

007703



ej. 2

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA  
ESCUELA SUPERIOR DE CIENCIAS MARINAS

ANALISIS FACTORIAL APLICADO AL ESTUDIO DE  
LA ALIMENTACION DE LAS LARVAS DE LA JAIBA  
CANCER ANTENNARIUS, STIMPSON 1856, (CRUS-  
TACEA BRACHYURA).

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO  
DE O C E A N O L O G O  
QUE PRESENTA:

ANA DENISSE RE ARAUJO.

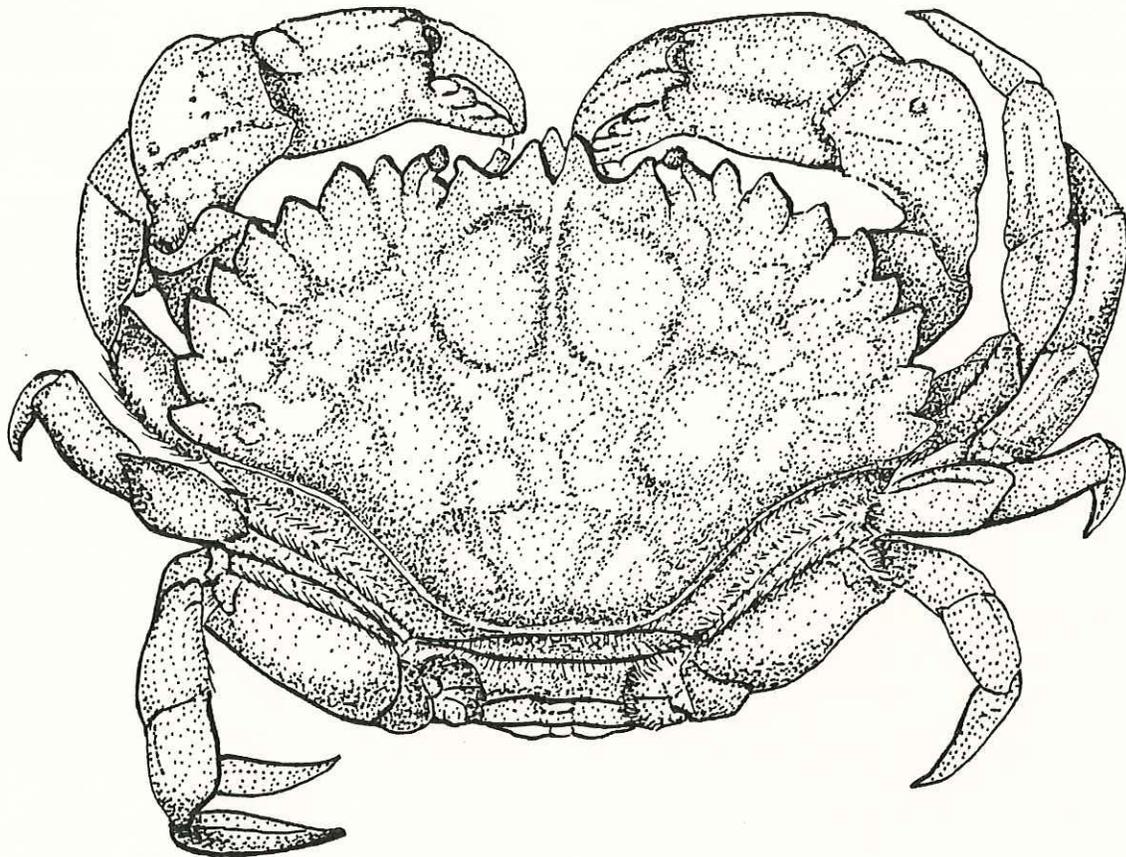
ENSENADA, B. C.

1980.

A mi madre :  
Evelia Araujo por su  
ejemplo de tenacidad  
y optimismo indoblegable.

A mi esposo :  
Farid González por su  
confianza y apoyo incondicional.

A mi maestro :  
Dr. Fernando Bückle R. con mi  
admiración y eterno agradecimiento.



Cancer antennarius Stimpson 1856

LOS ANIMALES SABEN

les bêtes savent  
Samuel Beckett, Comment c'est

Discurso sobre los cangrejos

En la costa se afirma que los cangrejos  
son animales hechizados.  
Son seres incapaces de volverse  
para mirar sus pasos.

De las tercas mareas aprendieron  
la virtud del repliegue,  
el ocultarse  
entre rocas y limo.

Caminantes oblicuos,  
en la tenacidad de sus dos pinzas  
sujetan al vacío que penetran  
sus ojillos feroces como cuernos.

Nómades en el fango o habitantes  
en dos exilios:  
extrajeros  
ante los pobladores de las aguas  
y ante los animales de la tierra.

Trepadores nocturnos,  
armaduras errantes,  
hoscos y eternamente fugitivos,  
siempre rehúyen la inmortalidad  
en imposibles círculos cuadrados.

Su frágil caparazón  
incita al quebrantamiento,  
al pisoteo,

(Hércules vengó así la mordedura,  
y Jupo que lo envió contra este obscuro  
personaje de feria,  
contra este charlatán de la edad heroica,  
para retribuirlo situó a Cáncer  
entre los doce signos del Zodíaco,  
a fin de que sus patas y tenazas  
encaminen al sol por el verano  
-el tiempo en que germinan las semillas.)

Ignoro en cuál momento dió su nombre  
a ese tumor que rompe los tejidos  
y aún al comenzar el final tercio  
del siglo veinte  
permanece invencible  
-y basta su mención para que el miedo  
cruce el rostro de todos los presentes.

## I N D I C E

I.- INTRODUCCION	1
II.- ANTECEDENTES	3
III.- MATERIALES Y METODOS	12
1.- Origen del material biológico	12
2.- Sistema experimental de cultivo	13
a).- Acuarios	13
b).- Sistema de aereación	16
c).- Sistema de cambio de agua	16
d).- Sistema de alimentación	17
e).- Procedimiento experimental	23
IV.- RESULTADOS	29
V.- DISCUSION	54
VI.- AGRADECIMIENTOS	61
VII.- LITERATURA CITADA	63
VIII.- APENDICE	66
Anexo 1.	66
Anexo 2.	68
Anexo 3.	71

## I.- INTRODUCCION

En el litoral del Pacífico y Golfo de California; en la zona correspondiente a los Estados de Baja California y Baja California Sur de México se han distinguido por su gran variedad de especímenes marinos con un alto valor nutritivo, entre los cuales se encuentra la jaiba, la cual ha sido explotada en cantidades relativamente bajas. Esto es en virtud de que la mayor parte de las personas que se dedican a actividades pesqueras, manifiestan que esta especie es extraída en baja escala, debido a la poca demanda y al bajo costo que tiene en el mercado de consumo. Comparativamente, otros Crustáceos como la Langosta, cuyo contenido es aprovechado casi en su totalidad y además que tiene una buena aceptación mercantil, compite fuertemente con Cancer antennarius, del cual solo se aprovechan las tenazas y muy pocas veces el caparazón. Esto puede ser debido a la falta de propaganda y proyección en el mercado, ya que existen especies tradicionales de las cuales en la actualidad se obtienen mayores dividendos como la Almeja (Tivela stultorum) y el Abulón (Haliotis sp.).

En general los estudios de la alimentación en los diferentes estadios larvales de esta especie, no han sido investigados sistemáticamente y constituyen un aspecto fundamental en la depuración de una técnica Acuacultural.

Las investigaciones relativas a este género son muchas, pero en particular en relación a esta especie y específicamente en los problemas de alimentación en los estadios larvales, con las perspectivas que ofrece la Acuacultura, no se han encontrado hasta el momento, al menos en México, ninguna información.

Sin embargo, en descripciones de desarrollo de larvas. se han publicado varios trabajos (Poole, 1966; Mir, 1961; Trask, 1969; - Buchanan y Milleman, 1969; Roesijadi, 1976; Sastry, 1977).

También se ha estudiado el crecimiento tanto de larvas (Reed, 1969; Anderson y Ford, 1976) como de adultos (Bennet, 1973; Hartnoll, 1974) y además se ha investigado el consumo de oxígeno en larvas por Belman et al., 1973 y Vargo y Sastry, 1977.

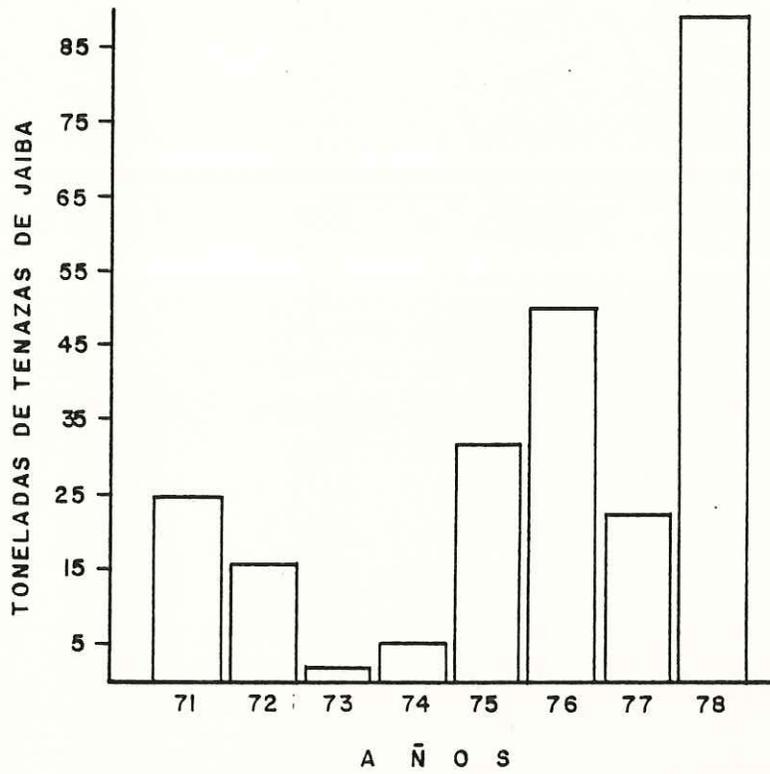
El efecto de insecticidas en estadios larvales fué estudiado por Buchanan et al. en 1970.

## II.- ANTECEDENTES

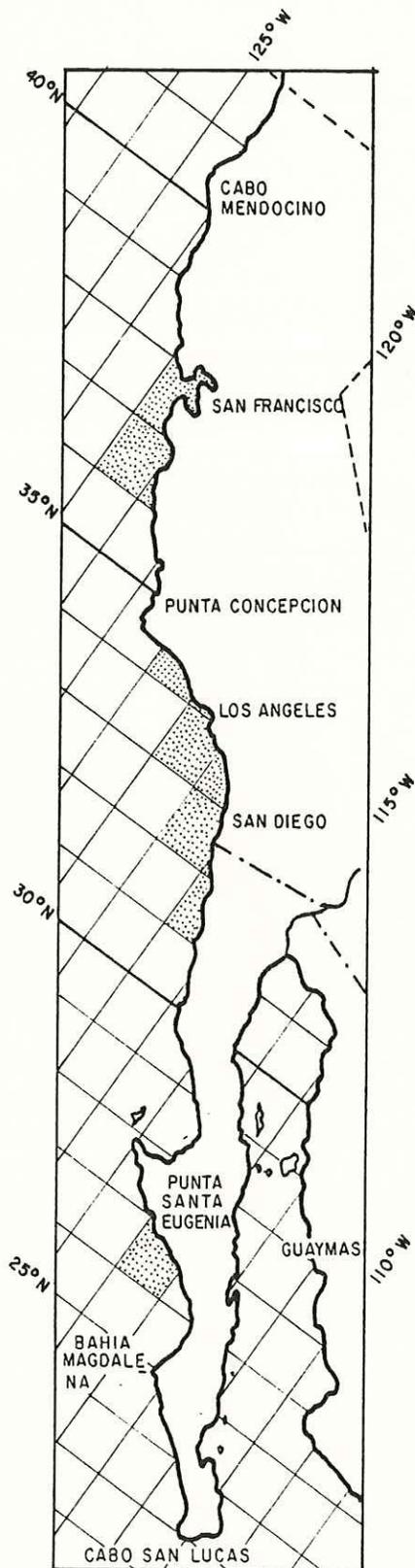
De acuerdo con la información obtenida hasta 1978, la explotación de esta especie ha sido relativamente baja debido a que el volúmen de extracción (Tonelaje anual) ha fluctuado marcadamente. Esto probablemente, se debe a que las instituciones de Crédito no han estado en condiciones de otorgar financiamientos crecientes, tendientes a promover el incremento de la extracción y venta de este producto. En la gráfica 1 se puede observar que durante los años 1971 y 1975, la recolección de Cancer antennarius fué superior a los tres años intermedios, observándose a partir de este último, un aumento gradual de la pesquería, para llegar en 1978 a una producción de un 70% más alta de la observada en 1976. Así en ocho años estadísticos, el promedio anual extraído fué de 29,5 toneladas por año. La distribución geográfica de Cancer antennarius se muestra en la fig. 1.

Durante los últimos diez meses, se ha platicado informalmente con muchas personas que se dedican a la explotación de los recursos del mar, insinuándose, que este animal no se le ha dado la importancia que tiene en cuanto a la colocación en gran escala en el mercado, no porque no tenga aceptación, sino porque durante los últimos ocho años referidos, su extracción se ha reflejado en conflictos de tipo político y económico.

Por otra parte, dada la diferencia de precio de venta de este organismo, el cual comparado con otros (Langosta \$ 160.00 M.N./Kgr. y Abulón \$ 150.00 M.N./ Kgr.) éste solo es extraído, en los casos en que el Abulón y la Langosta están vedadas, ocasionándose entonces una disminución en la extracción de Cancer antennarius por las em-



GRAFICA I.- PRODUCCION ANUAL DE TENAZAS DE JAIBA  
EN EL MUNICIPIO DE ENSENADA, BAJA CALIFORNIA



## Cancer Antennarius Stimpson 1856

Fig.1.-Distribución geográfica de Cancer Antennarius, extraído de Rathbun 1930. Las zonas achuradas corresponden a : Bahía Tomales, Bahía San Francisco, Bahía de Half Moon, Santa Cruz, Bahía de Monterey, Santa Barbara, Bahía de Santa Mónica, Bahía de San Pedro, Long Beach, Laguna Beach, Isla Santa Catalina, La Jolla, San Diego, Islas de Todos Santos y Punta Abreojos en Baja California.

presas del Sistema Cooperativo y Privados.

Cancer antennarius vive en sustratos arenosos, rocosos y lodosos. Tiene diferentes nombres vernaculares dependiendo del lugar de origen, como por ejemplo, cangrejos de roca o jaiba como se le denomina en la localidad de Baja California.

La captura de la jaiba en la región de la Bahía de Todos Santos se inició en mayor escala cuando a los pescadores se les vedó por temporadas la Langosta (Palunirus, sp.), encontrando en Cancer antennarius, un sustituto aceptable en el mercado regional.

