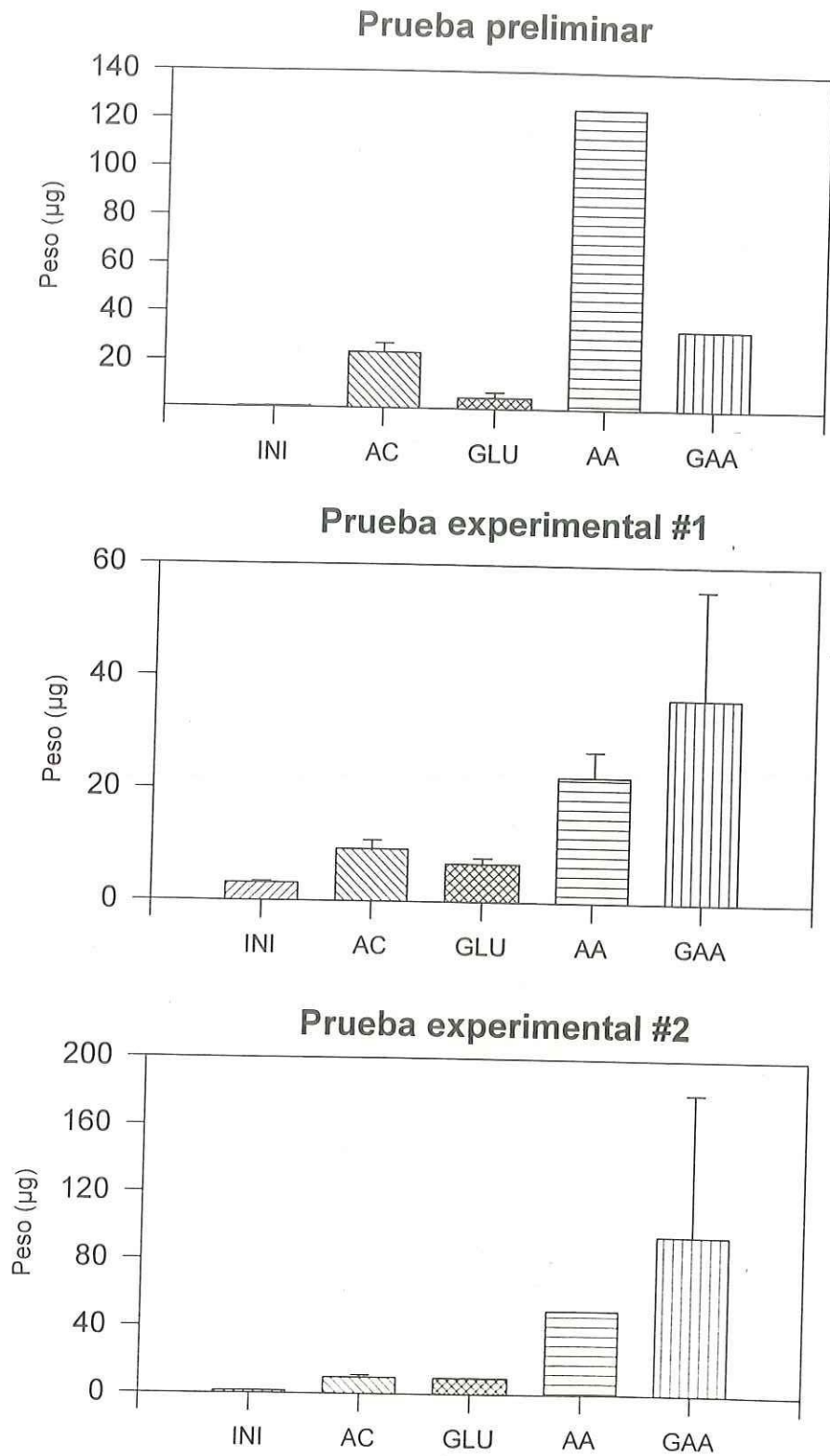


Figura 5 Crecimiento dado en peso orgánico. Promedios con su error estándar obtenidos al inicio y al finalizar los tratamientos experimentales.

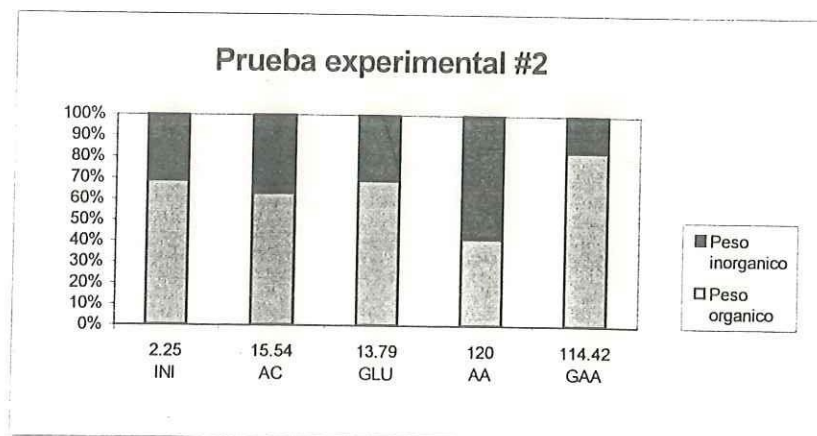
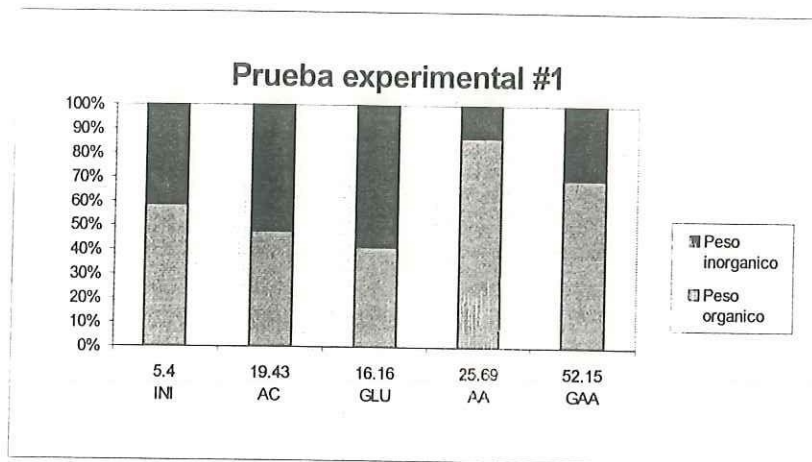
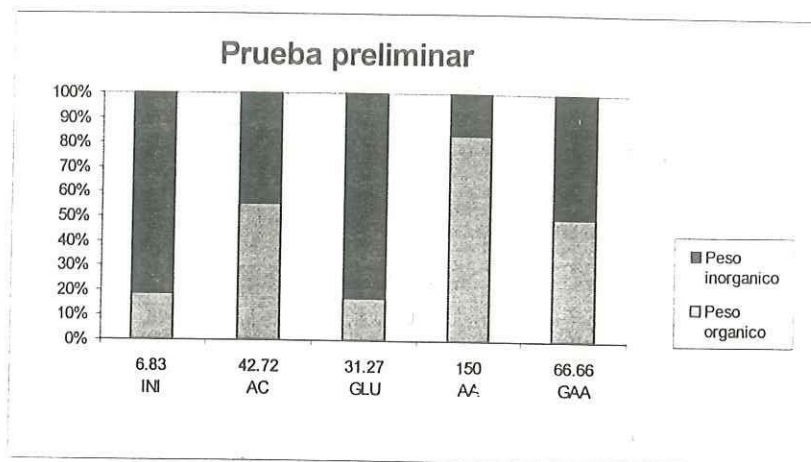


Figura 6. Porcentajes promedio de peso orgánico e inorgánico obtenidos al finalizar Los tratamientos en las diferentes pruebas.

V.3. METABOLISMO:

V.3.1. CONSUMO DE OXIGENO POR ORGANISMO:

PRUEBA PRELIMINAR:

No se encontraron diferencias significativas en el consumo de oxígeno entre los tratamientos ($P= 0.1812$, $H= 6.25$) ni con el consumo al inicio del experimento ($277.24 \text{ pMO}_2/ \text{ org/ h}$) (INI) (ver Anexo V). Los tratamientos con AA y GAA registraron los mayores promedios, 1857 y $3070 \text{ pMO}_2/ \text{ org/ h}$, respectivamente. El tratamiento con GLU ($830.21 \text{ pMO}_2/ \text{ org/ h}$) fue muy similar pero menor al control ($859.29 \text{ pMO}_2/ \text{ org/ h}$) (ver Anexo VIII, Figura 7).

PRUEBA EXPERIMENTAL #1:

Se encontraron diferencias significativas entre el valor inicial ($354.24 \text{ pMO}_2/ \text{ org/ h}$) (INI) y los tratamientos, aunque entre estos no se registró diferencia ($P= 0.00484$) (ver Anexo VI). El control tubo los ^{mayores o presentes} mayores promedios de consumo de oxígeno con $944.5 \text{ pMO}_2/ \text{ org/ h}$, seguido por el tratamiento con GLU ($729.49 \text{ pMO}_2/ \text{ org/ h}$) y posteriormente por los tratamientos con AA ($669.81 \text{ pMO}_2/ \text{ org/ h}$) y GAA ($672.28 \text{ pMO}_2/ \text{ org/ h}$) (ver Anexo VIII, Figura 7).

