



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

ESCUELA SUPERIOR DE CIENCIAS MARINAS



**Efecto de la Temperatura y Salinidad en el Crecimiento
y Alimentación de *Bulla gouldiana* (GASTEROPODA:
OPISTHOBANCHIA), en Condiciones Controladas.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

OCEANOLOGO

P R E S E N T A

Luis Manuel Gomez Diaz Duran

Ensenada, B. C., Septiembre de 1985

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

ESCUELA SUPERIOR DE CIENCIAS MARINAS

"EFECTO DE LA TEMPERATURA Y SALINIDAD EN EL CRECIMIENTO
Y ALIMENTACION DE *Eulla gouldiana* (GASTEROPODA:
OPISTHOBRANCHIA), EN CONDICIONES CONTROLADAS."

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
O C E A N O L O G O
PRESENTA:
LUIS MANUEL COMEZ DIAZ DURAN

ENSENADA, B.C., SEPTIEMBRE DE 1985.

RESUMEN

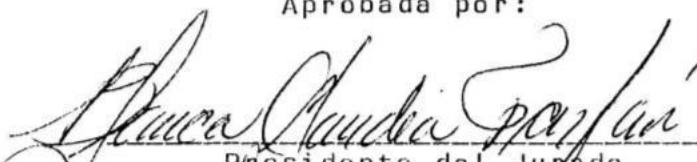
Mediante un sistema experimental factorial con valores prefijados de temperatura y salinidad de 18, 24 y 28 ± 1 °C y 25, 33 y 42 ± 1 o/oo, respectivamente, se estableció el efecto de estas variables ambientales en el crecimiento, asimilación e ingestión de los organismos juveniles y adultos de *Bulla gouldiana* alimentados con una dieta de composición vegetal. En los juveniles también se estimaron estas respuestas fisiológicas utilizando una dieta de composición mixta. El modelo de superficies de respuesta utilizado para el análisis de la información, indicó que en los organismos adultos la eficiencia de asimilación respondió exclusivamente y en forma casi lineal al factor salinidad. Se estimaron valores promedios de 33, 44 y 52 % de eficiencia a salinidades de 25, 33 y 42 o/oo, respectivamente. La tasa de ingestión media en los adultos fue afectada significativamente por la temperatura y la salinidad. En los juveniles las variables ambientales no influyeron esta respuesta fisiológica. En el rango de 21 a 27 °C, independientemente de la salinidad, ocurrieron las mayores tasas de crecimiento diario en los juveniles. En los adultos, este rango fue más amplio (18-28 °C) pero modificado por el efecto de la salinidad. A temperaturas mayores de 24 °C, la producción de desoves llegó a representar hasta un 70 % del incremento total en peso seco. Los juveniles alimentados con la dieta mixta presentaron mayores tasas de crecimiento e ingestión media. Los resultados obtenidos en crecimiento, frecuencia de desoves e ingestión, así como la composición bioquímica de los ingredientes utilizados en la preparación de las dietas indican que éstas son de buena calidad, sin embargo, las bajas eficiencias de asimilación estimadas las hacen inadecuadas para propósitos de cultivo masivo.

EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y SALINIDAD EN EL CRECIMIENTO
Y ALIMENTACION DE Bulla gouldiana (GASTEROPODA:
OPISTOBRANCHIA), EN CONDICIONES CONTROLADAS.

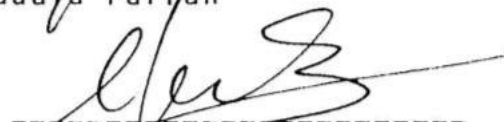
T E S I S
QUE PRESENTA:

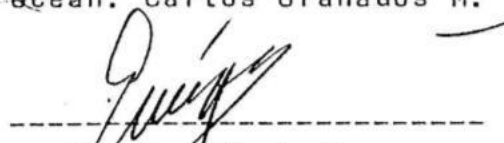
LUIS MANUEL GOMEZ DIAZ DURAN

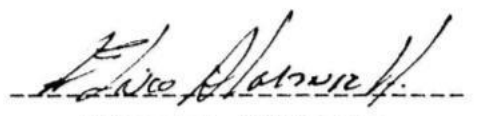
Aprobada por:


Presidente del Jurado
M. en C. Blanca Claudia Farfán


Sinodal Propietario
Ocean. Carlos Granados H.


Sinodal Propietario
Dra. Elizabeth Orellana C.


Sinodal Suplente
Ocean. Roberto Enriquez A.


Sinodal Suplente
Ocean. Eliseo Almanza H.

DEDICATORIA

Con cariño a mis padres

Guadalupe Díaz Durán y Servideo Gómez Moure

Por su apoyo y respeto en mis decisiones

A mis hermanos

Felipe de Jesus

Elizabeth

Fernando

Sofía

Carlos Alberto

Rosa Isela

Adriana

A mis familiares

AGRADECIMIENTOS

A mi directora de tesis M. en C. Blanca Claudia Farfán por su valiosa asesoría, apoyo y tiempo dedicado para el mejor desarrollo de este trabajo, así como por haber contribuido positivamente a mi formación académica.

Al Dr. L. Fernando Bückle Ramírez por sus críticas positivas y continuo interés durante la realización de esta tesis.

A los integrantes del comite de tesis por sus comentarios y atinadas correcciones para el mejoramiento de la misma.

A los Ocean. Gabriel Carrillo, Erika del Castillo y Biol. Liliana Salgado por su ayuda prestada durante el desarrollo experimental de este trabajo.

A los integrantes de la sección de Acuicultura del C.I.C.E.S.E. por su compañerismo y ayuda, particularmente a los técnicos Francisco Valenzuela y Norberto Flores.

A mis amigos Gabriel Carrillo, Arturo Siqueiros, Javier Orduña, Jorge Ramírez, Guillermo Pozos y Pilar Mayanz por su ayuda y valiosas sugerencias en el desarrollo de este trabajo.

Al CONACYT por la ayuda económica parcial otorgada mediante una beca-crédito para la realización de esta tesis.

INDICE

1	INTRODUCCION.....	1
2	OBJETIVOS.....	5
3	MATERIALES Y METODOS.....	6
3.1	BIOENSAYOS DE CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA.....	8
3.1.1	ORGANISMOS ADULTOS.....	8
3.1.2	ORGANISMOS JUVENILES.....	11
3.2	BIOENSAYOS DE DIGESTIBILIDAD.....	12
3.2.1	ORGANISMOS ADULTOS.....	12
3.2.2	ORGANISMOS JUVENILES.....	14
3.3	ELABORACION DE LAS DIETAS.....	14
3.4	SISTEMA DE ACUARIOS.....	15
3.5	MANTENIMIENTO DEL SISTEMA.....	16
3.6	TRATAMIENTO ESTADISTICO.....	17
4	RESULTADOS.....	19
4.1	VARIABLES FISICOQUIMICAS.....	19
4.2	TASA DE ASIMILACION.....	26
4.3	TASA DE INGESTION.....	31
4.3.1	ORGANISMOS JUVENILES.....	31
4.3.2	ORGANISMOS ADULTOS.....	31
4.4	TASA DE ENGORDA.....	39
4.4.1	ORGANISMOS JUVENILES.....	39
4.4.2	ORGANISMOS ADULTOS.....	47
5	DISCUSION.....	54
6	CONCLUSIONES.....	63
7	LITERATURA CITADA.....	65
8	APENDICE I.....	72
9	APENDICE II.....	73

FIGURA

PAG.

1	Vista lateral del sistema experimental.....	9
2	Variación de la temperatura durante las fases experimentales juvenil y adulto en los diferentes acuarios.....	20
3	Variación de la salinidad a lo largo del período experimental en los diferentes acuarios. Organismos juveniles y adultos.....	21
4	Variación de la concentración de oxígeno por acuario durante las fases experimentales. Organismos juveniles y adultos.....	23
5	Superficie de respuesta de la eficiencia de asimilación (%) en función de la temperatura y salinidad en los organismos adultos de <u>Bulla</u> <u>gouldiana</u>	28
6	Efecto individual de la temperatura (A) y salinidad (B) en la eficiencia de asimilación en los organismos adultos de <u>B. gouldiana</u>	30
7	Variación de la tasa de ingestión media, en peso seco de los organismos adultos de <u>B. gouldiana</u> respecto al tiempo de tratamiento.....	35
8	Superficie de respuesta de la tasa de ingestión en peso seco en función de la temperatura y salinidad en los organismos adultos de <u>B.</u> <u>gouldiana</u>	36

- 9 Efecto individual de la temperatura (A) y
 salinidad (B) en la tasa de ingestión media, en
 peso seco de los organismos adultos de *B. gouldiana*.....38
- 10 Superficie de respuesta de la tasa de engorda
 (mg/día) en función de la temperatura y salinidad
 en los organismos juveniles de *B. gouldiana*
 alimentados con la dieta vegetal (A) y mixta (B)...42
- 11 Efecto individual de la temperatura en la tasa de
 engorda (mg/día), en peso seco, de los organismos
 juveniles de *B. gouldiana* alimentados con la
 dieta vegetal (A) y mixta (B).....44
- 12 Efecto individual de la salinidad en la tasa de
 engorda (mg/día), en peso seco, de los organismos
 juveniles de *B. gouldiana* alimentados con las
 dietas vegetal (A) y mixta (B).....45
- 13 Superficie de respuesta de la tasa de engorda
 (mg/día), en peso seco, en función de la
 temperatura y salinidad. Crecimiento corporal(A)
 y crecimiento más desoves (B).....50
- 14 Efecto individual de la temperatura (A) y
 en la tasa de engorda (incluido el desove), en
 peso seco, de los organismos adultos de *Bulla*
 gouldiana. los valores se expresan en mg/día.....53

Tabla	Pag.
I	Esquema del sistema factorial utilizado..... 7
II	Estadísticas del potencial de hidrógeno (pH) por acuuario durante la fase juvenil y adulta.....24
III	Estadísticas de los valores de la concentración de amoniaco registradas en los diferentes acuarios de la fase juvenil (A) y adulta (B).....25
IV	Estadísticas del porcentaje de asimilación por tratamiento para los organismos adultos.....27
V	Análisis de varianza de tres vías. Eficiencia de asimilación.....27
VI	Estadísticas de los valores calculados de la tasa de ingestión para los organismos juveniles en los diferentes tratamientos . Dieta vegetal (A) y mixta (B). los valores se expresan como g/g/día...32
VII	Análisis de varianza de tres vías. Tasa de ingestión en los organismos juveniles de <i>B. gouldiana</i>32
VIII	Tasas de ingestión promedio y sus respectivas estadísticas en los diferentes tratamientos. Organismos adultos.....33
IX	Análisis de varianza de tres vías. Tasa de ingestión en los organismos adultos.....33
X	Estadísticas de la tasa de engorda en peso seco para los organismos juveniles alimentados con la dieta vegetal (A) y mixta (B).....40

XI	Análisis de varianza no paramétrico de tres vías.	
	Tasa de engorda en los organismos juveniles.....	41
XII	Porcentaje de sobrevivencia por acuario de los organismos juveniles alimentados con las dietas vegetal y mixta y adultos.....	47
XIII	Tasa de engorda media (incluido el desove) y sus respectivas estadísticas para los organismos adultos de <i>E. gouldiana</i>	48
XIV	Análisis de varianza de dos vías. Tasa de engorda (incluido el desove) en los organismos adultos de <i>E. gouldiana</i>	48

1 INTRODUCCION

Dentro de los moluscos, la clase más amplia y diversa es la gasterópoda, la cual incluye organismos de forma y hábitos tan variables como los caracoles, lapas y abulones entre otros (Johnson y Snook, 1955).

Bulla gouldiana es un gasterópodo opistobranquio que habita las planicies lodosas de entremareas, marisma y esteros de mangle. Su distribución geográfica se extiende desde el sur de California hasta el sur del Ecuador (Brusca, 1980).

B. gouldiana es abundante en las planicies lodosas de Baja California, de rápido crecimiento, resistente a la manipulación y a condiciones ambientales severas. Además, bajo condiciones controladas se reproduce prácticamente todo el año a intervalos de 5-15 días. Como en la mayoría de los moluscos, el número de huevos producido por desove es de varios órdenes de magnitud (Bückle-Ramírez y Farfán, com. pers.)*.

* Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (C.I.C.E.S.E.), Espinoza # 843, Ensenada, B.C.

Las características biológicas antes mencionadas hacen de *B. gouldiana* un individuo potencial para la producción de proteína animal a bajo costo (Bardach *et al.*, 1972) para consumo humano y como fuente de alimento vivo para especies comercialmente importantes (Lasker *et al.*, 1970). Además, debido al gran tamaño de sus neuronas, sencillez del sistema nervioso y reproducción hermafrodita, *B. gouldiana* es un organismo ideal para estudios neurofisiológicos (Block y Davenport, 1982), por lo cual sería conveniente desarrollar una metodología para su mantenimiento y cultivo en condiciones controladas.

Estudios biológicos específicos sobre *B. gouldiana* son escasos (Robles, 1975a, 1975b, 1978; Block y Davenport, 1982). De éstos destaca el de Robles (1975a) quien describe la anatomía y morfología funcional del sistema reproductivo. Algunos estudios sobre la clase Opisthobranchia tratan aspectos generales de carácter anatómico, ecológico, etológico y de alimentación natural de *B. gouldiana* (Johnson y Snook, 1955; McGinitie y McGinitie, 1949; Abbot, 1954, Paine, 1963; Ghiselin, 1966; Ricketts y Calvin, 1968; Allen, 1969). En cuanto al cultivo de esta especie, la información disponible se reduce a una guía general desarrollada por Lasker y co-autores (1970) para manipular térmicamente su tasa de desarrollo larval, a fin de optimizar su utilización como alimento vivo en el cultivo de

Engraulis mordax.

La ausencia de información ecofisiológica básica aunada a la necesidad del desarrollo de una técnica de cultivo en este organismo, ha motivado al grupo de Acuicultura del C.I.C.E.S.E. a la realización de estos estudios, del cual forma parte el presente trabajo. Un primer paso en la visualización de una biotécnica viable lo constituye la evaluación de los potenciales reproductivo y de crecimiento, variables fisiológicas críticas en el cultivo de una especie.

En invertebrados marinos y de aguas salobre, dichas respuestas fisiológicas varían con la edad, estado fisiológico y condiciones ambientales, entre estas últimas nutrición, temperatura y salinidad se consideran las variables más decisivas (Kinne, 1971). En la mayoría de los invertebrados marinos, tanto la reproducción como el crecimiento se encuentran restringidos a rangos de temperatura y salinidad menores que sus límites de tolerancia, y dentro de éstos, es común detectar máximos bien localizados. Dado que estas variables ambientales generalmente no actúan independientemente, la aproximación experimental factorial es la más indicada para la ubicación de los máximos fisiológicos (Alderdice, 1972), mismos que determinados durante la ontogenia del organismo, pueden

utilizarse para el diseño de estrategias óptimas de cultivo.

Por otra parte, el alimento suministrado también afecta notablemente las tasas reproductivas y de crecimiento del organismo. Para la evaluación completa de una dieta natural o artificial además de los elementos anteriores se requiere determinar las tasas metabólicas, de ingestión y asimilación, respuestas fisiológicas complejas que a su vez son afectadas por las variables ambientales temperatura y salinidad, y cuya integración permiten determinar el flujo total de energía. En cultivos masivos de carácter comercial, donde el rápido crecimiento y máxima eficiencia de conversión en tejido corporal son objetivos primarios, los estudios orientados a la selección de dietas que provean estas características son básicos.