Normalmente se utilizan dos tipos de trampas en la pesca de Cancer y éstas son las mismas que para la Langosta. Uno de los artes de pesca es de forma rectangular y construido con alambre galvanizado y en cuya parte superior se localiza la entrada a la trampa. El otro arte es de madera y su forma es una pirámide truncada, donde en la cara superior se encuentra la entrada al sistema y es donde se coloca la carnada.

En las numerosas salidas que se realizaron con los pescadores, estos hicieron notar que invariablemente en el arte de madera se atrapan más animales que en el de alambre, lo cual los llevó paulatinamente a construir casi todas las trampas solo de madera. Si bien ambas trampas son de un diseño similar, no hay una explicación razonable en la preferencia de jaibas a uno y a otro arte. Esto requeriría una investigación especial.

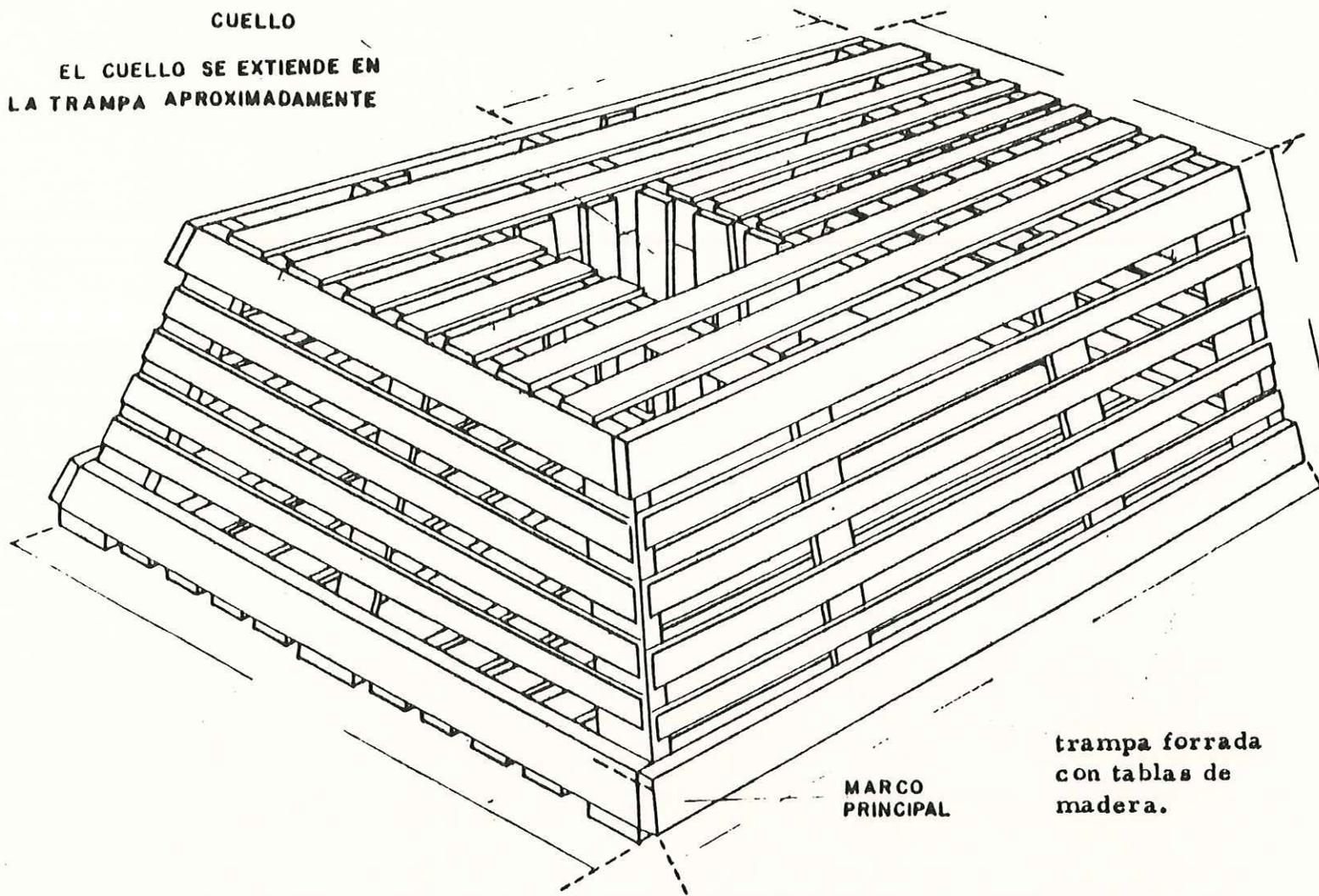
Si bien estas trampas fueron desarrolladas localmente y en base a la experiencia de los pescadores, el Instituto Nacional de Pesca - -

(I.N.P.) Ensenada, ha recomentado un diseño que por su importancia se transcribe "Para los cangrejos del género Cancer se utiliza una puerta de entrada que mide 235 mm. de largo por 111 mm. de altura. Para los cangrejos del género Callinectes y Portunus las medidas - son más reducidas debido a que son más pequeños, adaptándose mejor a la trampa una boca de entrada de 160 mm. de largo por 90 mm. de altura, preferentemente esta debe quedar a un tercio de altura total, siendo las modificaciones posibles en este caso en función de la - puerta o la boca de entrada, ya que la carnada puede ser la misma que se usa para la Langosta, aunque tiene más preferencia por el pescado" (Camacho, 1973).

# TRAMPA LANGOSTERA TIPO CALIFORNIANA

CUELLO

EL CUELLO SE EXTIENDE EN  
LA TRAMPA APROXIMADAMENTE



TRAMPAS

MARCO  
PRINCIPAL

trampa forrada  
con tablas de  
madera.

Por lo general los pescadores ceban sus trampas un día antes de la captura para permitir que la carnada entre en un proceso de descomposición u que el olor disuelto en el agua atraiga con mayor facilidad a la presa. Las trampas se instalan con su respectivo aparejo a una profundidad que varía entre 25 a 30 brazas (1 braza = 1,83 m). La recolección de las trampas se realiza aproximadamente a las 6.00 a.m., y los pescadores sacan los animales atrapados, remplazan el cebo previamente preparado, dejando las trampas listas para el siguiente día.

Durante el viaje de retorno a la costa, los pescadores se dedican a escoger los animales de talla comercial y a los cuales mutilan los pereopodos mayores regresando al mar el resto del organismo. También auscultan el sexo de los animales y las hembras ovígeras por lo general, las devuelven al mar o bien les arrancan el pleón para comercializarlas. Otros pescadores no realizan ninguna diferenciación en el estado biológico de las hembras y las llevan a la costa para su ulterior venta.

El desove y la maduración de los huevos en ésta especie, ocurre principalmente en los meses de Abril a Septiembre, en los otros meses, las hembras maduras son más bien escasas y se localizan en lugares bajos cerca de la costa, sin embargo, en la Bahía de Todos Santos (Lat.<sup>N</sup> 31° 40' Long. 116° 36'), es posible encontrar jaibas ovígeras todo el año.

Las hembras fertilizadas desovan después del apareamiento alrededor de seis o siete meses después, como pudo ser comprobado directamente en el laboratorio. Los huevos son adheridos a los pleopodos, donde se realiza un cuidado meticuloso para permitir una adecuada aireación y protección durante el desarrollo embriológico.

Los huevos tienen una coloración inicial anaranjado brillante que a medida que se forma la larva cambia a diferentes tonalidades de gris, debido a la reabsorción del deutoplasma y también es posible observar a través del huevo la formación de los ojos bien diferenciados.

Se ha observado en el laboratorio que estos organismos prefieren un sustrato arenoso en el cual se entierran cubriendo casi todo el caparazón. Las razones de este comportamiento especial no fué estudiado a profundidad, sin embargo, no deja de llamar la atención que la actitud al parecer, no permitiría un intercambio gaseoso adecuado como comparativamente fué visto en acuarios sin fondo de arena, en los cuales se observó como las hembras movían rítmicamente el telson. Es posible que en la naturaleza el comportamiento real sea más complejo de lo registrado hasta el momento. Es de esperar que la Etología de estos animales pueda ser resuelta en un estudio direccionado a esta problemática.

La tendencia de extracción de la jaiba, indicada en la Gráfica 1, permite visualizar la posibilidad de un aumento progresivo en la explotación. La tarea de la Acuicultura es principalmente la de prevenir hacia el futuro la conservación de las poblaciones de animales y plantas. Es en este sentido, en el que se planteó este proyecto, es decir, lograr el cultivo de la especie antes de que se manifiesten los primeros síntomas de sobreexplotación.

La Acuicultura para ser rentable requiere de un número inicial apreciable de larvas para obtener una producción masiva de estadios metamorfoseados. Hasta el momento solo se ha llegado en contadas oca-

siones en el género *Cancer* al estadio Megalopa (Anderson y Ford, 1976; Trask 1969 y Sastry, (a) 1977), el cual marca una fase más estable del desarrollo larval de estos organismos.

*Artemia salina* (Anderson y Ford, 1976) (Poole, 1964) (Trask, 1969) (Mir, 1960) (Sastry, 1977) fué utilizada como alimento principal en el cultivo de *Cancer magister*, *Cancer antennarius*, *Cancer anthonyi* y *Cancer irroratus*. Otros menos comunes como huevos de *Arbacia* (Mir, 1960), como también el primer estadio nauplio de los *Balanus tintinnabulum* y *B. amphitrite*; Tetramin (alimento para alevines); mejillón molido (*Mytilus* spp) (Reed, 1969) e hígado de res (Mir, 1960). Además se han llevado a cabo experiencias con *Skeletonema costata* y *Thalassiosira pseudonana* con una densidad de 25,000 cel/ml. (Fisher y Nelson 1977).

Con todos estos antecedentes, se planteó la manera de buscar por medio de la técnica estadística de Análisis Factorial aplicado a experimentos biológicos, el o los alimentos más adecuados para cultivar las larvas de *Cancer antennarius* y tratar de optimizar el cultivo desde la larva Zoea I hasta Megalopa, aumentando la materia orgánica presente en el mar (0.005 mg/l) (Jørgensen, 1954) a cien y quinientas veces más. También se propuso el desarrollo de un sistema experimental que permitiera posteriormente implementar las bases para el cultivo masivo de cualquier Crustáceo.

### III.- MATERIALES Y METODOS

#### 1.- Orígen del material biológico.

Debido a la importancia que tiene la viabilidad de los huevos para la realización de experimentos dirigidos al cultivo de larvas, se tomaron medidas preventivas. Con los pescadores afiliados a las Cooperativas de Ensenada se programaron varias salidas. Las pescas se hicieron al amanecer y para controlar las condiciones básicas y evitar el stress por manipulación mecánica, se dispuso de un termómetro, un oxigenómetro y hieleras que contenian bolsas de agua de mar congeladas. Con estos elementos se iban controlando las condiciones de oxígeno disuelto y temperatura durante el traslado de los animales al laboratorio, ubicado aproximadamente a cuatro kilómetros del lugar de recolección. En varias oportunidades se acompañó a los pescadores en una lancha Zodiac para acortar el tiempo de traslado al máximo posible (dos horas).

El material biológico que se eligió fueron hembras cuyos huevos se encontraban al inicio de la maduración, es decir, que presentaban una coloración anaranjado brillante. Esta etapa, requiere de un gran cuidado y de una preparación previa ya que los organismos deben llegar a estanques bien aireados y bien acondicionados. La aclimatación se hizo incrementando gradualmente la temperatura a intervalos regulares, evitando cambios bruscos que afectaran tanto a la hembra como a los huevos y por consiguiente directamente ligado a la viabilidad de las futuras larvas.

El procedimiento antes descrito se hizo para todos los experimentos excepto para los dos últimos, en los que se tuvo condiciones muy

particulares como se describe a continuación.

Algunas hembras de las cuales se dispuso de sus larvas para los experimentos fueron conservadas en cautiverio con la presencia de machos para observar el comportamiento. Los animales se mantuvieron en un filtro biológico de sustrato arenoso y de una capacidad de 800l aproximadamente, proporcionándose condiciones óptimas para la sobrevivencia de estos adultos. En este acuario fué posible observar que dos hembras fueron fertilizadas.

Los desoves que sucedieron después de aproximadamente siete meses, se encontraron desde su origen aclimatados a las condiciones que prevalecieron en el laboratorio durante la madurez y después en el desarrollo de los experimentos.

## 2.- Sistema experimental de cultivo.

### A).- Acuarios

El sistema se encuentra montado en un tanque de fibra de vidrio de una tonelada de capacidad (Fig.3-1) que descansa sobre una base de madera (Fig.3-2). En la parte superior del estanque tiene una estructura reticulada de acrílico de 13 mm. de espesor que deja libre cien cuadrados de 9x9 cm. (Foto, 1). Estos cuadrados son la estructura de sostén para los acuarios.

Cada acuario está constituido por cuatro partes de las cuales - las dos primeras es un ensamble de dos piezas de material ABS (fig. 3-3) que sostiene a una bolsa de plástico tubular (Fig. 3-4) de 75 cm. de largo. En el extremo tiene un embudo (fig. 3-5) sellado con un tapón de goma del número 000 con un orificio en el centro por el cual tiene conectada una manguera de aire (3-7 de 0.04 mm. de diáme-