PRUEBA EXPERIMENTAL #2:

No se observaron diferencias significativas entre los valores iniciales (267.89 $\text{pMO}_2/\text{org}/\text{h}$) (INI) y los consumos de las poslarvas de los distintos tratamientos ($P=0.1157$, $H= 7.41$) (ver Anexo VII). Los promedios de estos tratamientos fueron mayores a los iniciales (AC, con 648 $\text{pMO}_2/\text{org}/\text{h}$; GLU con 756 $\text{pMO}_2/\text{org}/\text{h}$; AA con 389.5 $\text{pMO}_2/\text{org}/\text{h}$ y GAA con 804.37 $\text{pMO}_2/\text{org}/\text{h}$) (ver Anexo VIII, Figura 7).

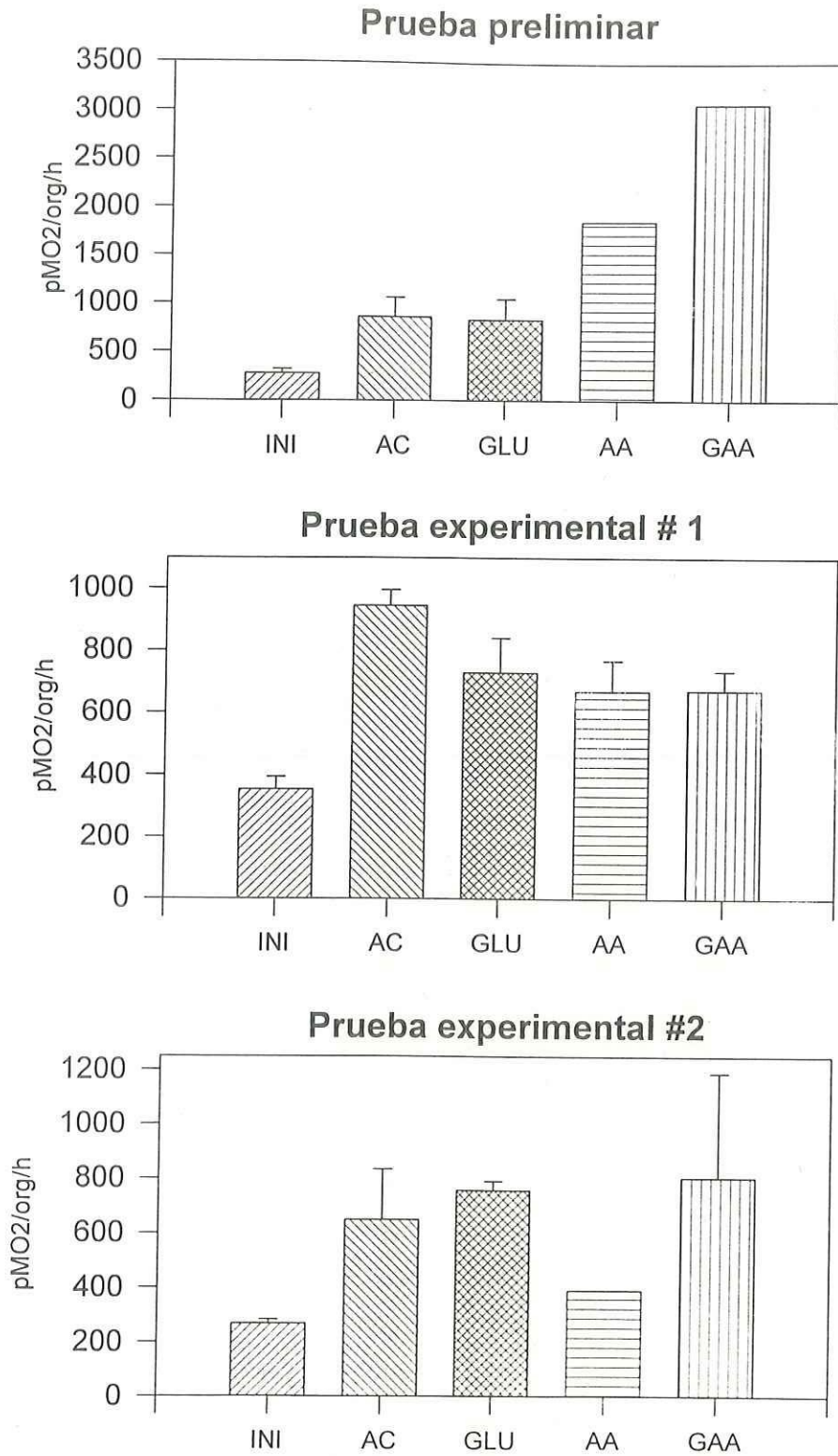


Figura 7. Consumo de oxígeno por organismo. Promedios con su error estándar obtenidos al inicio y al finalizar los tratamientos experimentales.

V.3.2. CONSUMO DE OXIGENO POR UNIDAD DE MASA CORPORAL:

PRUEBA PRELIMINAR:

Estadísticamente no se encontraron diferencias en el consumo de oxígeno por unidad de peso de organismo ($P= 0.1812$, $H= 6.25$) (ver Anexo V). En los promedios encontrados para cada tratamiento, el mayor consumo se encontró en las poslarvas al inicio del tratamiento ($222.07 \text{ nMO}_2/\text{mg/h}$) (INI), seguido por las poslarvas al final del experimento del tratamiento con GLU ($170.02 \text{ nMO}_2/\text{mg/h}$). El tratamiento con GAA tubo un consumo de $92.11 \text{ nMO}_2/\text{org/h}$, y los tratamientos que menor consumo de oxígeno por peso registraron, fueron, el control AC ($38.59 \text{ nMO}_2/\text{org/h}$) y el tratamiento con AA ($14.85 \text{ nMO}_2/\text{mg/h}$) (ver Anexo VIII, Figura 8).

PRUEBA EXPERIMENTAL #1:

Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, siendo los tratamientos con AC y GLU ($107.7 \text{ nMO}_2/\text{mg/h}$ y $108.5 \text{ nMO}_2/\text{mg/h}$, respectivamente) similares al valor inicial de consumo de oxígeno por unidad de peso ($115.8 \text{ nMO}_2/\text{mg/h}$) (INI), pero diferentes al consumo registrado en los tratamientos con AA ($35.9 \text{ nMO}_2/\text{mg/h}$) y GAA ($\text{nMO}_2/\text{mg/h}$) ($P= 0.00414$) (ver Anexo VI, Anexo VIII y Figura 8).

PRUEBA EXPERIMENTAL #2:

Estadísticamente, por el método no paramétrico de Kruskal-Wallis por rangos, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, pero en la prueba de comparaciones múltiples (SNK) no se registraron diferencias entre éstos ($P=0.049$) (ver Anexo VII). Los promedios por tratamiento, en las poslarvas al inicio del experimento (INI) reportaron el mayor consumo ($182.8 \text{ nMO}_2/\text{mg/h}$), precedido por los tratamientos con GLU ($79.56 \text{ nMO}_2/\text{mg/h}$), AC ($66.96 \text{ nMO}_2/\text{mg/h}$) y GAA ($60.61 \text{ nMO}_2/\text{mg/h}$). El tratamiento que mostró menor consumo de oxígeno por unidad de peso fue el de AA ($60.61 \text{ nMO}_2/\text{mg/h}$) (ver Anexo VIII, Figura 8).