2 OBJETIVOS

En el contexto de estudios ecofisiológicos orientados al desarrollo de una biotécnica para el cultivo de Bulla gouldiana los objetivos de este estudio son:

A) Establecer el efecto de las variables temperatura y salinidad en las tasas de crecimiento, ingestión y asimilación en organismos adultos alimentados con una dieta vegetal, utilizando una aproximación experimental factorial consistente en las combinaciones producto de tres niveles de temperatura y salinidad.

B) Utilizar dos dietas de diferente composición, una vegetal y otra mixta, en organismos juveniles y comparar, bajo el mismo sistema factorial, el efecto de la temperatura y salinidad sobre las respuestas de crecimiento, ingestión y asimilación.

3 MATERIALES Y METODOS

Los organismos utilizados en este estudio fueron colectados en las planicies lodosas del Estero de Punta Banda, B.C. y llevados al laboratorio de Acuicultura del C.I.C.E.S.E., en cubetas de plástico con agua de mar y sustrato lodoso para disminuir el "stress" debido al transporte.

Para estimar el efecto de la temperatura y la salinidad en las tasas de ingestión, asimilación y crecimiento de *Bulla gouldiana*, se diseñó un sistema experimental factorial 3X3 con valores prefijados de temperatura y salinidad de 18, 24 y $28 \pm 1^\circ\text{C}$ y 25, 33 y 42 o/oo respectivamente (Tabla I).

Dado que los límites de tolerancia de temperatura y salinidad para *B. gouldiana* aún no han sido determinados, los criterios para seleccionar los rangos utilizados en este estudio fueron: la necesidad de probar valores lo suficientemente espaciados para poder observar diferencias en las variables fisiológicas de interés; mediciones de temperatura y salinidad de las pozas de entremarea del sitio de colecta y las limitantes impuestas por los equipos

Tabla I.- Esquema del sistema factorial utilizado.

		TEMPERATURA (°C)		
		18	24	28
SALINIDAD (‰)	25	ACUARIO A	ACUARIO D	ACUARIO G
	33	ACUARIO B	ACUARIO E	ACUARIO H
	42	ACUARIO C	ACUARIO F	ACUARIO I

disponibles.

El desarrollo experimental se llevó a cabo en dos estadios del ciclo de vida de *E. gouldiana*: adultos y juveniles.

Cada experimento constó de dos partes:

1. Bioensayos de crecimiento y sobrevivencia y
2. Bioensayos de digestibilidad.

3.1 BIOENSAYOS DE CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA.

3.1.1 ORGANISMOS ADULTOS

La talla de los organismos adultos seleccionados para los bioensayos estuvo comprendida entre los 2 y 3 cm. Cada organismo fue colocado en un recipiente de plástico y en grupos de 10 se distribuyeron en los nueve acuarios correspondientes a las combinaciones de temperatura y salinidad prefijadas. En la figura 1 se indica la disposición física de tres de estos acuarios conteniendo los recipientes individuales antes mencionados.

Después de un período de acondicionamiento de siete días, los organismos fueron medidos con un vernier (± 0.01 cm) y pesados en una balanza Mettler HL52 (± 0.1 mg). Los

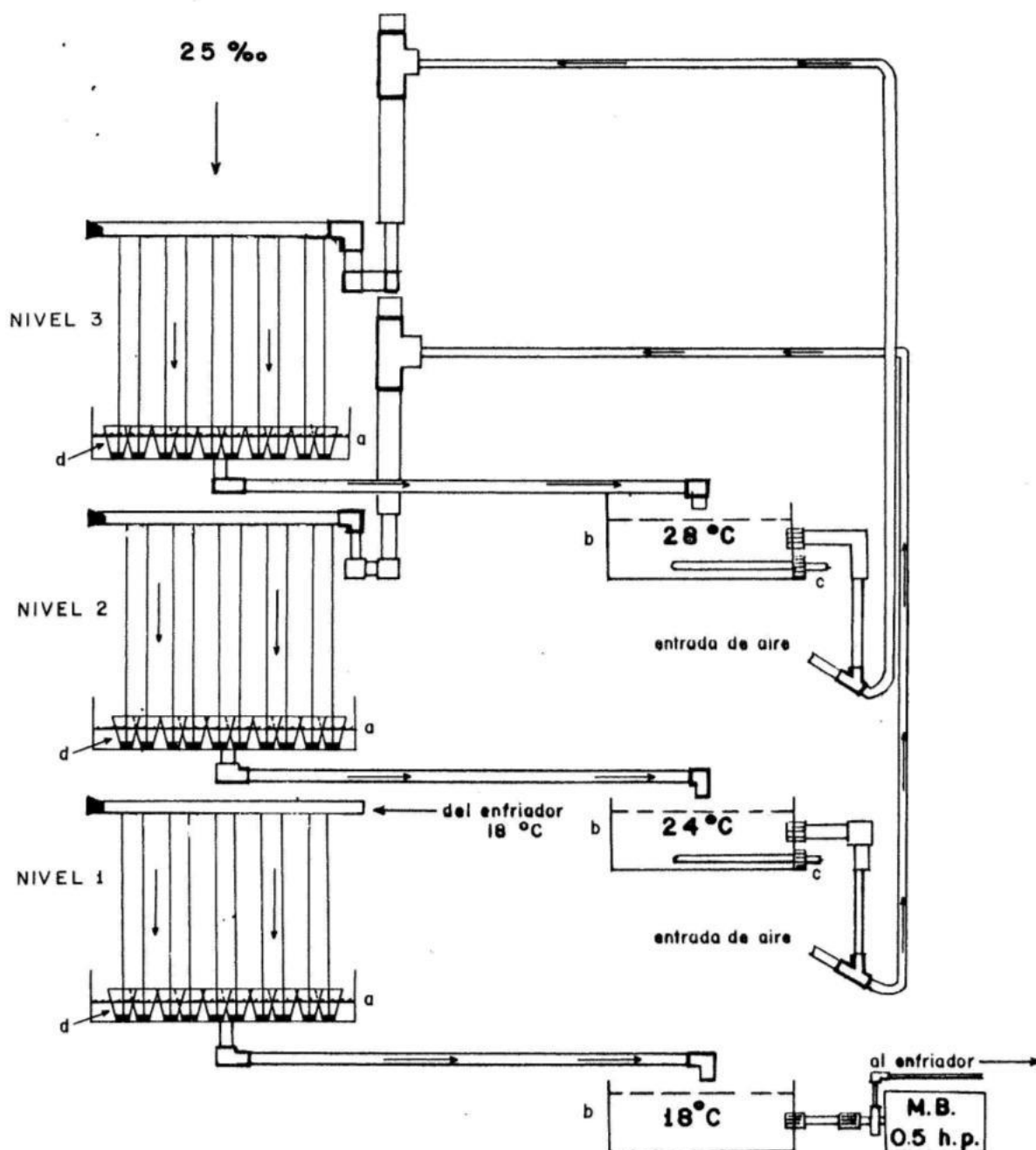


Fig. 1.- Vista lateral del sistema experimental. Cada nivel se compone de tres juegos de acuarios correspondientes a cada una de las temperaturas empleadas (se muestra sólo una salinidad). a= acuario anterior; b= acuario posterior; c= calentador de inmersión; d= recipientes de plástico; MB= motobomba. Las flechas indican el flujo del agua.

recipientes que los contenían se marcaron para su posterior identificación. Al detectar la muerte de algún organismo, éste fue retirado, anotándose en el registro la fecha de ocurrencia, peso y longitud final.

El alimento proporcionado a los organismos adultos fué la dieta vegetal (Apéndice I), la cual fue suministrado diariamente "ad libitum". Para reducir al mínimo el incremento en concentración de amoniaco del medio, las heces fecales y el alimento sobrante eran retiradas cada mañana antes de proporcionarles la nueva ración. En los casos en que se observaron concentraciones mayores de 0.1 mg/l, según recomienda Spotte (1979) para organismos marinos, se realizó un reemplazamiento total o parcial del agua en el tratamiento correspondiente.

Las tasas de crecimiento se reportan como el incremento diario en peso seco observado durante el período experimental cuya duración fue de 37 días. Los pesos secos inicial y final se estimaron a partir de los pesos húmedos determinados. Las relaciones funcionales inicial y final entre estas variables se establecieron mediante el modelo de regresión lineal simple (Sokal y Rohlf, 1966), en el primer caso se sacrificaron 30 organismos de la población recién colectada y en el segundo, 25 especímenes utilizando 2-3 organismos provenientes de cada uno de los nueve

tratamientos. También fue necesario estimar el peso seco de los desoves ocurridos durante el período experimental, éstos se estimaron en función del volumen desplazado, utilizando para ello el ajuste lineal de estas variables a partir de 15 desoves.

En todos los casos el secado de las muestras se realizó en un horno de convección Blue M a 60 °C hasta peso constante.

El porcentaje de sobrevivencia se calculó mediante la expresión:

$$\% \text{ sobrevivencia} = \frac{\text{población final}}{\text{población inicial}} \times 100$$

3.1.2 ORGANISMOS JUVENILES

Durante esta fase experimental, cuya duración fue de 44 días, además de determinar el efecto de la temperatura y salinidad en las tasas de crecimiento diario, se experimentó con dos dietas, la dieta vegetal utilizada con los adultos y una mixta. En el Apéndice I se muestra su composición proximal.

Juveniles de *B. gouldiana*, con talla de 0.9-1.3 cm, al igual que los adultos, se colocaron en recipientes de

plástico (175 ml de capacidad) cubiertos en la parte superior con una malla de alambre para permitir la circulación del agua y evitar el escape de los mismos. A diferencia del bioensayo anterior, los juveniles (seis por dieta) fueron colocados en un mismo recipiente por tratamiento. La identificación de éstos se hizo mediante el marcado de un número sobre la concha del caracol.

3.2 BIOENSAYOS DE DIGESTIBILIDAD

3.2.1 ORGANISMOS ADULTOS

Los bioensayos de digestibilidad realizados comprenden mediciones de la tasa de ingestión (I) y de eficiencia de asimilación (EA) en función de temperatura y salinidad. Además, para determinar si dichas tasas fisiológicas en *B. gouldiana* son afectadas por el tiempo de tratamiento, se realizaron ocho ensayos a lo largo del período experimental.

En cada tratamiento las determinaciones se hicieron por triplicado. A los organismos seleccionados para este propósito se les proporcionó el alimento previamente pesado. Este permaneció en los recipientes por 24 horas, al término de los cuales las heces y sobrantes de alimento fueron separados manualmente y filtrados en filtros de fibra de vidrio Watman GF/C previamente incinerados y pesados.

El contenido orgánico seco de heces y alimento se determinó por diferencias gravimétricas (Crisp, 1971), mediante el secado de las muestras a peso constante (60 °C) e incineradas a 500 °C en una mufla Lindberg Moldatherm por ocho horas, tiempo determinado previamente para alcanzar el peso constante.

La eficiencia de asimilación (EA) fue calculada mediante la siguiente fórmula (Conover, 1966a):

$$EA = \frac{E}{(1 - E) F} \times 100$$

Donde: EA = Eficiencia de asimilación (en %)

F = Razón de peso orgánico seco a peso seco en el alimento ingerido.

E = Razón de peso orgánico seco a peso seco en las heces fecales.

La tasa de ingestión diaria (I), en unidades de peso seco, se calculó a partir de la siguiente expresión:

$$I = \frac{\text{Peso del alimento ofrecido} - \text{Peso del alimento sobrante}}{\text{Peso del organismo}}$$

3.2.2 ORGANISMOS JUVENILES

Esta fase sólo comprendió un ensayo de digestibilidad. Debido a fallas en el desarrollo experimental, no fue posible calcular la eficiencia de asimilación en las dietas utilizadas. Unicamente se reporta el efecto combinado de la temperatura y la salinidad en las tasas de ingestión correspondientes a las dietas vegetal y mixta.

3.3 ELABORACION DE LAS DIETAS

Dado que *B. gouldiana* es alimentador de depósito (McGinitie y McGinitie, 1949), se infiere tiene la capacidad de digerir un amplio espectro de alimentos, por lo cual los criterios para seleccionar los ingredientes utilizados en la preparación de las dos dietas experimentales, vegetal y mixta, fueron: Disponibilidad, fácil manejo y complementación cualitativa en términos de aminoácidos (Apéndice II). En cuanto a la proporción de ingredientes se consideró conveniente que las mezclas resultantes tuvieran contenidos protéico y calóricos próximos a 30 % y 4 Kcal/g (en peso seco), niveles recomendados en las dietas de una variedad de organismos acuáticos (Halver, 1976).

La composición de las dietas experimentales vegetal y

mixta, respectivamente fue:

1. Gluten: *Enteromorpha* sp.: harina de trigo
(en proporciones de 1:1:0.5, respectivamente)
2. Gluten: *Enteromorpha* sp.: alimento para
perro (marca comercial Rosco): harina de trigo
(en proporciones de 1:0.5:1:0.5, respectivamente).

Los ingredientes fueron secados, molidos, mezclados e hidratados hasta formar una masa fina y homogénea, a partir de la cual se hicieron "pellets" de pesos constantes. Como ligante se utilizó agar (10 % del peso total de la mezcla seca).

La composición proximal de las dietas (Apéndice I) fue estimada a partir de la composición de los ingredientes.

3.4 SISTEMA EXPERIMENTAL

El sistema experimental diseñado constaba de tres niveles correspondientes a cada una de las temperaturas experimentales (Fig. 1). A su vez, cada nivel estaba compuesto de tres juegos de acuarios pertenecientes a las tres salinidades empleadas.

Cada juego de acuarios, constituido de un acuario anterior y otro posterior, tenía una capacidad total de

recirculación de 20 lts. El flujo de agua se impulsaba a través de conductos de plástico y PVC mediante aire inyectado (niveles 2 y 3) y motobombas de 0.5 H.P. (nivel 1), del acuario situado en la parte posterior al anterior. Este flujo llegaba directamente a los recipientes que contenían a los organismos y por rebozamiento pasaba nuevamente al acuario posterior, donde se controlaba la temperatura.

Debido a que durante el período experimental con los organismos adultos las concentraciones de amoníaco registraron incrementos significativos, para la fase experimental con los organismos juveniles el sistema cerrado originalmente diseñado se modificó a un sistema semi-abierto, de tal forma que la cantidad total de agua fuese renovada una vez al día.

3.5 MANTENIMIENTO DEL SISTEMA

Las temperaturas de 24 y 28 °C se controlaron mediante calentadores de inmersión con termostato situados en el acuario posterior. El agua circulante de los acuarios del nivel 1 (18 °C) se hacía pasar a través de intercambiadores de calor inmersos en una mezcla de agua destilada y glicerina (20:1) cuya temperatura se mantenía a 14 °C mediante recirculación a un enfriador Lauda K4R.

Las salinidades de 42 y 25 o/oo se lograron utilizando sal artificial "Instant Ocean" y diluciones con agua dulce.

Se llevó un control (dos veces al día, mañana y tarde) de la temperatura y salinidad del sistema. Tres veces a la semana se hicieron mediciones de la concentración de oxígeno disuelto y potencial de hidrógeno (pH). Estas variables se determinaron utilizando respectivamente los siguientes instrumentos: termómetro de cubeta (± 0.05 °C), refractómetro/salinómetro Golberg AO (± 1 o/oo), oxímetro YSI (± 0.05 ml/l) y potenciómetro digital Hath DR44 (± 0.01). Asimismo, se analizó la concentración de amoníaco mediante un microprocesador de iones digital Orion-901 con sensibilidad de ± 0.001 M.

