



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE
BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE
CIENCIAS MARINAS

EFFECTO DE LA TEMPERATURA, SALINIDAD Y CONCENTRACION
DE ALIMENTO SOBRE EL DESARROLLO LARVAL DE
Mytilus californianus



T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

O C E A N O L O G O

PRESENTA:

CASANDRA ANGUIANO BELTRAN

ENSENADA, B.C.

MAYO DE 1989

RESUMEN

Se realizaron experimentos para examinar el efecto de la temperatura, salinidad y concentración de alimento sobre la sobrevivencia y crecimiento de larvas de *Mytilus californianus* utilizando un diseño rotacional central compuesto. Se encontró que la sobrevivencia de larvas de *M. californianus* ocurrió en el rango de 14-22°C y 16-33‰. El mayor crecimiento se obtuvo a 16.18‰ y 19°C, el menor crecimiento se detectó a 7.22°C y 33‰. Los organismos murieron en los primeros días del experimento en la combinación de 30.77°C y 33‰. La combinación de temperatura alta y salinidad alta mostró ser letal para larvas de esta especie, por el contrario la combinación de temperatura baja y salinidad baja provee una sobrevivencia y crecimiento altos. Se encontró que el factor que tiene mayor influencia sobre el desarrollo de larvas de *M. californianus* es la temperatura. Se encontró que las larvas de este organismo tiene diferentes requerimientos fisiológicos en cada fase de su desarrollo. Los resultados se discuten en función de las aplicaciones que pueden tener en el campo de la acuicultura.

"EFECTO DE LA TEMPERATURA, SALINIDAD Y CONCENTRACION DE ALIMENTO
SOBRE EL DESARROLLO LARVAL DE *Mytilus californianus*.

T E S I S
QUE PRESENTA:
CASANDRA ANGUIANO BELTRAN

APROBADA POR:

García Pámanes F.

Presidente del Jurado
Oc. Fernando García Pámanes

Luis García Pámanes

Sinodal Propietario
Oc. Luis García Pámanes

Roxana Rico

Sinodal Propietario
M.C. Roxana Rico Mora

Alfredo Salas Garza

Sinodal Suplente
Oc. Alfredo Salas Garza

Lewis S. McAnally Salas

Sinodal Suplente
Oc. Lewis S. McAnally Salas

AGRADECIMIENTOS

Al personal del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la Universidad Autónoma de Baja California por el apoyo que me brindó tanto en lo que respecta a instalaciones como a material y equipo.

Al personal del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y al personal de la Dirección General de Investigación y Posgrado de la U. A. B. C. por la beca que me fue otorgada.

Al Oc. Fernando García Pámanes por la acertada dirección de esta tesis, sus atinados comentarios y sugerencias.

A los Oceanólogos Luis García Pámanes, Lewis McAnally Salas, Alfredo Salas Garza y a la M. C. Roxana Rico Mora sinodales de este trabajo por sus útiles comentarios e invaluable ayuda.

Al Oc. Francisco Delgadillo Hinojosa por la ayuda que me brindó durante el aprendizaje de la Metodología de Superficies de respuesta.

A la P. O. Aracely Alejandra Fernandez García por su ayuda durante la fase experimental.

A todos mis amigos quienes me ayudaron ya sea en forma voluntaria o prestando su Servicio Social.

DEDICATORIA

A EVA BELTRAN SOTO mi madre

A quien amo entrañablemente porque me enseñó el amor a todas a las cosas.

A MI PADRE ADALID ANGUIANO GAMBOA

Porque su memoria aún perdura en mi

A MIS HERMANOS

ADALID

SIEBEL

GRISEL

WILFREDO

IRELA

AUDREY

ADELINA

Y ERICA

Porque con ellos pasé momentos muy felices

A FRANCISCO DELGADILLO HINOJOSA

Compañero y esposo con todo mi amor y agradecimiento por el apoyo que me ha brindado

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS

De quienes guardo gratos recuerdos

Tabla de contenido

1	INTRODUCCION	1
1.1	ANTECEDENTES	1
1.2	OBJETIVO	6
2	MATERIALES Y METODOS	7
2.1	DISEÑO EXPERIMENTAL	7
2.2	SISTEMA EXPERIMENTAL	9
2.3	EXPERIMENTACION	12
2.4	ANALISIS ESTADISTICO	16
3	RESULTADOS.	19
3.1	SOBREVIVENCIA	19
3.1.1	SOBREVIVENCIA A LOS OCHO DIAS	19
3.1.2	SOBREVIVENCIA A LOS 14 DIAS	21
3.1.3	SOBREVIVENCIA A LOS 20 DIAS	27
3.2	CRECIMIENTO	40
3.2.1	CRECIMIENTO A OCHO DIAS	40
3.2.2	CRECIMIENTO A LOS 14 DIAS	45
3.2.3	CRECIMIENTO A LOS 20 DIAS	50
3.3	EVALUACION DEL EFECTO COMBINADO DE SOBREVIVENCIA Y CRECIMIENTO	61
3.3.1	EFECTO COMBINADO DE SOBREVIVENCIA Y CRECIMIEN- TO A LOS 14 DIAS	61
3.3.2	EFECTO COMBINADO DE SOBREVIVENCIA Y CREC- IMIENTO A LOS 20 DIAS	66
4	DISCUSION.	73
4.1	SOBREVIVENCIA	73
4.2	CRECIMIENTO	77
4.3	ANALISIS COMBINADO DE SOBREVIVENCIA Y CRECIMIENTO	80
5	CONCLUSIONES.	85
6	LITERATURA CITADA	86

LISTA DE FIGURAS

PAG.

- Fig. # 1 Diseño central compuesto rotacional.
(Tomado de Cochran y Cox, 1983). 7
- Fig. # 2 Esquema del sistema experimental para larvas de *Mytilus californianus*. 11
- Fig. # 3 Contornos de superficies de respuestas para sobrevivencia de larvas de *Mytilus californianus* a los 14 días de edad a diferentes concentraciones de alimento A: 2 cel/ μ l; B: 40 cel/ μ l; C: 101cel/ μ l; D: 200 cel/ μ l. 26
- Fig. # 4 Contornos de superficies de respuestas para sobrevivencia de larvas de *Mytilus californianus* a los 20 días de edad a diferentes concentraciones de alimento A: 3 cel/ μ l; B: 60 cel/ μ l; C: 151.5 cel/ μ l; D: 300 cel/ μ l. 31
- Fig. # 5 Efecto de la temperatura en el tiempo sobre el porcentaje de sobrevivencia de larvas de *Mytilus californianus* a salinidad y concentración de alimento constantes (33 ppm, 50.50-151.5 cel/ μ l). 34
- Fig. # 6 Efecto de la salinidad en el tiempo sobre el porcentaje de sobrevivencia de *Mytilus californianus* a temperatura y concentración de alimento constantes (19 °C, 50.5-151.5 cel/ μ l). 35
- Fig. # 7 Efecto de la concentración de alimento sobre el porcentaje de sobrevivencia de *Mytilus californianus* a temperatura y salinidad constantes (19° C, 33 ppm). 36
- Fig. # 8 Efecto combinado de la temperatura y salinidad sobre el porcentaje de sobrevivencia de *Mytilus californianus* bajo la misma concentración de alimento (21.08 cel/ μ l.). 38
- Fig. # 9 Efecto combinado de la temperatura y salinidad sobre el porcentaje de sobrevivencia de *Mytilus californianus* bajo la misma concentración de alimento (79.92 cel/ μ l.). 39
- Fig. # 10 Contornos de superficies de respuestas para crecimiento de larvas de *Mytilus californianus* a los ocho días de edad a diferentes concentraciones de alimento A: 1 cel/ μ l; B: 20 cel/ μ l; C: 50 cel/ μ l; D: 100 cel/ μ l. 44

- Fig. # 11 Contornos de superficies de respuestas para crecimiento de larvas de *Mytilus californianus* a los 14 días de edad a diferentes concentraciones de alimento A: 2 cel/ μ l; B: 40 cel/ μ l; C: 101 cel/ μ l; D: 200 cel/ μ l. 49
- Fig. # 12 Contornos de superficies de respuestas para crecimiento de larvas de *Mytilus californianus* a los 20 días de edad a diferentes concentraciones de alimento A: 3 cel/ μ l; B: 60 cel/ μ l; C: 151.5 cel/ μ l; D: 300 cel/ μ l. 54
- Fig. # 13 Efecto de la temperatura en el tiempo sobre el porcentaje de crecimiento de larvas de *Mytilus californianus* a salinidad y concentración de alimento constantes (33 ppm, 50.50-151.5 cel/ μ l). 56
- Fig. # 14 Efecto de la salinidad en el tiempo sobre el porcentaje de crecimiento de *Mytilus californianus* a temperatura y concentración de alimento constantes (19 °C, 50.5-151.5 cel/ μ l). 57
- Fig. # 15 Efecto de la concentración de alimento sobre el porcentaje de crecimiento de *Mytilus californianus* a temperatura y salinidad constantes (19° C, 33 ppm). 58
- Fig. # 16 Efecto combinado de la temperatura y salinidad sobre el porcentaje de crecimiento de *Mytilus californianus* bajo la misma concentración de alimento (21.08 cel/ μ l). 59
- Fig. # 17 Efecto combinado de la temperatura y salinidad sobre el porcentaje de crecimiento de *Mytilus californianus* bajo la misma concentración de alimento (79.92 cel/ μ l). 60
- Fig. # 18 Contornos de superficies de respuestas para para datos combinados de sobrevivencia y crecimiento de larvas de *Mytilus californianus* a los 14 días de edad a diferentes concentraciones de alimento A: 2 cel/ μ l; B: 40 cel/ μ l; C: 101 cel/ μ l; D: 200 cel/ μ l. 65
- Fig. # 19 Contornos de superficies de respuestas para datos combinados de sobrevivencia y crecimiento de larvas de *Mytilus californianus* a los 20 días de edad a diferentes concentraciones de alimento A: 3 cel/ μ l; B: 60 cel/ μ l; C: 151.5 cel/ μ l; D: 300 cel/ μ l. 70

LISTA DE TABLAS

	PAG.
Tabla I Coordinadas en unidades codificadas de las combinaciones de factores que se usaran en los diseños experimentales.	9
Tabla II Combinaciones experimentales de temperatura, salinidad y concentración de alimento para larvas de <i>Mytilus californianus</i> (dieta 1:1 a base de <i>Isochrysis taitiana</i> y <i>Monochrysis lutheri</i>).	15
Tabla III Porcentajes de sobrevivencia de larvas de <i>Mytilus californianus</i> de ocho días de edad bajo diferentes condiciones experimentales de temperatura, salinidad y concentración de alimento.	20
Tabla IV Analisis de varianza para datos de sobrevivencia de larvas de <i>Mytilus californianus</i> a los ocho días de edad generados por la ecuación de regresión lineal.	21
Tabla V Porcentajes de sobrevivencia de larvas de <i>Mytilus californianus</i> de 14 días de edad bajo diferentes condiciones experimentales de temperatura, salinidad y concentración de alimento.	23
Tabla VI Analisis de varianza para datos de sobrevivencia de larvas de <i>Mytilus californianus</i> a los 14 días de edad generados por la ecuación de regresión.	24
Tabla VII Porcentajes de sobrevivencia de larvas de <i>Mytilus californianus</i> de 20 días de edad bajo diferentes condiciones experimentales de temperatura, salinidad y concentración de alimento.	28
Tabla VIII Analisis de varianza para datos de sobrevivencia de larvas de <i>Mytilus californianus</i> a los 20 días de edad generados por la ecuación de regresión.	29