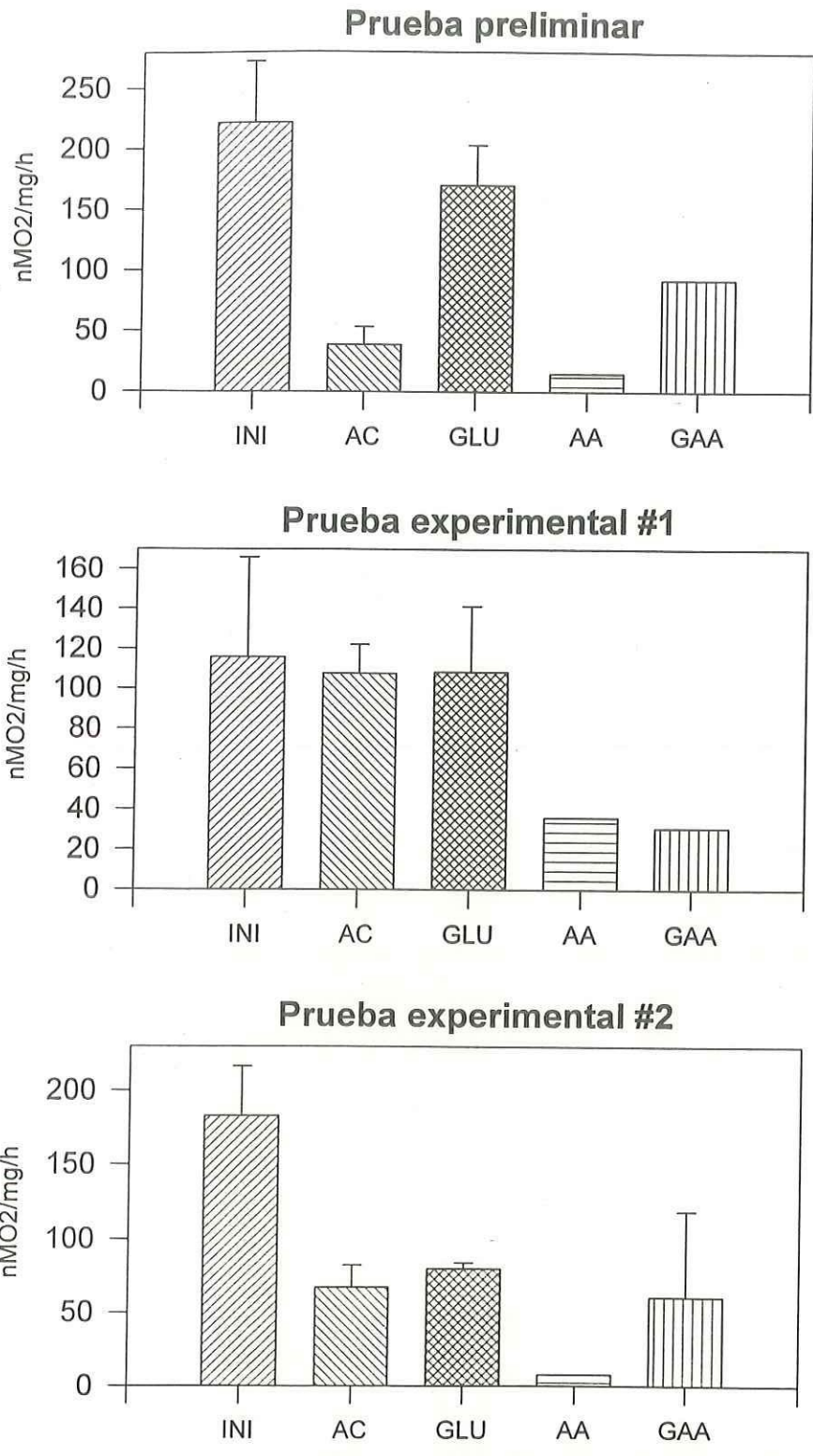


Figura 8. Consumo de oxígeno por unidad de masa corporal. Promedios con su error estándar obtenidos al inicio y al finalizar los tratamientos experimentales.

VI DISCUSIONES:

Uno de los objetivos del presente trabajo fue el aumentar las tasas de sobrevivencia de los organismos. Tasas que normalmente se encuentran con un promedio de 1% al 10% según Searcy et al. (1992). Esto en principio hace que el manejo estadístico de los datos, de diferentes variables, sea complejo por una tendencia al sesgo de los mismos como resultado de un pequeño porcentaje de la población inicial. Cuando existe una alta heterogeneidad en los datos de cualquier variable y existen altas mortalidades, las medias dependerán de cuales organismos (con determinadas características) son los que mueren, ya que las medias aumentarán o disminuirán reflejando las características de los organismos sobrevivientes. En este trabajo, en todas las variables analizadas (excepto sobrevivencia), en los tratamientos con AA y GAA, se observaron elevadas tasas de mortalidad, en la mayoría, mayores al 99% (Figura 1), cuyos promedios provienen de una cantidad reducida de poslarvas. Es un fenómeno conocido el que cuando un grupo de organismos es sometido a una presión de selección, son los más aptos los que sobreviven, y en este caso, posiblemente se trató de los más grandes con mayor cantidad de reservas endógenas. Este fenómeno trae por consecuencia, una estadística compleja desde el punto de vista del ordenamiento de medias. Por otro lado cuando la mortalidad es tan alta también hay un deterioramiento de la varianza y normalidad de los datos resultando al mismo tiempo en una estadística poco sensible. La estadística no paramétrica no es tan sensible como lo es la

paramétrica (Sokal y Rohlf, 1981). Por lo tanto, por lo expuesto anteriormente, habrá que considerar un sesgo en la información obtenida de las variables analizadas.

Así tenemos, que debido a la gran heterogeneidad existente en las variables analizadas para las réplicas de cada tratamiento, en los tres experimentos (ver Anexos 2, 3 y 4), las pruebas de homogeneidad de varianza fallaron, empleándose correspondientemente la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (Zar, 1984). Para la prueba preliminar, todas las variables fallaron la prueba de homogeneidad de varianza, empleándose así pruebas no paramétrica. En la prueba experimental #1, en las únicas variables donde falló la prueba de homogeneidad de varianza, fueron en las variables de Peso seco y Peso orgánico. En la prueba experimental #2 se utilizó la prueba no paramétrica solo en las variables de consumo de oxígeno, Peso seco y Peso orgánico.

Debido a la heterogeneidad que existió entre las réplicas de cada tratamiento (ver Anexos 2, 3 y 4) provocando así un error estándar grande, la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, en algunas variables, indicó que no existían diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, al observar los promedios de las réplicas de cada variable para cada tratamiento, claras tendencias y diferencias entre éstos fueron apreciadas. También, debido a este gran error estándar que presentaban los tratamientos en algunas variables, (v.g. las variables de sobrevivencia al final del tratamiento ($P=0.0381$), para la prueba preliminar, y en la variable de consumo de oxígeno por unidad de peso de organismo ($P=0.049$) para la prueba experimental #2), la prueba de análisis

de varianza por rangos de Kruskal-Wallis, indicaba una diferencia significativa entre los tratamientos, pero la prueba de comparación múltiple (SNK) no distinguía entre cuales tratamientos había diferencia, siendo todos iguales. Esto, debido a la baja sensibilidad provocada por los grados de libertad al comparar un tratamiento con otro (García-Esquivel, Com. Per.).

El hecho de que los promedios de cada tratamiento representen 3 valores (triplicado) muy diferentes entre sí, como en este caso sucedió, cuestiona la veracidad de dichos promedios, ya que el hecho de asegurar que nuestras poblaciones se comportarán como los promedios de esos tres valores lo indica, es también erróneo, ya que la variabilidad de los datos es muy alta. Como indica Hanh (1989), al tratarse de grupos con muy pocos individuos, las posibles diferencias entre los grupos experimentales pueden estar enmascarados los cuales a su vez tienen valores extremos. Pero por ejemplo, en los datos para sobrevivencia de la prueba preliminar, se observaron valores en la réplicas de 1.69 y 2.3 % para el control, 12 y 24 % para el GLU, 0.43 % y 0.0 % para AA y por último 0.3 y 0.0% para GAA. Aún cuando no se encontraron diferencias estadísticas entre estos tratamientos, es difícil asegurar que un 12.0 y 24.0 % sean iguales a un 1.69 % y 2.3 % ó a un 0.43 % y 0 %. Estudios previos sugieren que la sobrevivencia de estadios post-metamórficos está muy relacionado con la dieta o tipo de reservas endógenas presentes en su fase larval (Chu y Webb, 1984). En este trabajo, en la prueba preliminar, las poslarvas utilizadas provenían del trabajo experimental con larvas sometidas a los diferentes tratamientos similares a los aquí experimentados. Las

larvas fueron mezcladas antes de ser distribuidas para esta prueba preliminar para evitar así la influencia de estos tratamientos sobre el estudio en esta etapa. Este hecho, pudo ser también causa de una gran variabilidad, al tratarse de un lote de poslarvas con un historial diferente de reservas endógenas. No obstante, las tasas de sobrevivencia aquí obtenidas fueron altas considerando que es en esta etapa donde la mayor mortalidad ocurre (Chu y Webb, 1984; García-Esquivel y González-Gómez, 1993)

Para la interpretación de los resultados aquí presentados, se hará inferencia tanto de los resultados estadísticos como de valores absolutos y sus implicaciones. Esto debido a las implicaciones que pudieran existir a causa de la gran variabilidad obtenida.

Es también importante el considerar en la interpretación de los datos, dos factores principales: 1) el hecho de que en esta etapa las larvas lecitotróficas o sea larvas que viven en ayuno (Manahan, 1990), al sufrir metamorfosis para convertirse a poslarvas, empiezan a alimentarse (Ebert y Houk, 1984). De esta manera, a diferencia del estadio larval, en esta etapa los nutrientes disueltos en el agua se convertirían en una fuente extra o de suplementación aparte del aporte alimenticio que reciben a través de las diatomeas bentónicas. En esta etapa, después de haber sufrido un fuerte desgaste energético, sería de esperarse el que las poslarvas se alimenten intensamente para compensar dicho desgaste, pudiendo enmascarar el efecto de la suplementación, y 2) la presencia en forma natural de glucosa y aminoácidos libres en el agua de mar, además de otros componentes en forma de Materia Orgánica Disuelta (MOD) que se presentan

normalmente en el agua de mar y que pudiesen ser absorbidos y aportar energía a las poslarvas, nutrientes que se sabe que presentan variaciones diarias y estacionales a lo largo del año (Burney, 1994).

La MOD debe considerarse como todo material orgánico presente en el agua de mar que no sea ni volátil ni particulado (Wangersky, 1994), considerándose como todo aquel material orgánico que no sea retenido por una membrana con tamaño de poro de $0.45\mu\text{m}$ (Wotton, 1994). El agua de mar es una solución con una gran cantidad de componentes orgánicos e inorgánicos. Aunque las especies de carbón inorgánico están bien definidas, poco se sabe de la vasta mayoría de especies de carbón orgánico disuelto (Manahan, 1990). De los componentes orgánicos específicos que se han identificado, (carbohidratos, aminoácidos libres, proteínas, ácidos grasos, entre otros) conforman menos del 10 % del total del carbón orgánico disuelto en el agua de mar, siendo probablemente los carbohidratos, los que constituyan la mayor porción además de ser los más esparcidos (Wangersky, 1994), creyéndose que la glucosa es el monosacárido dominante (Welborn y Manahan, 1990). Lock (1994), y Jaeckle y Manahan (1989) indican los aminoácidos que se encuentran con más frecuencia en el agua de mar, correspondiendo a los aminoácido esenciales utilizados en este trabajo y a los reportados como esenciales para el abulón adulto (Fleming et al., 1996).