3.6 TRATAMIENTO ESTADISTICO

Con el objeto de establecer si la variabilidad observada en las tasas fisiológicas fue debida al efecto de los factores considerados (temperatura-salinidad y dieta o tiempo de tratamiento), los resultados se procesaron utilizando análisis de varianza (ANVA) de dos o tres vías según fuera el caso. Las hipótesis en las que se basa este análisis fueron comprobadas previo a su realización: la prueba de Bartlett se aplicó para comprobar la homogeneidad de varianzas y la de Kolmogorov-Smirnov ó ji-cuadrada para

la normalidad de los datos (Sokal y Rohlf, 1966).

Los datos de crecimiento en los organismos juveniles, no cumplieron estos requisitos, por lo que se procedió a la realización de una prueba no paramétrica de tres vías.

Para conocer la relación funcional entre las variables fisiológicas y los parámetros ambientales temperatura y salinidad, los valores promedio de las respuestas fisiológicas se ajustaron a un polinomio de segundo grado (Snedecor y Cochran, 1978). A partir de las ecuaciones resultantes se generaron superficies de respuesta que muestran en forma gráfica el efecto combinado de las dos variables ambientales sobre las tasas fisiológicas medidas.

Los cálculos se realizaron en la computadora PRIME 400 del Centro de Cómputo del C.I.C.E.S.E., utilizando los paquetes estadísticos MINITAB, PECS y ESIMSL.

4 RESULTADOS

4.1 VARIABLES FISICOQUIMICAS

En la figura 2 se presentan las variaciones diarias en temperatura por acuario, para las dos fases experimentales, juvenil y adulto. Los promedios y respectivas desviaciones estándar se indican en un extremo de cada gráfica. Se observa que en general las temperaturas experimentales se mantuvieron estables y dentro de los límites prefijados. El acuario E durante la fase con los juveniles fue el que registró las oscilaciones más frecuentes y de mayor magnitud, aunque solo esporadicamente fuera del rango experimental.

Las variaciones diarias de salinidad en cada tratamiento durante las dos fases experimentales se muestran en la figura 3. En las temperaturas de 18 y 24 °C las salinidades experimentales se mantuvieron muy estables. En la temperatura de 28 °C se registró la mayor variabilidad, aunque en general, los promedios se conservaron entre o muy cercanos a los límites experimentales preestablecidos.

Las fluctuaciones en el porcentaje de saturación de oxígeno por tratamiento, para las dos fases experimentales,

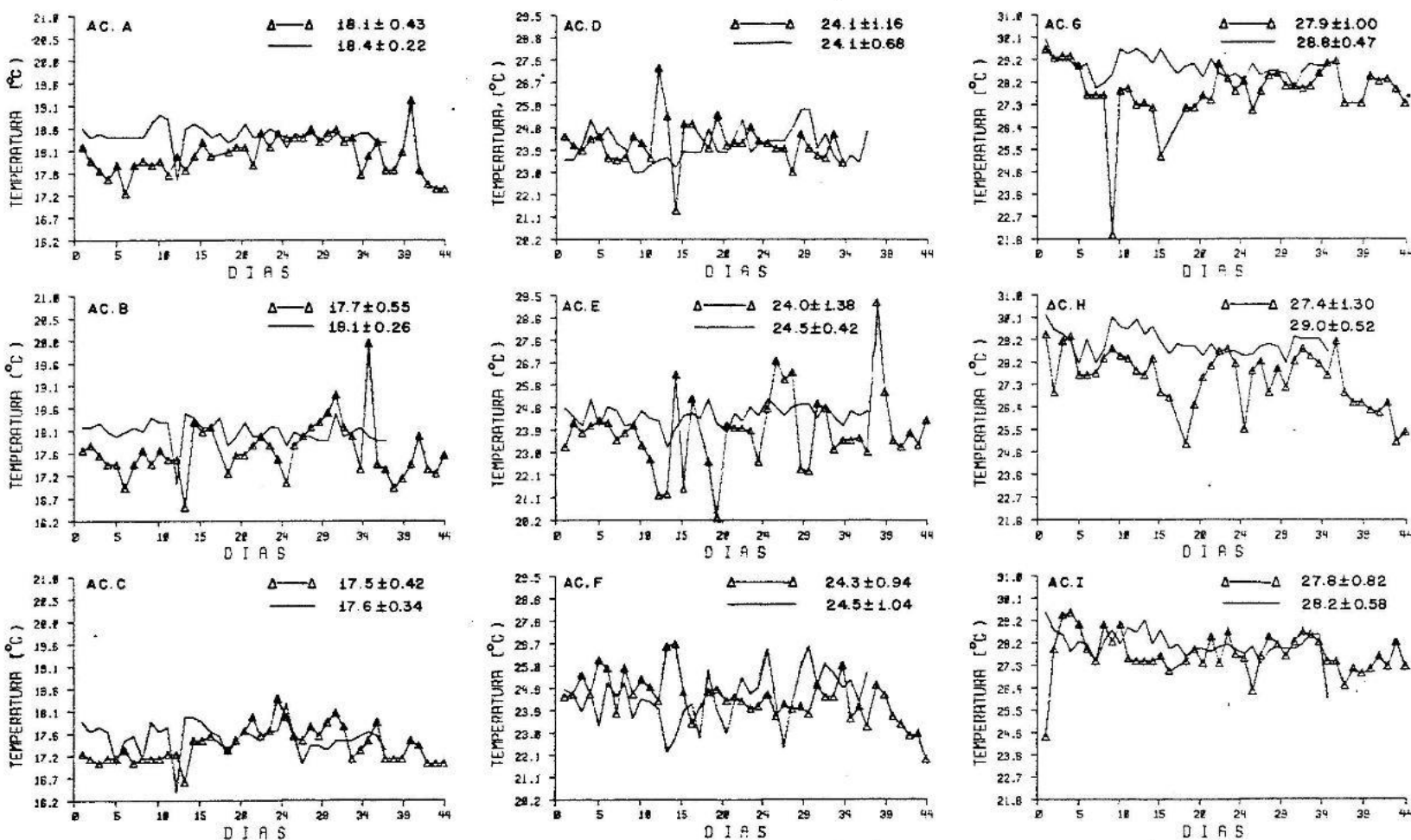


Fig. 2. - Variación de la temperatura durante las fases experimentales juvenil y (Δ—Δ) y adulto (—) en los diferentes acuarios (ac.). Los valores indican la media (°C) y su respectiva desviación estándar.

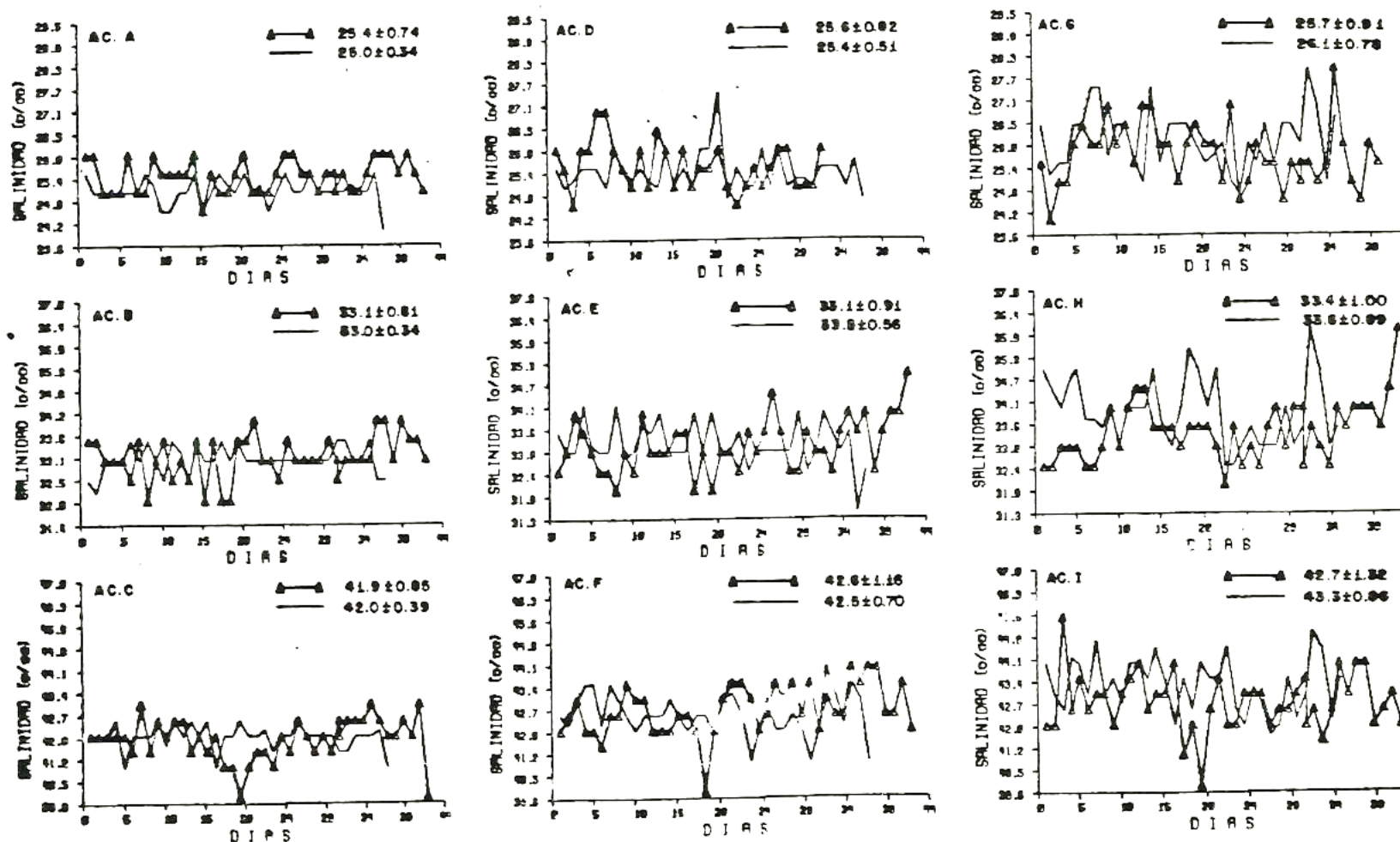


Fig. 3. - Variación de la salinidad a lo largo del período experimental en los diferentes acuarios. Organismos Juveniles (Δ — Δ) y adultos (—). Los valores indican la media la media y su respectiva desviación estándar.

se presenta en la figura 4. El porcentaje de saturación de oxígeno se mantuvo consistentemente arriba del 100 %, a excepción de tres valores correspondientes al acuario B de la fase juvenil, y dos valores del acuario H de la misma fase. Los valores mínimo y máximo registrados fueron: 66.3 % y 142.5 % respectivamente.

Las estadísticas de los valores de pH observados en los diferentes tratamientos se resumen en la Tabla II-A y B. En general, el agua circulante se mantuvo ligeramente alcalina. El rango de variación observado fue de 7.22 a 8.47 unidades de pH durante el período experimental con los organismos juveniles. En la fase adulta, éste fue de 6.91 a 8.67.

Las estadísticas de la concentración de amoníaco disuelto en el agua de los tratamientos y fases experimentales con los organismos juveniles y adultos se reportan en las Tablas III-A y B respectivamente. En general, las mayores concentraciones se presentan durante la fase adulta, registrándose en los tratamientos B y C las concentraciones promedio más altas (2.93 y 2.08 mg/l, respectivamente). Durante los bioensayos con juveniles la concentración promedio fue siempre inferior a 1.7 mg/l.

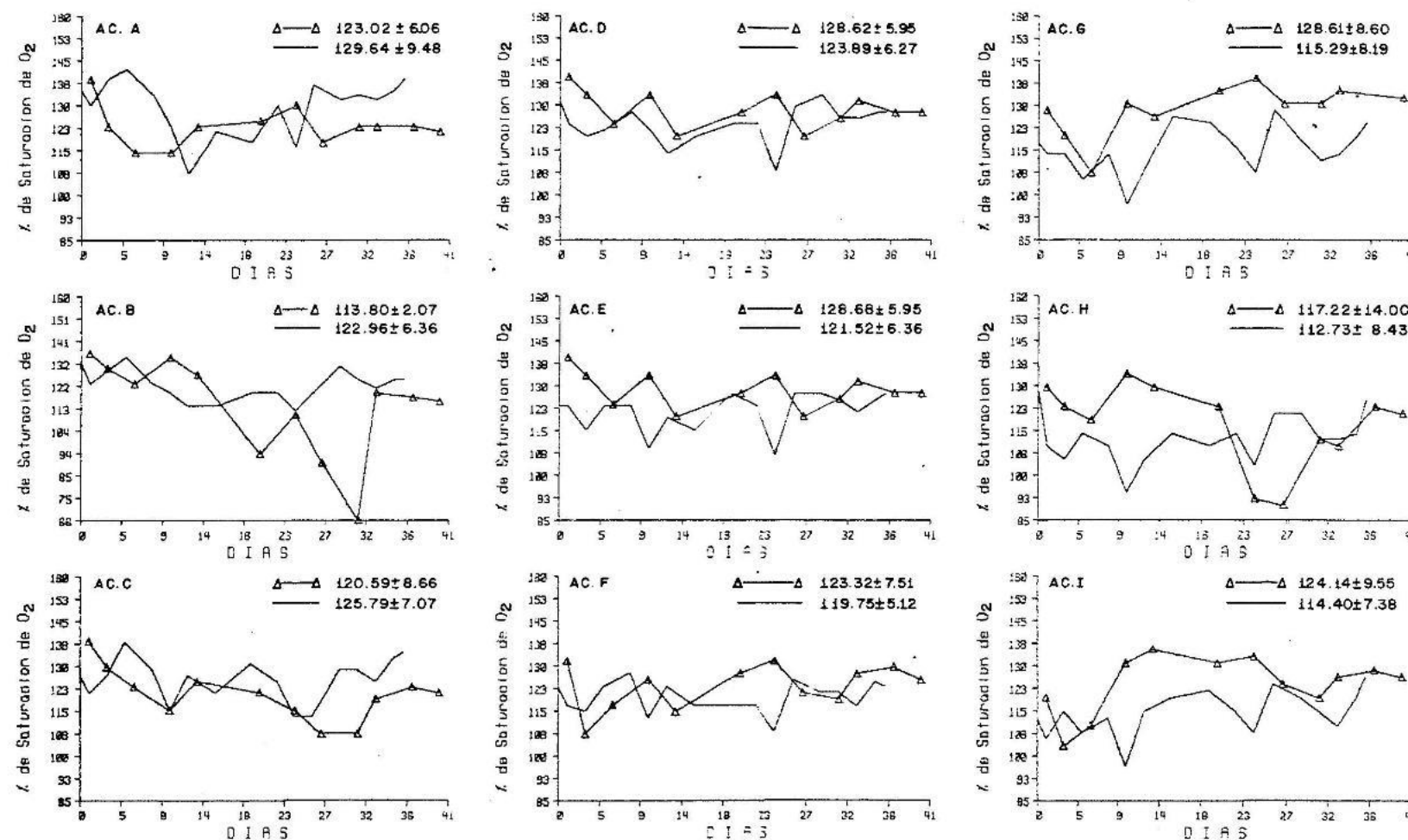


Fig. 4. - Variación de la concentración de oxígeno por acuario (ac.) durante las fases experimentales. Organismos juveniles (Δ—Δ) y adultos (—). Los valores se expresan como porcentaje de saturación.