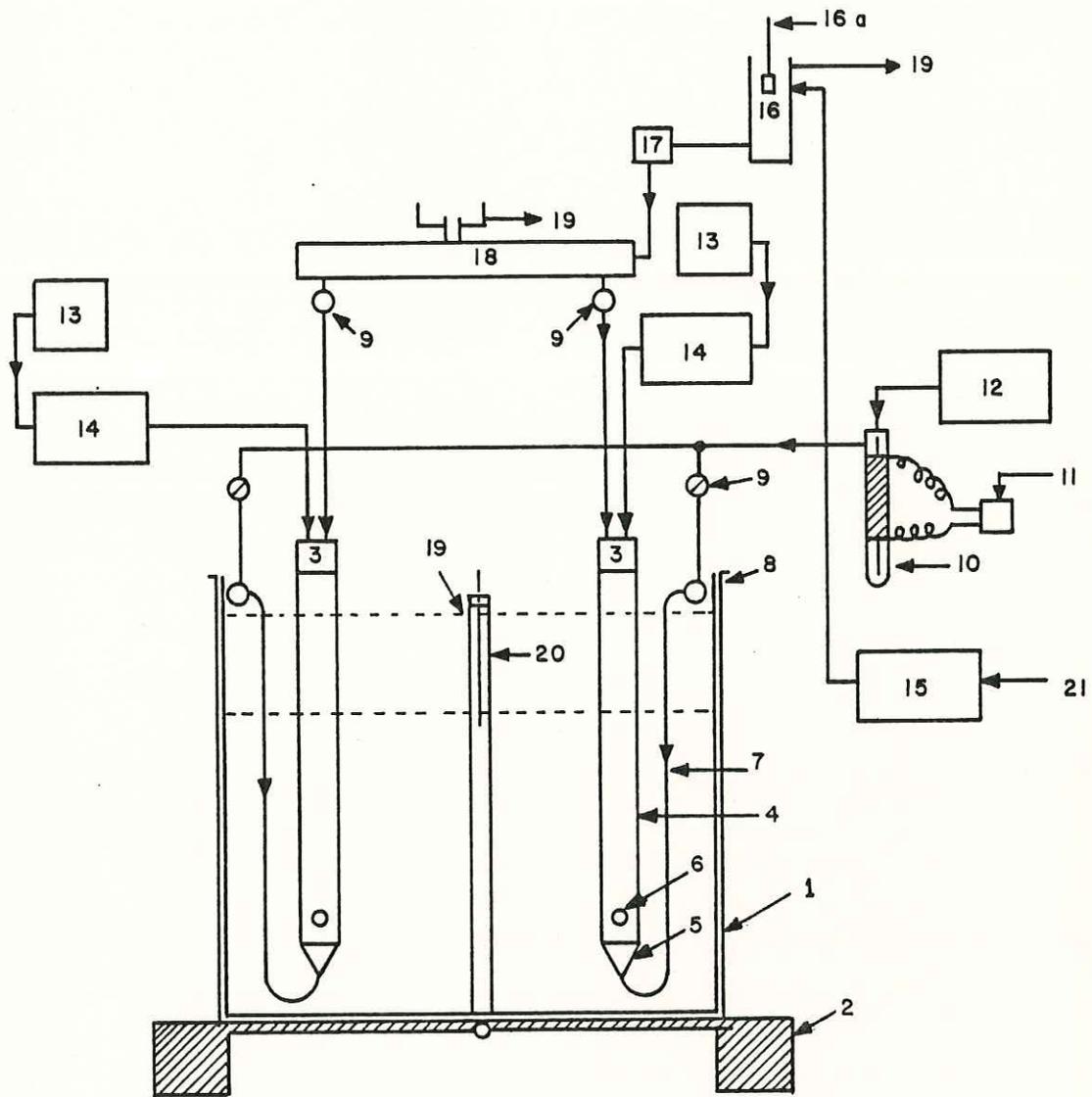


Fig. 3

1.-Estanque de 1 Ton., 2.-Base, 3.-anillo de sustentacion de acuario, 4.-acuario vertical (bolsa de plastico), 5.-embudo, 6.-malla, 7.-linea de aire seco, 8.-distribuidor de aire seco, 9.-llave de paso, 10.-filtro de aire seco, 11.-transformador, 12.-bomba de aire, 13.-alimentador, 14.-bomba multicanal, 15.-bomba de agua, 16.-torre de agua, 16a.-aireador, 17.-filtro de agua, 18.-tubo de reparto de agua, 19.-rebalse, 20.-control de niveles, 21.-fuente de agua.



(Foto 1)

metro externo. (foto 1).

A trece centímetros del borde superior del embudo se instaló un sistema para sostener una malla de 100 micras cuya función es permitir la salida del agua de recambio. (Foto 1),

Los acuarios tienen una capacidad de cuatro litros pero pueden ser regulados al volúmen que se requiera; ocupan un espacio mínimo por lo que es posible instalar hasta 96 acuarios, lo que redundará en una amplitud grande de posibilidades experimentales.

b).- Sistema de aireación.

El suministro de aire se realiza con una bomba "Conde" (Fig. 3-12) en cuyo recorrido se seca y filtra en una unidad de vidrio (Fig. 3-10) rodeada de una resistencia eléctrica conectada a un transformador de 20 watts (Fig. 3-11).

La resistencia mantiene la unidad caliente y el aire que circula se seca y se filtra con carbón activado antes de entrar al sistema de acuarios. El objetivo de esta unidad es filtrar el aire y evitar que el sistema se humedezca y se contamine con protozoos. El aire filtrado pasa por una válvula de regulación general y a un distribuidor (Fig. 3-8) que lo reparte uniformemente a cada uno de los acuarios (Fig. 3-7).

c).- Sistema de cambio de agua.

El suministro de agua al sistema es impulsado por una bomba de agua de una capacidad máxima de 1800 ml/min. (Ministaltic-Manostat) (Fig. 3-15) que lleva el flujo a la parte superior del sistema a una torre de acrílico transparente (Fig. 3-16) que tiene en su parte superior un rebalse (Fig. 3-19) y en la inferior un filtro (Fig. 3-17)

de algodón plástico. (Foto 2). El flujo se transfiere a un tubo de distribución (Fig. 3-18) que mantiene una cantidad constante de agua para homogenizar la salida de 72 mangueras, 36 en cada lado del sistema, con sus respectivas llaves de paso (Fig. 3-9). El flujo baja a cada uno de los acuarios por medio de una red de tuberías que recorren todo el sistema.

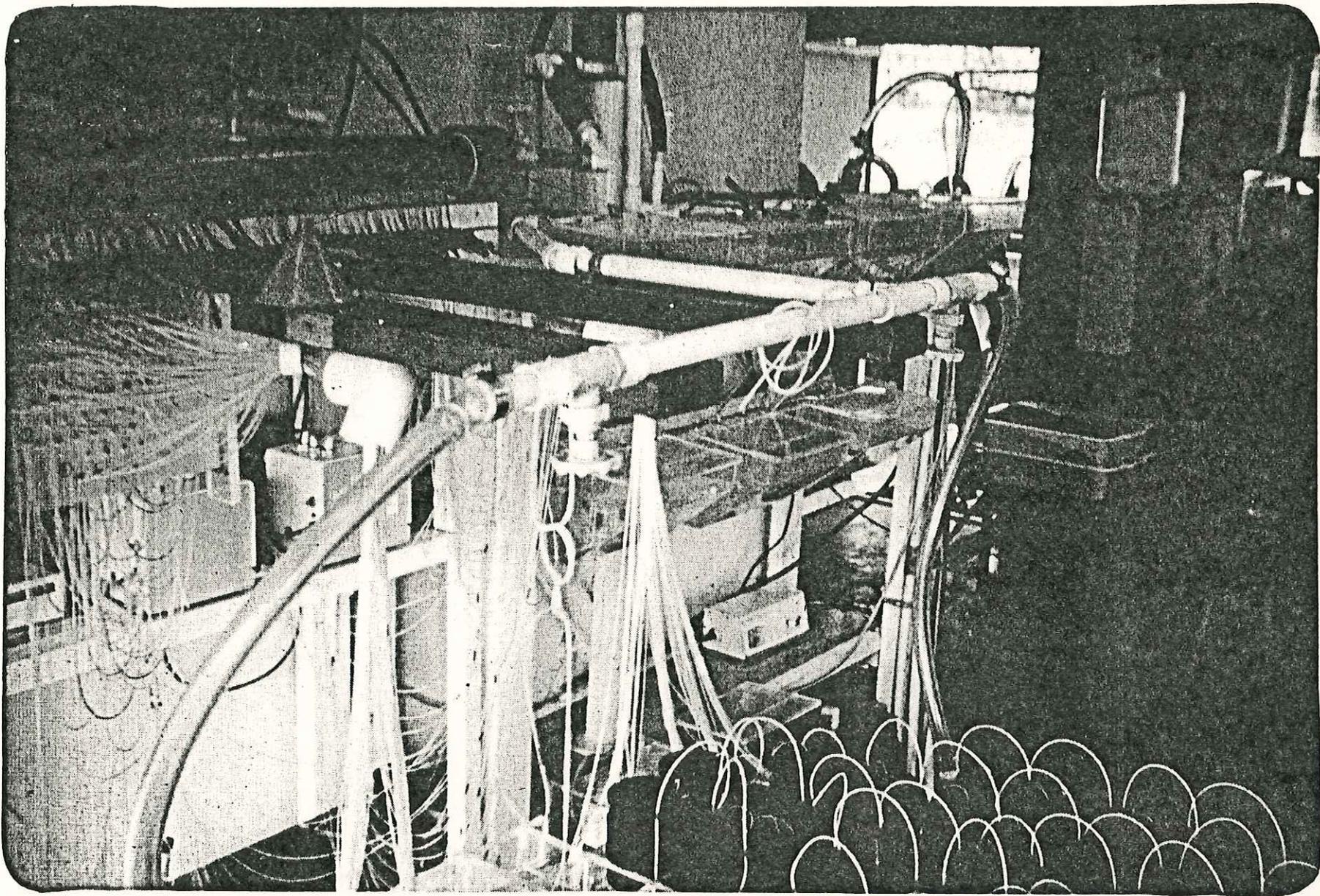
De ésta manera, el goteo constante en cada acuario (8 ml./min.) incrementa el nivel de agua en cada acuario y en conjunto todos los acuarios aumentan el nivel del tanque de agua.

Fuera del tanque se instaló un sistema de control de niveles (Fig. 3-20) que regula el complemento constante de agua por medio de un mecanismo de sifón que se acciona cuando el nivel sube a un punto prefijado. Este sistema ofrece las ventajas, de mantener una limpieza constante del acuario eliminando los catabolitos de los cultivos y el alimento que no fué ingerido por los animales cultivados. También es posible regular la altura de la columna de agua del estanque y por ende de los acuarios al volúmen de agua que se se requiera.

d).- Sistema de alimentación.

Para dosificar el alimento a los experimentos, se instaló una serie de cajas de acrílico de cuatro litros de capacidad cada una (Fig. 3-13). Estos alimentadores fueron distribuidos según las combinaciones establecidas en los experimentos (A,B,C,AB,BC,CA,ABC,"1").

Cada caja tiene una paleta de acrílico que es movida por un mecanismo de poleas (Foto 3) y accionado por un motor de 1/100 HP de 32 RPM montado en la parte superior de un estanque (Foto 4). De cada una de las cajas parten cinco mangueras que se conectan a las bombas peristálticas (Fig. 3-14) de veinte canales cada una (Foto 2) -

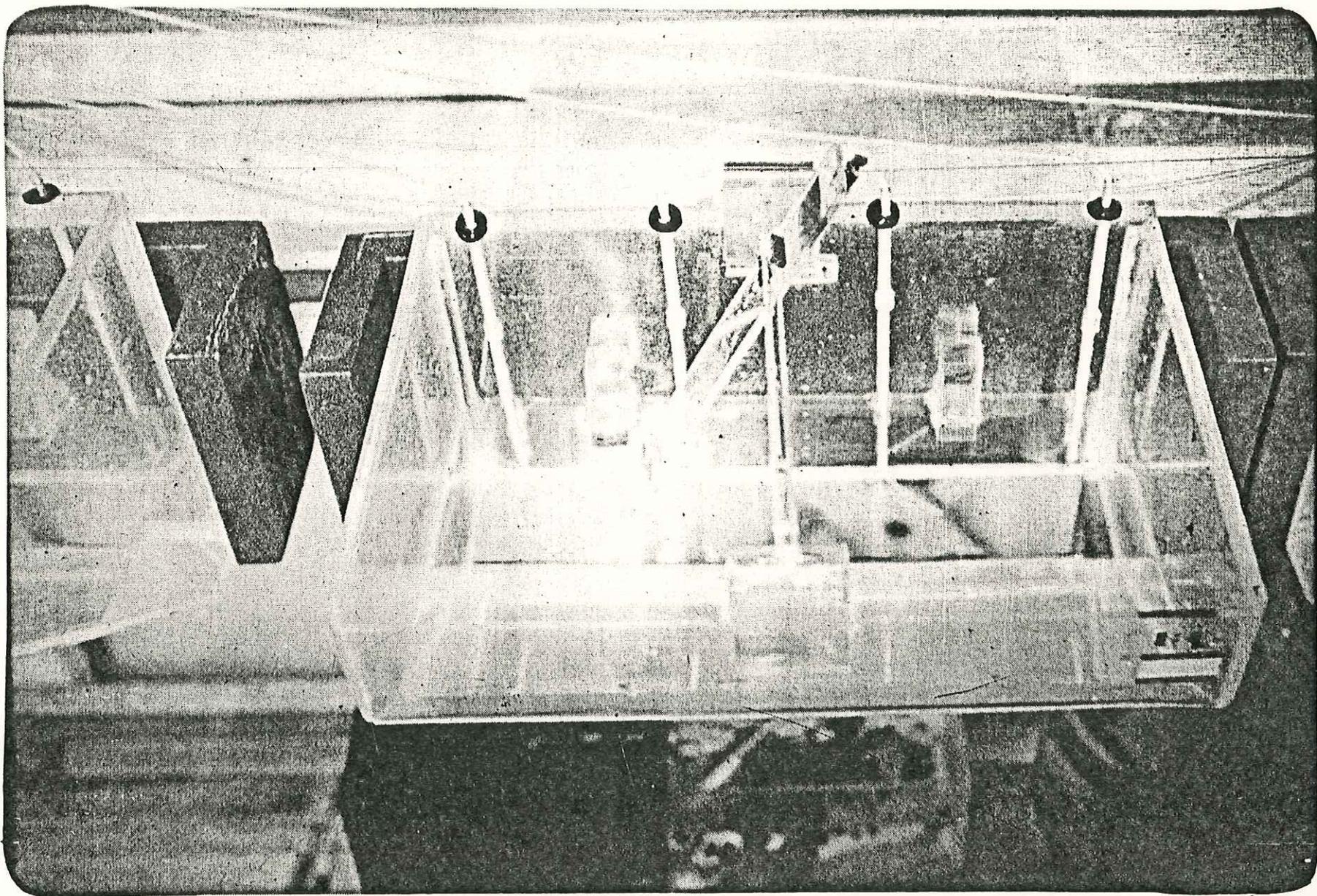


(Foto 2)