El presente trabajo se realizó en tres series. La primera (prueba preliminar) desarrollada en las Instalaciones del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la

UABC, en donde el agua de mar proviene de una toma de agua de mar localizada en el área costera dentro de la Bahía, bombeando durante las horas de mareas altas. Las otras dos series (Pruebas experimentales), llevadas a cabo de manera casi simultánea entre sí, se realizaron en una localidad a 100 km al sur de Ensenada. El agua de mar aquí utilizada también de origen costero aunque de mar abierto, fue bombeada directamente desde la superficie a través de una tubo tirado hacia el mar con unos 100 m de longitud. Como se podrá apreciar las condiciones y/o calidad del agua entre ambas localidades pudieron haber variado. Se sabe que las concentraciones de MOD en aguas costeras comúnmente siguen los ciclos estacionales de la producción primaria, cuyos máximos son en verano o asociado con los afloramientos de fitoplancton de primavera y otoño. Efectos que son fuertemente influenciados por otros aspectos físico-químicos, como vientos, temperatura y precipitaciones (Burney, 1994). En el presente trabajo, las temperaturas mostradas en ambas zonas de trabajo fueron también muy diferentes, en la Prueba Preliminar, el agua de mar se encontraba a $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ en el medio y llevada a 18°C bajo condiciones de laboratorio, y de $20.17\pm 0.3^{\circ}\text{C}$ a $21.7\pm 0.7^{\circ}\text{C}$ en ambas pruebas experimentales, temperaturas que fueron anormales y superiores a las registradas con anterioridad (Aquam, Com. Per.). Diferencia atribuida posiblemente al efecto del Niño, que empezó a manifestarse en las costas de B.C. a finales de abril y principios de mayo de 1997 (Climate Prediccion Center, 97/4, 97/5), con un aumento de temperatura en el agua de mar, y conservándose estas anomalía hasta la fecha (Mascarenhas Jr., Com. Per.). De esta manera tenemos que si el afloramiento del plancton afecta la MOD, y este a su vez es afectado positivamente cuando se registran altas temperaturas en el medio,

esto pueda ser otro factor más para sugerir que la calidad y/o cantidad de MOD del agua de mar en ambas localidades, pudo haber sido diferente. No es sorprendente, que haya variaciones en la cantidades de MOD en diferentes medios, reflejando la variabilidad natural de las tasas de producción primaria sobre escalas de kilómetros en el océano. Sin embargo, ha sido también visto que las variaciones en la cantidad de MOD puede ser muy grande, inclusive en pequeñas escalas de metros (Manahan, 1990). Este hecho indica el grado de dificultad para controlar esta variable a nivel experimental. Por esto, sería conveniente en un futuro probar el efecto de los nutrientes aquí probados utilizando agua de mar reconstituida (sintética).

Las razones anteriormente expuestas indican la gran variación que pudo haber existido dentro del medio desde el punto de vista de la MOD sobre los nutrientes disponibles para las poslarvas. Sin embargo, hay que tomar en cuenta que estos mismos factores pudieron haber afectado directamente a las poslarvas. Manahan y Jaeckle (1992), sugieren que la alteración de la química orgánica del agua de mar puede afectar el metabolismo de las larvas y poslarvas de abulón, y si tales alteraciones no son controladas en los laboratorios y/o centros acuaculturales, la presencia o ausencia de compuestos orgánicos disueltos en el agua de mar, pueden alterar el crecimiento y desarrollo de los abulones. Otro caso particular es la temperatura, misma que para ambas pruebas experimentales se registró con varios grados más altos considerados como óptimos para el abulón rojo (10 a 17°C según Hahn, 1989). Se sabe que las altas temperaturas son un factor de estrés para los organismos, pudiendo causar altas tasas de

mortalidad. La salinidad durante todas las pruebas no fue un factor estresante, ya que ésta se mantuvo dentro de los rangos óptimos para el abulón rojo (27 a 39.4^{0/00} según Hanh, 1989).

Considerando todo lo anterior y tratando de ver las posibles ventajas entre los tratamientos aquí realizados, se ve que la glucosa es un nutriente rápidamente utilizado o aprovechado por los organismos (De Silva y Anderson, 1995). De esta manera, si se supone que en la prueba preliminar la MOD era más pobre que en las pruebas experimentales, se explica el hecho de que la sobrevivencia de la primera haya sido mayor que las otras dos y similar entre estas últimas. De esta manera en las pruebas experimentales donde un mayor aporte de nutrientes existía en el agua (MOD), el efecto de la glucosa no fue tan marcado contra el tratamiento control (AC). Pero es notable que después de haber terminado las pruebas experimentales y dejado las cubetas con las postlarvas con un flujo continuo de agua de mar, se manifestó el posible efecto positivo de la glucosa sobre los organismos, ya que, aunque siguió habiendo mortalidad, hubo menos en aquellas cubetas donde se les había suministrado el tratamiento con GLU, comparadas con el control (AC) (Figura 2.). La glucosa es un nutriente energético preferentemente utilizado por los gasterópodos en todos los estadios de vida, además de ser el monosacárido más común que ha sido detectado en la sangre y tejido de varios gasterópodos (Livingston y DeZwaan, 1983). Aparte, es importante aclarar que la glucosa ha sido considerada como un fuerte attractante para gasterópodos. De hecho es el nutriente predominante contenido en el mucus secretado por el pie de muchos

gasterópodos, al que se le atribuye ser uno de los factores más importantes para la atracción y asentamiento de varias especies (Hahn, 1989). Debido a esto, el uso del rastro de mucus sobre placas para inducir a al asentamiento y metamorfosis es una práctica común dentro de la acuicultura (Peter Cook, Com.per., Searcy, 1992a), donde no solo ha de servir como un inductor sino también como una fuente energética. Los promedios obtenidos en el tratamiento de GLU en este trabajo (P. Preliminar 18.33% a 49 días en una temperatura de 18°C y P. experimentales #1 y #2, 12.24 y 13.18 % respectivamente en 26 días, en un rango de temperatura de 20.17±0.3°C a 21.7±0.7°C), pueden considerarse como buenas, ya que Ebert y Houk (1984) obtuvieron con la misma especie, sobrevivencias de 1.9 a 13.7% en tres meses a 15°C. Siendo la sobrevivencia promedio del preliminar con el tratamiento de glucosa, mayor a los alcanzados por Salas (1995), de 14% al primer mes de vida entre un rango de temperatura de 15-19°C, y superior a los obtenidos por Searcy Bernal et al. (1988) de 0.8% a los 10 días en un rango de temperatura de 14-21°C y 13.7% a los 22 días a un rango de temperatura de 16-18°C (Searcy- Bernal et al., 1992). De igual manera Flores (1989) obtuvo una sobrevivencia del 8.7% en 22 días en un rango de temperatura de 16-18°C para la misma especie de abulón y en cubetas inoculadas con diatomeas bentónicas, además de condiciones muy similares de laboratorio.

Ambos tratamientos que contenían aminoácidos tuvieron una baja sobrevivencia. Este hecho anteriormente mencionado, pudo haber obedecido al crecimiento de microalgas indeseables. En las cubetas conteniendo aminoácidos se detectó un excesivo

crecimiento de una microalga filamentosa registrada como indeseable (Aquam, Com. Per.). Se sabe que las algas filamentosas en sistemas de cultivo para abulón no son favorables no solo por la calidad de nutrientes aportados sino por competir directamente en espacio. Estas por lo general forman densas colonias dentro de las cubetas que además de impedir la movilidad limitan la captación de oxígeno y resguardan a posibles depredadores (nemátodos, copépodos y protozoarios ciliados) (Ebert y Houk, 1984). Aunque el efecto bacteriano sobre las postlarvas y los tratamientos no se evaluó, no se descarta la posibilidad de que también hayan influido en estas altas mortalidades registradas en estos tratamientos, ya que las bacterias están también asociadas a estas películas de microalgas (Elston y Lockwood (1983), las cuales por su composición y abundancia, pueden ser perjudiciales (Tong y Moss, 1992). Además de que se ha comprobado que también pueden tomar del medio aminoácidos y glucosa directamente (Manahan, 1989; Burney, 1994) compitiendo de esta manera con las postlarvas.

En cuanto a crecimiento, pudo observarse un incremento en longitud y peso en todos los tratamientos. En la prueba preliminar las mayores longitudes (μm) y peso (μg) se encontraron en donde la sobrevivencia era menor. Esto puede ser lógico pensando que las postlarvas mejor alimentadas hayan sido las más aptas para sobrevivir. Sin embargo, en las pruebas experimentales los tratamientos con menor mortalidad (AC y GLU) registraron mayor longitud (μm). No obstante, en estos tratamientos, a pesar de ser mayores en longitud, en peso los organismos fueron mayores fueron los que contenían aminoácidos. Esto podría indicar una incorporación de ellos en tejidos. En

general puede decirse que en todas las pruebas los tratamientos AA y GAA presentaron una gran proporción de materia orgánica contra la inorgánica. Esto indica un mayor crecimiento de tejido en comparación a la concha. En el tratamiento GAA de la prueba preliminar no cumplió con lo anteriormente explicado, donde se observó una baja sobrevivencia con un pobre crecimiento en peso (μg). Esto es difícil de explicar ya que en todas las otras pruebas se observó dicho efecto.