Tabla II. Estadísticas del potencial de hidrógeno (pH) por acuario durante la fase juvenil (A) y adulta (B).

(A)

ACUARIO	MINIMO	MAXIMO	MEDIA ($\bar{X}$)	D.E. (s)	INT. de CONF. al 95 %	N
A	7.30	8.27	7.93	0.256	7.76-8.09	12
B	7.73	8.24	8.00	0.163	7.90-8.11	12
C	7.22	8.20	7.93	0.255	7.76-8.09	12
D	7.87	8.37	8.16	0.168	8.05-8.27	12
E	7.84	8.29	8.02	0.130	7.94-8.10	12
F	7.95	8.38	8.20	0.170	8.09-8.31	12
G	7.88	8.47	8.22	0.204	8.08-8.36	11
H	7.88	8.38	8.05	0.149	7.96-8.14	12
I	7.92	8.47	8.18	0.192	8.06-8.30	12

(B)

ACUARIO	MINIMO	MAXIMO	MEDIA ($\bar{X}$)	D.E. (s)	INT. de CONF. al 95 %	N
A	6.91	8.65	8.04	0.443	7.77-8.31	13
B	7.09	8.66	8.06	0.381	7.82-8.29	13
C	7.58	8.60	8.17	0.298	7.99-8.35	13
D	7.80	8.67	8.25	0.265	8.09-8.41	13
E	7.88	8.52	8.21	0.216	8.08-8.34	13
F	7.90	8.45	8.19	0.214	8.06-8.32	13
G	8.00	8.55	8.25	0.195	8.13-8.37	13
H	8.07	8.45	8.24	0.140	8.15-8.32	13
I	8.10	8.46	8.24	0.133	8.16-8.33	13

Tabla III. Estadísticas de los valores de la concentración de amoníaco registradas en los diferentes acuarios de la fase juvenil (A) y adulta (B). Los valores se expresan en mg/l.

(A)

ACUARIO	MINIMO	MAXIMO	MEDIA ($\bar{X}$)	D.E. (S)	INT. de CONF. al 95 %	N
A	0.02	2.35	0.86	0.733	0.54-1.17	23
B	0.02	3.07	1.22	0.927	0.82-1.61	23
C	0.04	2.39	0.64	0.601	0.38-0.90	23
D	0.05	3.10	1.10	0.880	0.71-1.50	22
E	1.34	4.61	1.67	1.174	1.17-2.18	23
F	0.08	3.62	0.91	0.884	0.58-1.29	23
G	0.06	4.37	1.19	1.168	0.63-1.75	22
H	0.19	3.45	1.46	0.926	1.05-1.88	22
I	0.06	3.53	0.78	0.914	0.39-1.18	23

(B)

ACUARIO	MINIMO	MAXIMO	MEDIA ($\bar{X}$)	D.E. (S)	INT. de CONF. al 95 %	N
A	0.03	4.26	1.74	1.744	0.28-3.20	08
B	0.08	7.16	2.93	2.646	0.72-5.14	08
C	0.03	5.98	2.08	2.135	0.30-3.87	08
D	0.03	3.87	1.41	1.755	-0.20-3.03	07
E	0.04	4.87	1.68	2.179	-0.33-3.69	07
F	0.03	1.61	0.68	0.707	0.03-1.34	07
G	0.03	1.16	0.40	0.446	-0.01-0.84	07
H	0.02	3.32	1.16	1.323	-0.06-2.38	07
I	0.01	5.89	1.37	2.260	-0.73-3.47	07

4.2 TASA DE ASIMILACION

En la Tabla IV se resumen las estadísticas de la eficiencia de asimilación correspondiente a cada una de las nueve combinaciones de temperatura y salinidad a los que fueron sometidos los organismos adultos de *E. gouldiana*.

El análisis de varianza de esta tasa fisiológica (Tabla V), considerando como posibles fuentes de variabilidad los factores temperatura, salinidad y tiempo de tratamiento, reveló que únicamente la salinidad contribuyó significativamente ($p > 0.001$) a la variabilidad observada.

La superficie de respuesta de la figura 5 se construyó a partir del siguiente polinomio de segundo orden:

$$Y = 29.574 - 1.6121T + 0.96053S + 0.050278T^2 - 0.013221TS \\ - 0.0020914S^2 \\ R = 0.9102$$

donde: Y = Eficiencia de asimilación en porcentaje

T = Temperatura (°C)

S = Salinidad (o/oo)

R = Coeficiente de correlación

En esta figura se aprecia gráficamente la influencia significativa ejercida por la salinidad sobre la eficiencia

Tabla IV. Estadísticas del porcentaje de asimilación por tratamiento para los organismos adultos. Los valores se expresan en %.

TEMPERATURA (°C)	SALINIDAD MEDIA (o/oo)	MEDIA ($\bar{X}$)	D.E. (S)	INTERVALO de CONFIANZA (95%)	N
18	25	35.92	19.798	28.74-42.89	15
18	33	44.01	15.746	37.81-50.21	19
18	42	50.14	11.365	44.24-56.03	21
24	25	35.37	11.617	29.17-41.56	19
24	33	45.67	12.118	39.47-51.86	19
24	42	50.09	17.961	44.05-56.13	20
28	25	42.08	14.636	35.88-48.27	19
28	33	42.25	11.954	35.89-48.62	18
28	42	53.54	14.281	46.78-60.29	16

Tabla V. Análisis de varianza de tres vías. Eficiencia de asimilación.

FUENTE de VARIACION	SUMA de CUADRADOS	g. de l.	CUADRADO MEDIO	F	SIGNIFI- CANCIA de F
TEMPERATURA (T)	183.071	2	91.536	0.492	0.613
SALINIDAD (S)	5003.143	2	2501.571	13.444	0.000
TIEMPO	1278.997	7	182.714	0.982	0.449
T-S	1186.125	4	296.531	1.594	0.182
T-TIEMPO	3700.106	14	264.293	1.420	0.159
S-TIEMPO	4163.007	14	297.358	1.598	0.093
T-S-TIEMPO	7465.206	26	287.123	1.543	0.067
EXPLICADO	21641.895	69	313.651	1.686	0.009
RESIDUAL	17862.777	96	186.071		
TOTAL	39504.672	165	239.422		

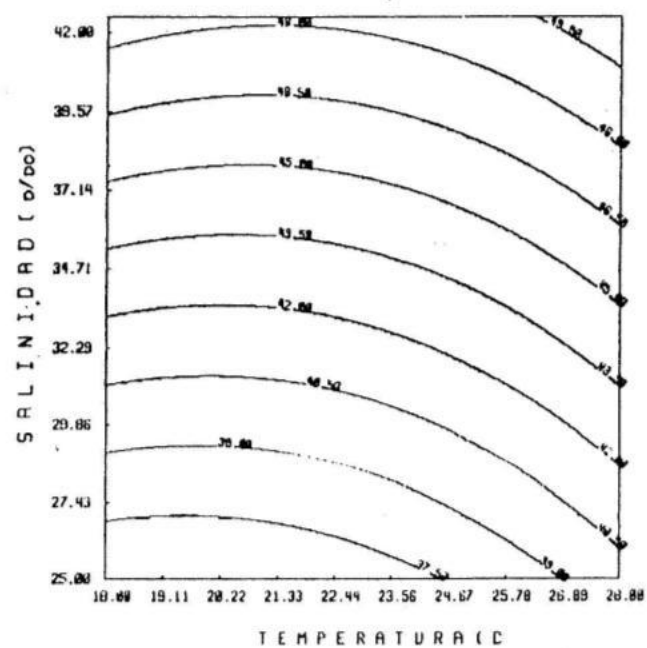


Fig. 5.- Superficie de respuesta de la eficiencia de asimilación (%) en función de la temperatura y salinidad en los organismos adultos de B. gouldiana.

de asimilación y la casi independencia de su valor con respecto a la temperatura. A salinidades fijas, el ligero incremento que presenta esta tasa fisiológica hacia los extremos de la temperatura experimental, posiblemente no es significativo debido a la magnitud del error estándar asociado.

El efecto de la salinidad sobre el porcentaje de asimilación es principalmente de carácter lineal. La contribución del término cuadrático al valor estimado de asimilación es relativamente bajo, generalmente inferior al 10 %. Esto último se corrobora al observar las figuras 6-A y B, que muestran el efecto individual de la salinidad y temperatura en la tasa de asimilación, donde se aprecia que sus variaciones presentan una fuerte tendencia lineal con respecto al factor salinidad. Así, el valor promedio de la asimilación de los organismos en el tratamiento de 25 o/oo fue de 37 %, incrementándose a 44 y 51 % a salinidades de 33 y 42 o/oo, respectivamente, independientemente de la temperatura experimental.

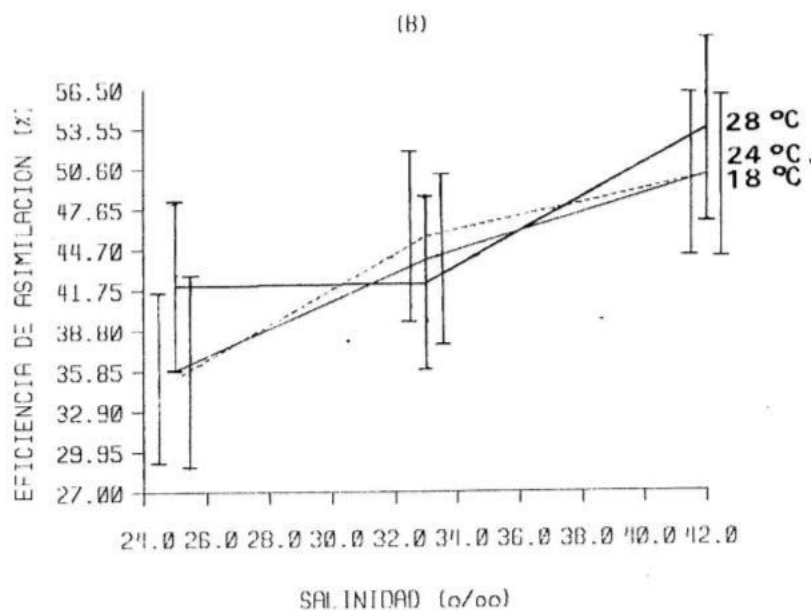
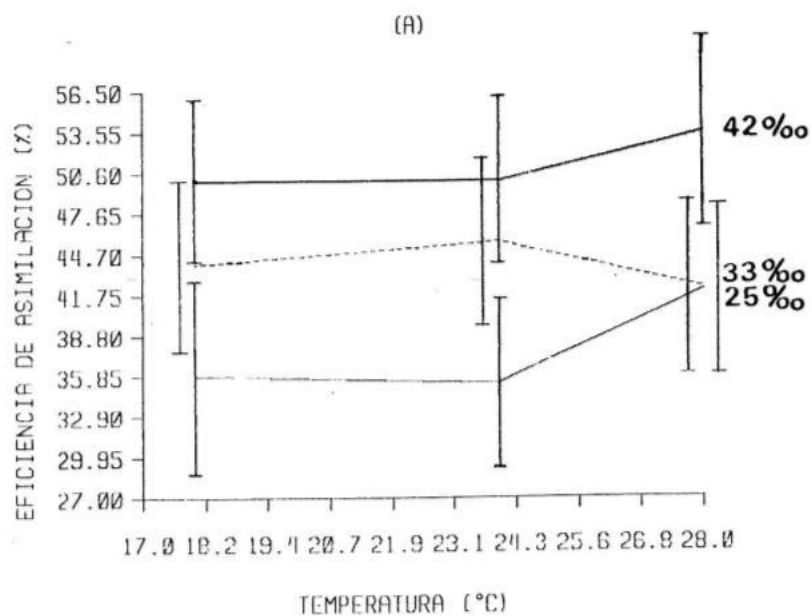


Fig. 6. - Efecto individual de la temperatura (A) y salinidad (B) en la eficiencia de asimilación de los organismos adultos de *B. gouldiana*.

4.3 TASA DE INGESTION

4.3.1 ORGANISMOS JUVENILES

Los valores promedio por tratamiento, de la tasa de ingestión en peso seco, se muestran en la Tabla VI-A para la dieta vegetal a base de gluten y VI-B para la dieta mixta.

El ANVA (Tabla VII) indica que sólo existen diferencias significativas en la tasa de ingestión respecto al factor dieta ($0.05 > p > 0.01$). Esta prueba no reveló diferencias significativas debido a la temperatura o salinidad experimental ni a su efecto interactivo ($p > 0.05$). La dieta mixta registró las tasas de ingestión más altas.

4.3.2 ORGANISMOS ADULTOS

Los valores promedio de la tasa de ingestión de los organismos adultos en cada uno de los tratamientos se muestra en la Tabla VIII.

El análisis de varianza (Tabla IX), reveló que las diferencias en la tasa de ingestión fueron producidas por los efectos individuales altamente significativos de la temperatura, salinidad y tiempo de tratamiento ($p < 0.001$) y

Tabla VI. Estadísticos de los valores calculados de la tasa de ingestión para los organismos juveniles en los diferentes tratamientos. Dietas vegetal (A) y mixta (B). Los valores se expresan como g/g/día.

(A)					
TEMPERATURA (°C)	SALINIDAD MEDIA (o/oo)	($\bar{X}$)	D.E. (S)	INTERVALO de CONFIANZA (95 %) N	
18	25	0.292	0.0344	0.1775-0.4065	2
18	33	0.234	0.1153	0.1409-0.3278	3
18	42	0.242	0.1165	0.1490-0.3359	3
24	25	0.264	0.1432	0.1499-0.3789	2
24	33	0.299	0.0296	0.2055-0.3925	3
24	42	0.275	0.0266	0.1609-0.3689	2
(B)					
18	25	0.321	0.0488	0.2062-0.4352	2
18	33	0.278	0.0502	0.1843-0.4142	3
18	42	0.313	0.0946	0.1990-0.4280	2
24	25	0.366	0.0674	0.2723-0.4592	3
24	33	0.430	0.0849	0.3368-0.5237	3
24	42	0.308	0.0079	0.2144-0.4013	3

Tabla VII. Análisis de varianza de tres vías. Tasa de ingestión en los organismos juveniles de *B. gouldiana*.

FUENTE de VARIACION	SUMA de CUADRADO	g. de l.	CUADRADO MEDIO	F	SIGNIFI- CANCIA de F
TEMPERATURA (T)	0.018	1	0.018	2.975	0.101
SALINIDAD (S)	0.005	2	0.003	0.412	0.668
DIETA	0.034	1	0.034	5.536	0.030
T-S	0.017	2	0.008	1.365	0.279
T-DIETA	0.004	1	0.004	0.575	0.458
S-DIETA	0.002	2	0.001	0.140	0.871
T-S-DIETA	0.006	2	0.003	0.481	0.625
EXPLICADO	0.093	11	0.008	1.364	0.266
RESIDUAL	0.118	19	0.006		
TOTAL	0.211	30	0.007		

Tabla VIII. Tasas de ingestión promedio y sus respectivas estadísticas en los diferentes tratamientos. Organismos adultos de *B. gouldiana*.