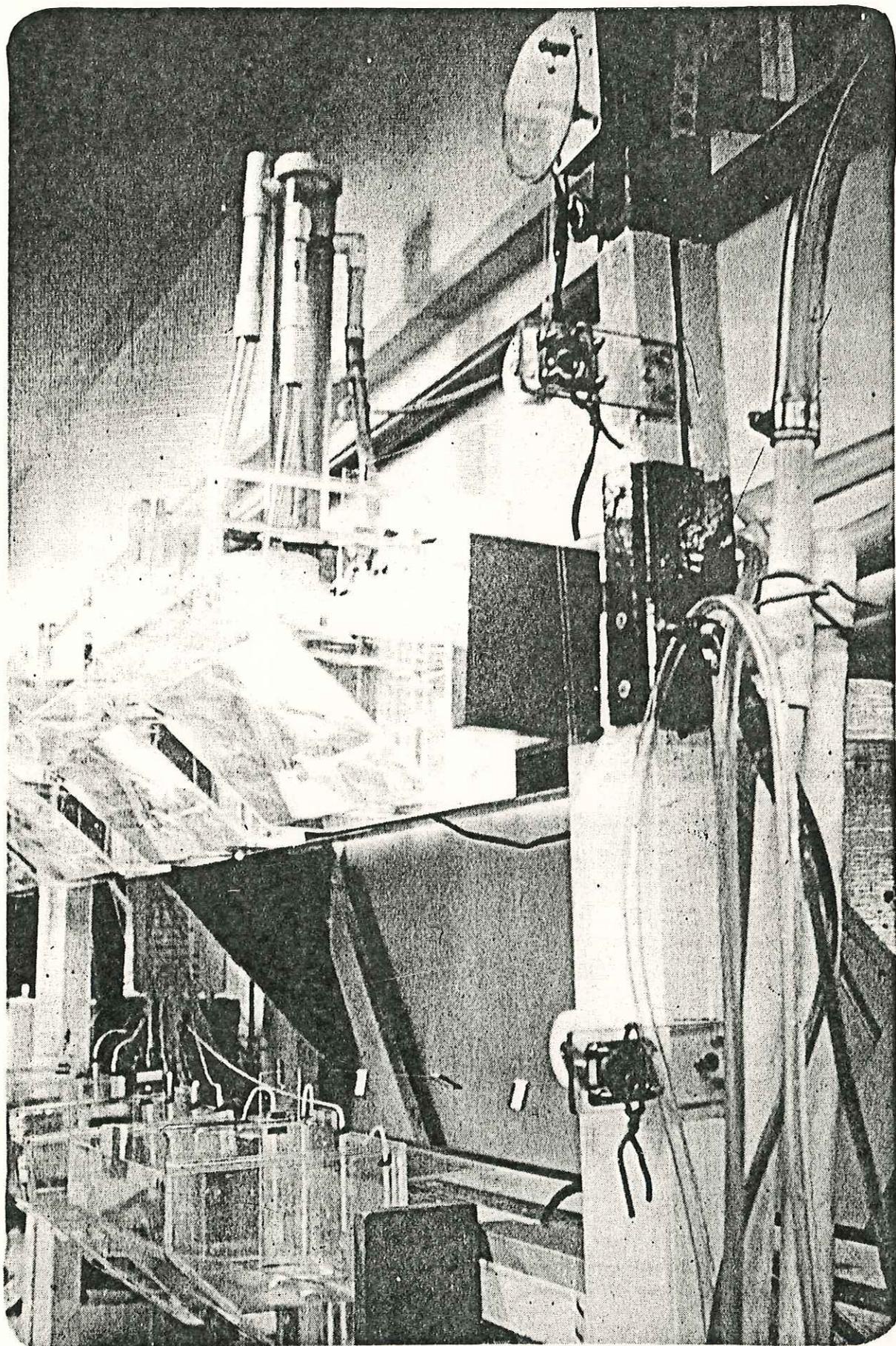
(Manostat Modelo Standart de 115 Voltios). Las mangueras usadas fueron de 1/16 de pulgada de diámetro interno. Estas bombas operan por medio de un sistema de Cassettes que al girar impulsan el alimento líquido. Los alimentos impulsados por las bombas se dirigen a travez de mangueras a cada acuario individualmente y su reparto se hizo al azar de tal forma que la distribución final fué la siguiente:

CA A CA AB									
C	BC	A	"1"	BC	BC	AB	ABC	"1"	"1"
B	B	B	A	C	BC	AB	ABC	ABC	A
	C	C	AB	B	CA	ABC	CA	ABC	
"1" C B A									

Diagrama de distribución de los alimentos dentro del sistema experimental. 36 combinaciones. (Tabla 1).



(Foto 3)



(Foto 4 )

EXPERIMENTO NUMERO		ALIMENTOS						
I	A	B	C	ABC	AB	BC	CA	"I"
I	Yema	Almeja	Levadura	Yema Almeja Levadura	Yema Almeja	Almeja Levadura	Levadura Yema	
II	Yema	Almeja	Levadura	Yema Almeja Levadura	Yema Almeja	Almeja Levadura	Levadura Yema	
III	Yema Vit. C	Al./Gato Vit. C	Skeletonema Vitamina C	Yema Al./Gato Skeletonema Vitamina C	Yema Al./Gato Vitamina C	Al./Gato Skeletonema Vitamina C	Skeletonema Yema Vitamina C	Vit. C
IV	Yema de huevo	Macerado de huevos de jaiba	Protein 96	Yema Macerado Protein 96	Yema de huevo M. de h. jaiba	Macerado: Protein 96	Protein 96 Yema	
V	Yema de huevo Colesterol	Harinas de maiz, trigo soya	Protein 96	Yema Harinas combinadas Protein 96	Yema Harinas combinadas	Harinas Protein 96	Protein 96 yema Colesterol	Coles- terol
VI	Yema de huevo Colesterol	Brachionus plicatilis Colesterol	Protein 96 Colesterol	Yema de huevo Brachionus plicatilis Protein 96 Colesterol	Yema huevo Brachionus plicatilis Colesterol	Brachionus plicatilis Colesterol Protein 96	Protein 96 Yema Colesterol	Coles- terol

Tabla I.- Lista de alimentos y sus combinaciones proporcionados en todos los experimentos.

e).- Procedimiento experimental.

Después de la fase de aclimatación y de la espera de la maduración de los huevos a punto de eclosionar (Foto 5), las hembras fueron transferidas a estanques con un volumen prefijado de agua de mar filtrada. Durante esta fase, las hembras ovígeras recibieron alimentación controlada con el objeto de evitar la descomposición del alimento no ingerido.

Al empezar la eclosión de las larvas se mantuvo una aireación moderada, para impedir que fueran arrastradas al fondo del estanque y que se formaran aglutinamientos, en los cuales y por la alta densidad que se forma, la muerte de una larva constituye un foco de infección para las otras. Cuando todas las larvas habían eclosionado, la hembra fue transferida para facilitar el manejo del cultivo y extraer del fondo del acuario todas las excretas despositadas durante el proceso y evitar la proliferación de bacterias.

La eclosión de las larvas demora aproximadamente 24 horas y por la general se inició al atardecer o en la noche.

Las larvas recién eclosionadas mudan de Pre-Zoea Zoea I en los primeros 15 min. (Mir, 1961; Buchanan y Millemann, 1969).

Para conocer el número de larvas del cultivo, el contenido del estanque se homogenizó con una paleta de acrílico de 50 cm. de largo tratando de revolver el agua en varias direcciones. Los muestreos de cinco alicuotas se realizaron en el estanque con una botella de Van Dorn modificada a un volumen de 36 ml. (Buckle et al. 1976), (Fig. 4). El volumen del muestreador se calculó con el conocimiento previo del número inicial de larvas, que se iban a utilizar por acuario y el volumen de estos, que para los efectos de estos experimentos, se calculó en base a Cochran, 1978 (Anexo 3).

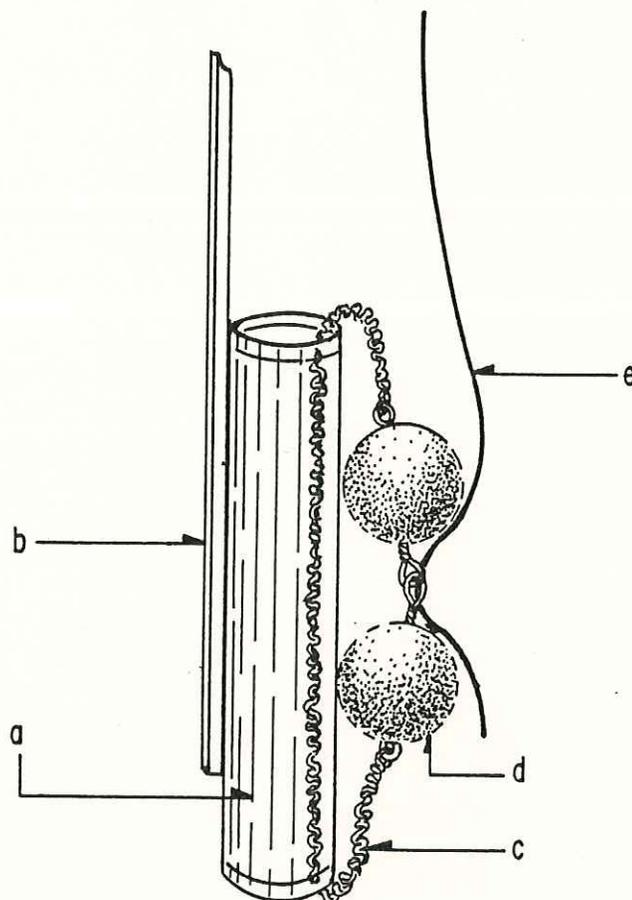
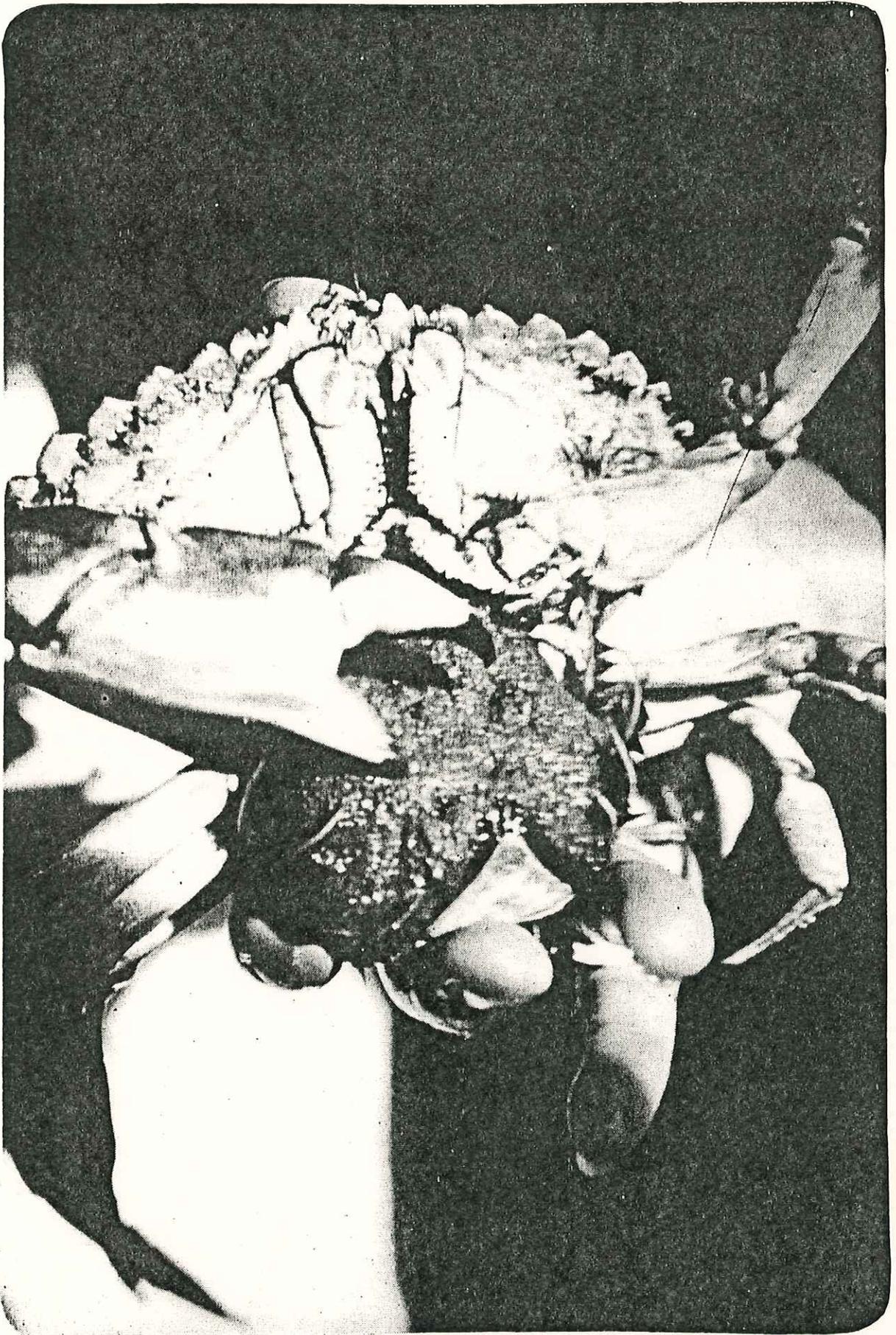


Fig.4.- Esquema del muestreador modificado de Van Dorn de 36 ml. en posición abierta. a.- cilindro de acrílico b.- varilla de plástico de sostén. c.- elástico d.- pelota de goma e.- nylon.



(Foto 5)

Con las larvas del estanque de desove, se procedía a calcular una alicuota tal, que transferida a los acuarios de experimentación (Foto 1), diera la concentración de larvas deseadas en el experimento en turno. En los primeros experimentos se decidió trabajar con 2.5 larvas/ml. en un volumen de 3500 ml. y en los dos últimos, la mitad de esta cifra.

Introducidas las larvas a los acuarios, se iniciaba el funcionamiento del sistema de recambio de agua estabilizado a un volumen de 8 ml./ min./ acuario.

La preparación del alimento para el cultivo se realizó con diferentes sustancias, las cuales eran pesadas en una balanza Sartorius Modelo 1204 MP y molidas manualmente en un mortero de porcelana. La concentración del alimento se estableció en base a la concentración de la materia orgánica en el mar que es de aproximadamente 0.005 mg/l (Jørgensen, 1954). Los alimentos molidos eran disueltos en agua de mar esterilizada, en una cantidad suficiente como para llenar los acuarios del sistema de alimentación (4 litros). A cada combinación se le restaba la concentración del o los alimentos de tal forma de mantener la concentración original. Como el flujo del sistema de agua proporcionaba 8 ml/min. (414 l/día en 36 acuarios de experimentación) fué necesario aumentar la concentración del alimento de 0.007 gr./lt. a 0.815 gr./lt., que con ese flujo se administraba al cultivo de larvas la concentración de alimento deseada.

Los alimentos utilizados en los experimentos se indican en la tabla 1, y la composición química de algunos de ellos se indican en el anexo 1. Todos los experimentos se condujeron a una salinidad de 32°/00

Para tomar la información requerida en el transcurso de los experimentos se siguió una rutina en la cual se estableció un orden de muestreo para evitar equivocaciones, y en un momento pre-determinado en el cual los acuarios tenían un volumen de agua conocido. Antes de tomar una muestra con la botella modificada de Van Dorn, se homogeneizaba la columna de agua del acuario para permitir la distribución uniforme de las larvas. De cada acuario experimental se tomaron dos muestras que se transferían a cajas de Petry reticuladas y en las cuales se determinaba el número de animales vivos y muertos, es decir, porcentaje de sobrevivencia. Cada una de las muestras fué preservada con el fijador Bouin para observar el estado de desarrollo de las larvas.

Por lo general en muchas investigaciones se utilizan para la respuesta a la hipótesis planteada, la técnica de estudiar un parámetro a la vez, lo que conlleva a un estudio a veces muy largo y tedioso, por el hecho de que él o los parámetros rastreados necesitan ser repetidos varias veces antes de obtener una idea general del fenómeno en estudio. Se suma a esto, que en la realización de los experimentos no siempre los animales se encuentran, por ejemplo, en el mismo estado biológico, lo cual dificulta más la investigación. Sin embargo, es posible en muchos casos reducir notablemente el tiempo y el trabajo práctico de la investigación, cuando se utiliza el método del Análisis Factorial en el diseño del o de los experimentos.

Esta técnica ampliamente difundida en los estudios agronómicos (Cochran y Cox, 1976; Snedecor y Cochran, 1973) permite analizar el o los factores, los niveles y combinaciones de diferentes órdenes más probables y óptimos de cultivo.

Esta investigación se planteó inicialmente como un experimento factorial de tres vías (Snedecor y Cochran, 1970). Los alimentos fueron representados por sus concentraciones ( $x_1$ ,  $x_2$ ,  $x_3, \dots, x_n$ ) que para poder combinarlos se normalizaron de tal manera que  $x_1 + x_2 + x_3 = 1$ .