Tabla IX	Datos de crecimiento de larvas de <i>Mytilus californianus</i> de ocho días de edad bajo diferentes condiciones experimentales de temperatura, salinidad y concentración de alimento (expresado en micras).	41
Tabla X	Análisis de varianza para datos de crecimiento de larvas de <i>Mytilus californianus</i> a los ocho días de edad generados por la ecuación de regresión.	42
Tabla XI	Datos de crecimiento de larvas de <i>Mytilus californianus</i> de 14 días de edad bajo diferentes condiciones experimentales de temperatura, salinidad y concentración de alimento expresado en micras.	46
Tabla XII	Análisis de varianza para datos de crecimiento de larvas de <i>Mytilus californianus</i> a los 14 días de edad generados por la ecuación de regresión.	47
Tabla XIII	Datos de crecimiento de larvas de <i>Mytilus californianus</i> de 20 días de edad bajo diferentes condiciones experimentales de temperatura, salinidad y concentración de alimento (expresado en micras).	51
Tabla XIV	Análisis de varianza para datos de crecimiento de larvas de <i>Mytilus californianus</i> a los 20 días de edad generados por la ecuación de regresión.	52
Tabla XV	Porcentajes combinados de sobrevivencia y crecimiento de larvas de <i>Mytilus californianus</i> de 14 días de edad bajo diferentes condiciones experimentales de temperatura, salinidad y concentración de alimento.	62
Tabla XVI	Análisis de varianza para datos combinados de sobrevivencia y crecimiento de larvas de <i>Mytilus californianus</i> a los 14 días de edad generados por la ecuación de regresión.	63
Tabla XVII	Porcentajes de sobrevivencia y crecimiento de larvas de <i>Mytilus californianus</i> de 20 días de edad bajo diferentes condiciones experimentales de temperatura, salinidad y concentración de alimento.	67

Tabla XVIII Analisis de varianza para datos de sobrevivencia mas crecimiento de larvas de *Mytilus californianus* a los 20 dias de edad generados por una ecuación de regresión lineal.

1 INTRODUCCION

El mejillón *Mytilus californianus* Conrad (1857) es un molusco de la Clase Pelecypoda de la Familia Mytilidae. Este bivalvo es un componente característico de la costa occidental de Baja California. Su hábitat es fundamentalmente sobre ambientes rocosos expuestos y en ocasiones forma grandes bancos, que delimita una franja en la línea de costa en la zona entremareas, específicamente en el mesolitoral e infralitoral, y se le encuentra en algunos casos a 12 mts de profundidad (Berry, 1954).

Contrario a las especies de peces generalmente explotados por el hombre, algunos invertebrados grandes que viven en el fondo están en una posición más baja en la cadena trófica, alimentándose directamente de los productores primarios ya sea fitoplancton o bacterias, así como de materia orgánica muerta (Kinne, 1970; Korringa, 1976; Mason, 1972). Bardach y Ryther (1972), mencionan además que los filtroalimentadores herbívoros son convertidores más eficientes y se prestan mejor al cultivo, ya que no requieren alimentación artificial, y proporcionan una mayor producción por unidad de área que especies de niveles tróficos más altos.

1.1 ANTECEDENTES

El Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO) de la Universidad Autónoma de Baja California, desde el año de 1977

ha llevado a cabo estudios acerca de la biología y ecología del mejillón *M. californianus* con miras a establecer técnicas para el cultivo comercial en esta zona. Una limitante sería para llevar a cabo cultivos a gran escala, es no tener la disponibilidad suficiente de semilla para lograr que este tipo de actividad sea rentable.

Mucha de la investigación maricultural se relaciona con la obtención de semilla o juveniles de los organismos cultivados, ya sea mediante la recolección en los bancos naturales, colecta en sustratos artificiales o preferentemente de desove y cría controlados en laboratorio.

La forma de recolección de la semilla de algunos Mytilidos en los bancos naturales se lleva a cabo de diferentes modos en varios países. En Holanda se recolecta con ayuda de dragas a bordo de un bote ya que la semilla se asienta en el lecho lodoso de las playas; en Francia, Yugoslavia y Filipinas colocan colectores de diferentes materiales ya sea de fibras naturales o sintéticas en los lugares de asentamiento natural. En Italia y España se realiza en las mareas bajas cuando las camas de mejillón quedan expuestas y consiste del desprendimiento de la semilla por medio de un instrumento que consiste de un palo largo con la punta en forma de espátula o con una hoja de acero en la misma, Korringa, (1976). Para *Mytilus californianus* es problemático obtener la semilla de esta manera,

García-Pámanes y Monje (1981, 1982) encontraron que el uso de colectores sumergidos en el medio natural para obtener la semilla de ésta especie hasta ahora no ha dado resultados positivos debido a que las larvas abandonan los colectores al alcanzar un tamaño de 1.0 micra, aproximadamente. También Seed (1976) encontró en experimentos con varios sustratos que las plantigradas se asientan primariamente en sustratos filamentosos y permanecen allí hasta alcanzar una talla aproximada de 1.0 a 1.5 micras después de lo cual se desprenden y se asientan por segunda vez en las camas de adultos. Sin embargo aún cuando la semilla de mejillón se asienta abundantemente sobre las rocas estos asentamientos son muy variables año con año y por tanto hay ocasiones en que la semilla del medio natural no alcanza a cubrir las necesidades de un cultivo comercial.

La alternativa para lograr obtener una cantidad de semilla adecuada sería la de producirla en el laboratorio (Trevelyan y Chang, 1983). Estos estudios ayudarían a evitar la variabilidad e inconsistencia de los asentamientos naturales y ofrecen la ventaja de poder manipular la densidad y controlar las enfermedades para optimizar la sobrevivencia y el crecimiento. (Waterstrat et al, 1980).

La producción eficiente de semilla en laboratorio requiere de conocimientos detallados de los efectos de muchos factores

ambientales, de los cuales se sabe que afectan la sobrevivencia y el crecimiento la temperatura, salinidad, oxígeno, pH y concentración de alimento (Siddall, 1978). El mismo autor también señala que cuando un juego específico de condiciones óptimas se aplica a cada fase larval se puede esperar un crecimiento mayor y mortalidades reducidas para aquellas especies en las cuales tales cambios de requerimientos ambientales son significativos.

En la búsqueda de las condiciones óptimas para el cultivo de semilla en laboratorio se han llevado a cabo un gran número de estudios de diferente naturaleza. Se han hecho estudios monofactoriales como los de Stickney (1964), Calabrese y Davis (1970), Hrs-Brenko (1978), Waterstrat et al (1980), Trevelyan y Chang (1983), Petersen (1984), Paulay et al (1985) que tienen la desventaja de no proporcionar una imagen completa de las relaciones que guardan los organismos con el medio ambiente, pues éstos se encuentran bajo el efecto de más de un factor. Sobre esto, Kinne y Kinne (1962) Hrs-Brenko y Calabrese (1969), establecen que los estudios empleando combinaciones de varios factores ambientales controlados permiten un entendimiento más profundo de las relaciones sutiles entre el medio y el organismo.

En la naturaleza los invertebrados acuáticos están sujetos a una gran variedad de cambios ambientales y ellos responden

al total de estímulo resultante más bien que a entidades ambientales simples. Los patrones de respuesta orgánica para el complejo medio ambiente natural es multidimensional, por tanto las respuestas funcional y estructural de un organismo deben ser evaluadas en terminos de esos factores conjuntamente (kinne, 1970).

Una técnica más adecuada para lograr la optimización de los factores que participan en el proceso de cultivo es la de superficies de respuesta. Esta técnica, introducida por Box y Wilson (1951) para el análisis de experimentos multifactoriales, rápidamente encontró aplicaciones a fenómenos biológicos.

La metodología de superficies de respuesta permite la predicción de la respuesta de un organismo a condiciones no probadas dentro del rango experimental, así como encontrar las combinaciones de factores que producen una respuesta óptima (máxima o mínima). Las superficies de respuesta ajustadas a modelos de regresión de 2° orden pueden reflejar fenómenos biológicos asociados con propiedades de plasticidad, interacción, tolerancia y capacidad, las cuales podrían tener patrones distintos no sólo entre especies, sino entre tamaños, edades o estados fisiológicos de los organismos (Alderdice, 1972).

De los muchos factores ambientales de los cuales se sabe que afectan la sobrevivencia y crecimiento de los organismos,

la temperatura, oxígeno, pH, salinidad y concentración de alimento han sido estudiados por medio de experimentos que incluyen dos o tres de ellos simultáneamente (Davis y Calabrese, 1964; Alderdice y Forrester, 1968; Hrs-Brenko y Calabrese, 1969; Calabrese, 1969; Alderdice y Velsen, 1971; Griffiths y Alderdice, 1972; Lough y Gonor 1973 a,b; Cain, 1973; Lough, 1974, 1975; Siddall, 1978; Tettelbach y Rhodes 1981; Moore y Sander, 1984), ya que en base a experimentos multifactoriales se puede determinar el conjunto específico de factores ambientales que permitan la máxima producción de semilla de esta especie.

1.2 OBJETIVO

El objetivo de éste trabajo es establecer cuales son las condiciones de temperatura, salinidad y concentración de alimento bajo las cuales la sobrevivencia y crecimiento de larvas de *Mytilus californianus* son máximos, con ayuda de la metodología de superficies de respuesta por medio de experimentos que incluyen tres factores simultáneamente, probando cinco niveles por factor.

2 MATERIALES Y METODOS

2.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

Los diseños experimentales usados en todos los experimentos fueron compuestos centrales rotacionales, (Fig. 1) con 2^k+2k+1 combinaciones de factores ($K=3$). Para que el diseño sea rotacional el valor de α debe ser igual a $2^{k/4}$ por lo que los puntos axiales se fijaron a una distancia α de 1.682 unidades codificadas de punto central (0,0,0) y los puntos del factorial 2^k , se fijaron a una distancia de 1.000 unidades del mismo origen (Tabla I). Con el fin de obtener un diseño ortogonal se añadieron 8 puntos centrales.

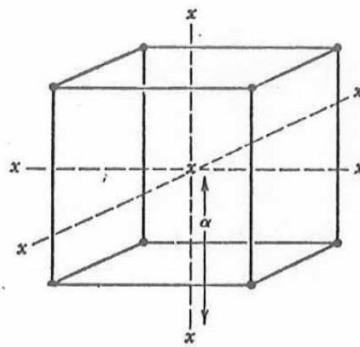


Fig. # 1 Diseño central compuesto rotacional.
(Tomado de Cochran y Cox, 1983).