TEMPERATURA (°C)	SALINIDAD (o/oo)	MEDIA (%)	D.E.	INTERVALO de CONFIANZA (95 %) N	
18	25	0.106	0.0389	0.092-0.120	21
18	33	0.113	0.0575	0.099-0.126	22
18	42	0.099	0.0400	0.085-0.112	22
24	25	0.143	0.0394	0.130-0.157	22
24	33	0.140	0.0455	0.127-0.153	22
24	42	0.123	0.0465	0.110-0.137	22
28	25	0.159	0.0433	0.145-0.172	22
28	33	0.149	0.0355	0.134-0.163	19
28	42	0.123	0.0422	0.108-0.138	17

Tabla IX. Análisis de varianza de tres vías. Tasa de ingestión en los organismos adultos.

FUENTE de VARIACION	SUMA de CUADRADO	g. de l.	CUADRADO MEDIO	F	SIGNIFI- CANCIA de F
TEMPERATURA (T)	0.047	2	0.024	26.100	0.000
SALINIDAD (S)	0.016	2	0.008	8.835	0.000
TIEMPO	0.124	7	0.018	19.546	0.000
T-S	0.005	4	0.001	1.363	0.251
T-TIEMPO	0.038	14	0.003	3.007	0.001
S-TIEMPO	0.026	14	0.003	2.048	0.020
T-S-TIEMPO	0.046	28	0.002	1.823	0.014
EXPLICADO	0.311	71	0.004	4.814	0.000
RESIDUAL	0.106	117	0.001		
TOTAL	0.417	188	0.002		

por la interacción de los factores temperatura-tiempo de tratamiento ($p < 0.001$), salinidad-tiempo de tratamiento ($p < 0.05$) y temperatura-salinidad-tiempo de tratamiento ($p < 0.05$).

Aparentemente, las variaciones de la tasa de ingestión son de carácter cíclico con respecto al tiempo de tratamiento, como se observa en la Figura 7; aunque esta gráfica se construyó con el promedio de los nueve tratamientos, las mismas fluctuaciones se observaron en forma individual en cada una de las combinaciones experimentales de temperatura y salinidad.

El polinomio de segundo orden que describe el efecto combinado de la temperatura (T) y salinidad (S) sobre la tasa de ingestión (Y) es:

$$Y = -0.30899 + 0.022217T + 0.009983S - 0.00028T^2 - 0.00017TS - 0.000109S^2$$

Este explica el 99 % de la variabilidad observada en la respuesta fisiológica.

A partir de esta ecuación se generó la superficie de respuesta presentada en la figura 8. En ella se observa que a temperaturas bajas, la tasa de ingestión se incrementa con la temperatura casi independientemente de la salinidad,

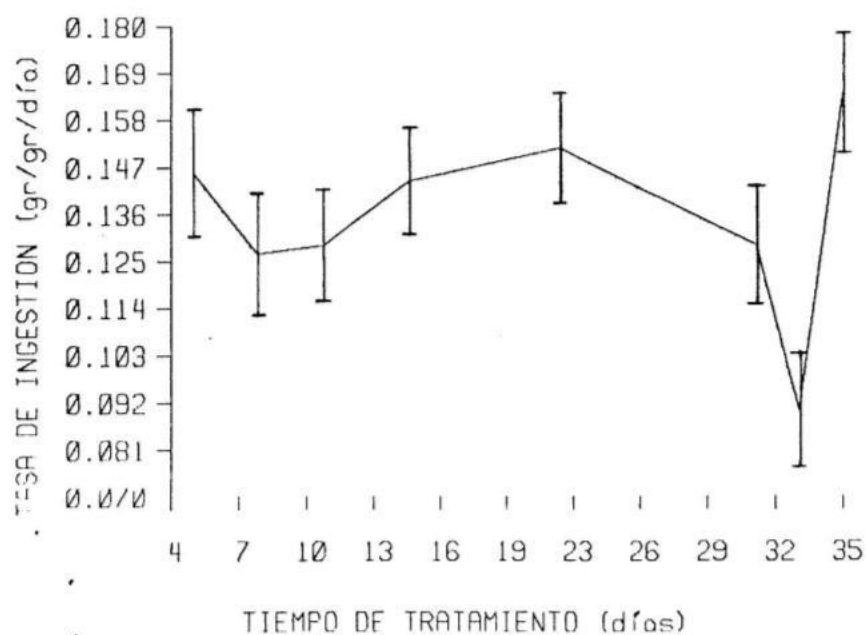


Fig. 7. - Variación de la tasa de ingestión media, en peso seco, de los organismos adultos de *E. gouldiana* respecto al tiempo de tratamiento. Los valores se expresan en gr/gr/día.

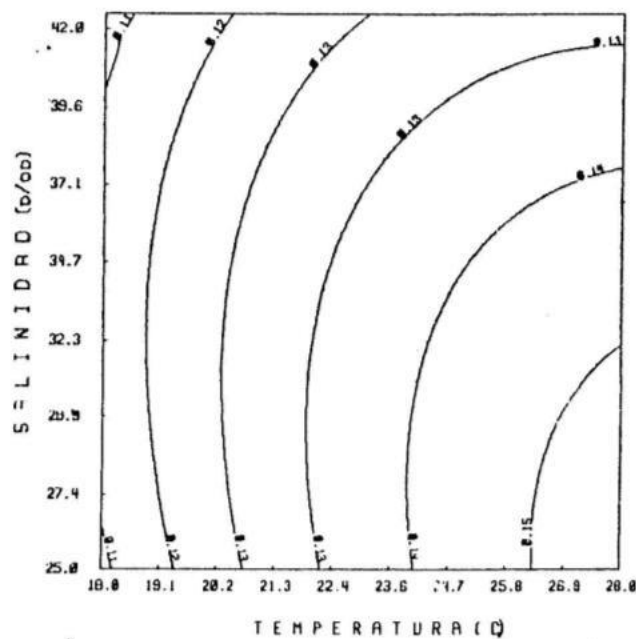


Fig. B. - Superficie de respuesta de la tasa de ingestión en peso seco en función de la temperatura y salinidad en los organismos adultos de B. gouldiana. Los valores se expresan en gr/gr/día.

mientras que a temperaturas intermedias y altas el efecto depresor de la salinidad cobra importancia. Así, la tasa mínima de ingestión (0.11 g/g/día) se observa a 18 °C, independientemente de la salinidad, incrementándose hasta un valor máximo de 0.158 g/g/día a 28 °C y 25 o/oo.

Con el objeto de observar el comportamiento de la tasa de ingestión producida por el efecto individual de las variables, se graficó la tasa fisiológica en función de la temperatura (Fig. 9-A) y de la salinidad (Fig. 9-B).

Aunque el error estándar asociado a las tasas de ingestión medias fue alto, la tendencia de éstas a incrementar con la temperatura es discernible (Fig. 9-A).

En la figura 9-B se confirma el efecto depresor de la salinidad a temperaturas medias y altas (24 y 28 °C) antes mencionado. Además, se aprecia claramente que la tasa de ingestión media es significativamente menor ($p > 0.05$) a temperaturas de 18 °C comparadas con las temperaturas de 24 y 28 °C.

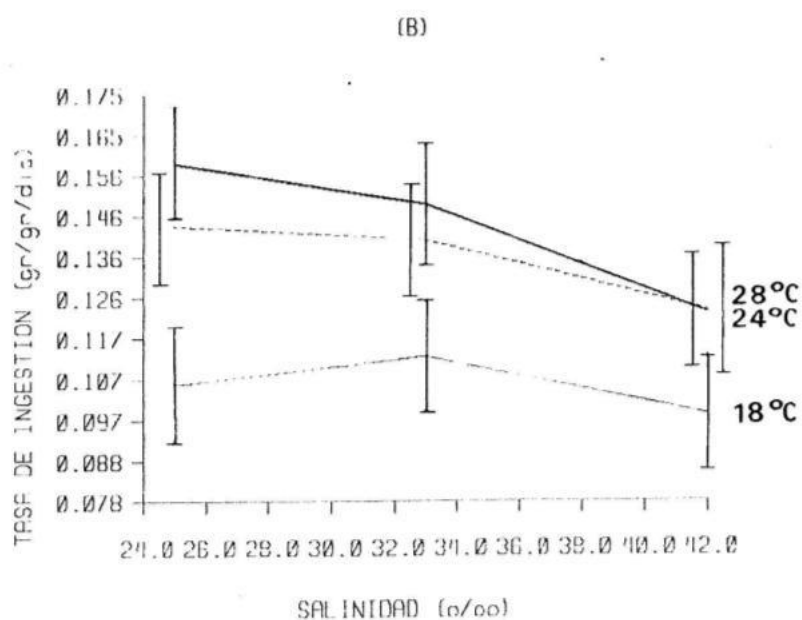
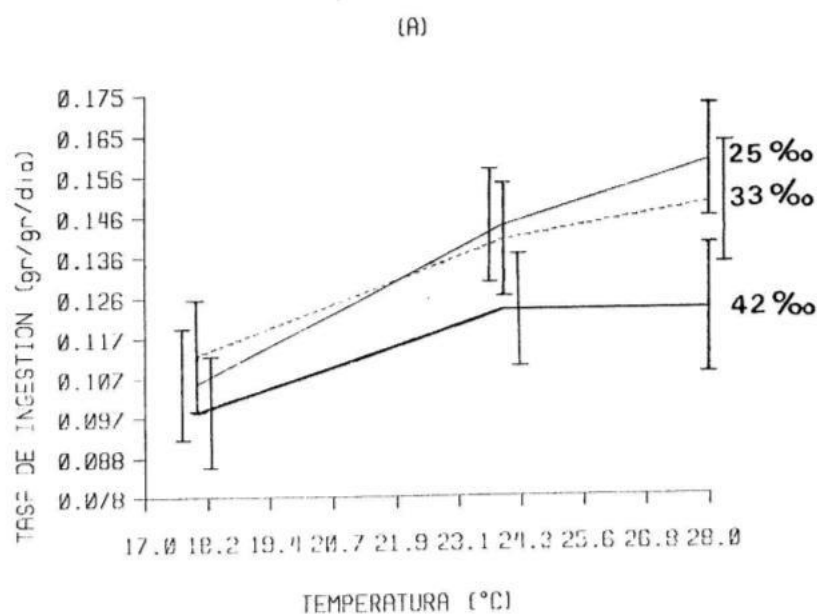


Fig. 9. - Efecto individual de la temperatura (A) y salinidad (B) en la tasa de ingestión media, en peso seco, de los organismos adultos de B. gouldiana.

4.4 TASA DE ENGORDA

4.4.1 ORGANISMOS JUVENILES

La Tabla X muestra el crecimiento promedio diario en peso seco (mg) por tratamiento para los organismos juveniles alimentados con la dieta vegetal (A) y mixta (B).

El cálculo del peso seco en gramos (Y), a partir del peso húmedo (X) de los organismos juveniles se estimó mediante la siguiente ecuación de regresión lineal:

$$Y = 0.0805 + 0.209 X$$

El coeficiente de regresión lineal estimado fue 0.87.

El análisis de varianza no paramétrico (Tabla XI) detectó diferencias significativas en la tasa de engorda de los juveniles producto de las dietas utilizadas ($0.01 < p < 0.05$), y al efecto altamente significativo ($p < 0.01$) de la temperatura. En cambio, el efecto de la salinidad e interacción de los factores no fue significativo ($p > 0.05$).

Tabla X. Estadísticas de la tasa de engorda en peso seco para los organismos juveniles alimentados con la dieta vegetal (A) y mixta (B). Los valores se expresan en mg.

(A)

TEMPERATURA (°C)	SALINIDAD (o/oo)	MEDIA ($\bar{X}$)	D.E. (s)	INTERVALO de CONFIANZA (95 %) N
18	25	2.62	0.234	0.522-4.717 6
18	33	2.73	1.310	0.632-4.827 6
18	42	1.63	0.736	-0.667-3.927 5
24	25	6.13	0.387	3.832-8.427 5
24	33	3.98	1.260	1.882-6.077 6
24	42	3.98	1.060	1.529-6.187 5
28	25	3.53	4.250	0.563-6.496 3
28	33	3.51	3.700	1.412-5.607 6
28	42	3.12	2.010	0.550-5.689 4

(B)

TEMPERATURA (°C)	SALINIDAD (o/oo)	MEDIA ($\bar{X}$)	D.E. (s)	INTERVALO de CONFIANZA (95 %) N
18	25	3.43	1.280	1.332- 5.527 6
18	33	5.13	1.180	2.832- 7.427 5
18	42	3.31	1.280	1.212- 5.407 6
24	25	7.67	4.000	5.372- 9.967 5
24	33	7.75	2.050	5.652- 9.847 6
24	42	7.40	2.350	4.433-10.366 3
28	25	11.72	11.250	8.086-15.353 2
28	33	4.18	3.750	1.882- 6.477 5
28	42	4.94	1.620	1.306- 8.573 2

Tabla XI. Análisis de varianza no paramétrico de tres vías. Tasa de engorda en los organismos juveniles de *B. gouldiana*.

FUENTE de VARIACION	GRADOS de LIBERTAD	VALOR de JI-CUADRADA	PROBABILIDAD (SIGNIFICANCIA)
DIETA	1	6.277	0.0122
TEMPERATURA (T)	2	16.983	0.0002
SALINIDAD (S)	2	0.142	0.9310
DIETA-T	2	2.611	0.2710
DIETA-S	2	1.441	0.4864
T-S	4	4.167	0.3838
DIETA-T-S	4	5.101	0.2770

El efecto combinado de la temperatura y la salinidad sobre la tasa de crecimiento de los organismos juveniles se muestra en la figura 10-A, para los organismos alimentados con la dieta vegetal y 10-B con la dieta mixta. Las ecuaciones a partir de las cuales las superficies de respuesta correspondientes fueron generadas son las siguientes:

$$Y_v = -29.886 + 3.3501T - 0.24598S - 0.07225T^2 + 0.0023821TS + 0.0018028S^2$$

$$Y_m = -50.963 + 5.0182T - 0.067329S - 0.077334T^2 - 0.03485TS + 0.011046S^2$$

donde: Y_v = Tasa de engorda en peso seco (mg/día) para los organismos alimentados con la dieta vegetal.

Y_m = Tasa de engorda en peso seco (mg/día) para los organismos alimentados con la dieta mixta.