R= réplicas, x= alimento 1" = testigo.

R	$x_1$	$x_2$	$x_3$
5	1	0	0
5	0	1	0
5	0	0	1
4	.5	.5	0
4	0	.5	.5
4	.5	0	.5
5	.33	.33	.33
4"	0	0	0

El número de réplicas R= 36 se distribuyó así para que en un eje de coordenadas de x, y, z queden bien representadas, asegurando ante todo sus límites externos y el centro.

#### IV.- RESULTADOS

##### EXPERIMENTO I

El 18 de Julio de 1979 se iniciaron por primera vez las investigaciones experimentales debido a que el montaje del sistema requirió de un trabajo continuo de alrededor de ocho meses. Los acuarios fueron montados con 10,200 larvas cada uno. Los alimentos que se eligieron para este experimento fueron yema de huevo, almeja fresca molida (Tivela stultorum) y levadura en polvo comercial.

La temperatura promedio de el experimento fué de 20° C. El resultado de este experimento fué negativo. Se observó que la almeja molida en una licuadora, producía mucha espuma y que la levadura en polvo se precipitaba en las cajas de alimentación rápidamente. Ambos alimentos produjeron después de corto tiempo mal olor que permitió un fuerte incremento de las bacterias en los acuarios.

Pese a estas dificultades se decidió considerar este experimento como un ensayo preliminar y repetirlo con los mismos alimentos, pero tratando de eliminar el perturbamiento por manejo de los progenitores.

##### EXPERIMENTO II

Este se inició el 26 de Julio, con una densidad de 10,000 larvas en cada acuario de 3,500 ml.

Los parámetros de oxígeno y temperatura tuvieron ligeras variaciones de 4-5 ppm y de 21 - 23 grados C respectivamente. El cambio de agua se llevó a cabo cada doce horas sustituyéndose 1,200 ml en cada acuario como en el Experimento I.

Los alimentos proporcionados en este experimento, fueron nuevamente yama de huevo, almeja molida y levadura con los cuales se hicieron siete combinaciones con tres réplicas cada una y un testigo a su vez con tres réplicas. Los alimentos se molieron y se tamizaron a travez de una malla de 110 micras, y a pesar de esto, la levadura presentó problemas de decantación y obstrucción de las tuberías dentro de las bombas peristálticas.

Después de seis días de ensayo, el desarrollo larval no alcanzó el estadio de Zoea II.

Los valores obtenidos experimentalmente en todos los experimentos fueron transformados a logaritmos naturales, para conocer las pendientes respectivas; las cuales son una expresión de el porcentaje de sobrevivencia de cada una de las poblaciones de larvas. (Tabla 3).

Antes de hacer un análisis particular de los experimentos, todos los resultados de éstos, (del exp. II al Exp. VI) se sometieron a un análisis de Varianza Simple (Scheffler, 1969) el cual indicó que ninguno de los alimentos proporcionados en esta investigación fué mejor que otro.  $F_{0.05}(7,24) = 2.42$   $F_s = 0.69671$ . (Anexo 2).

Tabla 2 Análisis de ANVA general de todos los experimentos II-IV

Fuente de Variación	g.l	SS de las pendientes	Ms	Fs
Entre grupos alimentos	7	1.0234	.20985	0.69671
Intra grupos alimentos	24	5.0364	.14620	
Total	31			

Las pendientes promedio de las diferentes combinaciones en el Experimento II fueron:

A	B	C	ABC	AB	BC	CA	"1"
$\bar{K}=-1.01$	-1.17	-1.66	-1.56	-1.28	-1.57	-1.31	-1.66

Con las pendientes promedio y el tiempo (días de experimentación) se obtuvo el índice  $e^{-kt}$ ;

Experimento II		JULIO 26 - JULIO 29						
COMBINACION DE ALIMENTOS.								
DIA	A	B	C	ABC	AB	BC	CA	"1"
0	1	1	1	1	1	1	1	1
1	.37	.30	.19	.21	.27	.20	.26	.39
3	.05	.03	-	.009	.02	.009	.019	-
4	.02	.009	-	-	-	-	-	-

La gráfica correspondiente se presenta en la Fig. 5.

Las pendientes de cada uno de los alimentos fueron comparados con un Análisis de Varianza Simple indicando que para la probabilidad de 0.05 % el estadístico no fué significativo (Rohlf y - Sokal, 1969).  $F = 0.05 ( 7; 18 ) = 2.58$   $F_s = 0.93$  por lo tanto no se rechaza  $H_0$  (Tabla 3-1.)

## EXPERIMENTO II

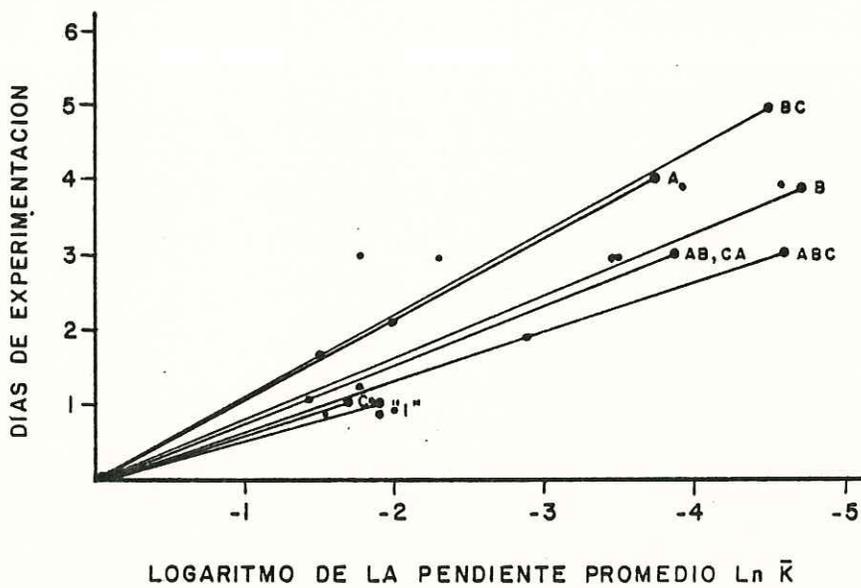


FIG.5.- CONTRASTACION DE LAS PENDIENTES PROMEDIO DE LOS ALIMENTOS Y LOS DIAS DE EXPERIMENTACION.  
 A=Yema de Huevo; B=Almeja molida, *Tivela stultorum*; C=Levadura.

Tabla 3.- Sobrevivencia de las larvas durante el Experimento II

Experimento II		* R é p l i c a s .								
Alimento	r1	r2	r3	r4	r5	$\bar{X}$	#/ días Tiempo	Sobrevi- vencia %		
A	10	7	26	28	31	20.4	2	19.83 %		
B	37	6	17	12	5	15.4	2	14.97 %		
C	23	40	12	19	8	20.4	2	19.83 %		
ABC	10	38	19	13	11	18.2	2	17.69 %		
AB	16	29	8	8		15.25	2	14.82 %		
BC	27	18	12	13		17.5	2	17.01 %		
CA	21	11	17	5		13.5	2	13.12 %		
"1"	21	21	7	14		15.75	2	15.31 %		
A	11	7	21	14	0	10.6	4	10.30 %		
B	17	0	0	0	0	3.4	4	3.30 %		
C	0	0	0	0	0	0.0	4	0.00 %		
ABC	0	0	1	0	0	0.8	4	0.77 %		
AB	1	2	3	4		2.5	4	2.43 %		
BC	1	0	0	0		0.8	4	0.77 %		
CA	7	2	0	1		2.5	4	2.43 %		
"1"	0	0	0	0		0.0	4	0.00 %		

Tabla 3.- Continuación

Experimento II		* R é p l i c a s							
Alimento	r1	r2	r3	r4	r5	$\bar{X}$	# días Tiempo	Sobrevi- vencia %	
A	8	2	0	0	0	2.0	5	1.94 %	
B	2	0	0	0	0	0.4	5	0.86 %	
C	0	0	0	0	0	0.0	5	0.00 %	
ABC	0	0	0	0	0	0.0	5	0.00 %	
AB	0	0	0	0		0.0	5	0.00 %	
BC	0	0	0	0		0.0	5	0.00 %	
CA	2	0	0	0		0.5	5	0.48 %	
"1"	0	0	0	0		0.0	5	0.00 %	

r = Número de larvas de cada uno de los acuarios asignados por combinación con sus réplicas.

$\bar{X}$  = Promedio total de larvas vivas para cada alimento en el muestreador.

X = r<sub>i</sub>; donde i = 1, 2 .. 5 en las combinaciones A, B, C, y ABC; y de i = 1, 2 ... 4 en las combinaciones AB, BC, CA y "1".

Tiempo = Número de días de Experimentación.

Sobrevivencia % = Porcentaje de sobrevivencia larval de las diferentes dietas.

Tabla 3.- Continuación Análisis ANVA del Experimento II

Experimento II		Análisis " ANVA "						
ALIMENTO	A	B	C	ABC	AB	BC	CA	"1"
K (pendiente)	1.6	1.89	1.66	1.74	1.89	1.77	2.04	1.66
	0.76	1.11		1.53	1.17	1.53	1.17	
	0.98	1.15		1.43	0.81	1.41	0.73	
	0.35	0.73						
	0.77	0.90						
	1.61	1.25						
n	6	6	1	3	3	3	3	1
$\bar{K}$ (promedio)	1.01	1.17	1.66	1.57	1.28	1.57	1.31	1.66
$S^2$	0.253	0.59	0.00	0.025	0.305	0.034	0.444	0.00

Tabla 3-1 Análisis "ANVA" del Experimento II

Fuente de Variación	g l	SS Pendientes	MS	F s
Entre Grupos	7	1.30	.1857	.93
Intra Grupos	18	3.63	.2016	
Total	25	4.93		

En vista de este resultado los datos experimentales fueron tratados con el Test "A Priori" (Sokal y Rohlf, 1969) con la finalidad de realizar un análisis más profundo y buscando las diferencias entre tratamientos ya sea con los alimentos puros o combinados. El resultado de este Test, fué que todas las combinaciones no fueron significativamente distintas. (Anexo 2)

### EXPERIMENTO III

El procedimiento técnico fué muy parecido a los experimentos precedentes con algunas modificaciones en el tipo de alimento que se proporcionó. El 30 de Julio se inició la prueba y se terminó el 5 de Agosto.

Los alimentos fueron yema de huevo, comida de gato comercial y una alga colonial (Skeletonema costatum). El alga colonial se suministró inicialmente en densidades de 200,000 células/ml., ya que no fué posible mantenerla constante. Tampoco la comida de gato comercial se pudo homogenizar bien, por lo que, se tuvieron algunos inconvenientes; ya que este se aglutinaba en las paredes de las cajas alimentadoras.

A todas las combinaciones se les añadió ácido ascórbico en una proporción del 0.25% del peso del alimento seco. La administración se hizo a una velocidad de goteo de 1 ml/min. durante 48 horas. Al cabo de este lapso, el alimento se preparaba de nuevo y de tal forma que no hubiera una interrupción de más de media hora. Así se realizó en todos los experimentos de esta investigación. De cada alimento se pesaron 7.6 gr y se diluyeron en 9.333 l de agua de mar filtrada y esterilizada con rayos ultravioleta; manteniendo dentro del sistema una concentración de 0.007 gr/litro. válido para todos los experimentos menos el número VI.

No se tuvieron evidencias de muda, el sexto día fué crítico y las poblaciones de larvas murieron. (Tabla 4).

Las pendientes promedio de las diferentes combinaciones de el Experimento III fueron las siguientes:

Experimento III							
A	B	C	ABC	AB	BC	CA	"1"
$\bar{K}$ -.91	-1.24	-1.17	-1.04	-.82	-1.44	-.55	-.54

La gráfica correspondiente se muestra en la Fig. 6.

Los índices  $e^{-kt}$  fueron los siguientes:

Experimento III JULIO 30 - AGOSTO 5

COMBINACIONES DE ALIMENTOS

DIA	A	B	C	ABC	AB	BC	CA	"1"
0	1	1	1	1	1	1	1	1
1	.40	.28	.30	.35	.44	.24	.57	.56
3	.06	.02	.03	.04	.08	.01	.19	.00

Tabla 4.- Supervivencia de las larvas durante el Experimento III

Experimento III		* R é p l i c a s							
Alimento	r1	r2	r3	r4	r5	$\bar{X}$	#/ días Tiempo	Supervi- vencia %	
A	52	125	17	56	57	61.4	3	59.69 %	
B	66	35	27	43	25	39.2	3	38.11 %	
C	71	36	55	82	46	58.00	3	56.38 %	
ABC	55	38	23	20	35	34.2	3	33.25 %	
AB	32	19	17	43		27.75	3	26.97 %	
BC	76	19	48	18		40.25	3	39.13 %	
CA	72	81	45	33		57.75	3	56.14 %	
"1"	54	79	70	32		58.75	3	57.11 %	
A	2	1	0	0	13	3.20	5	3.11 %	
B	1	0	3	2	1	1.75	5	1.70 %	
C	1	0	0	0	0	0.20	5	0.19 %	
ABC	11	2	2	8	1	4.80	5	4.60 %	
AB	18	4	21	4		11.75	5	7.60 %	
BC	0	1	0	0		0.25	5	0.24 %	
CA	15	40	15	9		19.75	5	19.20 %	
"1"	1	1	0	0		0.50	5	0.48 %	

Tabla 4.- Continuación Análisis Estadístico ANVA del Experimento III

Experimento III		Análisis " ANVA "						
ALIMENTO	A	B	C	ABC	AB	BC	CA	"1"
K (pendientes)	0.54	0.94	0.56	1.10	1.30	0.99	0.56	0.54
	0.99	1.30	1.30	1.03	0.73	1.53	0.55	
	1.24	1.49	1.67	1.00	0.45	1.80	0.55	
n	3	3	3	3	3	3	3	1
$\bar{K}$ (promedio)	0.91	1.24	1.18	1.04	0.83	1.44	0.55	0.54
$S^2$	0.138	0.076	0.319	0.002	0.188	0.170	0.00003	

## EXPERIMENTO III

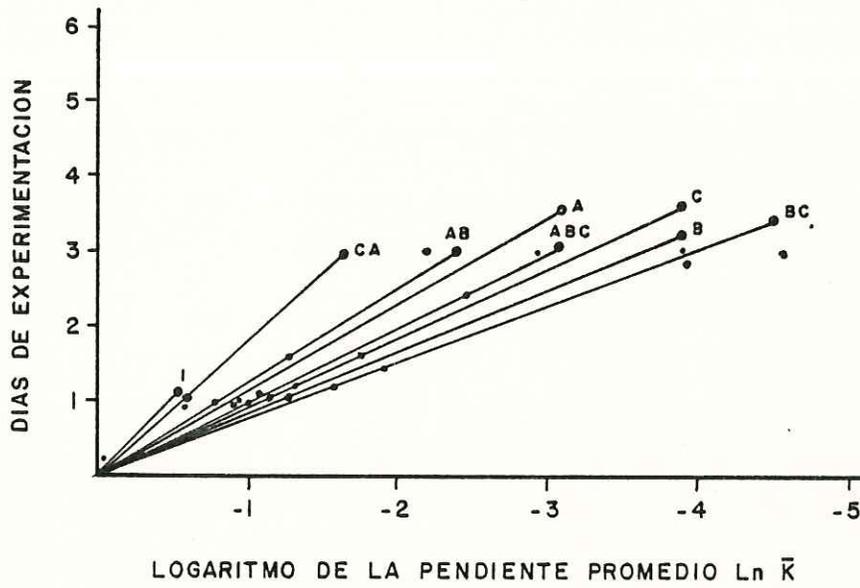


FIG.6.- CONTRASTACION DE LAS PENDIENTES PROMEDIO ( $\ln K$ ) DE LOS ALIMENTOS Y LOS DIAS DE EXPERIMENTACION  
 A=Yema de Huevo; B=Comida de gato C= Skeletonema costatum.