Aunque esta clase de diseño tiene menos grados de libertad que un factorial completo de 3^k el número de grados de libertad para la estimación del error estandar es adecuado y requiere menos combinaciones de factores (Anderson y Mclean, 1974); lo que significa una gran ventaja en cuanto a reducción de trabajo porque disminuye el número de unidades experimentales. Por otro lado, en un diseño factorial 3^k los coeficientes de los términos cuadráticos son estimados con una precisión relativamente baja. En un diseño rotacional el error estandar es el mismo para todos los puntos que están a la misma distancia del centro; esta propiedad es importante, ya que no se conoce previamente la posición de la superficie de respuesta con respecto a los ejes y por lo tanto tampoco se sabe si el error estandar de la respuesta pudiera ser mayor en algunas direcciones que en otras (Cochran y Cox, 1976). La ortogonalidad permite obtener estimaciones no correlacionadas de los coeficientes de regresión (Anderson y Mclean, 1974; Johnson y Leone, 1977).

TABLA I COORDENADAS EN UNIDADES CODIFICADAS DE LAS COMBINACIONES DE FACTORES QUE SE USARAN EN LOS DISEÑOS EXPERIMENTALES

PUNTOS AXIALES 2K			FACTORIAL 2 ^K			PUNTOS CENTRALES		
-1.682	0	0	-1	-1	-1	0	0	0
1.682	0	0	1	-1	-1	0	0	0
0	-1.682	0	-1	1	-1	0	0	0
0	1.682	0	1	1	-1	0	0	0
0	0	-1.682	-1	-1	1	0	0	0
0	0	1.682	1	-1	1	0	0	0
			-1	1	1	0	0	0
			1	1	1	0	0	0
						0	0	0

2.2 SISTEMA EXPERIMENTAL

El sistema experimental consistió de 2 charolas de fibra de vidrio 2.72 X 1.37 X .20 m para el baño de agua, una de las charolas dividida en tres secciones y la otra en dos secciones. En cada una de las secciones se hizo recircular agua dulce que se mantenía en un reservorio a 6 °C con la ayuda de una unidad de enfriamiento Frigid Units de 1/2 HP; el agua se llevaba a las charolas por medio de una bomba Little Giant de 1/20 HP de capacidad. En cada sección se instaló un termocirculador Tecam TU-15 para mantener la temperatura constante en las charolas (7.22, 12.00, 19.00 26.00 y 30.77 °C). Cada sección con un tubo de nivel por donde el agua iba al

sistema de drenaje que la conducía directamente al reservorio donde se enfriaba (Fig. 2). En este sistema se colocaron recipientes de polipropileno de 2 lts de capacidad en donde se establecieron las diferentes combinaciones de factores experimentales (37 incluyendo las réplicas). El suministro de aire se proporcionó mediante un compresor Conde 12, el flujo de aire se controló con una llave reguladora. Para la separación del material particulado que pudiera haber generado el compresor se instaló un filtro Gamma-12 de 1 micra. Paralelo a las charolas se instaló el sistema de distribución de aire que se construyó con tubo PVC de 1/4 de pulgada y 37 mangueras que hacían llegar el aire a cada una de las unidades experimentales, cada manguera con una válvula check para evitar el flujo de retorno. .

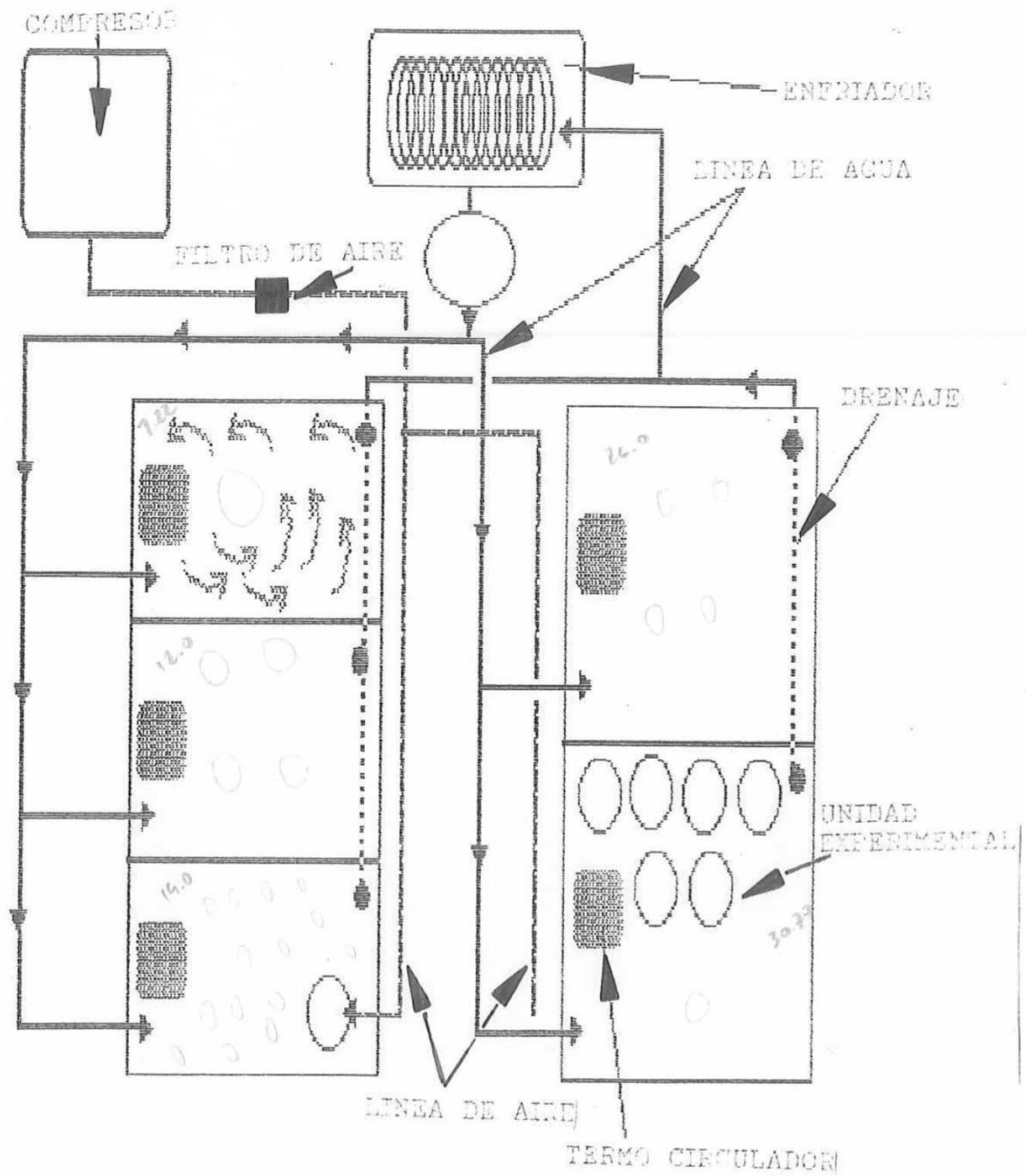


Fig. # 2 Esquema del sistema experimental para larvas de *Mytilus californianus*.

2.3 EXPERIMENTACION

En noviembre de 1985 y febrero de 1986 se llevaron organismos adultos de *M. californianus* del ejido Erendira, Baja California al laboratorio. Para inducirlos al desove se aplicó un estímulo térmico el cual consistió en dejarlos fuera del agua por un lapso de tiempo aproximado de 12 hs; después de lo cual se les colocó en cristalizadores con agua de mar filtrada y esterilizada a temperatura de 19°C; con una plancha de calentamiento se incrementó la temperatura hasta 25°C. El desove ocurrió aproximadamente 1 a 2 hs después. Al comenzar el desove se separaron por sexo con el fin de controlar la fertilización. Los productos sexuales de hembras y machos se colectaron separadamente, se tamizaron para eliminar la basura. Para conocer el número de óvulos y esperma liberados estos fueron resuspendidos en un volumen conocido de agua. Para contar los óvulos se tomaron 3 alicuotas de 1 ml con una pipeta automática, se pusieron en una cámara Sedwich-Rafther, el esperma se puso en una cámara Neubauer de 0.1 mm de profundidad, se contaron en un microscopio compuesto. Una vez estimada la densidad promedio, se hizo la fertilización con 100 espermatozoides/óvulo en 20 litros de agua de mar filtrada y esterilizada. Después de 30 min. se tamizaron con una malla de 45 micras para eliminar basura y esperma sobrante, se pusieron en un tanque de 400 litros a 19°C, 33‰ a una densidad de

50 huevos/ml. A las 48 hs las larvas fueron tamizadas, resuspendidas en un recipiente con 10 lts de agua de mar limpia, para estimar del número de larvas por ml y transferirlas a las unidades experimentales a una densidad de 10 larvas/ml. Las combinaciones experimentales se muestran en la Tabla II. Los rangos de temperatura y salinidad fueron definidos en base a la literatura existente y a la fluctuación natural de éstos factores en el área. El alimento consistió de una dieta mixta 1:1 de *Isochrysis* aff. *galbana* var. *tahitiana* y *Pavlova lutheri*. Los niveles de alimento para cada fase del desarrollo se definieron en base a las concentraciones propuestas por Breese y Malouf (1975) para *Crassostrea gigas*. Hrs-Brenko y Calabrese (1969) mencionan que la salinidad no varía significativamente después de añadir el alimento por lo que ésta no se ajustó después de proporcionarlo. En un experimento previo en donde se probaron diferentes concentraciones de antibiotico se observó que no existe un efecto de éste sobre la sobrevivencia y el crecimiento de las larvas por lo que se adicionó 50 mg/l de sulfametazina de sodio de acuerdo con Hrs-Brenko y Calabrese, (1969) como una medida preventiva para evitar la proliferación de bacterias

La temperatura fué controlada por medio de baños de temperatura constante. Las salinidades más bajas se obtuvieron

diluyendo agua de mar filtrada y esterilizada con agua destilada, y las salinidades más altas agregando agua de mar concentrada, la cual se obtuvo congelando agua de mar.

Se realizaron 4 muestreos a los 2, 8, 14 y 20 días después de la fertilización considerando que el estadio larval de *Mytilus californianus* es de aproximadamente 20 días a temperatura de 19°C. Se extrajeron tres muestras de 1 ml de cada unidad experimental, se fijaron con formol al 4%. Se contó en número total de larvas presentes en cada muestra, para el análisis sólo fueron consideradas las larvas normales, desechándose las que presentaron anomalías. Se tomó la longitud a 10 larvas de cada muestra para evaluar el crecimiento. Con el objeto de eliminar los desechos metabólicos el agua de los recipientes se cambió cada 48 hs, reestableciéndose las condiciones experimentales.