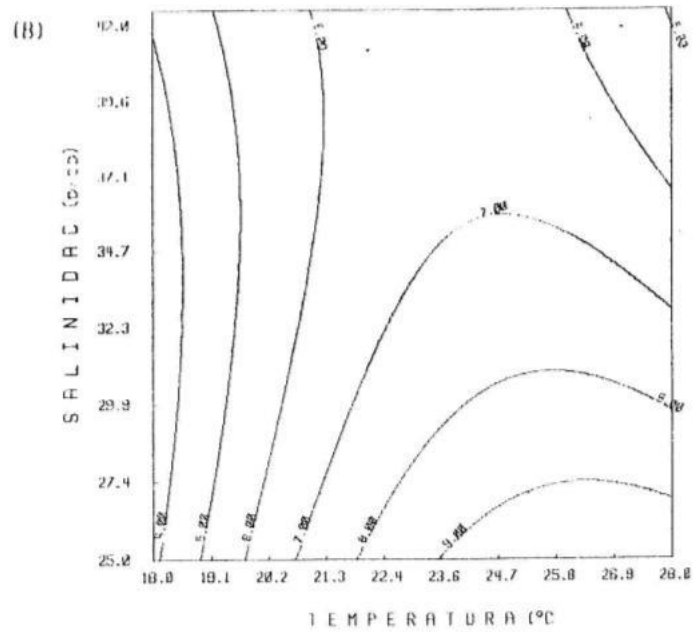
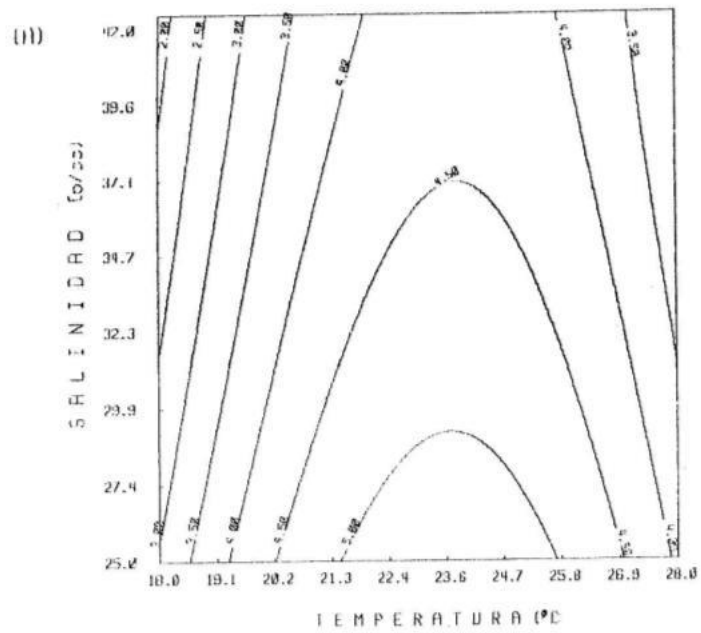


Fig. 10. - Superficie de respuesta de la tasa de engorda (mg/día) en función de la temperatura y salinidad en los organismos juveniles de *B. gouldiana* alimentados con la dieta vegetal (A) y mixta (B).

T = Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)

S = Salinidad (o/oo)

En ambos casos el polinomio de segundo orden explica más del 70 % de la variabilidad observada en la tasa de crecimiento.

El patrón de estas gráficas es muy semejante. Las isopletras son casi paralelas al eje de la salinidad en el rango de 18 a 21 $^{\circ}\text{C}$ y a los 28 $^{\circ}\text{C}$, indicando así la relativa independencia de la variable fisiológica respecto a la salinidad. Asimismo, en estos rangos de temperaturas se sitúan las tasas de engorda más bajas.

Se aprecia claramente una zona óptima de crecimiento comprendida entre los 21 y los 27 $^{\circ}\text{C}$. Aparentemente en este rango de temperatura, la salinidad afecta la tasa fisiológica, sin embargo la prueba estadística no detectó este efecto posiblemente debido a la magnitud de la desviación estándar asociada a las observaciones en los tratamientos T-S de 28 $^{\circ}\text{C}$ -25 o/oo (Tablas X-A y B).

El efecto individual de la temperatura y salinidad se muestra gráficamente en las figuras 11 (A y B) y 12 (A y B), respectivamente.

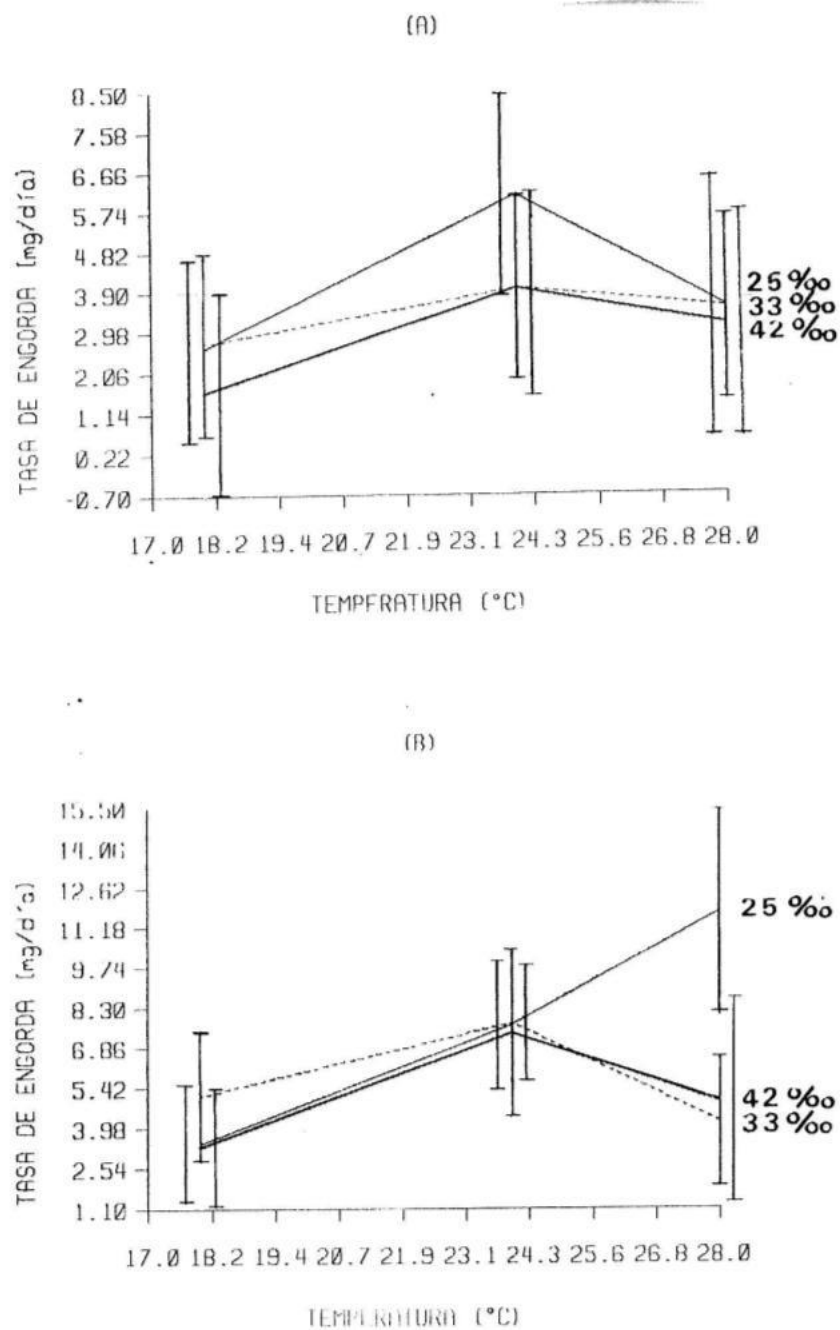


Fig. 11.- Efecto individual de la temperatura en la tasa de engorda (mg/día), en peso seco, de los organismos juveniles de *B. gouldiana* alimentados con la dieta vegetal (A) y mixta (B).

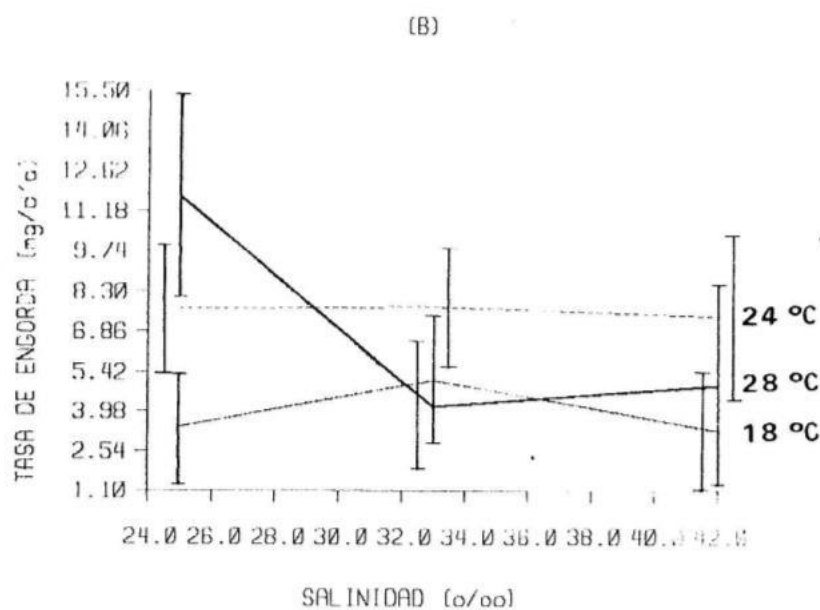
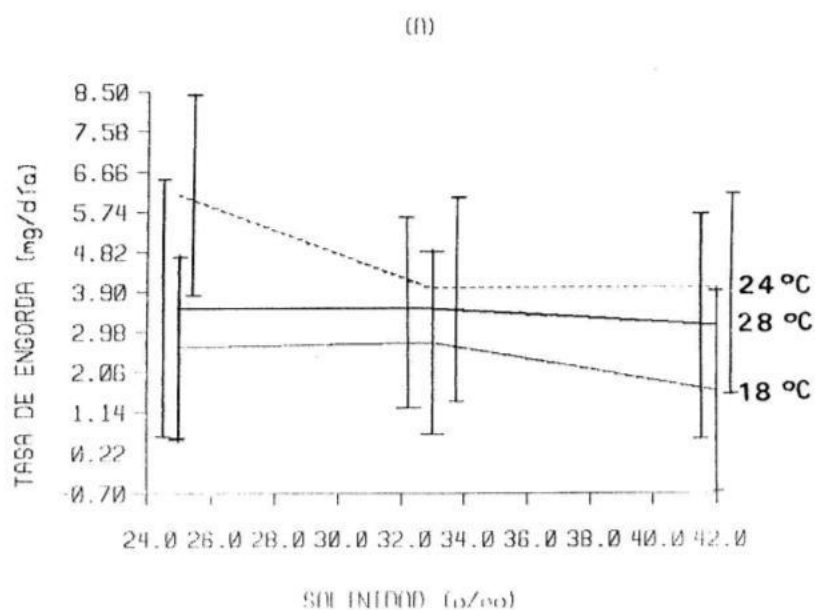


Fig. 12. - Efecto individual de la salinidad en la tasa de engorda (mg/día), en peso seco, de los organismos juveniles de *B. gouldiana* alimentados con las dietas vegetal (A) y mixta (B).

En general, a 24 °C el crecimiento medio fue mayor que a temperaturas de 18 y 28 °C. Únicamente a 25 o/oo, en los organismos alimentados con la dieta mixta, se obtuvo una tasa de engorda promedio mayor a 28 °C que a las restantes temperaturas. También se observa, que en cada tratamiento, los organismos juveniles alimentados con la dieta mixta, obtuvieron una mayor tasa de engorda que la presentada por los organismos bajo la dieta vegetal en similares tratamientos.

En las figuras 11-B y 12-B, la alta tasa de engorda observada a los 28 °C y 25 o/oo en los organismos alimentados con la dieta mixta fue debida al crecimiento inusitado de un sólo organismo.

En general, la sobrevivencia en todos los tratamientos fue alta (Tabla XII). La mayoría de las muertes ocurridas en los acuarios G, H e I fue provocada por la disminución de la concentración de oxígeno disuelto debida a la interrupción en el flujo de agua por espacio de algunas horas.

Tabla XII . Porcentaje de sobrevivencia por acuario de los organismos juveniles, alimentados con las dietas vegetal y mixta y adultos.

	A		C	U	A	R	I	O	S
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
JUVENILES									
DIETA VEGETAL	100	100	66	83	16	83	---	16	---
JUVENILES									
DIETA MIXTA	100	66	100	50	100	50	16	66	66
ADULTOS	80	100	100	90	90	100	80	80	70

(---) Muertes por asfixia.

4.4.2 ORGANISMOS ADULTOS

La Tabla XIII muestra las estadísticas del crecimiento diario (incluido el desove) para cada uno de los nueve tratamientos experimentales, así como la producción de desoves, en porcentaje del peso seco de los organismos, en estos tratamientos.

Las ecuaciones de regresión utilizadas para estimar los valores de peso seco (Y) inicial y final a partir del peso húmedo (X) fueron, respectivamente:

$$Y = 0.719 + 0.156 X$$

$$Y = -0.0675 + 0.324 X$$

Asimismo, mediante la ecuación:

$$Y = -0.0347 + 0.0353 X$$

Tabla XIII. Tasa de engorda media (incluido el desove) en peso seco y sus respectivas estadísticas para los organismos adultos de *B. gouldiana*. Los valores se expresan en mg.

TEMP (°C)	SAL (o/oo)	MEDIA (X)	D.E. (S)	INTERVALO de CONFIANZA (95 %)	% DESOVE	N
18	25	5.32	3.180	-0.147-10.784	--	5
18	33	12.91	6.009	9.042-16.771	--	10
18	42	10.81	3.512	6.947-14.677	--	10
24	25	10.98	4.407	6.903-15.051	69	9
24	33	22.57	10.160	18.497-26.645	49	9
24	42	10.95	6.460	7.081-14.811	20	10
28	25	15.00	4.695	10.677-19.317	71	8
28	33	22.18	8.229	17.864-26.506	49	8
28	42	13.32	2.600	8.699-17.937	--	7

Tabla XIV. Análisis de varianza de dos vías. Tasa de engorda (incluido el desove) en los organismos adultos de *B. gouldiana*.

FUENTE de VARIACION	SUMA de CUADRADO	g. de l.	CUADRADO MEDIO	F	SIGNIFI- CANCIA de F
TEMPERATURA (T)	615.913	2	307.957	8.246	0.001
SALINIDA (S)	1087.897	2	543.949	14.566	0.000
T-S	270.459	4	67.615	1.811	0.137
EXPLICADO	1874.153	8	234.269	6.273	0.000
RESIDUAL	2502.081	67	37.344		
TOTAL	4376.234	75	58.350		

se estimó el peso seco de los desoves (Y) ocurridos durante el período experimental en función del volumen desovado (X). Los correspondientes coeficientes de correlación lineal (R) fueron 0.61, 0.82 y 0.94, respectivamente.

El ANVA de dos vías (Tabla XIV) reveló que las diferencias en las tasas de engorda promedio, fueron producidas por los efectos individuales altamente significativos ($p < 0.01$) de la temperatura y la salinidad. Sin embargo, el efecto interactivo de estos factores no fue significativo ($p > 0.05$).

Para efectos comparativos, la superficie de respuesta correspondiente a la tasa de engorda en peso seco fue dividida en dos partes. La figura 13-A presenta los contornos de respuesta a los cambios de temperatura y salinidad correspondiente únicamente a la ganancia neta de peso corporal por día, mientras que en la figura 13-B, se incluye además el peso seco producto de los desoves.