Tabla 5.- Análisis " A PRIORI " para mostrar la mejor combinación del Experimento III

Experimento III ANALISIS "A PRIORI"								
Alimento	A	B	C	ABC	AB	BC	CA	"1"
A	o	o	o	o	*	o	*	*
B	*	*	*	*	*	*	*	*
C	o	o	o	o	*	o	**	*
ABC	o	*	o	o	*	o	**	*
AB	*	*	*	*	*	*	o	*
BC	o	*	o	o	*	o	**	*
CA	**	**	**	**	**	**	**	**
"1"	*	*	*	*	*	*	*	o

\* Significativo

\*\* Altamente significativo

o No Significativo

El Análisis de Varianza para este Experimento indicó que para la probabilidad del 0.05% no fué significativo;  $F_{0.05}(7;14) = 2.76$   $F_s = 1.9795$  si  $F$  es mayor que  $F_s$  no se rechaza  $H_0$  (Tabla 4-1).

Tabla 4 - i Análisis ANVA del Experimento III

Fuente de Variación	gl	SS	MS	F <sub>s</sub>
Entre Grupos	7	1.76	.2514	1.9795
Intra Grupos	14	1.7892	.1278	
Total	21	3.549		

Aún teniendo el resultado de ANVA no significativo, se aplicó el Test "A Priori" de comparación entre medias, con  $F_{0.05}(1;14) = 4.60$  y  $F_s = 12,222$ . Siendo el resultado significativo se rechazó  $H_0$  y se acepta una diferencia entre las combinaciones, que se expresan en la siguiente Tabla.

Tabla 5-1 Análisis "A Priori" Experimento III

Combinación de Alimento	F <sub>s</sub> Pendientes	F (Teoría)	MS	Valor
B vs todos	12.222	$F_{0.05}(1,14) = 4.60$	.1278	Significativo
A vs ABC	.0234	$F_{0.05}(1,14) = 4.60$	.1278	No significativo
A vs AB	.009	$F_{0.05}(1,14) = 4.60$	.1278	No significativo
Testigo vs todos	3.7997	$F_{0.05}(1,14) = 4.60$	.1278	No significativo
CA vs todos	20.564	$F_{0.001}(1,14) = 17.1$	.1278	Altamente signifvo.
AB vs todos	16.694	$F_{0.005}(1,14) = 11.1$	.1278	Significativo
AB vs CA	.0970	$F_{0.05}(1,14) = 4.60$	.1278	No significativo

## EXPERIMENTO IV

Este se inició el 10 de Agosto y se probaron los siguientes alimentos: yema de huevo, un macerado de huevos de jaiba y un compuesto en polvo de nombre Protein 96.

El oxígeno y la temperatura oscilaron entre 4-5 ppm y 22-23 grados Celsius.

Los muestreos se hicieron el 11 y el 13 de Agosto. (Tabla 6).

Durante este, y los experimentos anteriores se siguió teniendo problemas con la decantación de los alimentos dentro de las cajas alimentadoras, lo que llevó a modificar el sistema, instalando un mecanismo especial que consistió en una paleta de acrílico movida mecánicamente por un pequeño motor (Foto 4).

Las pendientes promedio de las diferentes combinaciones fueron:

## Experimento IV

	A	B	C	ABC	AB	BC	CA	"1"
$\bar{K}$	-.78	-1.19	-.21	-.88	-.64	-1.09	-.71	-1.08

La gráfica correspondiente se muestra en la Fig. 7, y el índice  $e^{-kt}$  obtenido de la pendiente promedio y de los días de experimentación a continuación:

## Experimento IV

AGOSTO 10-13 1979

## COMBINACION DE ALIMENTOS

DIA	A	B	C	ABC	AB	BC	CA	"1"
0	1	1	1	1	1	1	1	1
1	.45	.30	.81	.41	.52	.33	.49	1
3	.096	.028	-	.071	.14	.037	.119	.038

EXPERIMENTO IV

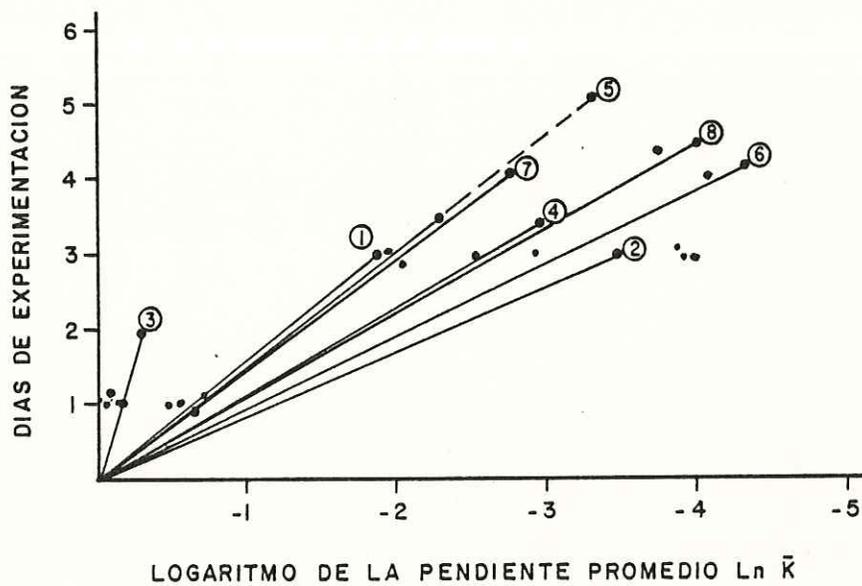


FIG.7.- CONTRASTACION DE LAS PENDIENTES PROMEDIO DE LOS ALIMENTOS Y LOS DIAS DE EXPERIMENTACION.  
 A= Yema de Huevo; B= Macerado de huevos de Jaiba; C= Protein 96.

Tabla 6.- Sobrevivencia de las larvas del Experimento IV

Experimento IV		R é p l i c a s							
Alimentos	r1	r2	r3	r4	r5	$\bar{X}$	#/días Tiempo	Sobreviven- cia %	
A	78	108	21	112	16	67.0	3	65.13 %	
B	79	21	66	60	46	54.4	3	52.88 %	
C	74	93	132	62	56	83.4	3	81.00 %	
ABC	70	59	89	56	45	63.8	3	62.02 %	
AB	80	80	29	36		56.25	3	54.68 %	
BC	74	115	131	68		97.0	3	94.30 %	
CA	67	76	149	100		98.0	3	95.27 %	
"1"	145	99	104	66		103.5	3	100.00 %	
A	11	28	7	0	24	14.0	5	13.61 %	
B	2	0	2	0	4	1.6	5	1.55 %	
C	1	2	0	0	0	0.6	5	0.58 %	
ABC	7	7	10	2	2	5.6	5	5.44 %	
AB	8	8	28	20		16.0	5	15.55 %	
BC	0	0	2	3		1.25	5	1.21 %	
CA	10	8	8	8		8.5	5	8.26 %	
"1"	0	0	6	1		1.75	5	1.70 %	

El Análisis de Varianza formulado para este experimento, con una probabilidad del 0.05% indicó que  $F_{0.05}(7, 13) = 2.83$ ;  $F_s = 1.073$ , por lo que se aceptó la Hipótesis nula (Tabla 6+1).

Tabla 6-1 Análisis de ANVA del Experimento IV

Fuente de Variación	g l	SS	MS	Fs Calculada
Entre Grupos	7	2.232	.3188	1.0736
Intra Grupos	13	3.862	.2975	
Total	20	6.094		

Posterior a este resultado se estimó hacer una prueba de comparación entre medias con el Test "A Priori", el cual con 0.05% de probabilidad no fué significativa y se aceptó la  $H_0$ . (Anexo 2).

#### EXPERIMENTO V

Con mucha antelación a la iniciación de los experimentos, se trajeron animales para adaptarlos a los cambios de las condiciones imperantes en el laboratorio. Una de las hembras fué fecundada el ocho de mayo de 1979 y el desove se produjo el tres de Diciembre. Las larvas eclosionaron el 14 del mismo mes y con ellas se inició este experimento, en el cual se utilizaron 5,000 larvas por acuario. Como alimento se proporcionó yema de huevo, Protein 96 y una combinación de harinas, de soya, maíz y trigo. Además se agregó Colesterol en una concentración del 0.5% del peso seco del alimento (com. pers. J. Patrois). El 16 de Diciembre se modificaron las concentraciones de alimento sumi-

nistrado al sistema ya que se observó graves problemas de colmatación en las mallas de gran parte de los acuarios, por lo que el recambio de agua era ineficiente. La modificación realizada fué disminuir la concentración del alimento de 0.814 gr/l a 0.114 gr/l, y la proporción de Colesterol se modificó a 0.0053 gr., ya que éste se incorpora en función del peso seco del alimento. Ante estos problemas se detuvo el experimento y las larvas fueron sustituidas por otras que habían eclosionado el mismo día del mismo progenitor y que se conservaban en un estanque adicional.

El 18 de Diciembre se llevó a cabo el segundo muestreo y solo en cuatro acuarios de 36, se encontró el 2% de sobrevivencia. Se decidió dar por terminado el experimento el 19 de Diciembre, del cual no se obtuvo suficiente información como para someterlo a un Test estadístico.

#### EXPERIMENTO VI

Con otra hembra que también había sido aclimatada a las condiciones del laboratorio y que había sido fecundada el 13 de Mayo, se obtuvieron las larvas el 21 de Enero de 1980, después de haber desovado el 26 de Diciembre.

El experimento se condujo a 17.8 grados Celsius y el oxígeno disuelto fué alrededor de 8.7 ppm, ahora más elevado, después de haber modificado el sistema con una instalación extra de aireación en la torre del agua. (Fig. 3-16a).

Los alimentos ensayados en esta oportunidad fueron yema de huevo, Protein 96 y un alimento vivo que en este caso fué el Rotífero Brachionus plicatilis.

Este experimento duró 15 días, es decir hasta el 5 de Febrero. Los muestreos se hicieron los días 25, 28, 30 de Enero, 1° y 5 de Febrero. El 8 de este mes, se registraron los acuarios en los cuales se sabía, en base a los controles anteriores, que había larvas vivas para verificar el estadio en que se encontraban.

Para la técnica del cultivo del Rotífero se siguieron las indicaciones de Theilacker, (1971) y a medida que la concentración de los animales iba aumentando, la dosificación en los acuarios se incrementaba. Las densidades de Rotíferos administrados al cultivo se presentan en el siguiente cuadro donde se mantuvo el criterio, de que pese a que las larvas disminuían en el tiempo; los Rotíferos eran adicionados como si existiera una población constante, de tal manera que al menos hubiera un Rotífero por Zoea como se muestra a continuación:

Fecha	Rotíferos: Larvas						
	A	B	C	ABC	AB	BC	CA
25 de Enero	0	2:1	0	1:1	1:1	1:1	0
27 de Enero	0	7:1	0	2.5:1	3.5:1	3.5:1	0
28 de Enero	0	11:1	0	3.6:1	5.5:1	5.5:1	0
2 de Febrero	0	12:1	0	4:1	6:1	6:1	0
4 de Febrero	0	20:1	0	7:1	10:1	10:1	0

A= Yema de huevo; B= Rotíferos; C= Protein 96.

Como un avance interesante en todos los experimentos realizados, se pudo comprobar la existencia de ecdycis en este cultivo, llegándose al estadio de Zoea II; el día 1° de Febrero y Zoea III el 8 del mismo mes. El estado de desarrollo larval fué comprobado en el laboratorio en base a la identificación de Mir (1961).

En general la supervivencia fué menor del 1%, sin embargo, en tres de los acuarios de la combinación AB y en un acuario de B, se pudieron evidenciar las mudas. (Tabla 7).

Las pendientes promedio de las diferentes combinaciones fueron graficadas para su posterior comparación y se muestran a continuación:

## EXPERIMENTO VI

	A	B	C	ABC	AB	BC	CA	"1"
$\bar{K}$	-1.02	-.62	-1.32	-1.9	-.50	-.74	-.80	-2.3

Con las pendientes promedio y el tiempo (días de experimentación) se hizo la gráfica que se muestra en la Fig. 8.