Los organismos animales obtienen su energía principalmente a través de la oxidación de los sustratos alimenticios, y su consumo de oxígeno puede ser utilizado, por tanto, como una medición de su metabolismo energético (Schmidt-Nielsen, 1976), mismo que varía según su estado fisiológico (García Esquivel, 1997). Esto es, que organismos más grandes tendrán mayores tasas metabólicas que aquellos organismos pequeños. Esto coincide en parte con lo obtenido en este trabajo, donde los organismos con mayor longitud (μm) obtuvieron las mayores tasas de consumo de oxígeno, pero esto no fue así para los que obtuvieron mayor peso. Sin embargo, evaluando la tasa metabólica tomando en cuenta el consumo de oxígeno por unidad de masa corporal, los pesos orgánicos fueron los que establecieron este patrón, ya que los que obtuvieron mayor peso orgánico (poslarvas en presencia de AA y GAA) obtuvieron las menores tasas de consumo de oxígeno por unidad de masa corporal. De esta manera, los que tuvieron mayor tasa de consumo de oxígeno, fueron los organismos que registraron menor peso orgánico. Ambos parámetros de tasa metabólica indicaron que en todos los tratamientos hubo crecimiento al final de los experimentos, ya que los valores iniciales

de las poslarvas antes de someterse a éstos, registraron los menores promedios de consumo de oxígeno por individuo y los mayores promedios de consumo de oxígeno por masa corporal.

Por otro lado, las diferencias en los tratamientos no puede ser atribuido a la baja disponibilidad del alimento (diatomeas), ya que en todos los casos las densidades utilizadas fueron según lo recomendado como óptimo (menores a 3 poslarvas /cm² (Ebert y Houk, 1984)). Además, durante los experimentos, nunca se observó que esta densidad de organismos sobrepasara el crecimiento de las microalgas bentónicas.

De esta manera es posible decir que en el presente trabajo pudieron obtenerse mayores tasas de sobrevivencia a las reportadas, aunque éstas diferencias no hayan sido significativas debido a la alta variación. El agua cruda puede posiblemente presentar el aporte adecuado de nutrientes debido a la gran fluctuación en la calidad y/o cantidad, sin embargo, el aporte de glucosa podría en todo caso asegurar la presencia de este nutriente. La presencia de aminoácidos no resultó en una mayor sobrevivencia, sin embargo, en aquellos que sobrevivieron presentaron un aumento en materia orgánica, indicando una posible incorporación de aminoácidos en forma de tejido. Los aminoácidos tuvieron un efecto negativo en la producción de microalgas indeseables a lo que se atribuye la alta mortalidad. Es por esto importante el recomendar el estudio del efecto de los aminoácidos sobre estas poblaciones de diatomeas para así poder recomendar su manejo adecuado para aumentar la sobrevivencia. Además, es

importante recalcar la necesidad de que para el futuro trabajo, en este tipo de trabajos se utilice agua de mar sintética sin un aporte extra de nutrientes además de utilizar un grupo de poslarvas con un historial alimenticio similar para disminuir posibles efectos de variabilidad.

VII CONCLUSIONES:

1. Los nutrientes pueden aparentemente aumentar la tasa de sobrevivencia
2. La glucosa es el nutriente que fue utilizado más efectivamente por las poslarvas, resultando en un mayor crecimiento en longitud más no en peso.
3. La presencia de aminoácidos sobre los organismos sobrevivientes resultó en una mayor masa corporal relativa, posiblemente atribuible a una incorporación de éstos en tejido.
4. La presencia de aminoácidos favoreció el crecimiento excesivo de microalgas filamentosas, provocando altas mortalidades poslarvales.
5. Es probable que en algunas localidades y/o épocas del año el aporte de la materia orgánica disuelta (MOD) sea suficiente para proveer los nutrientes necesarios. Sin embargo puede concluirse que un aporte de glucosa extra sea benéfico para asegurar la presencia de dicho nutriente.

VIII RECOMENDACIONES:

Es necesario realizar más estudios sobre el efecto de los aminoácidos antes de recomendar su utilización.

El estudio para aumentar tan bajas tasas de sobrevivencia resulta en un difícil manejo estadístico de los datos, por lo que se recomienda un mayor control de las variables para evitar un exceso en variación.

Realizar observaciones posteriores al experimento para corroborar los efectos a largo plazo, de lo observados durante la experimentación.

IX LITERATURA CITADA:

Belitz H., Grosch W., 1987. Food chemistry. Springer Verlag Berlin Heidelberg, New York. Pp. 774. 774 pp.

Bishop S., Ellis L. y Burcham J. 1983. Amino acid metabolism in mollusks. Pp- 243-327. En: Hochachka P. (Ed). The Mollusca. Vol 1. Metabolic biochemistry and molecular biomechanics. Academic press, inc.

✓ Bricelj y Garcia-Esquivel. 1995. A comprehensive investigation of larval development and mortality in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. Reporte final. Northeast Regional Aquaculture Center, University of Massachusetts at North Dartmouth, MA. 13p.

Burney C. 1994. Seasonal and diel changes in particulate and dissolved organic matter. Pp-97-124. En: Wotton (Ed). The biology of particles in aquatic systems. 2da. Edicion. CRC press, inc.

Chu y Weebb. 1984. Polyunsaturated fatty acids and neutral lipids in developing larvae of the oyster *Crassostrea virginica*. Lipids, 19: 815-820.

Climate Prediction Center. W/NP52. Attn: Climate Diagnostics Bulletin. 97/4 y 97/5.
US. Department of Commerce.

✓ Davis, Richards, Haaker y Parker. 1992. Abalone population declines and fishery management in southern California. pp. 237-249. En: Abalone of the world; Biology, Fisheries and Culture. Eds by S.A. Shepherd.

✓ Day y Fleming. 1992. The determinants and measurement of abalone growth. pp. 141-168. En: Abalone of the world; Biology, Fisheries and Culture. Eds by S.A. Shepherd.

De Silva, S. y Anderson, A. 1995. Fish nutrition in aquaculture. Pp- 15-142. En: Chapman y Hall (Eds.). Aquaculture series 1.

✓ Ebert y Houk. 1984. Elements and innovations in the cultivation of red abalone *Haliotis rufescens*. Aquaculture, 39: 375-392.

✓ Ebert. 1992. Abalone aquaculture: a North American regional review. pp. 570-582. En: Abalone of the world; Biology, Fisheries and Culture. Eds by S.A. Shepherd.

Elston R., y Lockwood G. 1983. Pathogenesis of vibrios in cultured juvenile red abalone *Haliotis rufescens*. Swainson. S. of Fish Disease. 6: 111-128.

Fleming, Van Barnereid y Hone. 1996. The development of artificial diets for abalon: A review and future directions. *Aquaculture*. 140: 5-53.

Flores-Aguilar. 1989. Estudio sobre la inducción al asentamiento y metamorfosis de larvas de abulón (*Haliotis rufescens* y *H. corrugata*). Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. U.A.B.C., Ensenada, B.C. Pp- 104.

Garcia-Esquivel, Gonzalez-Gomez. 1993. Energy patterns and substrate catabolism during early spat development of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*, in culture. *Europ. Aquac. Soc.* 19: 29p.

Garcia-Esquivel. 1997. Fisiología energética de estadios larvales y poslarvales de moluscos bivalvos. Curso Internacional de Nutrición de Organismos Acuáticos. AMENA 1997. Puerto Vallarta, Jal. Pp- 33-41.

Grant, J.F. 1981. Abalone culture in Japan: development and current commercial practice. *Tas. Fish. Res.* 23: 1-17.

Guzman del Proo. 1992. A review of the biology of abalone and its fishery in Mexico. pp. 341-360. En: *Abalone of the world; Biology, Fisheries and Culture*. Eds by S.A. Shepherd.

Hahn, Kirk O., 1989. Abalone Aquaculture in California. pp- 221-225. Handbook of culture of abalone and other marine gastropods. CRC press. Boca Raton, Florida. P- 348.

Imai. 1967. Mass production of mollusks by mean of rearing the larvae in tanks. *Venus* 25(3). 159-167.

Jaeckle y Manahan. 1989. Growth and energy imbalance during development of a lecithropic molluscan larva (*Haliotis rufescens*). *Biol. Bull.* 177: 237-246.

Jaeckle y Manahan. 1989a. Feeding by a nonfeeding larvae: uptake of dissolved amino acids from seawater by lecithophic larvae of the gastropod *Haliotis rufescens*. *Marine Biology.* 103: 87-94.

Leighton. 1977. Some problems and advances in culture of North American abalones (*Haliotis*). Proceedings of the Symposium of the Latin American Aquaculture Association, Maracay, Venezuela 1-14.

Leitman. 1992. The effects of gas supersaturation on the behavior, growth and mortality of red abalone, *Haliotis rufescens* (Swainson). pp. 75-85. En: Abalone of the world; Biology, Fisheries and Culture. Eds by S.A. Shepherd.

Livingstone, DeZwaan. 1983. Carbohydrate metabolism of gastropods. Pp- 177-242. En: Hochachka P. (Ed). The Mollusca. Vol 1. Metabolic biochemistry and molecular biomechanics. Academic press, inc.

Lock M. 1994. Dynamics of particulate and dissolved organic matter over the substratum of water bodies. Pp-137-155. En: Wotton (Ed). The biology of particles in aquatic systems. 2da. Edicion. CRC press, inc.