Estas figuras fueron generadas a partir de las siguientes ecuaciones de segundo grado:

$$Y_c = - 31.972 - 1.6094T + 3.3609S + 0.023174T^2 + 0.014137TS - 0.049631S^2$$

$$Y_d = - 180.16 + 3.8312T + 8.7243S - 0.035889T^2 - 0.043948TS - 0.11380S^2$$

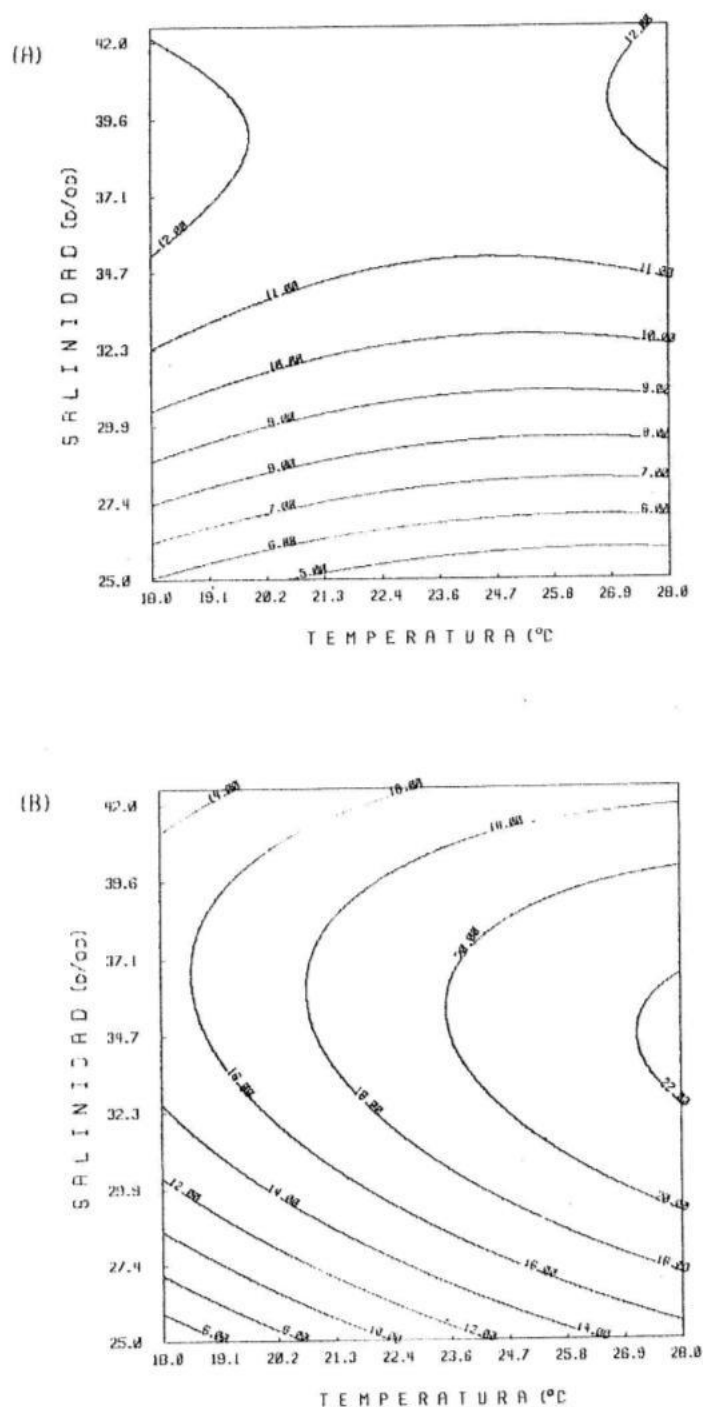


Fig. 13. — Superficie de respuesta de la tasa de engorda (mg/día), en peso seco, en función de la temperatura y salinidad. Crecimiento corporal (A) y crecimiento mas desoves (B).

Los polinomios explican respectivamente el 93 y 94 % de la variabilidad observada en el incremento diario en peso corporal (Y_c) y el incremento diario en peso total, incluyendo los desoves (Y_d), en función de temperatura (T) y salinidad (S).

En la primera de estas figuras, se aprecia que la tasa de engorda es independiente de los cambios de temperatura a salinidades bajas y que, conforme aumenta la salinidad, la temperatura influye ligeramente. Los valores máximos se observan a las combinaciones de temperatura y salinidad de 18 °C y 38 o/oo y de 28 °C y 40 o/oo aproximadamente.

Por otra parte, en la figura 13-B, los valores más altos en la tasa de engorda (incluido el desove) se presentan en un rango restringido de temperatura y salinidad (24-28 °C y 33-37 o/oo) y disminuyen hacia los extremos de estos valores.

En los tratamientos cuya temperatura fue de 18 °C, sólo ocurrieron desoves esporádicos, por lo que toda la energía asimilada del alimento, fue canalizada hacia el metabolismo y crecimiento corporal. A 24 y 28 °C fue frecuente la producción de desoves, a excepción del tratamiento T-S de 28 °C-42 o/oo respectivamente (Tabla XIII).

En las temperaturas anteriores, la producción de desoves representó, aproximadamente, el 70 % del crecimiento total a salinidades de 25 o/oo, mientras que a salinidades de 33 o/oo, la producción de desoves representó el 50 %.

En figuras 14-A y B respectivamente, se muestra el efecto individual de la temperatura y salinidad en la tasa de engorda de los organismos adultos.

En general, a 18 °C la tasa de engorda promedio es menor y aumenta paulatinamente hasta los 28 °C (Fig. 14-A). A 33 o/oo, el crecimiento medio fue mayor que a salinidades extremas en los tres niveles de temperatura (Fig. 14-B).

El porcentaje de sobrevivencia en los organismos adultos fue mayor del 70 % en los nueve tratamientos (Tabla XII).

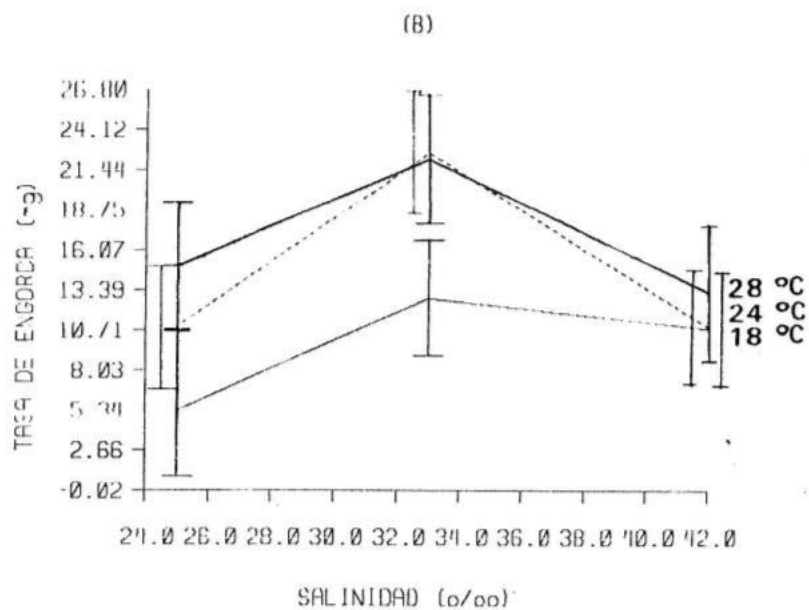
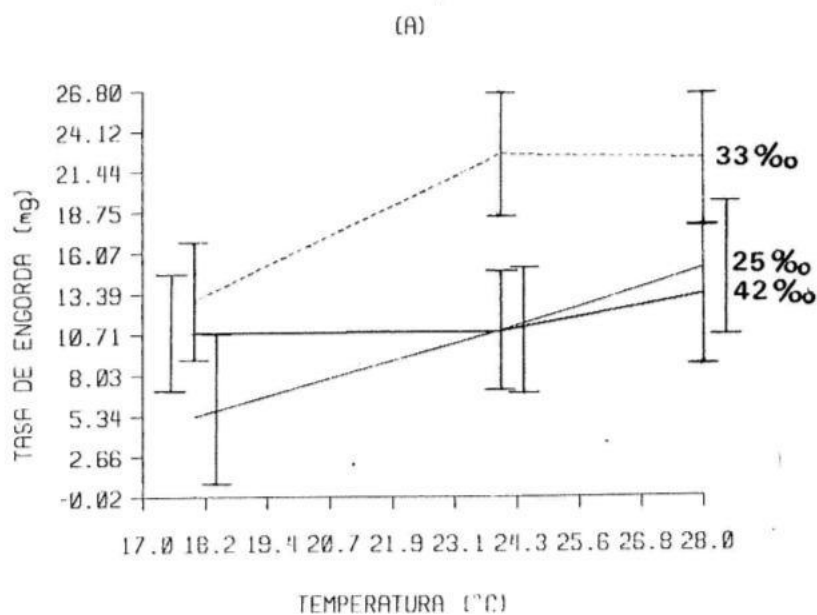


Fig. 14.- Efecto individual de la temperatura (A) y salinidad (B) en la tasa de engorda (incluido el desove), en peso seco, de los organismos adultos de *B. gouldiana*. Los valores se expresan en mg/día.

5 DISCUSION

En general, las temperaturas y salinidades del sistema se mantuvieron estables y dentro de los rangos experimentales propuestos (Figs. 2 y 3). Las fluctuaciones de temperatura fuera de los rangos prefijados se debieron a fallas esporádicas de los calentadores de inmersión. En cuanto a la salinidad, la variabilidad observada a 28 °C se debió al diferencial de temperatura existente entre la temperatura ambiental (18 °C) y la de estos tratamientos, lo cual indujo altas tasas de evaporación diarias con el consiguiente rápido incremento de la salinidad. Dada la extensión de las fases de experimentación, respectivamente 44 y 33 días con juveniles y adultos, y los intervalos utilizados entre tratamientos; 4-6 °C, 8-9 o/oo, la probabilidad de que las desviaciones observadas con respecto a los valores experimentales propuestos hayan afectado las estimaciones de las tasas fisiológicas medidas es mínima.

La importancia de las otras variables ambientales medidas sobre las tasas fisiológicas de interés fue variable. Así, mientras que los valores de oxígeno disuelto y pH observados (Fig. 4 y Tabla II), en general mayores del 100 % de saturación y ligeramente alcalinos, condiciones biológicamente aceptables para organismos marinos (Spotte,

1979), no tuvieron un efecto discernible en las tasas de crecimiento y de alimentación, las interrupciones accidentales en el flujo de agua provocaron la muerte por anoxia en los tratamientos de 28 °C de algunos organismos juveniles, los que aparentemente son más susceptibles a estas condiciones.

Por otra parte, dada la naturaleza tóxica del amoníaco y las altas concentraciones registradas en todos los tratamientos, en su mayoría superiores de 0.1 mg/l, límite superior recomendado para el cultivo de organismos marinos (Spotte, op. cit.), no se puede descartar la posibilidad de que éstas hayan afectado las tasas fisiológicas estimadas. Sin embargo, es importante hacer notar que Bulla gouldiana habita sustratos lodosos, donde existe gran cantidad de materia orgánica en descomposición, por lo cual, es factible sea un organismo altamente resistente a elevadas concentraciones de amoníaco. De hecho, durante este estudio, la mortalidad ocurrida en los diferentes tratamientos no presentó relación con las concentraciones de amoníaco registradas.

El porcentaje de alimento asimilado en los organismos adultos que varió entre 34 y 53.5 %, aunque inferiores a los estimados para la mayoría de los gasterópodos estudiados, se encuentra dentro del rango de valores reportados. Carefoot

(1967) encuentra que el gasterópodo *Aplysia punctata*, alimentándose con una variedad de algas, asimila de 45 a 71 % y específicamente, alimentándose con *Enteromorpha intestinalis* el porcentaje asimilado se aproxima a 59 %. *Portlandia arctica*, un molusco detritivoro, asimila en promedio 50 % de materia orgánica (Bubnova, 1972). Tsikon-Lukanina (1983), haciendo una recopilación de la literatura existente y de trabajos propios, estima la tasa de asimilación de diferentes taxones del filo Mollusca, concluyendo que los Bivalvos, Opisthobranchios y Mesogasterópodos asimilan en promedio el 75, 73 y 78 %, respectivamente, y en forma general concluye que todos los grupos de moluscos asimilan en promedio el 73 % independientemente del tipo de alimento.

Las estimaciones de asimilación pudieron verse afectadas por la acción bacteriana sobre las heces, ya que éstas fueron colectadas a las 24 horas de iniciado el experimento, sin embargo, Conover (1966a) estima que el efecto de las bacterias en el cálculo del porcentaje de asimilación es mínimo (alrededor de 1 o 2 %). Asimismo, debido a que algunos ingredientes de las dietas no se encuentran en el medio natural de *B. gouldiana*, la ausencia de enzimas digestivas específicas pudo ser causa de la baja asimilación. Además, debido a que este organismo se alimenta naturalmente de depósitos cuyo contenido de materia

orgánica es bajo (alrededor de 8 % en el Estero de Punta Banda según estimaciones propias), necesita ingerir continuamente altas cantidades de sedimentos para cubrir sus requerimientos energéticos, ésto se traduce en que el tiempo de residencia del alimento en el tracto digestivo sea bajo. Pandian (1967, citado en Pandian, 1975) encuentra que la velocidad a la cual el alimento es forzado a través del tracto digestivo influye notablemente en la eficiencia de asimilación.

Considerando que la tasa de ingestión óptima (160 mg/g/día) fue relativamente alta, es factible que la eficiencia de asimilación de otras dietas naturales o artificiales de diferente composición proximal a la utilizada en este estudio no resulten mucho más elevadas, posibilidad que requiere ser investigada. Por otra parte, utilizando la misma dieta una mejoría en las tasas de asimilación también podría lograrse reduciendo las raciones diarias y permitiendo su reingestión, hábito observado en *B. gouldiana* y otros gasterópodos alimentadores de depósito (Carefoot, 1967).

La eficiencia de asimilación no fue afectada significativamente por la temperatura (Tabla V), lo cual coincide a lo reportado en otros organismos (Conover, 1966b; Widdows, 1978).

El incremento casi lineal en la eficiencia de asimilación con respecto a la salinidad (Fig. 5) pudo deberse en parte a una secreción de sales del tracto digestivo proporcional a la salinidad ambiental. Las sales no derivadas del alimento, al aumentar el contenido de cenizas en las heces, alteran en forma proporcional positiva la eficiencia asimilativa. Grahame (1973) demuestra que la discrepancia entre las tasas de asimilación de *Littorina littorea* (L.) estimadas calorimétrica y gravimétricamente se deben a la secreción de sales de calcio ocurridas durante el proceso digestivo. Asimismo, concluye que esta fuente de error en las determinaciones gravimétricas es responsable de la alta variabilidad observada en el porcentaje de asimilación, variabilidad también observada en los bioensayos de asimilación realizados (Figs. 6-A y B).

Si la secreción de sales contribuyó a la relación observada entre la eficiencia de asimilación y salinidad ambiental, con la información disponible no es posible cuantificar su aportación, sin embargo, ésta debió haber sido parcial ya que el efecto de la salinidad sobre las tasas de crecimiento corporal (Fig. 13-A) son congruentes con los resultados de asimilación.

Aparentemente las variaciones de la tasa de ingestión con respecto al tiempo de tratamiento en los organismos

adultos (Fig. 7) fueron de carácter cíclicos. Dicho patrón pudo deberse a errores sistemáticos cíclicos inadvertidamente introducidos durante el período experimental (alteraciones del fotoperíodo experimental de 12:12 hrs.), o al comportamiento biológico propio de la especie (ritmicidad en la actividad de ingestión). El hecho de no haber encontrado una correspondencia unívoca entre las relaciones funcionales de las tasas de ingestión, asimilación y crecimiento con respecto a las variables temperatura y salinidad, no necesariamente implica la inexistencia de una interacción, solo que debido al desconocimiento del efecto de estas variables ambientales sobre el gasto metabólico, no se tienen suficientes elementos para dilucidar íntegramente el problema.

Los resultados de este estudio con respecto a las diferencias en las tasas de engorda estimadas para los organismos juveniles (1.3-11.7 mg/día en peso seco) y adultos (5.3-22.5 mg/día en peso seco) son similares a los reportados por otros autores que han investigado la relación funcional entre la edad y las tasas de crecimiento de varios moluscos gasterópodos (Kriegstein *et al.*, 1974; Berg, 1976; Peretz y Adtkins, 1982).