2.4 ANALISIS ESTADISTICO

Para determinar la normalidad de los datos se aplicó la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Para analizar la función que describe el comportamiento de la variable dependiente (crecimiento y sobrevivencia) con respecto a las variables independientes (T°C, S°/oo, [A]) se usó la técnica de superficies de respuesta; esta técnica sirve para optimizar procesos químicos, físicos y biológicos y sus bases son semejantes a las de los modelos lineales en general (Cochran y Cox, 1976; Mendez, 1977). Los modelos de regresión que se obtienen son de la forma:

$$\begin{aligned}
 Y = & b_0 X_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_3 \\
 & + b_{11} X_1^2 + b_{22} X_2^2 + b_{33} X_3^2 \\
 & + b_{12} X_1 X_2 + b_{13} X_1 X_3 + b_{23} X_2 X_3
 \end{aligned}$$

donde Y=respuesta observada; sobrevivencia y/o crecimiento

X_i =factores considerados; t°C, S°/oo, y [alimento]

b_i =coeficientes a determinar

a partir de éstos coeficientes se genera un ANOVA que indica la varianza explicada por el modelo (R^2) y la contribución de cada variable.

Para analizar ésta superficie, la ecuación de 2º grado se reduce a la forma canónica, mediante una transformación canónica que consiste en hacer una traslación y una rotación de los ejes principales, (Mendez, 1977) tomando las derivadas parciales e igualando a cero, la solución de este sistema de ecuaciones dá la combinación a la cual Y es un valor mínimo, máximo o estacionario. La Y en este punto está dado por la forma:

$$\hat{Y}_s = b_0 + 1/2(b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3)$$

El origen de los ejes de coordenadas es trasladado a este punto y los ejes rotados lo cual reduce la función a la forma canónica:

$$Y - \hat{Y} = D_1X_1^2 + D_2X_2^2 + D_3X_3^2$$

Donde D₁; D₂; D₃ son las raíces características las cuales nos permiten visualizar la configuración espacial de la respuesta (Box, 1956; Peng, 1967).

Para el análisis de los resultados los datos obtenidos se expresaron como proporciones relativas. La muestra con la respuesta más alta se definió como el 100% y los demás valores se expresaron como porcentajes de ese valor.

Debido a que las condiciones óptimas para sobrevivencia pueden no ser las mismas para crecimiento (Lough, 1975) se optó por analizar conjuntamente la sobrevivencia y el crecimiento mediante la siguiente expresión:

$$Y = \frac{\% \text{ de sobrevivencia} + \% \text{ de crecimiento}}{2}$$

Las gráficas de contorno se obtuvieron al resolver la ecuación para todos los valores de temperatura y salinidad con valores fijos de concentración de alimento, éstos contornos son secciones de un volumen de respuesta.

3 RESULTADOS.

3.1 SOBREVIVENCIA

3.1.1 SOBREVIVENCIA A LOS OCHO DIAS

La máxima sobrevivencia a los ocho días de edad ocurrió en la combinación de 12°C, 43‰ y 21.08 cel/μl (Tabla III) correspondiente a uno de los puntos de factorial 2³; los restantes puntos del mismo registraron entre 70 y 94%. El cero porciento se registró a 30.77°C, 33‰ y 50.5 cel/μl punto que corresponde al extremo superior de la temperatura, en el extremo inferior de temperatura (7.22°C) se obtuvo el 56% de sobrevivencia. En los extremos inferior y superior de salinidad se registraron 60 y 64% respectivamente, a 19°C y 33‰ en las tres concentraciones de alimento el porcentaje registrado fue entre 50 y 60%.

El efecto de los factores probados sobre la sobrevivencia se describe mediante la siguiente ecuación de regresión

$$\begin{aligned} Y = & 213.828314 - 1.468989(T) - 6.615385(S) - 1.184867(A) \\ & - .019287(T^2) + 0.110729(S^2) + 0.012318(A^2) \\ & + 0.006464(T*S) + 0.011581(T*A) - 0.009636(S*A) \end{aligned}$$

TABLA III PORCENTAJES DE SOBREVIVENCIA DE LARVAS DE *Mytilus californianus* DE OCHO DIAS DE EDAD BAJO DIFERENTES CONDICIONES EXPERIMENTALES DE TEMPERATURA, SALINIDAD Y CONCENTRACION DE ALIMENTO

SALIN	ALIMENTO	T E M P E R A T U R A °C				
‰	cel/l	7.22	12.00	19.0	26.00	30.77
16.18	50.50			60.00 ^v		
23.00	21.08 79.23		90.5 ^v 86.4 ³		70.0 ⁴ 85.0 ⁵	
33.00	1.00 50.50 100.00	56.0 ^x		65.2 ⁶ 52.8 ⁸ 65.5 ⁷		0.0 ¹⁵
43.00	21.08 79.82		100.0 ¹⁰ 94.1 ¹²		90.9 ¹¹ 85.0 ¹³	
49.82	50.50			64.0 ¹⁴		

El ajuste al modelo no es significativo y sólo explica el 15.25% de la varianza total de los datos experimentales. El análisis de varianza del modelo (Tabla IV) indica que sólo los términos cuadráticos de la salinidad y concentración de alimento tienen significancia ($\alpha=0.05$).

Es necesario hacer notar que para este caso en particular se detectaron ciertas anomalías que influyeron sobre la variable dependiente, como fue el hecho de que las sobrevivencias más altas se registraran en una sola charola y que estuvieron fuera de control y para las cuales no se tiene una respuesta satisfactoria que permita explicar esta

variación tan grande; es por esto que los datos de este muestreo sólo se presentan como parte de los resultados obtenidos.

TABLA IV ANALISIS DE VARIANZA PARA DATOS DE SOBREVIVENCIA DE LARVAS DE *Mytilus californianus* A LOS OCHO DIAS DE EDAD GENERADO POR LA ECUACION DE REGRESION. $*(\alpha = 0.05)$

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	G.L.	CUAD MED	VALOR F	VALOR α
T	1318.26591	1	1318.2659	3.20	.0971
S	147.78800	1	147.7880	0.36	.5660
A	17.67186	1	17.6719	0.04	.8414
T ²	19.19431	1	19.1943	0.05	.8348
S ²	1922.30003	1	1922.30000	4.66	*.0501
A ²	1808.81386	1	1808.8139	4.39	*.0564
T*S	1.63805	1	1.6380	0.00	.9514
T*A	45.50580	1	45.5058	0.11	.7485
S*A	64.29780	1	64.2978	0.16	.7035
MODELO	5345.47562	9			

$$R^2 = .1525$$

3.1.2 SOBREVIVENCIA A LOS 14 DIAS

En este muestreo la máxima sobrevivencia (72.7%) se registró en la misma temperatura que para el de ocho días en la salinidad de 23‰ y mayor concentración de alimento (Tabla V), y se registró un decremento entre 20 y 25% en el nivel 43‰ a la misma temperatura en las dos concentraciones de alimento; en la condición de 26°C y 23‰ el porcentaje registrado fué 50 y 65% para la concentración de alimento alta y baja respectivamente. El cero porciento se

registró en la combinación de temperatura y salinidad altas del factorial en las dos concentraciones de alimento, a temperatura y salinidad medias (19°C y 33‰) en las tres concentraciones de alimento se encontró una sobrevivencia entre 47 y 56%.

La ecuación de regresión que describe el comportamiento de la variable dependiente al ser influida por las variables independientes es el siguiente:

$$Y = -104.57271 + 13.285968(T) + 5.604852(S) + 0.135485(A) \\ - 0.212647(T^2) - 0.026388(S^2) + 0.000946(A^2) \\ - 0.244357(T*S) - 0.001608(T*A) - 0.007973(S*A)$$

y explica el 81.8% de la varianza total de los datos experimentales.

TABLA V PORCENTAJES DE SOBREVIVENCIA DE LARVAS DE *Mytilus californianus* DE 14 DIAS DE EDAD BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE TEMPERATURA, SALINIDAD Y CONCENTRACION DE ALIMENTO

SALIN	ALIMENTO	T E M P E R A T U R A °C				
		7.22	12.00	19.0	26.00	30.77
16.18	101.00			48.0		
23.00	42.16 159.76		51.7 72.7		50.0 65.0	
33	2.00 101.00 200.00	48.0		56.5 49.4 47.8		0.0
43.00	42.16 159.84		55.6 58.8		0.0 0.0	
49.82	101.00			32.0		

El análisis de varianza del modelo ajustado indica que los terminos significativos son: lineal de la temperatura, y salinidad, cuadrático de la temperatura e interacción de la temperatura y la salinidad (Tabla VI). El resto de las variables puede ser eliminado de la ecuación la cual puede expresarse de la siguiente manera:

$$Y = -104.57271 + 13.285968(T) + 5.604852(S) - 0.212647(T^2) - 0.244357(T*S)$$

al efectuar la transformación canónica de la ecuación

$$Y - 80.01 = -0.425294Z_1^2 - 0.052776Z_2^2 + 0.001892Z_3^2$$

se tiene una combinación de signos positivos y negativos en el lado derecho de la ecuación lo que indica que la respuesta presenta una configuración de punto silla (Peng, 1967).

TABLA VI ANALISIS DE VARIANZA PARA DATOS DE SOBREVIVENCIA DE LARVAS DE *Mytilus californianus* A LOS 14 DIAS DE EDAD GENERADO POR LA ECUACION DE REGRESION. $\alpha = 0.05$

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	G.L.	CUADRADO MEDIO	VALOR F	VALOR α
T	6102.65387	1	6102.65387	46.67	*.0000
S	3430.54882	1	3430.54882	26.24	*.0002
A	51.15664	1	51.15664	.39	.5490
T ²	1728.00744	1	1728.00744	13.22	*.0030
S ²	112.56495	1	112.56495	.86	.3800
A ²	170.66841	1	170.66841	1.31	.2739
T*S	2340.64820	1	2340.64820	17.90	*.0010
T*A	3.51029	1	3.51029	.036	.8741
S*A	176.11446	1	176.11446	1.35	.2667
MODELO	14115.9631	9			

$$R^2 = .818$$

En el diagrama de contorno generado al resolver la ecuación con el valor 2 cel/ μ l (Fig. 3A) se aprecia que el campo de respuesta estacionaria está localizado en el rango de 12-25°C y de 20-28‰ alcanzándose a registrar la isolínea de 100% de sobrevivencia en los extremos inferior de temperatura y superior de salinidad de 7-10°C y de 46-50‰. Si se incrementa la ración a 40 cel/ μ l (Fig. 3B), el campo de respuesta se localiza entre 12-22°C y 18-34‰, la isolínea más alta que se alcanza es la de 80%. Al resolver la ecuación con 101.00 cel/ μ l (Fig. 3C) correspondiente al punto central del

diseño el campo de respuesta estacionaria se mueve hacia temperaturas ligeramente bajas (10-19°C) y a salinidades más altas que en el caso anterior (26-38‰). Cuando se resuelve la ecuación con 200 cel/ μ l (Fig. 3D) que es el valor extremo superior que se probó el campo de respuesta estacionario se localiza en 8-16°C y 29-37‰. Nuevamente se alcanza la isolínea de 100% de sobrevivencia a salinidad abajo de 26‰ en el rango de 13-29°C. En general a medida que se incrementa la ración de alimento el campo de respuesta estacionaria se va moviendo hacia temperaturas bajas y hacia salinidades altas, la isolínea de 100% sólo se alcanza al proporcionar 2 y 200 cel/ μ l dentro del rango probado. La inclinación que presentan las isolíneas nos indica que existe interacción de la temperatura y salinidad.