Manahan. 1983. Nutritional implications of dissolved organic material for laboratory culture of pelagic larvae. En: Berg Carl (Ed). Culture of marine invertebrates. pp. 179-190.

Manahan. 1983a. The uptake of dissolved glycine following fertilization of oyster eggs. *Crassostrea gigas* (Thunberg). Mar. Biol. Ecol. 68: 53-58.

Manahan. 1989. Amino acid fluxes to and from seawater in axenic veliger larvae of a bivalve (*Crassostrea gigas*). Mar. Ecol. Prog. Ser. 53: 247-255.

Manahan. 1990. Adaptations by invertebrate larvae for nutrient acquisition from seawater. Amer. Zool. 30: 147-160.

Manahan y Jaeckle. 1992. Implications of dissolved organic material in seawater for the energetics of abalone larvae *Haliotis rufescens*: a review. pp. 95-106. En: Abalone of the world; Biology, Fisheries and Culture. Eds by S.A. Shepherd.

Morse, Hooker y Duncan. 1979b. Induction of larval abalone settling and metamorphosis by gama-aminobutyric acid its congeners from crustose red algae: II: Applications to cultivation, seed production and bioassays; principal causes of mortality and interference. Proc. World Maricult. Soc.10: 81-91.

Perez Muñoz G. 1995. El cultivo de abulón en México: desarrollo histórico, estado actual y sus perspectivas. Tesis de Lic. Oceanología. U.A.B.C.

Rice Michael, Stephens Glover. 1987. Uptake and internal distribution of exogenously supplied amino acids in the pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). Aquaculture, 66: 19-31.

✓ Salas-Garza y Searcy-Bernal. 1990. El repoblamiento de abulón en Baja California. IIO. Boletín 21: 4p.

Salas-Garza y Searcy-Bernal. 1992. Development and present status of abalon culture in Mexico. pp. 538-547. En: Abalone of the world; Biology, Fisheries and Culture. Eds by S.A. Shepherd.

Salas Garza, 1995. El efecto de la edad de la larva del abulón *Haliotis rufescens* en la inducción a su metamorfosis. Tesis de maestría -en Oceanografía Costera. I.I.O., U.A.B.C., Ensenada, B.C. Pp- 74.

Schmidt-Nielsen. 1976. Fisiología animal. Ediciones Omega, S.A., Barcelona España. Pp- 499.

Searcy-Bernal., Salas-Garza y Flores Aguilar. 1988. Crecimiento de postlarvas y juveniles de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en un laboratorio en México. Ciencias Marinas, 14(4): 22-57.

Searcy-Bernal., Salas-Garza, Flores Aguilar.y Hinojosa-Rivera. 1992a. Simultaneous comparison of methods for settlement and metamorphosis induction in red abalone (*Haliotis rufescens*). Aquaculture, 105: 241-250.

Searcy-Bernal., Salas-Garza y Flores Aguilar 1992b. Research in Mexico on the critical stage of abalone (*Haliotis spp*) seed production. Pp- 547-561. En: Abalone of the world; Biology, Fisheries and Culture. Eds by S.A. Shepherd.

Secretaria de pesca. 1992. Boletín informativo a los productores acuicolas. Fomento y desarrollo pesquero. Dirección General de Acuicultura. México DF. pp-3.

Shilling, Hoegh-Guldberg y Manahan. (1996). Sources of energy for increased metabolic demand during metamorphosis of the abalone *Haliotis rufescens* (Mollusca). Biol. Bull. 191: 402-412.

Sokal R. y Rohlf F. 1981. Biometry. 2da Edicion. W.H. Freeman and Company.

Tenger, DeMartini y Karpov. 1992. The California red abalone fishery: a case study in complexity. pp. 370-383. En: Abalone of the world; Biology, Fisheries and Culture. Eds by S.A. Shepherd.

Tong L. y Moss g. 1992. The New Zealand culture system for abalone. Pp- 583-591. En: Abalone of the world; Biology, Fisheries and Culture. Eds by S.A. Shepherd.

Wangerky P. 1994. Sampling and analysis of particulate and dissolved matter. Pp-7-27. En: Wotton (Ed). The biology of particles in aquatic systems. 2da. Edicion. CRC press, inc.

Welborn y Manahan. 1990. Direct measurements of sugar uptake from seawater into molluscan larvae. Marine Ecology Progress Series. 65: 233-239.

Wotton R. 1994. The classification of particulate and dissolved matter. Pp-1-5. En: Wotton (Ed). The biology of particles in aquatic systems. 2da. Edicion. CRC press, inc.

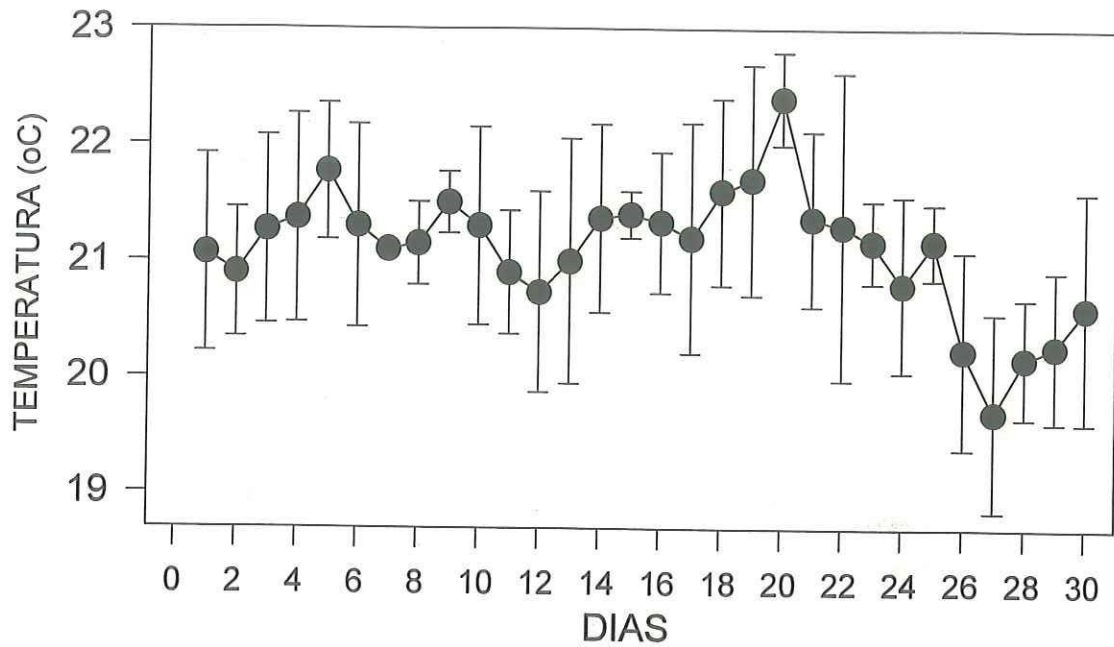
Wotton R. 1994a. Particulate and dissolved organic matter as food. Pp-235-269. En:
Wotton (Ed). The biology of particles in aquatic systems. 2da. Edicion. CRC press, inc.

Wriht Stephen. 1997. Nutrient absorption in invertebrates. pp- 1137-1205 En: Dantzler
(Ed). Comparative physiology. Vol II, sect. 13. Oxford University Press.

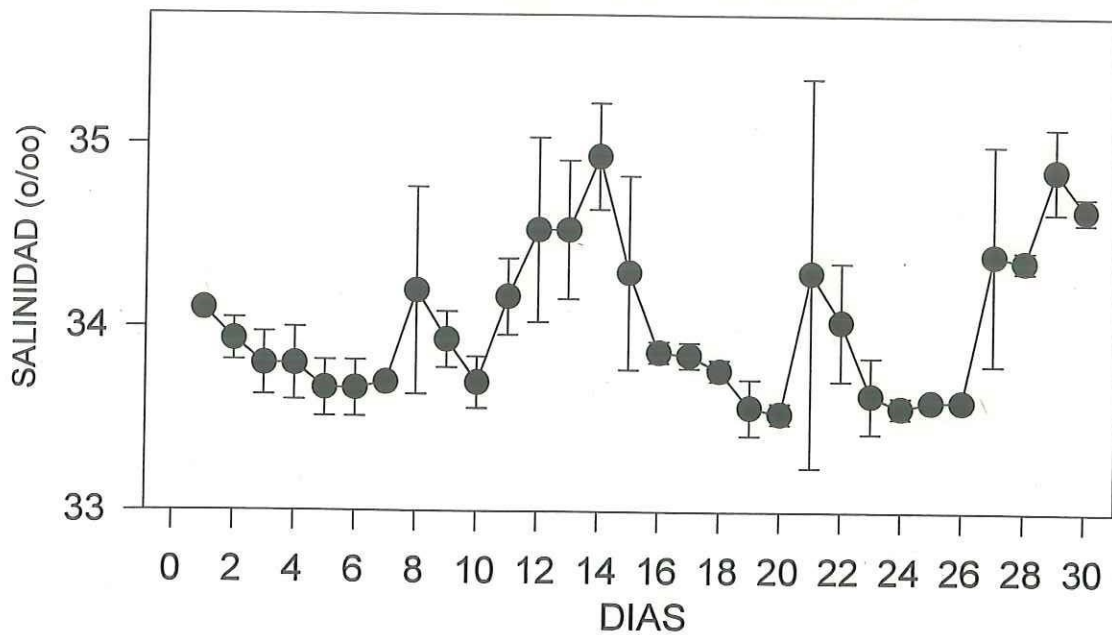
Zar J. 1984. Biostatistical Analysis. 2da. Edicion. Prentice Hall, New Jersey. Pp-718.