Además con la pendiente promedio obtenida de cada alimento considerando  $t$  (días de experimentación) se obtuvo el índice  $e^{-kt}$ :

## Experimento VI

ENERO 23 - FEBRERO 8 1980

## COMBINACION DE ALIMENTOS

DIA	A	B	C	ABC	AB	BC	CA	"1"
0	1	1	1	1	1	1	1	1
2	.36	.54	.071	.02	.37	.23	.20	.010
3				.003				
4	-	-	.005	.0005	-	-	-	-
5	-	.04	-	-	.08	-	-	-
7	-	.013	-	-	.03	.006	-	-

Tabla 7.- Supervivencia de las larvas del Experimento VI

Experimento VI		R é p l i c a s							
Alimentos	r1	r2	r3	r4	r5	$\bar{X}$	#/días Tiempo	Supervivencia %	
A	8	6	2	9	7	6.4	4	12.44 %	
B	14	7	2	8	11	8.4	4	16.33 %	
C	2	1	1	5	1	2.0	4	3.88 %	
ABC	13	10	2	14	10	9.8	4	19.05 %	
AB	7	11	2	23		10.75	4	20.90 %	
BC	9	6	6	4		6.25	4	12.15 %	
CA	10	10	13	8		10.25	4	19.93 %	
"1"	0	1	0	0		0.25	4	00.48 %	
A	0	0	0	0	0	0.00	7	0.00 %	
B	2	1	10	0	0	2.6	7	5.05 %	
C	0	0	0	0	0	0.0	7	0.00 %	
ABC	1	1	0	0	0	0.4	7	0.77 %	
AB	2	3	2	2		2.25	7	4.37 %	
BC	0	0	0	0		0.00	7	0.00 %	
CA	0	0	0	0		0.00	7	0.00 %	
"1"	0	0	0	0		0.00	7	0.00 %	

## EXPERIMENTO VI

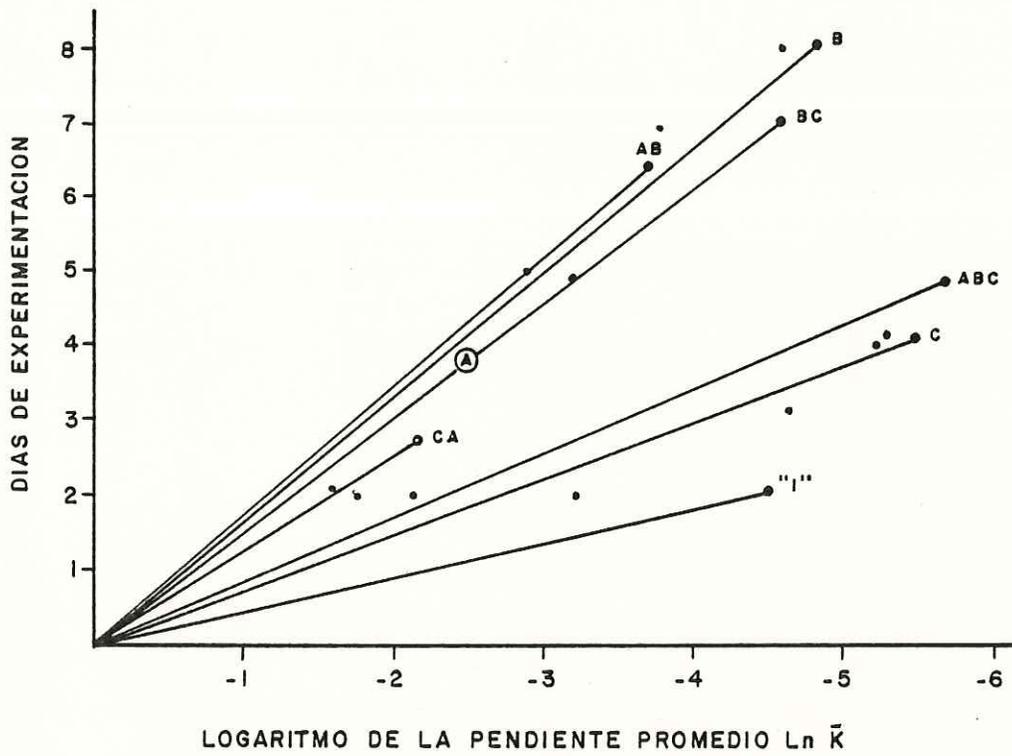


FIG.8.- CONTRASTACION DE LAS PENDIENTES PROMEDIO DE LOS ALIMENTOS Y LOS DIAS DE EXPERIMENTACION.

A= Yema de Huevo; B= *Brachionus plicatilis*, C=Protein 96, "I" testigo.

Siguiendo el mismo procedimiento, se analizaron los datos por medio de un Análisis de Varianza Simple que reportó con una probabilidad del 0.05% ser significativo.  $F = 0.05 (6,17) = 2.70$ ,  $F_s = 3.45$  como es  $F$  menor que  $F_s$  se rechazó la Hipótesis Nula (Tabla 7).

Tabla 7-1 Análisis ANVA del Experimento VI				
Fuente de Variación	gl	SS (pendientes)	MS	F <sub>s</sub> (Tablas)
Ehtre Grupos	6	4.350	0.7250	3.4491
Intra Grupos	17	3.574	0.2102	
Total	23	7.924		

Para un ANVA significativo se eligió un Test de Comparación múltiple de medias (prueba Student - Newman - Keuls o A Posteriori). (Sokal, 1969) (Tabla 8).

Tabla 8-1 Análisis A Posteriori del Experimento VI					
Combinación/ Alimento	LSR	F	gl	Ms	Valor
AB vs ABC	4.3387	2.70	(5,17)	.2702	significativo
B vs C	4.1959	2.96	(4,17)	.2702	significativo
BC vs C	6.4279	3.20	(3,17)	.2102	significativo
CA, A, "1" *					no significatvo

LSR= rango mínimo de significancia

gl= grados de libertad

F= distribución-F en honor a R. A. Fisher

Tabla 8-1 Análisis estadístico "A POSTERIORI" para la mejor combinación del Experimento VI

Experimento VI		ANALISIS "A POSTERIORI "						
Alimentos	A	B	C	ABC	AB	BC	CA	"1"
A	°	°	°	°	°	°	°	°
B	°	°	*	°	°	°	°	°
C	°	*	°	°	°	*	°	°
ABC	°	°	°	°	*	°	°	°
AB	°	°	°	*	°	°	°	°
BC	°	°	*	°	°	°	°	°
CA	°	°	°	°	°	°	°	°
"1"	°	°	°	°	°	°	°	°

\* = Significativo

° = No Significativo

## VI.- DISCUSION.

La investigación experimental de cultivos de larvas ha tenido en el transcurso del tiempo aproximaciones científicas cada vez más estrechas en el sentido de la calidad con que se plantean los problemas a resolver, esto ha significado también la aplicación de técnicas cada vez más complejas atrayendo experiencias de trabajo y análisis generados en otras ramas de la Ciencia. En esta forma y teniendo más probabilidades de éxito, las investigaciones se han proyectado a ideas pragmáticas de utilización racional de los Recursos, en beneficio de la Comunidad Humana.

Es en este sentido que la investigación que aquí se presenta tiene aspectos aparentemente complejos como fueron los sistemas experimentales descritos anteriormente. El sistema que se construyó ofreció la posibilidad de trabajar de una manera más eficiente y rápida, ya que en la realización de la investigación se invirtió menor tiempo que si se hubiera hecho tradicionalmente, esto es, rastreando cada parámetro separadamente.

Un componente que se considera importante para este proyecto, fueron las bombas peristálticas con las cuales se pudo administrar el alimento a los cultivos, de una manera tal, que se aseguraba la cantidad de los alimentos que se proporcionaron. Si bien los aparatos funcionaron perfectamente, hubo problemas en la mantención de la homogenización de los alimentos dentro de el "sistema de alimentación". Un error de apreciación en la concentración de los alimentos trajo consigo un ruido experimental que pudo ser verificado posteriormente.

La falta de experiencia en el manejo de material biológico, se reflejó en los primeros experimentos al transferir las larvas del estanque de desove al sistema experimental. Este problema fué disminuyendo conforme se tuvieron más experiencias y se mejoraron las técnicas. Así fué claramente evidente, que con material biológico adaptado a las condiciones de laboratorio, desde el apareamiento hasta la eclosión de las larvas, hubo una mayor supervivencia como se observó en el Experimento VI. Esto indica que la experiencia en el manejo, como en la procedencia del material biológico, son dos elementos importantes en el éxito de un cultivo. No es menos trascendental la elección de la especie a cultivar que si bien puede ser de importancia económica como Cancer antennarius, también puede presentar serios problemas en su cultivo, en contraposición al cultivo de las larvas de Artemia salina, que son de fácil manejo y con una alta sobrevivencia.

Las apreciaciones anteriores fueron evidentes cuando en el Experimento I se tuvo que establecer una densidad inicial conocida de larvas, para lo cual fué necesario ir concentrando a las larvas a un volúmen reducido y sometidas consecuentemente a un fuerte manejo. A pesar que en este Experimento no hubo sobrevivencia, significó el esclarecimiento de varias pautas que se aplicaron en los Experimentos sucesivos.

El ensayo preliminar del Experimento I, significó aplicar una mayor atención en la realización del Experimento II, en el cual se puso mayor cuidado, especialmente en el transporte de los progenitores, previniéndose que el volúmen de agua en que se recibían las larvas, fuera suficiente pero no excesivo, de tal manera de evitar demasiado manejo en la obtención de la densidad requerida para los acua-

rios del sistema. Durante este experimento, los problemas que se presentaron estuvieron en mayor grado en la administración de los alimentos que se preparaban cada 36 horas, lo que originó durante el ensayo, decantación y descomposición de la levadura y de la almeja fresca.

La excesiva decantación creaba problemas en el bombeo, ya que obstruía las mangueras y detenía el trabajo de los cassettes, pudiendo causar daños en las bombas peristálticas. Por estas razones se consideró conveniente cambiar para el Experimento III los alimentos; utilizando comida para gato (anexo 1) molida y una alga colonial Skeletonema costatum.

Estos dos alimentos tampoco fueron los más adecuados como se esperaba. La comida de gato se aglutinó y la concentración del alga colonial fué decrementándose rápidamente. A pesar de la densidad variable de esta última, al combinarla con la yema de huevo, tuvo una influencia positiva con respecto a la sobrevivencia. Como se comprobó con el análisis estadístico. Siendo altamente significativo al efecto de esta combinación con respecto a las demás. (Tabla 3-1).

Se administró vitamina C, pero, no se pudo comprobar su efecto por medio de un Test estadístico (Tabla 2), ni tampoco de manera indirecta, por medio de la observación experimental ya que no se tuvo evidencia de muda.

El experimento IV se hizo inmediatamente después y estuvo condicionado por la eclosión de las larvas de otra jaiba. Los resultados de este experimento mostraron una ligera diferencia en el número de larvas vivas en el último muestreo, siendo mejor en los acuarios con la combinación de la yema de huevo y el macerado de huevos de jaiba. Pero ésta evidencia no es estadísticamente significativa (Tabla 6-1).

En el experimento V, en el cual se eliminó el problema de la falta de homogenización de los alimentos, se hizo evidente que la concentración propuesta hasta ese momento que era de 0.007 gr/l fué excesiva y que en los acuarios no se lograba eliminar con eficiencia los desechos, lo que posiblemente fuera un factor relevante en la Mortalidad observada al quinto día de experimentación.

Debido a que los problemas técnicos, así como aquellos originados por la falta de experiencia, exigían mayor atención el problema de la concentración de los alimentos estaba enmascarado y por esto fué el último en ser descubierto. Por lo tanto, la concentración se modificó, disminuyéndola a 0,001 gr/l, que fué probada en el Experimento VI y en el cual se observó que las condiciones del cultivo mejoraron.

También se hizo otra modificación importante en cuanto a los alimentos ya que, hasta este momento se había intentado aprovechar alimentos baratos, fáciles de obtener y principalmente no vivos; de tal manera de no tener un cultivo para otro cultivo.

En vista de los resultados que se habían tenido y que solo la yema de huevo había probado tener cualidades alimenticias para las larvas, se decidió probar el Rotífero Brachionus plicatilis.

Estas modificaciones hicieron posible incrementar el tiempo de duración del experimento y permitió la verificación de mudas, en los acuarios con la combinación de yema de huevo más el Rotífero y en un acuario donde solo se probó B. plicatilis las larvas alcanzaron el estadio de Zoea III.

Esta apreciación experimental fué comprobada estadísticamente y el efecto de esta combinación fué significativa (Tabla 8-1).

Cabe hacer notar que otros autores estiman que para los cultivos de Zoeas se necesita una gran cantidad de B. plicatilis para poder alimentar a un solo estanque, lo cual es poco práctico para los trabajos experimentales de cultivos direccionados a la Acuicultura (Kitaka, 1975).

En los dos últimos experimentos en los que se agregó Colesterol, elemento muy importante para la ecdisis según Morris y Sargent, (1973), no se pudo afirmar que éste haya tenido un efecto significativo porque sólo en el último hubo evidencia de mudas, lo que significa que no sea una prueba confiable de su efecto.

Las proposiciones de los alimentos, del Colesterol y la vitamina C utilizados durante este trabajo, estuvieron regidos por la información bibliográfica y sugerencias verbales.

Los resultados obtenidos de las combinaciones de los alimentos probados, es hasta cierto punto, lo que se esperaba, ya que en general en los cultivos de crustáceos; los alimentos vivos son los que han demostrado ofrecer mayor viabilidad.

Una importante consideración es que los alimentos vivos utilizados en este trabajo, se vieron mejorados cuando se administraron en combinación con yema de huevo. También se comprobó que el alga colonial como el Rotífero, eran más eficientes combinados que cuando eran administrados de manera única como sucedió en los Experimentos III y VI. (Tablas 5-1 y 8-1).

Aunque en general, se sabe por otros estudios que la mortalidad en el cultivo de *Cancer spp.* en la primera etapa de pre-Zoea a Zoea I es del 70% (Poole, 1966) y (Trask, 1969) y de un 50% en el estadio de Zoea V, que es cuando ocurre la metamorfosis al estadio de Megalopa (Trask, 1969), este autor también sugiere que pueda ser debido a las

dificultades que tiene la larva al salir de el exoesqueleto. Otros autores suponen que la presencia de microbios epibióticos son los responsables de la mortalidad larval en la naturaleza (Fisher y Wickham, 1976).

Durante los experimentos que aquí se hicieron con Cancer antennarius, se tuvieron mortalidades mayores que estos porcentajes, además de no haberse logrado llegar concluir con todas las etapas de desarrollo.

También se indica en otros trabajos que la mortalidad en el laboratorio, es causada por enfermedades de tipo bacteriano que impiden el intercambio gaseoso ya sea a travez de la membrana de el huevo y en la etapa larval, en las membranas de las branquias; o bién por que formas filamentosas aprisionan los apéndices de las larvas (Nilson et all, 1975).

Para trabajar los resultados se recurrió a varios Test de Análisis de Varianza, desde el ANVA simple, Test "A Priori" al Test "A Posteriori" por la razón de que el modelo Teórico propuesto inicialmente (ANEXO 2), no pudo ser utilizado, debido a la Mortalidad tan grande que se tuvo. A pesar de esto, el Modelo podrá ser aplicable cuando se logre maximizar las cualidades del sistema y se suavicen las pendientes de sobrevivencia de los cultivos.

Los resultados de este estudio, presentan las bases para iniciar lo que puede llegar a ser una Biotecnia para el cultivo masivo de larvas de Cancer antennarius, como también de otros invertebrados de importancia comercial o potencial. Si se consideran las mejores combinaciones de los alimentos obtenidos en esta investigación, es posible que variando su concentración en las combinaciones más relevantes se mejoren los resultados notoriamente. Por otra parte la búsqueda -

de nuevos alimentos y sus combinaciones ampliará el horizonte a la consecución de futuras Biotecnias.

## VI.- AGRADECIMIENTOS

La uatora de esta Tesis desea manifestar:

De una manera muy especial, a mi Maestro Dr. Fernando Buckle R., quien llevó mas allá su responsabilidad como Director de Tesis, siendo un amigo, compañero de trabajo y guía en todo momento, durante la realización de este proyecto.

Al Dr. Robert Ogden, Maestro de la Unidad de Ciencias Marinas, sus más sinceros agradecimientos por toda la ayuda que recibiera durante las valiosas discusiones y análisis del modelo que sugirió para la realización de este trabajo.

A mi Maestro, Oceanólogo Victor Gendrop Funes, por sus recomendaciones y estímulos en la Investigación.

A mis compañeros Fernando Aceves, Alberto Gastelú y Gustavo de Ita, por su valiosa cooperación en diferentes aspectos del desarrollo del trabajo experimental.

A mi compañero P.O. Carlos Granados por su valiosa aportación para la obtención de los cultivos de microalgas.

A mi compañera P.O. Ivette Vaillard por su apoyo y valioso intercambio de ideas en la parte estadística.

A Ma. Luisa Gil de Franco por su paciencia, dedicación y amistad en la parte mecanográfica de este proyecto.

A los Pescadores de la Cooperativa Ensenada y al P.O. Antonio - Farías, deseo agradecer profundamente por su ayuda en la obtención de material biológico, como así mismo por lanarración de sus interesantes observaciones en el continuo contacto con el mar.