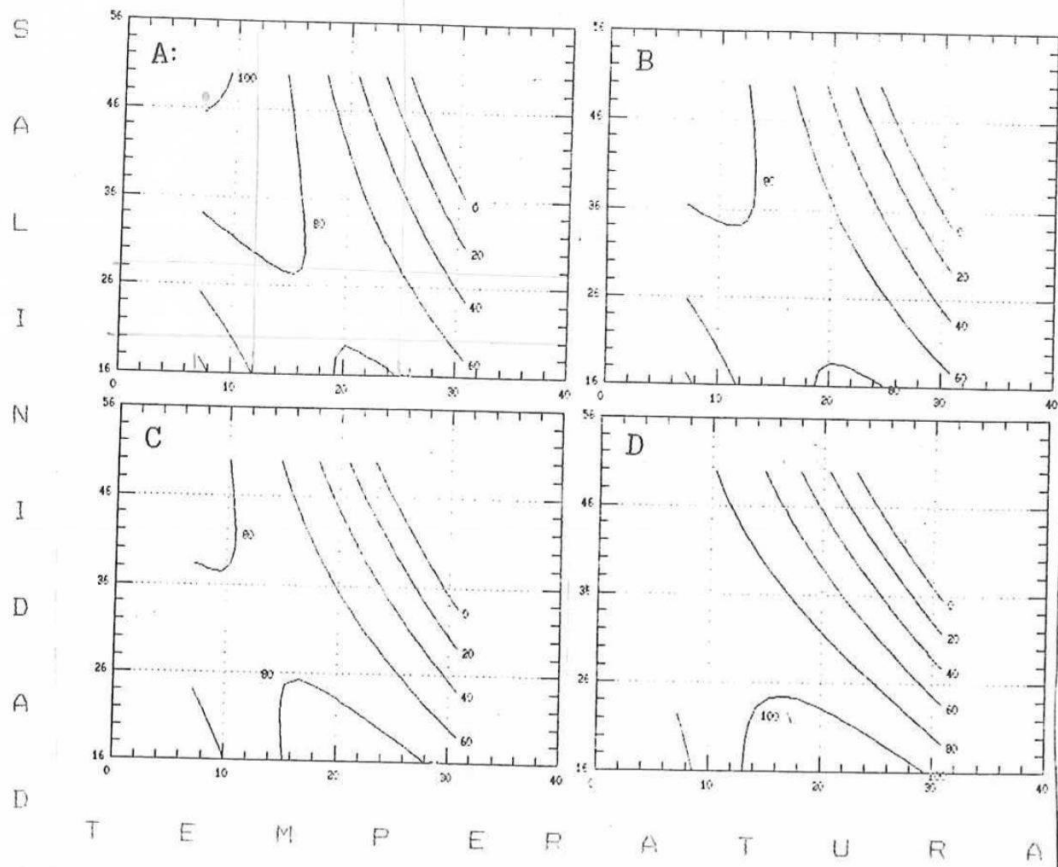


Fig. # 3 Contornos de superficies de respuestas para sobrevivencia de larvas de *Mytilus californianus* a los 14 días de edad a diferentes concentraciones de alimento A: 2 cel/ μ l; B: 40 cel/ μ l; C: 101 cel/ μ l; D: 230 cel/ μ l.

3.1.3 SOBREVIVENCIA A LOS 20 DIAS

En este caso la sobrevivencia más alta se registró en la misma temperatura y salinidad que para los ocho días en la concentración alta de alimento (Tabla VII), el cero porciento se registró en las mismas condiciones que en los 14 días. En los restantes puntos del factorial la sobrevivencia registrada fué de 40-52%, en el extremo inferior tanto de temperatura como de salinidad se registró el 40 y 44% respectivamente, mientras que en el extremo superior de salinidad se obtuvo sólo el 4% de sobrevivencia. En temperatura y salinidad media la sobrevivencia registrada fluctuó entre 35 y 46% para las tres concentraciones de alimento.

La influencia que ejercen los factores probados sobre la sobrevivencia se describe mediante el siguiente polinomio:

$$\begin{aligned} Y = & -178.190978 + 16.5831(T) + 10.518195(S) - 0.192605(A) \\ & - 0.232683(T^2) - 0.089924(S^2) + 0.000013(A^2) \\ & - 0.352411(T*S) + 0.004542(T*A) + 0.002344(S*A) \end{aligned}$$

El modelo explica el 79.9% de la variación total de los datos.

TABLA VII PORCENTAJES DE SOBREVIVENCIA DE LARVAS DE *Mytilus californianus* DE 20 DIAS DE EDAD BAJO DIFERENTES CONDICIONES EXPERIMENTALES DE TEMPERATURA, SALINIDAD Y CONCENTRACION DE ALIMENTO

SALIN	ALIMENTO	T E M P E R A T U R A °C				
		7.22	12.00	19.0	26.00	30.77
°/°°	cel/l					
16.18	151.5			44.0		
23.00	63.24 239.76		52.4 40.9		45.0 50.5	
33.00	3.00 151.50 300.00	40.0		43.5 45.5 34.8		0.0
43.00	63.24 239.76		55.65 58.8		0.0 0.0	
49.82	151.50			4.0		

El análisis de varianza del modelo indica que los términos significativos son: lineal de temperatura y salinidad, cuadrático de temperatura y salinidad e interacción de temperatura y salinidad (Tabla VIII). El modelo puede por tanto ser ajustado de la siguiente manera:

$$Y = -178.190978 + 16.5831(T) + 10.518195(S) \\ - 0.232683(T^2) - 0.089924(S^2) - 0.352411(T*S)$$

La forma canónica de la ecuación

$$Y - 65.21 = -0.465366 Z_1^2 - 0.179848 Z_2^2 + 0.000026 Z_3^2$$

al igual que para los 14 días la respuesta presenta una configuración de punto silla.

TABLA VIII ANALISIS DE VARIANZA PARA DATOS DE SOBREVIVENCIA DE LARVAS DE *Mytilus californianus* A LOS 20 DIAS DE EDAD GENERADO POR LA ECUACION DE REGRESION. $\alpha=0.05$

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	G.L.	CUAD MED	VALOR F	VALOR α
T	6849.39851	1	6849.39851	34.07	*.0001
S	4218.84872	1	4218.84872	20.98	*.0005
A	67.26600	1	67.26600	.33	.5789
T ²	2044.56759	1	2044.56759	10.17	*.0071
S ²	128564233	1	128564233	6.39	.0252
A ²	0.15289	1	0.15289	.00	.9787
T*S	4868.37781	1	4868.37781	24.21	*.0003
T*A	63.00031	1	63.00031	.31	.5910
S*A	34.23781	1	34.23781	.17	.6909
MODELO	19431.4920	9			

$$R^2 = .799$$

En los diagramas de contorno para valores fijos de 3 cel/ μ l (Fig. 4A) y 60 cel/ μ l (Fig. 4B) se alcanza a visualizar el 100% de sobrevivencia, en ambos casos a temperatura baja, 10 y 8°C y salinidad alta 36 y 39‰ respectivamente. Al resolver la ecuación para 151.5 cel/ μ l (Fig. 4C) y 300 cel/ μ l (Fig. 4D) la isolínea más alta que se observa en el rango probado es la de 80%. En todos, la región de respuesta estacionaria está localizada diagonalmente y va de temperatura baja y salinidad alta hacia temperatura alta y salinidad baja. Se nota claramente que existe interacción de temperatura y salinidad

por la inclinación que presentan las isolíneas. En éste caso sólo a concentraciones bajas de alimento se alcanza el 100% de respuesta.

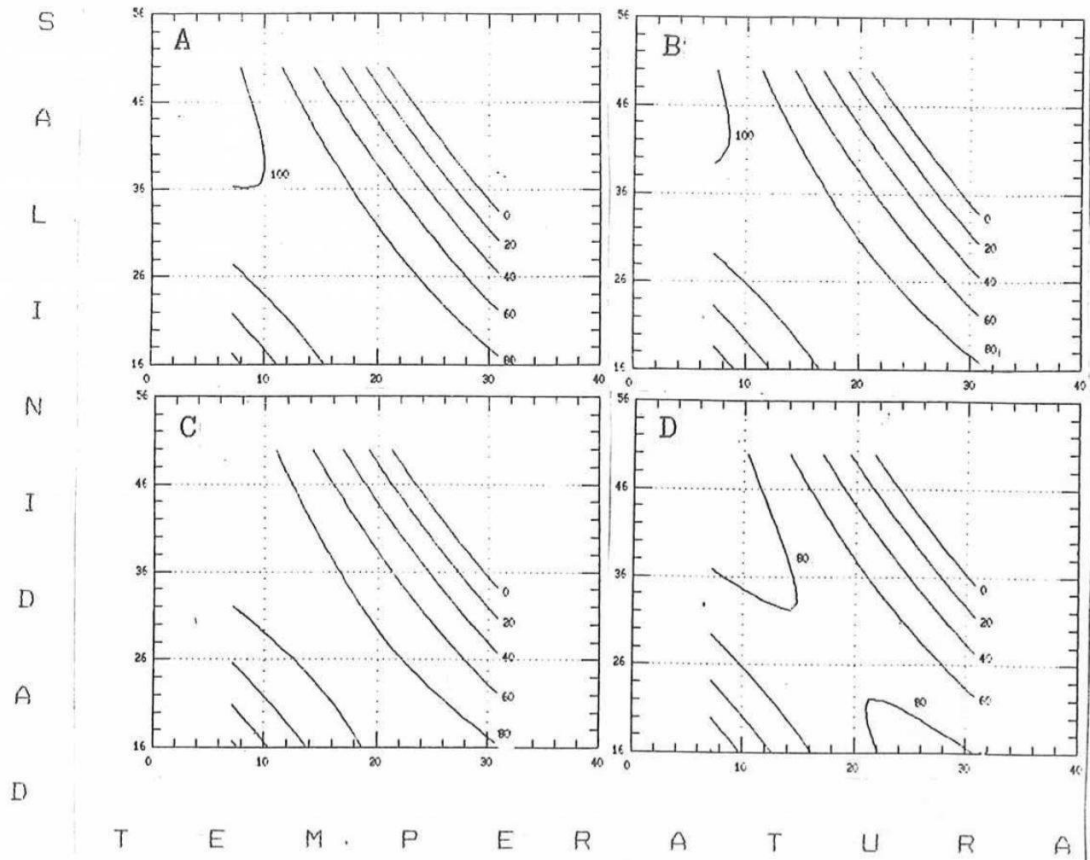


Fig. # 4 Contornos de superficies de respuestas para sobrevivencia de larvas de *Mytilus californianus* a los 20 días de edad a diferentes concentraciones de alimento A: 3 cel/ μ l; B: 60 cel/ μ l; C: 151.5 cel/ μ l; D: 300 cel/ μ l.