ANEXOS

GRAFICA DE TEMPERATURAS DEL MES DE AGOSTO-97



GRAFICA DE SALINIDADES DEL MES DE AGOSTO-97



ANEXO II

| | INI | AC | GLU | AA | GAA |
|--|----------------------|----------------------|----------------------|----------|----------|
| CONSUMO DE O₂ (pMO₂/org/h) | 234.2039 320.2957 | 655.8265 1062.759 | 615.1628 1045.262 | 1857.407 | 3070.532 |
| TALLAS (µm) | 448.167 480.667 | 713.309 715.947 | 663.893 780.373 | 1075.2 | 750.933 |
| SOBREVIVENCIA F.T. (%) | | 1.6913 2.9867 | 12.0967 24.5815 | 0.4343 | 0.3 |
| PESO SECO POR ORG. (µg) | 5.722071 7.941176 | 45.45455 40 | 22.72727 39.83051 | 150 | 66.66667 |
| PESO ORGANICO POR ORG. (µg) | 1.362398 1.176471 | 27.27273 20 | 3.030303 7.627119 | 125 | 33.33333 |
| CONSUMO DE O₂ POR mg. (nMO₂/mg/h) | 171.9056 272.2513 | 24.04697 53.13797 | 203.0037 137.0455 | 14.85926 | 92.11596 |

Datos crudos de la PRUEBA PRELIMINAR. Promedios de cada réplica para todas las variables analizadas.

ANEXO III

| | INI | AC | GLU | AA | GAA |
|---|----------|----------|----------|----------|----------|
| CONSUMO DE O₂ (pMO ₂ /org/h) | 416.4654 | 1036.457 | 753.229 | 867.013 | 791.7054 |
| | 365.6559 | 858.9799 | 908.521 | 575.1416 | 644.1371 |
| | 280.5962 | 938.0876 | 526.727 | 567.2984 | 580.9997 |
| TALLAS (µm) | 375.4938 | 733.4839 | 639.4766 | 600.3640 | 499.4915 |
| | 340.0297 | 635.4628 | 716.6651 | 498.9842 | 559.9303 |
| | 318.6447 | 719.3287 | 675.8969 | 474.3140 | 462.3278 |
| SOBREVIVENCIA F.T. (%) | | 12.68 | 12.04 | 2.02 | 0.34 |
| | | 13.4 | 10.72 | 0.28 | 0.36 |
| | | 5.92 | 13.98 | 0.14 | 0.06 |
| SOBREVIVENCIA D.T. (%) | | 3.66 | 4.82 | 0.74 | 0.0 |
| | | 2.7 | 4.16 | 0.08 | 0.08 |
| | | 1.38 | 4.34 | 0.0 | 0.0 |
| PESO SECO POR ORG. (µg) | 4.956522 | 24.48718 | 11.73077 | 14.07407 | 18 |
| | 6.060606 | 15.1111 | 22.27273 | 28 | 18.46154 |
| | 5.176471 | 18.69565 | 14.48718 | 35 | 120 |
| PESO ORGANICO POR ORG. (µg) | 2.782609 | 7.564103 | 6.153846 | 13.3333 | 17 |
| | 3.030303 | 7.777778 | 8.636364 | 26 | 16.92308 |
| | 3.647059 | 12.3913 | 5.384615 | 27.5 | 75 |
| CONSUMO DE O₂ POR mg. (nMO ₂ /mg/h) | 149.6673 | 137.0232 | 122.3997 | 65.02597 | 46.57091 |
| | 120.6665 | 110.4403 | 105.1972 | 22.12083 | 38.06265 |
| | 76.93766 | 75.70532 | 97.82074 | 20.62903 | 7.746663 |

Datos crudos de la PRUEBA EXPERIMENTAL #1. Promedios de cada réplica para todas las variables analizadas.

ANEXO IV

| | INI | AC | GLU | AA | GAA |
|---|----------|----------|----------|----------|----------|
| CONSUMO DE O₂ (pMO ₂ /org/h) | 239.1606 | 582.3008 | 700.3356 | 389.5347 | 419.8647 |
| | 279.0751 | 367.0849 | 814.2324 | | 1188.876 |
| | 285.7534 | 996.3845 | 755.3478 | | |
| TALLAS (µm) | 324.5046 | 623.8951 | 695.9943 | 602.7384 | 657.5328 |
| | 314.5351 | 602.3872 | 614.9149 | | 675.4171 |
| | 315.2961 | 689.7702 | 711.5369 | | |
| SOBREVIVENCIA F.T. (%) | | 15.28 | 9.76 | 0.04 | 0.04 |
| | | 4.04 | 11.16 | 0.04 | 0.0 |
| | | 18.64 | 18.64 | 0.0 | 2.84 |
| SOBREVIVENCIA D.T. (%) | | 1.6 | 3.28 | 0.0 | 0.0 |
| | | 0.0 | 1.72 | 0.0 | 0.68 |
| | | 1.32 | 0.88 | 0.0 | 0.0 |
| PESO SECO POR ORG. (µg) | 2.095238 | 8.412698 | 14.61538 | 120 | 210 |
| | 1.823899 | 19.23077 | 13.68421 | | 18.85714 |
| | 2.845528 | 19 | 13.07692 | | |
| PESO ORGANICO POR ORG. (µg) | 2 | 6.984127 | 9.74359 | 50 | 180 |
| | 1.194969 | 10 | 10 | | 10 |
| | 1.463415 | 12.33333 | 8.846154 | | |
| CONSUMO DE O₂ POR mg. (nMO ₂ /mg/h) | 119.5803 | 83.37489 | 71.87655 | 7.790694 | 2.332582 |
| | 233.5418 | 36.70849 | 81.42324 | | 118.8876 |
| | 195.2649 | 80.78793 | 85.38714 | | |

Datos crudos de la PRUEBA EXPERIMENTAL #2. Promedios de cada réplica para todas las variables analizadas.

ANEXO V

| | INI | AC | GLU | AA | GAA | P |
|--|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-------------------|
| CONSUMO DE O₂ (pMO₂/org/h) | 277.2498a | 859.2929 a | 830.2126 a | 1857.407 a | 3070.532 a | 0.1812 H=6.25 |
| TALLAS (µm) | 464.4 a | 714.6 a | 722.1 a | 1075.2 a | 750.9 a | 0.2397 H= 5.50 |
| SOBREVIVENCIA F.T. (%) | | 2.339 a | 18.339 a | 0.217 a | 0.150 a | 0.0381 H= 6.11 |
| PESO SECO POR ORG. (µg) | 6.831624 a | 42.72727 a | 31.27889 a | 150 a | 66.66667 a | 0.1497 H= 6.75 |
| PESO ORGANICO POR ORG. (µg) | 1.269434 a | 23.63636 a | 5.328711 a | 125 a | 33.333 a | 0.1497 H= 6.75 |
| CONSUMO DE O₂ POR mg. (nMO₂/mg/h) | 222.1 a | 38.6 a | 170.0 a | 14.9 a | 92.1 a | 0.1812 H= 6.25 |

PRUEBA PRELIMINAR. Valores de medias o medianas para cada Tratamiento para todas las variables Experimentales. Significancia estadística de las pruebas, paramétrica y no paramétrica se da según sea el caso.

ANEXO VI

| | INI | AC | GLU | AA | GAA | P |
|--|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------|
| CONSUMO DE O₂ (pMO₂/org/h) | 354.24 (39.635) a | 944.5083 (51.33379)b | 729.4924 (110.8516)b | 669.8176 (98.62366)b | 672.2807 (62.43202)b | 0.00484 |
| TALLAS (µm) | 344.7 (16.6)a | 696.1 (30.6)b | 677.3 (22.3)b | 524.6 (38.6)c | 507.2 (28.4)c | 0.0000307 |
| SOBREVIVENCIA F.T. (%) | | 10.667 (2.3824)a | 12.247 (0.9467)a | 0.813 (0.6047)b | 0.253 (0.0968)b | 0.000267 |
| SOBREVIVENCIA D.T. (%) | | 2.70 a | 4.34 b | 0.08 c | 0.0 c | 0.0000767 |
| PESO SECO POR ORG. (µg) | 5.18 a | 18.7 a | 14.49 a | 28 a | 18.46 a | 0.0880 H= 8.10 |
| PESO ORGANICO POR ORG. (mg) | 3.03 a | 7.78 b | 6.15 b | 26. b | 17. b | 0.0148 H= 12.4 |
| CONSUMO DE O₂ POR mg. (nMO₂/mg/h) | 115.8 (21.14) a | 107.7 (17.75) a | 108.5 (7.28) a | 35.9 (14.56) b | 30.8 (11.78) b | 0.00414 |

PRUEBA EXPERIMENTAL #1. Valores de medias o medianas para cada Tratamiento para todas las variables Experimentales. Significancia estadística de las pruebas, paramétrica y no paramétrica se da según sea el caso. El error estándar se indica entre paréntesis ().