A la Unidad de Ciencias Marinas y en particular al Instituto de Investigaciones Oceanológicas, quien a travez de su Coordinador el Ocean. Jesús Druk Gonzalez, sustentara económicamente este Proyecto.

A la Secretaría de Educación Pública (S.E.P.) quién por medio del Proyecto 06 apoyara en algunos aspectos materiales importantes la construcción del Sistema Experimental.

VII.- LITERATURA CITADA

- Anderson, W.R. and Ford, R. F., 1976. Early development, growth and survival of the yellow crab Cancer anthonyi Rathbun (DECAPODA BRACHYURA) in the laboratory Aquaculture, 7; 267-279.
- Belman B. W. and James J. Childress. 1973. Oxygen consumption of the lobster Panulirus interruptus (Randall) and the crab Cancer productus (Randall). Comp. Biochem. Physiol., Vol. 44-A, pp821-828.
- Bennett D.B. 1973, The effect of limb loss and regeneration on the growth of the edible crab, Cancer pagurus, L. J. exp. Mar. Biol. Ecol. Vol. 13, pp45-53.
- Buchanan, D. V., R. E. Millemann. 1969. The prezoal stage of Dungeness crab, Cancer magister Dana. Reference: Biol. Bull., 137 (25): 250-255.
- Buchanan, D. V., R. E. Millemann, and N. E. Stewart. 1970, Effects of the insecticide Sevin on various stages of the Dungeness crab, Cancer magister. J. Fish. Res. Board. Can 27:93-104.
- Buckle F., Guisado CH., Tarifeño E., Zuleta A., Cordova L., Serano C., Maldonado R., 1976. Estudios biológicos del Erizo Loxechinus albus, (Molina) (Echinoidea Echinodermata) Biol. Pesq. Chile No. 8 pp 31-64.
- Camacho A.J. 1973. Modificación de trampas langosteras para captura de jaibas y cangrejos en Eaja California S.I.C., I.N.P./S.D.:1.
- Cochran G. W. y Cox M.G. 1976. Diseños experimentales Edit. Trillas - Mex. 1976.
- Cochran G. W. 1978. Técnicas de muestreo C.E.C.S.A. pp 105-112.
- Fisher W. S., and D. E. Wickham. 1976. Mortalities and epibiotic fouling of eggs from wild population of the Dungeness crab, Cancer magister. Fish Bull. (US) 74: 201-207.
- Fisher W. S., and R.T. Nelson. 1977 Therapeutic treatment for epibiotic fouling on Dungeness crab (Cancer magister), larvae reared in the laboratory. J. Fish Res. Board Can. 34: 432-436.
- Gotshall D.W. 1978. Relative abundance studies of the Dungeness crabs. Cancer magister, in Northern California. Calif. Fish Game 64 (1): 24-37.
- Heafer P.A., 1977. Aspects of the biology of the crab, Cancer borealis Stimpson. 1859 in the Mid-Atlantic Right. J. Nat. Hist., 11: 303-320.

- Hartnoll R. G. 1974. Variation in growth pattern between some secondary sexual characters in crabs. (Decapoda Brachyura. Crustaceana 27 (2) E. J. Brill Leiden.
- Jørgensen Barker 1954. Quantitative aspects of filter feeding in Invertebrates. Biol. Review, 30 pp. 301-453.
- Kittaka J. 1975. Food and growth of Penaeid Shrimp. Proceedings of the First International conference on Aquaculture Nutrition.
- Lasser, G.W. and Allen, W. V., 1976. The essential amino acid requirements of the Dungeness crab, Cancer magister, Aquaculture, 7:235-244.
- Mir Robert. D. 1961. The external morphology of the first zoeal stages of the crabs, Cancer magister Dana, Cancer antennarius Stimpson, and Cancer anthonyi Rathbun. California Fish and Game. 47 (I): 103-111.
- Morris, R. J. and J.R. Sargent 1973. Studies on the lipid metabolism of some oceanic crustaceans. Mar. Biol. 22:73-83.
- Nilson, E.H., W.S. Fisher, and R. A. Shleser, 1975. Filamentous infestations observed on eggs and larvae of cultured crustaceans. Proc. 6<sup>th</sup> World Mariculture Soc. 6:367-375.
- Poole R. L. 1966. A description of laboratory reared zoeae of Cancer magister Dana and megalopae taken under natural conditions (Decapoda Brachyura). Crustaceana 11:83-97.
- Reed. P.H. 1969. Culture methods and effects of temperature and salinity on survival and growth of Dungeness crab (Cancer magister) Larvae in the laboratory. J. Fish. Res. Board Can 26:389-397.
- Roesijadi Guritno, 1976. Descriptions of the Prezoeae of Cancer magister (Dana) and Cancer productus (Randall) and the larval stages of Cancer antennarius (Stimpson) (Decapoda, Brachyura). Crustaceana 31 (3):
- Rohlf F. J. Sokal R. R. Statistical Tables 1969. Freeman Edit. 168-198.
- Sastry A. N. 1977. The larval development of the rock crab, Cancer (a) irroratus Say, 1817, under laboratory conditions. (Decapoda Brachyura) Crustaceana 32 (2),
- Sastry A. N. 1977. The larval development of the jonah crab, Cancer (b) borealis Stimpson, 1859 under laboratory conditions (Decapoda Brachyura) Crustaceana 32 (3)
- Scheffler W.C. 1969. Statistics for the biological Sciences. Addison Wesley Publishing Company, pp 104-113.
- Snedecor W.G. and Cochran G. W. 1973. Statistical Methods the IOWA State University Press Ames, IOWA USA, 1973.

- Snedecor G.W. Cochran W.G., 1978. *Metodos Estadísticos C.E.C.S.A.* pp 513-520.
- Sokal R.R. Rohlf F. J. 1969. *Biometry*. San Francisco. Freeman and Company. pp 205-246.
- Statistical Methods in Biology*. 1959. London the English Universities Press, LTD London, ECA.
- Theilacker, 1971, Brachionus plicatilis and its evaluation as a food for larval anchovies. *International Journal on Life in Oceans and Coastal Waters*. Vol. 10, No. 2, July 1971, : 183-188.
- Trask Thomas, 1970. A description of laboratory-reared larvae of Cancer productus Randall (Decapoda, Brachyura) and a comparison to larvae of Cancer magister Dana. *Crustaceana* 18 (2): 133-146.
- Vargo S. L. and A. N. Sastry 1977. Acute temperature and low dissolved oxygen tolerances of Brachyuran (Cancer irroratus) Larvae. *Marine Biology* 40: 165-171.
- Welsh, Jamex P. Mariculture of the crab Cancer magister (Dana) utilizing fish and crustacean wastes as food. Humboldt State University. COM-74-11247.

VIII.- APENDICE

ANEXO 1.- Composición química de algunos alimentos proporcionados  
en ésta investigación.

PROTEIN 96

Proteína (libre de humedad)

N x 6.25            96.5 %

Proteína (N x 6.25) 91.8 %

Dispersabilidad en el agua 80 - 90 %

Aminoácidos típicos

Arginina	2280 mg	Fenilalanina	1590 mg
Cistina	300 mg	Treonina	1080 mg
Histidina	750 mg	Triptófano	420 mg
Isoleucina	1410 mg	Tirosina	1110 mg
Lisina	2310 mg	Valina	1410 mg
Metionina	330 mg		
Yema de huevo	(*)		
Almeja fresca	(**)		

	Peso/gr	Proteína	Grasa	Carbohidratos	Cal.
(*)	15	3	6	0	66
(**)	50	7	0	2	32

Indice de valor alimenticio

Skeletonema costatum            3.30            (Modificado de Walne 1970)

## ALIMENTO PARA GATO:

## Purina Cat Chow. Main Meal

Proteína cruda	30 %
Grasa	8 %
Fibra cruda	4.5 %
Mezcla	12 %
Calcio	1.2 %
Fósforo	1. %
Sal (NaCl)	1.5 %

Ingredientes: Trigo, maíz, soya, gluten de maíz, grasa animal, carne de pollo, de pescado, levadura seca, germen de trigo, vitaminas A, D<sub>3</sub>, E, y B<sub>12</sub>.

	Peso/gr.	Proteína	Grasa	Carbohidratos	Cal.
HARINA DE TRIGO	-	4.05	8.27	4.12	-
HARINA DE MAIZ	-	3.45	8.37	4.16	-
HARINA DE SOYA	100	37.3	3.9	40.2	331

VIII.- APENDICE

## ANEXO 2.- Pruebas estadísticas utilizadas en los resultados experimentales.

Análisis de Varianza.- A los resultados de sobrevivencia (número de larvas/ día) para cada combinación de alimento fueron transformados a logaritmos naturales, con el objeto de ajustarlos a una distribución normal.

Se graficaron y se calculó la pendiente para cada uno de los alimentos probados por experimento. Estas pendientes fueron comparadas por medio de un Análisis de Varianza (ANVA) para confirmar si la variabilidad de los resultados era debida al efecto de los alimentos y sus combinaciones o debida a error experimental. Resolviéndose el ANVA por el método descrito para un solo factor (alimento) con diferentes números de observaciones (debido a la mortalidad) por combinación (Sokal y Rohlf, 1969).

Las fórmulas para la prueba son:

Fuente de variación	g.l.	SC	CM
entre grupos	a-1	$\frac{a}{n} \left( \sum x \right)^2 / n - \left( \sum \sum x \right)^2 / n$	SC/a-1
error	$n - a$	total - entre grupos	SC/ $n - a$
Total	n - 1	$\sum \sum x^2 - \left( \sum \sum x \right)^2 / n$	

a = Número de tratamientos (combinaciones de alimentos).

n = Número de observaciones en cada tratamiento k promedio de sobrevivencia expresado por su pendiente.

g.l.= Grados de libertad.

SC = Suma de cuadrados.

CM = Cuadrado medio.

La prueba de significancia utilizada fué la prueba "F" y  $F_s$  calculada.

$F_s = \text{CM entre tratamientos} / \text{CM del error.}$

$F_s$  es comparada con los valores para  $F (a-1, n-a)$  donde  $\alpha =$  nivel de confianza.

$a-1 =$  Número de tratamientos.

$n-a =$  Número total de observaciones -  $a$ .

Si  $F (a-1, n-a)$  mayor que  $F_s$  se rechaza  $H_0$ .

$H_0 =$  No hay diferencia significativa entre tratamientos.

Cuando el ANVA preliminar demostró que las diferencias fueron significativas, se llevó a cabo una comparación más fina del efecto de los diferentes alimentos por medio de la prueba "A Posteriori Student Newman Keuls (SNK) (Sokal y Rohlf, 1969). Esta prueba difiere del ANVA en que se comparan promedios y no varianzas.

El procedimiento consiste en calcular las diferencias entre los promedios que se quieren comparar. Para que estas diferencias sean significativas deben ser iguales o mayores que el Rango Mínimo de Significancia (LSR).

$LSR = Q (a,r) \text{ CM del error. } n_1+n_2 / (n_1) (n_2)$

donde:

$a =$  número de promedios a comparar

$n =$  número de observaciones a partir de las cuales se obtuvo el promedio.

$s =$  varianza

$Q (k,r) =$  valor crítico del rango "studentizado" para los  $k$ . promedios.

Cuando el ANVA no detecta diferencias significativas entre los tratamientos, se empleó el método de comparaciones "A Priori"; este método es aplicado independientemente de los resultados del ANVA preliminar.

Recibiendo este nombre debido a que, las comparaciones son planeadas independiente de los resultados. Es decir se hacen todas las combinaciones posibles.

El procedimiento consiste en que para  $k$  grupos de tamaño  $n_i$  se toma la suma de cada grupo, se eleva al cuadrado y se divide por su tamaño muestral  $n_i$ , sumando posteriormente los  $k$  cocientes así obtenidos.

De la suma de estos cocientes total se sustrae un Término de corrección (CT), el cual será la suma total de todos los grupos del ANVA que se comparan, cantidad elevada al cuadrado y dividida por el número de datos de esta suma total.

$$\text{donde CT} = \frac{(\sum \sum Y)^2}{a \sum n_i}$$

$a$  = número de tratamientos

$n$  = número de observaciones

Si la comparación implica todos los términos del ANVA, el CT será el mismo del Análisis de Varianza preliminar. Si por otra parte la comparación implica únicamente a algunos grupos del ANVA, el término de corrección será diferente. Se calcula a partir de los grupos comparados.

$$\frac{(\sum Y_c)^2}{n_c} + \frac{(\sum Y_p + \sum Y_m)^2}{n_p + n_m} = \text{CT}$$

donde:

$\sum Y_x$  = suma de el control "1"

$\sum Y_m$  = suma de los alimentos combinados AB, BC, CA, y ABC

$\sum Y_p$  = suma de los alimentos puros A, B y C.

$n_c$  = número de observaciones.

VIII.- APENDICE

ANEXO 3.- Cálculo estadístico para el volúmen de el muestreador utilizado en los muestreos experimentales.

1.- Se encontró una ecuación que conecta a  $n$  con la precisión deseada.

Esta ecuación varía de acuerdo a la indicación de la precisión y al tipo de muestreo que se considere. Una de las ventajas del muestreo probabilístico es la posibilidad que sea constuida esta ecuación.

2.- El valor elegido de  $n$  debe ser considerado para probar si es consistente con los recursos disponibles para tomar la muestra.

Las unidades son clasificadas en dos clases,  $C$  y  $C'$ . Se ha convenido en algún margen de error " $d$ " en la proporción estimada " $p$ " de unidades pertenecientes a la clase  $C$  y hay un pequeño riesgo alfa que se esta dispuesto a correr de que el error real sea mayor que " $d$ "; es decir:

$$\Pr (p-P \geq d) = \text{alfa}$$

Se supone un muestreo simple aleatorio y se considera que " $p$ " se distribuye normalmente.

$p = \frac{N - n}{N - 1} \frac{PQ}{n}$  por lo tanto, la fórmula que conecta a  $n$  con el grado de precisión deseado es:

$$d = t \frac{N - n}{N - 1} \frac{PQ}{n} = 0.015$$

En donde " $t$ " es la abcisa en un punto que separa una área alfa en los extremos de la distribución. Resolviéndose para  $n$ :

$$n = \frac{t^2 PQ}{1 + 1/N + t^2 PQ - 1}$$

para uso práctico, se sustituye un estimador adelantado  $p$  de  $P$ . Si  $N$  es grande, una primera aproximación es:

$$n_o = \frac{T^2 pq}{d^2} = \frac{pq}{V} \quad \text{donde } V = \frac{d^2}{t^2} = \text{Varianza deseada de la proporción muestral.}$$

N = cantidad de larvas inicial en cada uno de los acuarios expresada en milímetros = 3500 ml número de larvas 10,000.

n = Cantidad necesaria para que el muestreador sea representativo de la población de larvas / acuario = 36 ml.

d = margen de error = 0.15 = 15 %.

P y p representan porcentajes en la muestra y en la población, de unidades que caen en la clase C.

p y q estimadores de P y Q donde (p+q)= 1 distribución de la probabilidad esperada. (Cochran W.G. 1978).