En el presente estudio se encontró que el porcentaje de sobrevivencia (Fig. 5) es muy parecido a temperaturas de 7.22 y 19°C. Las larvas mueren rápidamente a temperatura extrema alta (30.77°C).

El efecto de la salinidad (Fig. 6) presenta el mismo patrón de comportamiento que la temperatura sin embargo en éste caso las larvas sobreviven en todo el rango de salinidad probado aunque no se nota una diferencia muy marcada de la sobrevivencia en las diferentes concentraciones de salinidad en los primeros ocho días, entre ocho y 20 días el porcentaje de sobrevivencia disminuye rápidamente de 65 a 4% en la salinidad de 49.82‰ mientras que en las salinidades de 16.18 y 33‰ la sobrevivencia es muy parecida y se estabiliza en 50% aproximadamente desde los ocho días.

Con respecto al alimento (Fig. 7) las curvas de sobrevivencia son muy similares, el efecto más marcado sobre la sobrevivencia se nota en los primeros ocho días en donde la concentración de 1 cel/ μ l dió una sobrevivencia de 65% aproximadamente y la más baja 53% se registró en la concentración de 50.50 cel/ μ l. A partir de esto las concentraciones extremas de 1 y 100 cel/ μ l siguen un patrón idéntico tendiente a bajar en un 20% hasta los 20 días,

mientras que la concentración de 50.5 cel/ μ l que originalmente dió el porcentaje de sobrevivencia más bajo sólo disminuyó en un 7% al final del experimento.

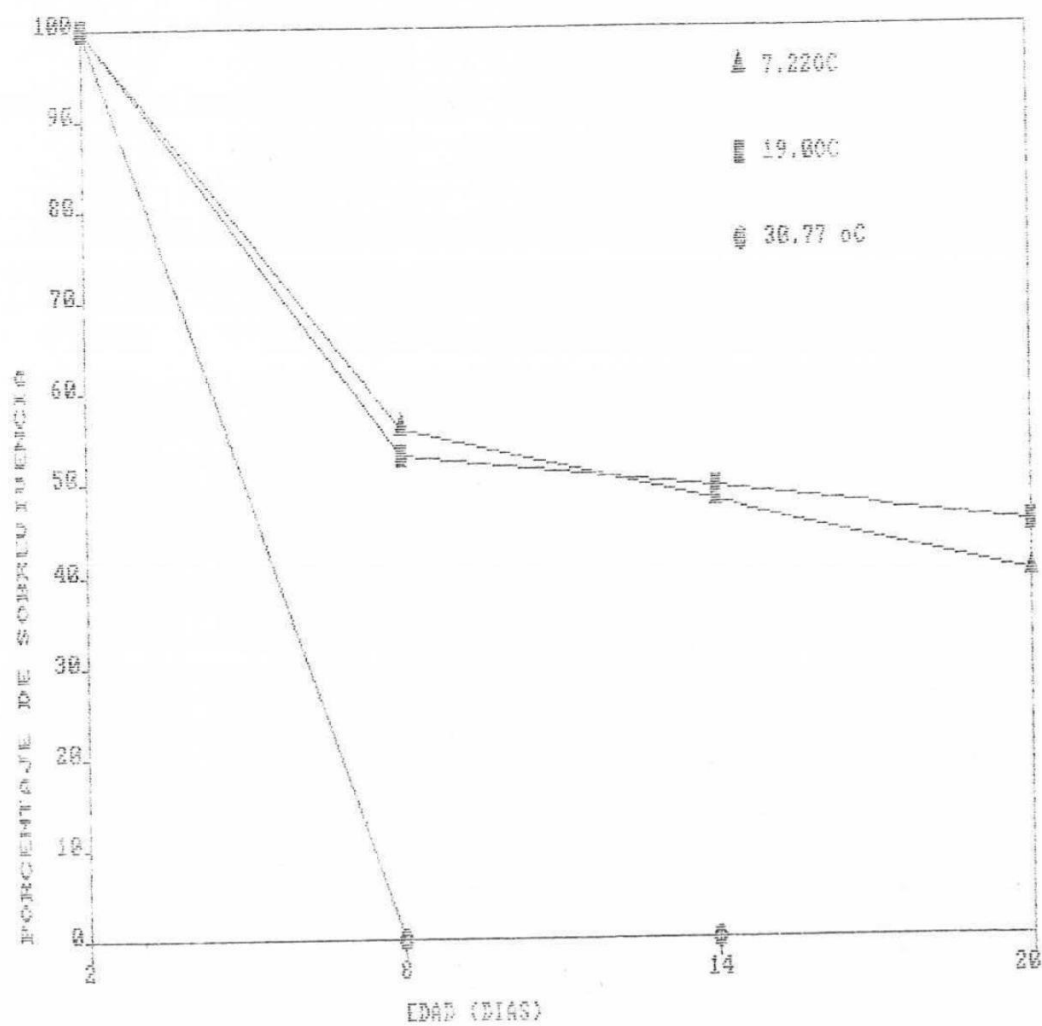


Fig. # 5 Efecto de la temperatura en el tiempo sobre el porcentaje de sobrevivencia de larvas de *Mytilus californianus* a salinidad y concentración de alimento constantes (33 ppm, 50.50-151.5 cel/ μ l).

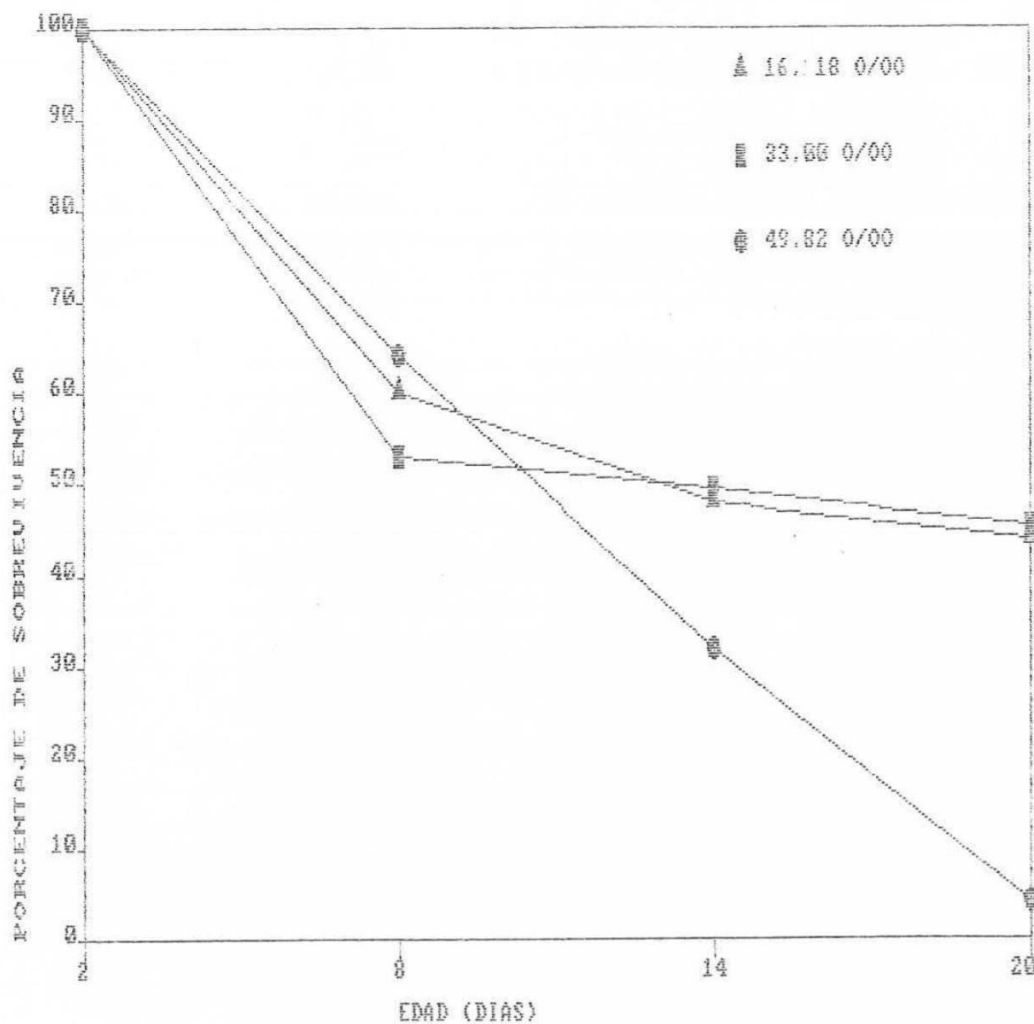


Fig. # 6 Efecto de la salinidad en el tiempo sobre el porcentaje de sobrevivencia de *Mytilus californianus* a temperatura y concentración de alimento constantes (19 °C, 50.5-151.5 cel/ μ l).

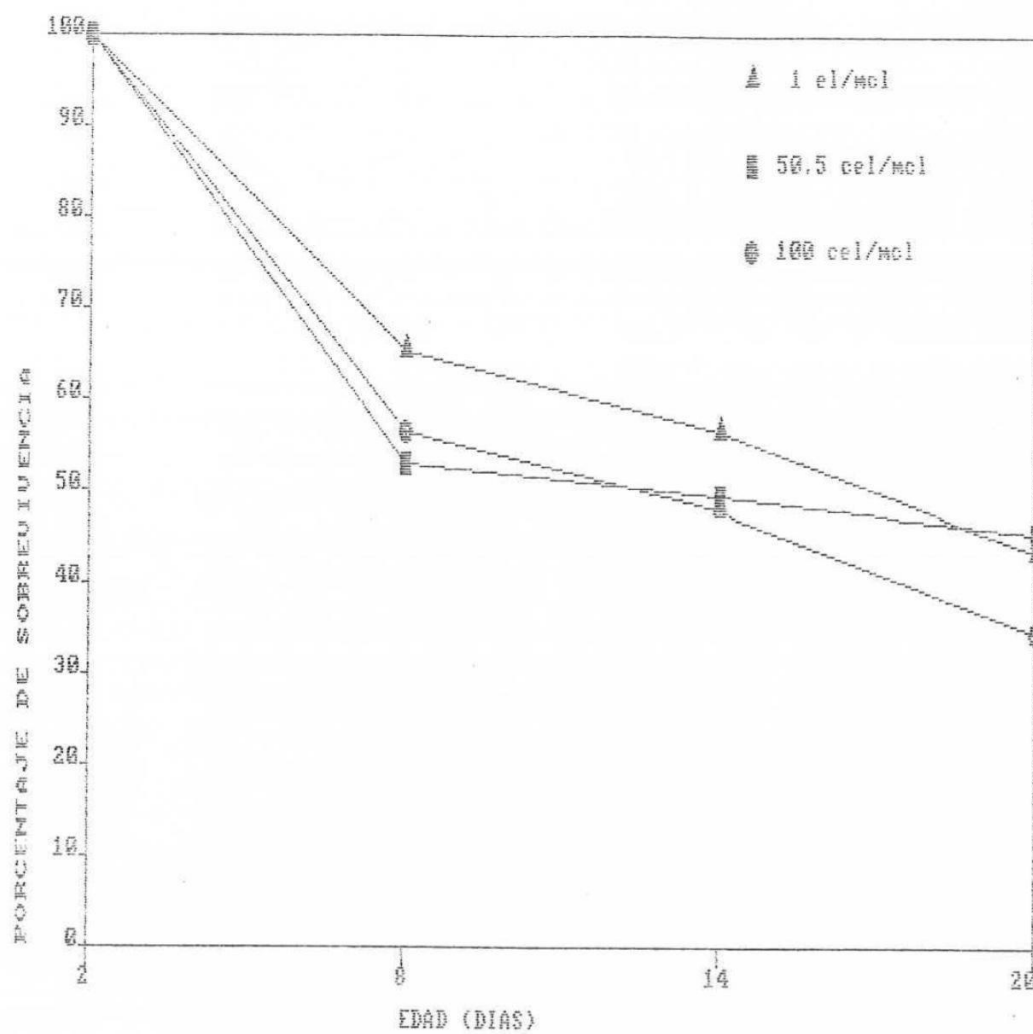


Fig. # 7 Efecto de la concentración de alimento sobre el porcentaje de sobrevivencia de *Mytilus californianus* a temperatura y salinidad constantes (19° C, 33 ppm.).