ANEXO VII

| | INI | AC | GLU | AA | GAA | P |
|--|-----------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|-----------------------|-------------------|
| CONSUMO DE O₂ (pMO₂/org/h) | 279.1 a | 582.3 a | 755.3 a | 389.5 a | 804.4 a | 0.1157 H= 7.41 |
| TALLAS (μm) | 318.1 (3.2)a | 638.7 (26.29)b | 674.1 (29.95)b | 602.7 (0.00)b | 666.5 (8.94)b | 0.0000219 |
| SOBREVIVENCIA F.T. (%) | | 12.6533 (4.4145)a | 13.1867 (2.7565)a | 0.0267 (0.0133)b | 0.96 (0.9401)b | 0.0108 |
| SOBREVIVENCIA D.T. (%) | | 0.97 (0.49)a | 1.96 (0.7)a | 0.00 (0.00)a | 0.23 (0.23)a | 0.0531 |
| PESO SECO POR ORG. (μg) | 2.10 a | 19 a | 13.68 a | 120. a | 114.43 a | 0.0753 H= 8.49 |
| PESO ORGANICO POR ORG. (μg) | 1.46 a | 10 a | 9.74 a | 50 a | 95 a | 0.078 H= 8.4 |
| CONSUMO DE O₂ POR mg. (nMO₂/mg/h) | 182.8 (33.48) a | 66.96 (15.14) a | 79.56 (4.01) a | 7.79 (0.0) a | 60.61 (58.28) a | 0.0490 |

PRUEBA EXPERIMENTAL #2. Valores de medias o medianas para cada Tratamiento para todas las variables Experimentales. Significancia estadística de las pruebas, paramétrica y no paramétrica se da según sea el caso. El error estándar se indica entre paréntesis ().

ANEXO VIII

PROMEDIOS Y ERROR ESTANDAR DE TODAS LAS VARIABLES ANALIZADAS, EN LOS TRATAMIENTOS, PARA LAS DIFERENTES PRUEBAS.

PRUEBA PRELIMINAR

| TRATAMIENTO | SOBREVIVENCIA F.T. | | TALLA | | PESO SECO | | PESO ORGANICO | | CONSUMO DE OXIGENC | | VO2/mg de org. | |
|-------------|--------------------|----------|----------|----------|-----------|----------|---------------|----------|--------------------|----------|----------------|----------|
| | MEDIA | ER. STD. | MEDIA | ER. STD. | MEDIA | ER. STD. | MEDIA | ER. STD. | MEDIA | ER. STD. | MEDIA | ER. STD. |
| INI | (-----) | (-----) | 464.4167 | 16.25 | 6.831624 | 1.109553 | 1.269434 | 0.092964 | 277.2498 | 43.0459 | 222.0785 | 50.17284 |
| AC | 2.339029 | 0.647697 | 714.6279 | 1.318788 | 42.72727 | 2.727273 | 23.63636 | 3.636364 | 859.2929 | 203.4664 | 38.59247 | 14.5455 |
| GLU | 18.33918 | 6.242408 | 722.1333 | 58.24 | 31.27889 | 8.551618 | 5.328711 | 2.298408 | 830.2126 | 215.0499 | 170.0246 | 32.9791 |
| AA | 0.217155 | 0.217155 | 1075.2 | 0 | 150 | 0 | 125 | 0 | 1857.407 | 0 | 14.85926 | 0 |
| GAA | 0.15 | 0.15 | 750.9333 | 0 | 66.66667 | 0 | 33.33333 | 0 | 3070.532 | 0 | 92.11596 | 0 |
| | % | | µ m | | µ g | | µ g | | 'pMO2 /org/h | | nMO2/mg/h | |

PRUEBA EXPERIMENTAL #1

| TRATAMIENTO | SOBREVIVENCIA F.T. | | SOBREVIVENCIA D.T. | | TALLA | | PESO SECO | | PESO ORGANICO | | CONSUMO DE OXIGENC | | VO2/mg de org. | |
|-------------|--------------------|----------|--------------------|----------|----------|----------|-----------|----------|---------------|----------|--------------------|----------|----------------|----------|
| | MEDIA | ER. STD. | MEDIA | ER. STD. | MEDIA | ER. STD. | MEDIA | ER. STD. | MEDIA | ER. STD. | MEDIA | ER. STD. | MEDIA | ER. STD. |
| INI | (-----) | (-----) | (-----) | (-----) | 344.7227 | 16.57786 | 5.40 | 0.3370 | 3.150 | 0.257 | 354.24 | 39.635 | 115.8 | 21.14 |
| AC | 10.66667 | 2.382417 | 2.58 | 0.660908 | 696.0918 | 30.58866 | 19.43131 | 2.731518 | 9.244395 | 1.574663 | 944.5083 | 51.33379 | 107.7229 | 17.75301 |
| GLU | 12.24667 | 0.946737 | 4.44 | 0.196977 | 677.3458 | 22.29447 | 16.16356 | 3.156523 | 6.724942 | 0.981169 | 729.4924 | 110.8516 | 108.4725 | 7.281885 |
| AA | 0.813333 | 0.604685 | 0.273333 | 0.234473 | 524.5541 | 38.56817 | 25.69136 | 6.150094 | 22.27778 | 4.493136 | 669.8176 | 98.62366 | 35.92528 | 14.55672 |
| GAA | 0.253333 | 0.096839 | 0.026667 | 0.026667 | 507.2499 | 28.44121 | 52.15385 | 33.92334 | 36.30769 | 19.34617 | 672.2807 | 62.43202 | 30.79341 | 11.78222 |
| | % | | % | | µ m | | µ g | | µ g | | 'pMO2 /org/h | | nMO2/mg/h | |

PRUEBA EXPERIMENTAL #2

| TRATAMIENTO | SOBREVIVENCIA F.T. | | SOBREVIVENCIA D.T. | | TALLA | | PESO SECO | | PESO ORGANICO | | CONSUMO DE OXIGENC | | VO2/mg de org. | |
|-------------|--------------------|----------|--------------------|----------|----------|----------|-----------|----------|---------------|----------|--------------------|----------|----------------|----------|
| | MEDIA | ER. STD. | MEDIA | ER. STD. | MEDIA | ER. STD. | MEDIA | ER. STD. | MEDIA | ER. STD. | MEDIA | ER. STD. | MEDIA | ER. STD. |
| INI | (-----) | (-----) | (-----) | (-----) | 318.1119 | 3.203881 | 2.254889 | 0.305531 | 1.552794 | 0.236651 | 267.9964 | 14.5462 | 182.7957 | 33.48341 |
| AC | 12.65333 | 4.414542 | 0.973333 | 0.493333 | 638.6842 | 26.28678 | 15.54782 | 3.568184 | 9.772487 | 1.548367 | 648.5901 | 184.662 | 66.9571 | 15.14273 |
| GLU | 13.18667 | 2.756455 | 1.96 | 0.703136 | 674.1487 | 29.95481 | 13.79217 | 0.447384 | 9.529915 | 0.349801 | 756.6386 | 32.88551 | 79.56231 | 4.009625 |
| AA | 0.026667 | 0.013333 | 0 | 0 | 602.7384 | 0 | 120 | 0 | 50 | 0 | 389.5347 | 0 | 7.790694 | 0 |
| GAA | 0.96 | 0.940071 | 0.226667 | 0.226667 | 666.4749 | 8.942142 | 114.4286 | 95.57143 | 95 | 85 | 804.3705 | 384.5058 | 60.6101 | 58.27752 |
| | % | | % | | µ m | | µ g | | µ g | | 'pMO2 /org/h | | nMO2/mg/h | |

ANEXO IX

PROMEDIOS DE PS, PO, PI (μg) Y EL PORCENTAJE DE PO POR ORGANISMO, OBTENIDO AL FINAL DE TODOS LOS TRATAMIENTOS, EN LAS TRES PRUEBAS.

PRUEBA PRELIMINAR

| Tratamiento | Peso seco | Peso organico | Peso inorganico | % Peso Organico |
|-------------|-----------|---------------|-----------------|-----------------|
| INI | 6.83 | 1.269434204 | 5.562189453 | 18.58615233 |
| AC | 42.72 | 23.63636364 | 19.09090909 | 55.32856656 |
| GLU | 31.27 | 5.328710837 | 25.95017976 | 17.04096846 |
| AA | 150 | 125 | 25 | 83.33333333 |
| GAA | 66.66 | 33.33333333 | 33.33333333 | 50.0050005 |

PRUEBA EXPERIMENTAL #1

| Tratamiento | Peso seco | Peso organico | Peso inorganico | % Peso Organico |
|-------------|-----------|---------------|-----------------|-----------------|
| INI | 5.4 | 3.15 | 2.24 | 58.33333333 |
| AC | 19.43 | 9.244394897 | 10.18691936 | 47.57794594 |
| GLU | 16.16 | 6.724941725 | 9.438616939 | 41.6147384 |
| AA | 25.69 | 22.27777778 | 3.413580247 | 86.71770252 |
| GAA | 52.15 | 36.30769231 | 15.84615385 | 69.62165351 |

PRUEBA EXPERIMENTAL #2

| Tratamiento | Peso seco | Peso organico | Peso inorganico | % Peso Organico |
|-------------|-----------|---------------|-----------------|-----------------|
| INI | 2.25 | 1.552794396 | 0.702094245 | 69.01308426 |
| AC | 15.54 | 9.772486772 | 5.775335775 | 62.88601527 |
| GLU | 13.79 | 9.52991453 | 4.26225821 | 69.10742951 |
| AA | 120 | 50 | 70 | 41.66666667 |
| GAA | 114.42 | 95 | 19.42857143 | 83.02744275 |