La independencia de las tasas de crecimiento corporal estimadas en los organismos adultos con respecto a la

temperatura experimental (Fig. 13-A), no concuerda a lo reportado en la gran mayoría de estudios afines (Prosser, 1973; Kinne, 1970), sin embargo, en la relación anterior no se consideró la pérdida en peso debida a los desoves y que en *B. gouldiana* puede ser muy significativa. Las experiencias en el mantenimiento de este organismo bajo condiciones controladas indican que cuando éstas son favorables, desovan continuamente. Así, en la figura 13-B se constata que las tasas de crecimiento total (incluido el desove) si fueron significativamente afectadas por la temperatura. De hecho, la contribución de los desoves a las tasas de crecimiento total en los tratamientos de 18 °C fue mínima, mientras que en las temperaturas mayores de 24 °C llegó a constituir hasta un 70 % de la ganancia en peso total, porcentaje similar al reportado en varias especies de *Aplysia* (Carefoot, 1967, 1980).

El crecimiento en los juveniles y adultos, se vió afectado en forma diferente por la temperatura y salinidad. En los adultos, estas dos variables contribuyeron a las variaciones en la tasa de engorda, mientras que en los juveniles, únicamente la temperatura afectó de manera significativa esta tasa fisiológica. Las mayores tasas de crecimiento en los juveniles ocurrieron en el rango de 21 a 27 °C, mientras que en los adultos el rango de temperatura de máximo crecimiento es más amplio pero circunscrito a

salinidades mayores de 33 o/oo. Considerando que *B. gouldiana* es un alimentador de depósito, lo anterior sugiere que el patrón de migración estacional de este organismo y diferente distribución espacial de adultos y juveniles observada en el Estero de Punta Banda puede obedecer a una selección de ambientes térmico-salinos óptimos para su desarrollo en el medio natural. Así, la migración de adultos hacia los canales del Estero observada en el otoño pudiera ser una estrategia para optimizar el crecimiento corporal, favoreciendo la producción de desoves al retornar a la región somera durante primavera. Por otra parte, dado el estrecho rango de temperaturas en el que ocurre el máximo crecimiento de los juveniles, la presencia de éstos en los bajos del Estero durante otoño pudiera constituir un recurso para optimizar dicha tasa fisiológica. Cabe hacer notar que el patrón de distribución de *B. gouldiana* antes discutido, se basa en presencia-ausencia y apreciaciones subjetivas de abundancia relativa determinadas durante el desarrollo de este estudio y ratificadas por observaciones de campo de colectas anteriores (Bückle-Ramírez y Farfán, com. pers.)*.

Lás tasas de crecimiento en los organismos juveniles alimentados con la dieta mixta fueron significativamente mayores que en los juveniles alimentados con la dieta vegetal en similares tratamientos T-S (Figs. 10-A y B).

*C.I.C.E.S.E., Espinoza #843 Ensenada, B.C.

A pesar de que ambas dietas fueron muy semejantes en sus contenidos protéicos y calóricos (Apéndice I), estas diferencias pudieron deberse en parte a que la dieta mixta presentó las mayores tasas de ingestión (Tabla VI). Además, dado que el contenido de cenizas, en forma general, afecta negativamente la eficiencia de asimilación (Halver, 1976), probablemente esta dieta, cuyo porcentaje de cenizas fue ligeramente inferior (Apéndice I), fue mejor asimilada. Por otra parte, aunque en términos de aminoácidos ambas dietas estaban igualmente representadas, generalmente la proteína de origen animal es más rica en triptofano, metionina y licina (Halver, 1976, cit.), los cuales están pobremente representados en las fuentes de origen vegetal. Así, las diferencias cuantitativas en ciertos aminoácidos también pudieron contribuir a las diferencias observadas.

En base a las máximas tasas de crecimiento diario obtenidos en los organismos juveniles durante el presente estudio, y asumiendo éstas pudieran sostenerse indefinidamente en condiciones controladas, se estima que *E. gouldiana* podría alcanzar un tamaño comercialmente aceptable en 7 meses utilizando la dieta mixta, mientras que utilizando la dieta vegetal un crecimiento comparable requeriría 14 meses.

6 CONCLUSIONES

- La eficiencia de asimilación de los organismos adultos de *Bulla gouldiana* únicamente se vió afectada, en forma lineal, por el factor salinidad; los valores promedio calculados fueron de 34, 44 y 52 % a salinidades de 25, 33 y 42 o/oo, respectivamente.

- La temperatura y salinidad influyeron de forma diferente sobre la tasa de ingestión media en ambos estadios de este organismo; en los adultos, una significativa fracción de la variabilidad total observada fue explicada por ambos factores ambientales, mientras que en los juveniles, el efecto de éstos no fue significativo.

- Las mayores tasas de crecimiento en los juveniles ocurrieron en el rango de 21 a 27 °C, independientemente de la salinidad, mientras que en los adultos el rango de temperatura de mayor crecimiento corporal fue más amplio (18-28 °C), pero circunscrito a salinidades mayores de 33 o/oo.

- A temperaturas mayores de 24 °C la producción de desoves fue constante a lo largo del período experimental. En estos organismos la producción de desoves llegó a

representar hasta un 70 % de la ganancia neta en peso seco.

- Los organismos juveniles presentaron mayores tasas de crecimiento e ingestión media alimentándose con la dieta mixta.

- Los resultados obtenidos en crecimiento, frecuencia de desoves, ingestión, así como la composición bioquímica de los ingredientes utilizados en la preparación de las dietas indican que éstas son de buena calidad, sin embargo, las bajas eficiencias de asimilación estimadas las hacen inadecuadas para propósitos de cultivos masivos.

- En base a las máximas tasas de crecimiento obtenidas en el presente estudio, se estima que *B. gouldiana* podría alcanzar un tamaño comercialmente aceptable (> 5 g) en 7 meses utilizando la dieta mixta y de 14 meses con la dieta vegetal.

7 LITERATURA CITADA

Abbot, R.C., 1954. American Seashells. D. van Nostrand Co., Inc. Princeton, New Jersey. 541 pp.

Alderdice, D.F., 1972. Factor combination: response of marine poikilotherms to environmental factors acting in concert. En: Kinne, O. (ed.). Marine Ecology, vol 1. Environmental factors, parte 3. Wiley-Interscience. London. 1659-1722.

Allen, R.K., 1969. Common Intertidal Invertebrates of Southern California. Peck Publications. Palo Alto. 315 pp.

Bardach, J.E., J.H. Rythers & W.O. McLarney., 1972. Aquaculture: the farming and husbandry of freshwater and marine organisms. Wiley-Interscience. New York. 868 pp.

Berg, C.J.jr., 1976. Growth of the queen conch *Strombus gigas*, with a discussion of the practicality of its mariculture. Marine Biology 34, 191-199.

- Block, G.D. & D.A. Davenport., 1982. Circadian rhythmicity in *Bulla gouldiana* role of the eyes in controlling locomotor behaviour. J. Exp. Zool. 224(1):57-64.
- Brusca, R.C., 1980. Common Intertidal Invertebrates of the Gulf of California. The University of Arizona Press. Tucson, Arizona. 513 pp.
- Bubnova, N.P., 1972. Diet and assimilation of food by the detritus-feeding mollusk *Portlandia arctica*. Oceanology. 11(2): 248-251. Traducción de Okeanologiya. 11(2):302-305;1971.
- Carefoot, T.H., 1967. Growth and nutrition of *Aplysia punctata* feeding on a variety of marine algae. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 47:565-589.
- Carefoot, T.H., 1980. Studies on the nutrition and feeding preferences of *Aplysia*: Development of an artificial diet. J. Exp. mar. Biol. 42:241-252.
- Condrey, R.E., J.G. Gosselink & H.J. Bennett., 1972. Comparison of the assimilation of different diets by *Penaeus setiferus* and *P. aztecus*. Fishery Bulletin 70(4):1281-1292.

Conover, R.J., 1966a. Assimilation of organic matter by zooplankton *Limnol. Oceanogr.* 11:338-345.

Conover, R.J., 1966b. Factors affecting the assimilation of organic matter by zooplankton and the question of superfluous feeding. *Limnol. Oceanogr.* 11:346-354.

Crisp, D.J., 1971. Energy flow measurements. En: Holme, N.A. & A.D. McIntyre (eds.). *Methods for the Study of Marine Benthos. I.B.P. Handbook, 16.* Oxford & Edinburg: Blackwell Scientific Publication. 197-279.

Dall, W. & D.J.W. Moriarty., 1983. Functional aspects of nutrition and digestion. En: Mantel, L.H. (ed.). *The Biology of Crustacea.* Academic Press, Inc. 215-261.

Ghiselin, M.T., 1966. Reproductive function and the phylogeny of opisthobranch gastropods. *Malacologia* 3(3):327-378.

Grahame, J., 1973. Assimilation efficiency of *Littorina littorea* (L.) (Gastropoda:Opisthobranchia). *The Journal of Animal Ecology* 42(2): 383-389.

- Halver, J.E. 1976. Formulating practical diets for fish.
J. Fish. Res. Bd. Can. 33:1032-1039.
- Johnson, M.E. & H.J. Snook., 1955. Seashore Animals of
the Pacific Coast. MacMillan Co., New York. 639 pp.
- Kinne, O., 1970. Temperature: Animal-Invertebrates. En:
Kinne, O. (ed.). Marine Ecology, vol 1,
Environmental factors, parte 1 Wiley-Intescience
London. 407-514.
- Kinne, O., 1971. Salinity: Animal-Invertebrates. En:
Kinnne, O. (ed.). Marine Ecology, vol 1,
Environmental factors, parte 2. Wiley-Interscience
London. 821-995.
- Kriegstein, A.R., V. Castellucci & E.R. Kandel., 1974.
Metamorphosis of *Aplysia californica* in laboratory
culture. Proc. Nat. Acad. Sci. USA.
71(9):3654-3658.
- Lasker, R. H. M. Feder, G. H. Theilacker & R. C.
May., 1970. Feedin, growth, and survival of
Engraulis mordax larval reared in the laboratory.
Mar. Biol. 5:345-353.

MacGinitie, G.E. & N. MacGinitie., 1949. Natural history of marine animals. McGraw Hill Book Co. New York. 473 pp.

Paine, R.T., 1963. Food and reconigtion and predation on opistobranchs by Nayanax inermis (Gastropoda: Opistobranchia). The Veliger 6(1):1-9.

Pandian, T.J., 1975. Mechanisms of Heterotrophy. En: O. Kinne (ed.). Marine Ecology, vol II, Physiological mechanisms, parte 1. Wiley-Interscience London. 61-249.

Peretz, B. & L. Adkins, 1982. An index of age when birthdate is unknown in Aplysia californica: shell size and growth in long-term maricultured animals. Biol. Bull. 162:333-344.

Prosser, C.L., 1973. Temperature. En: Prosser C.L. (ed.). Comparative Animal Phisiology. W.B. Saunders Company. Philadelphia. 362-428.

Rickets, E.F. & J. Calvin., 1968. Between pacific tide. 4th edition. Stanford Univ. Press, Stanford. 614 pp.

- Robles, L.J., 1975a. The anatomy and functional morphology of the reproductive system of Bulla gouldiana Gastropoda:Opisthobranchia. *Veliger* 17 (3):278-291.
- Robles, L.J., 1975b. Acid phosphatase localization in neurons of Bulla gouldiana. *All tissue res.* 157:217-225.
- Robles, L.J., 1978. Accumulation and identification of lipofuscin like pigment on the neurons of Bulla gouldiana. *Mech Ageing Dev.* 7(1):53-64.
- Snedecor, J. y T. Cochran., 1982. *Métodos Estadísticos*. CECSA, México. 703 pp.
- Sokal, R.R. & F.J. Rohlf, 1966. *Biometry. The principles and practice of statistics in biological research*. W.H. Freeman & Co. San Francisco. 766 pp.
- Spotte, S., 1979. *Fish and Invertebrate Culture. Water management in closed systems. Second edition*. Wiley-Interscience Publication. 179 pp.
- Tsikhon-Lukanina, Ye.A., 1983. Food assimilability in bottom mollusks. *Oceanology*. 22(5):619-623. Traducción de *Okeanologiya*. 22(5) 1982.

Widdows, J., 1978. Combined effects of body size, food concentration and season on the physiology of *Mytilus edulis*. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 58:109-124.

APENDICE I

Composición proximal de las dietas utilizadas y de los componentes empleados en la elaboración de las mismas. Los valores se expresan en porcentaje del peso seco.

	AGUA	CENIZAS	PROTEINAS	CARBOHIDRATOS	GRASAS	CALORIAS Kcal/gr
Gluten (1)	22.0	8.71	54.36	24.10	12.82	5.27
ROSCO (2)	75.0	14.00	32.00	46.00	8.00	4.45
HARINA de TRIGO (1)	8.26	0.98	11.38	85.30	1.53	4.31
Enteromorpha <u>intestinalis</u> (3)	81.35	32.63	18.30	46.77	1.78	3.09
DIETA VEGETAL (4)	---	16.73	31.64	45.41	6.15	4.23
DIETA MIXTA (4)	---	13.17	33.90	45.37	7.49	4.48

(1) valores tomados de Considine (1982).

(2) Valores tomados de la etiqueta del producto.

(3) Promedio de los valores estimados por Carefoot (1967) y Bardach et al. (1972).

(4) Estimados a partir de la composición proximal de los componentes.

APENDICE II

Contenido de aminoácidos de los componentes de la dieta vegetal. Valores tomados de: Considine (1982); Gluten y harina de trigo y Carefoot (1967); E. intestinalis.

	<u>Enteromorpha</u> <u>intestinalis</u> % peso seco	GLUTEN mg/gr N	HARINA de TRIGO mg/gr N
ISOLEUCINA	0.08	258	232
LEUCINA	0.21	433	379
LISINA	0.15	89	159
METIONINA	0.08	100	97
CISTINA	----	131	127
FENILALANINA	0.02	324	276
TIROSINA	0.08	229	186
TREONINA	0.12	159	192
TRIPTOFANO	----	---	68
VALINA	0.08	266	270
ARGININA	0.19	188	254
HISTIDINA	0.05	136	121
ALANINA	0.42	158	174
AC. ASPARTICO	0.63	191	258
AC. GLUTAMICO	0.49	2341	2156
GLICINA	0.36	199	202
PROLINA	0.22	827	730
SERINA	0.28	311	340

APENDICE II

Contenido de aminoácidos de los componentes de la dieta vegetal. Valores tomados de: Considine (1982); Gluten y harina de trigo y Carefoot (1967); <u>E. intestinalis</u> .			
	<u>Enteromorpha</u> <u>intestinalis</u> % peso seco	GLUTEN mg/gr N	HARINA de TRIGO mg/gr N
ISOLEUCINA	0.08	258	232
LEUCINA	0.21	433	379
LISINA	0.15	89	159
METIONINA	0.08	100	97
CISTINA	----	131	127
FENILALANINA	0.02	324	276
TIROSINA	0.08	229	186
TREONINA	0.12	159	192
TRIPTOFANO	----	---	68
VALINA	0.08	266	270
ARGININA	0.19	188	254
HISTIDINA	0.05	136	121
ALANINA	0.42	158	174
AC. ASPARTICO	0.63	191	258
AC. GLUTAMICO	0.49	2341	2156
GLICINA	0.36	199	202
PROLINA	0.22	827	730
SERINA	0.28	311	340