En los diferentes puntos del factorial en la concentración de 21.08 cel/ μ l (Fig. 8) se nota que en los primeros ocho días la sobrevivencia más alta (100%) se registró en la combinación de 26°C y 43‰; mientras que a 26°C y 43‰ se registró el 70%. Las larvas se murieron entre los ocho y 14 días en la combinación de 20°C y 43‰. Al final del experimento la mejor combinación fue la de 12°C y 23‰.

En la concentración de 79.92 cel/ μ l (Fig. 9) en los primeros ocho días no es muy marcado el efecto de temperatura y salinidad. en la combinación de temperatura y salinidad alta las larvas murieron entre los ocho y 14 días mientras que a 23‰ la tendencia en las dos temperaturas, es ir bajando a medida que pasa el tiempo. La sobrevivencia más alta al final del experimento se registró en la combinación de 12°C y 43‰.

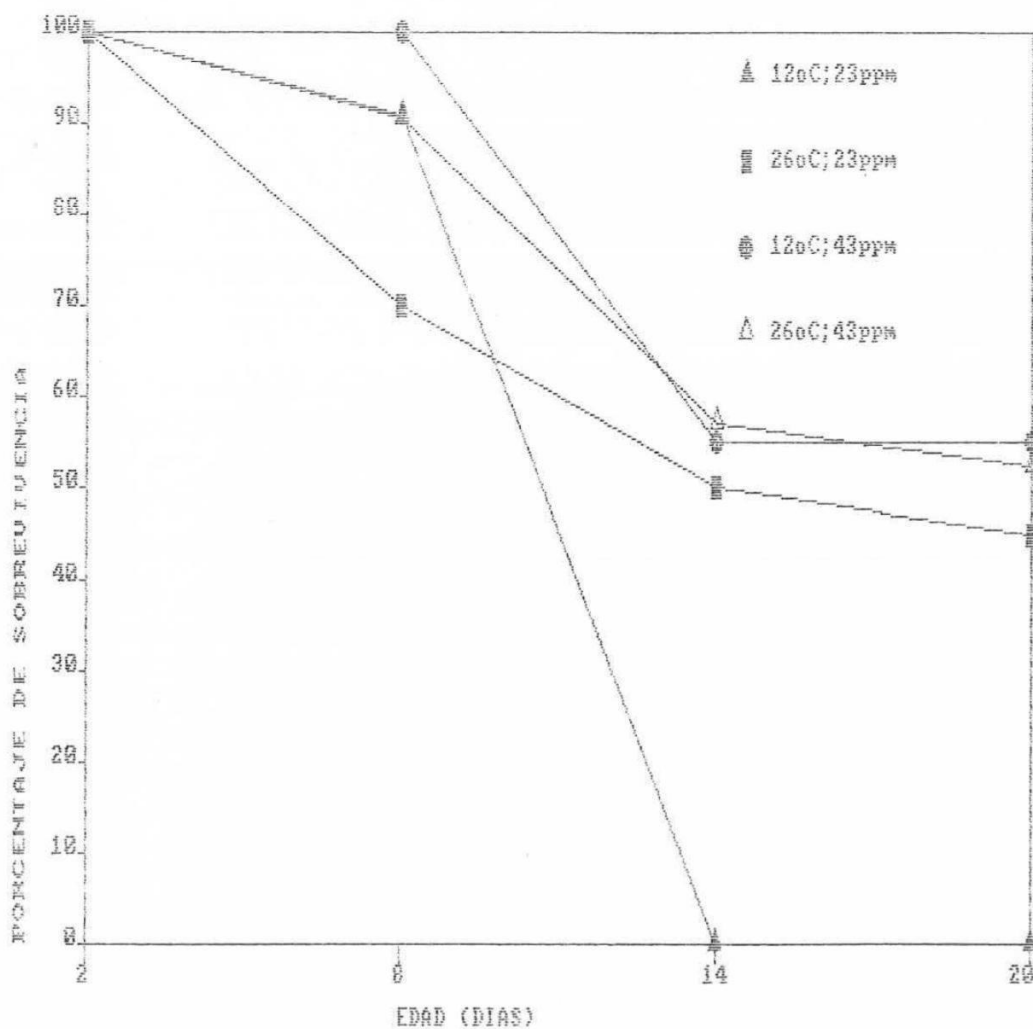


Fig. # 8 Efecto combinado de la temperatura y salinidad sobre el porcentaje de sobrevivencia de *Mytilus californianus* bajo la misma concentración de alimento (21.08 cel/ μ l.).

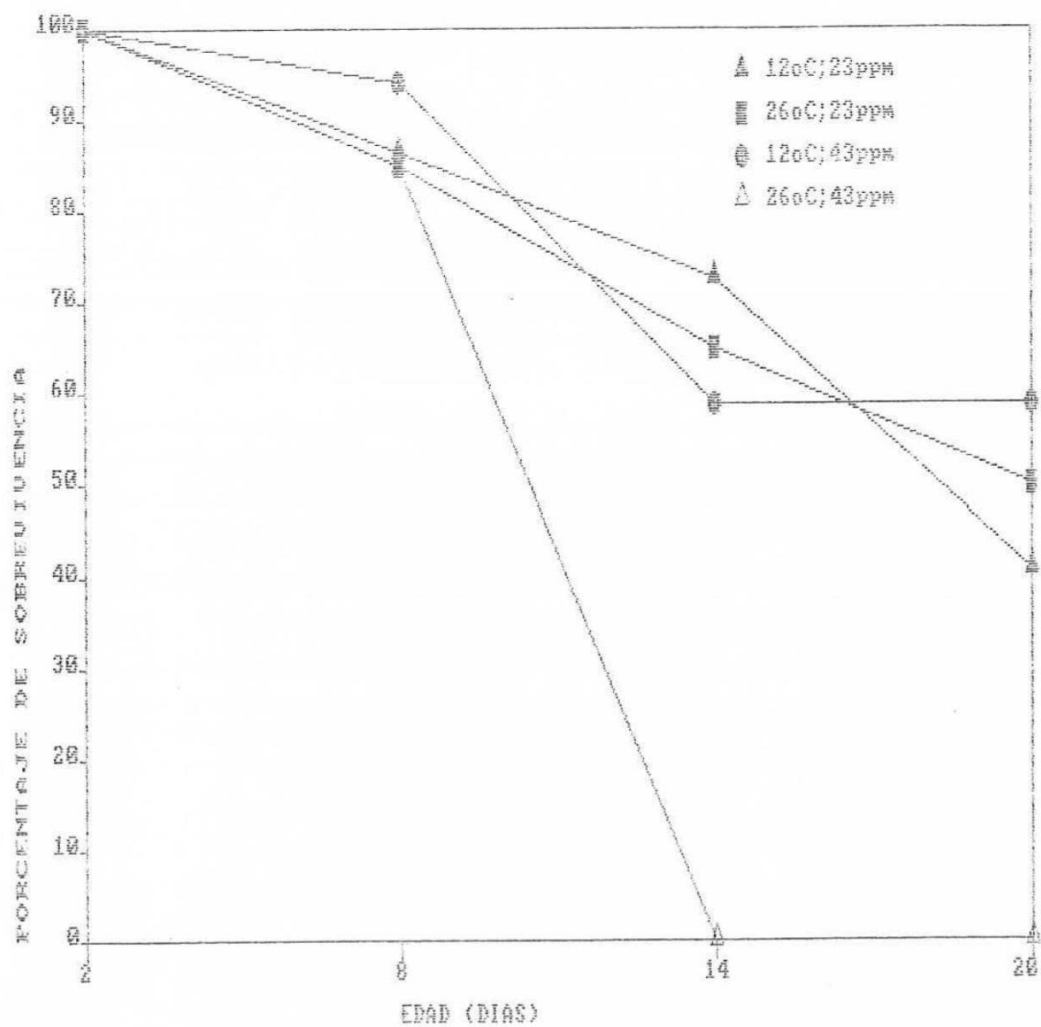


Fig. # 9 Efecto combinado de la temperatura y salinidad sobre el porcentaje de sobrevivencia de *Mytilus californianus* bajo la misma concentración de alimento (79.92 cel/ μ l.).

3.2 CRECIMIENTO

3.2.1 CRECIMIENTO A OCHO DIAS

El máximo crecimiento (45.8%) a los ocho días de edad se registró en la combinación de 26°C, 23‰ y 79.92 cel/μl punto correspondiente al factorial 2³ (Tabla IX), en el resto de los puntos del factorial se registró un crecimiento entre 7.1 y 38.2%. El crecimiento mínimo (2.6%) se registró a 30.77°C, mientras que a 7.22°C se registró sólo un 5.5%. Con respecto a los puntos extremos de salinidad el crecimiento fue de 42.7% en el extremo inferior y 7.1% en el extremo superior; a temperatura y salinidad medias el porcentaje de crecimiento fue de 19.2 y 22.8% para los extremos inferior y superior respectivamente. En el punto central se registró 36.1%.

El comportamiento del crecimiento se describe mediante el siguiente polinomio:

$$\begin{aligned} Y = & -246.999494 + 24.559934(T) + 5.244192(S) + 1.254454(A) \\ & - 0.450563(T^2) - 0.060169(S^2) - 0.010377(A^2) \\ & - 0.193589(T*S) - 0.007229(T*A) + 0.003259(S*A) \end{aligned}$$

El modelo explica el 83.35% de la varianza total de los datos experimentales

TABLA IX DATOS DE CRECIMIENTO DE LARVAS DE *Mytilus californianus* DE OCHO DIAS DE EDAD BAJO DIFERENTES CONDICIONES EXPERIMENTALES DE TEMPERATURA, SALINIDAD Y CONCENTRACION DE ALIMENTO (EXPRESADO EN MICRAS).

SALIN	ALIMENTO	T E M P E R A T U R A °C				
‰	cel/μl	7.22	12.00	19.0	26.00	30.77
16.18	50.50			42.6		
23.00	21.08 79.82		18.9 22.8		38.2 45.8	
33.00	1.00 50.50 100.00	5.5		19.2 36.1 22.8		2.6
43.00	21.08 79.92		7.1 19.2		8.0 10.9	
49.82	50.50			7.1		

De acuerdo con el análisis de varianza (Tabla X) los términos con influencia significativa son: lineal de la salinidad, cuadrático de la temperatura y concentración de alimento e interacción de temperatura por salinidad. El resto de los factores puede ser eliminado de la ecuación la cual puede expresarse de la siguiente manera:

$$Y = -246.999494 + 5.244192(S) - 0.450563(T^2) - 0.010377(A^2) - 0.193589(T*S)$$

Al transformar la ecuación a su forma canónica encontramos que:

$$Y - 114.99 = -0.901126Z_1^2 - 0.120338Z_2^2 - 0.020754Z_3^2$$

tiene todos los signos del lado derecho negativos, lo que indica que el dominio de la respuesta presenta una configuración de tipo elipsoidal con respuesta máxima al centro la cual se calcula que ocurre a:

$$S=(26.2^{\circ}\text{C}; 2.8^{\circ}/\text{oo y } 51.7 \text{ cel}/\mu\text{l})$$

TABLA X ANALISIS DE VARIANZA PARA DATOS DE CRECIMIENTO DE LARVAS DE *Mytilus californianus* A LOS OCHO DIAS DE EDAD GENERADO POR LA ECUACION DE REGRESION. $\alpha=0.05$

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	G.L.	CUADRADO MEDIO	VALOR F	VALOR α
T	316.34374	1	316.34374	2.03	.1777
S	6856.84041	1	6856.84041	44.01	*.0000
A	368.48428	1	368.48428	2.37	.1781
T ²	7676.27241	1	7676.27241	49.27	*.0000
S ²	563.27870	1	563.27870	3.62	.0796
A ²	1283.67614	1	1283.67614	8.24	*.0131
T*S	1469.09101	1	1469.09101	9.43	*.0089
T*A	17.73101	1	17.73101	.11	.7448
S*A	7.35361	1	7.35361	.05	.8337
MODELO	18559.0713	9			

$$R^2 = .8335$$

Al obtener los diagramas de contorno para diferentes concentraciones de alimento, se observa que si se aumenta la concentración de células alimenticias de 1 a 50.5 cel/ μl (fig. 10 A y C) el porcentaje de crecimiento aumenta alcanzándose la isolinia de 100% en el rango de 19 a 27°C y 22 a 16‰ pero al incrementar a 100 cel/ μl (fig. 4 D) este porcentaje disminuye y la isolinia más grande que se alcanza es la de 80%. Se nota

claramente que existe un efecto de interacción entre temperatura por salinidad y que es la temperatura el factor que más influye sobre la respuesta medida.

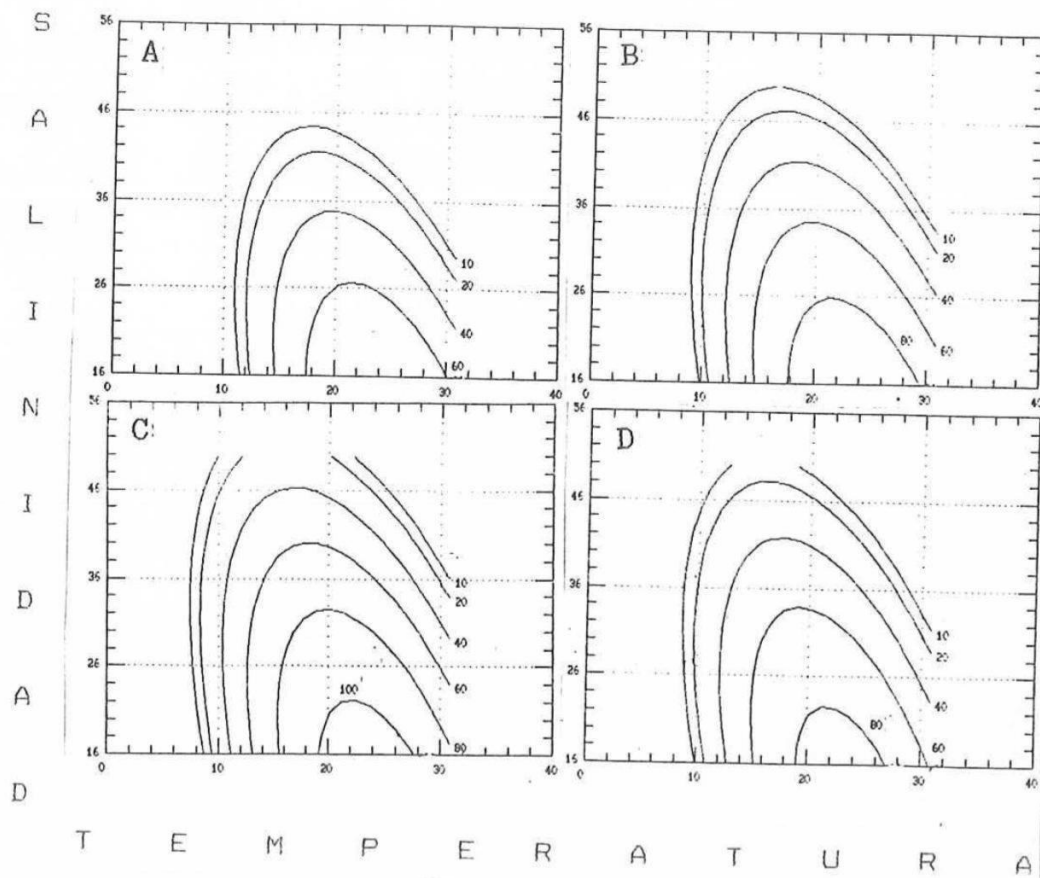


Fig. # 10 Contornos de superficies de respuestas para crecimiento de larvas de *Mytilus californianus* a los ocho días de edad a diferentes concentraciones de alimento A: 1 cel/μl; B: 20 cel/μl; C: 50 cel/μl; D: 100 cel/μl.

3.2.2 CRECIMIENTO A LOS 14 DIAS

El crecimiento más alto (89%) se registró en la misma temperatura y salinidad que a los ocho días pero en la concentración baja de alimento (Tabla XI). En el punto de 26°C y 43‰ en ambas concentraciones de alimento no se registró crecimiento ya que las larvas cultivadas en estas condiciones no sobreviven hasta 14 días, en el resto de los puntos del factorial se registró crecimiento de 22.4 a 69.6%, en el extremo inferior y superior de la salinidad se obtuvo 76.6 y 9.3% respectivamente, mientras que a 7.22°C se alcanzó 9.6%. A 30.77°C tampoco se registró crecimiento ya que las larvas mueren en los primeros 5 días del experimento, los porcentajes para las tres concentraciones de alimento fueron de 35.0 y 51.3% para los extremos inferior y superior respectivamente y 71.4% para la concentración media.

La ecuación que describe el comportamiento del crecimiento para esta edad es:

$$\begin{aligned}
 Y = & -212.472412 + 23.21711(T) + 5.329223(S) + 0.441607(A) \\
 & - 0.471963(T^2) - 0.084902(S^2) - 0.002432(A^2) \\
 & - 0.136696(T*S) - 0.003621(T*A) + 0.004255(S*A)
 \end{aligned}$$

El modelo explica el 86.65% de la variación total de los datos experimentales.

TABLA XI DATOS DE CRECIMIENTO DE LARVAS DE *Mytilus californianus* DE 14 DIAS DE EDAD BAJO DIFERENTES CONDICIONES EXPERIMENTALES DE TEMPERATURA, SALINIDAD Y CONCENTRACION DE ALIMENTO EXPRESADO EN MICRAS.

SALIN	ALIMENTO	T E M P E R A T U R A °C				
		7.22	12.00	19.0	26.00	30.77
16.18	101.00			79.2		
23.00	42.16 159.84		52.0 54.0		89.7 72.3	
33.00	2.00 101.00 200.00	10.0		36.3 74.2 53.3		0.0
43.00	42.16 159.84		26.3 23.3		0.0 0.0	
49.82	101.00			9.7		

El análisis de varianza (Tabla XII) indica que los términos lineal de la salinidad, cuadrático de la temperatura, salinidad y alimento e interacción de temperatura y salinidad tienen significancia estadística, el resto de los términos puede ser eliminados de la ecuación, por tanto el polinomio puede ajustarse de la siguiente manera:

$$\begin{aligned}
 Y = & -212.472412 + 5.329223(S) \\
 & -0.471963(T^2) - 0.084902(S^2) - 0.002432(A^2) \\
 & -0.136696(T*S)
 \end{aligned}$$

Al hacer la transformación a la forma canónica de la ecuación tenemos:

$$Y - 104.3 = -0.943926Z_1^2 - 0.169804Z_2^2 - 0.004864Z_3^2$$

en donde todos los signos del lado derecho son negativos como en el caso del crecimiento a los ocho días lo que indica que la respuesta presenta una configuración elipsoidal, con respuesta máxima al centro, la cual ocurre en:

$$S = (21.95^\circ\text{C}; 15.92\text{‰}; 88 \text{ cel}/\mu\text{l})$$

TABLA XII ANALISIS DE VARIANZA PARA DATOS DE CRECIMIENTO DE LARVAS DE *Mytilus californianus* A LOS 14 DIAS DE EDAD GENERADO POR LA ECUACION DE REGRESION. *=($\alpha=0.05$)

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	G.L.	CUAD MED	VALOR F	VALOR α
T	111.63860	1	111.63860	.86	.3809
S	8143.72288	1	8143.72288	62.59	*.0000
A	22.97973	1	22.97973	.18	.6856
T ²	8416.94064	1	8416.94064	64.69	*.0000
S ²	1129.75570	1	1129.75570	8.68	*.0113
A ²	1127.87253	1	1127.87253	8.67	*.0114
T*S	732.48781	1	732.48781	5.63	*.0338
T*A	17.79710	1	17.79710	.14	.7213
S*A	50.15304	1	50.15304	.39	.5519
MODELO	19753.3480	9			

$$R^2 = .8665$$

Al resolver la ecuación con 2 cel/ μl (Fig. 11A) la isolínea más alta que se obtiene es la de 80% el campo de respuesta óptima se localiza en el rango de 19-26°C y 16-22‰, al aumentar la concentración a 40 cel/ μl (Fig. 11B) éste campo se hace más amplio y va de 16 a 28°C y de 16 a 30‰, aunque sólo se alcanza la isolínea de 80%. Si se grafica con 101.00

cel/ μ l (Fig. 11C) correspondiente al punto central del diseño se obtiene la isolínea del 100%, pero a concentración de 200 cel/ μ l (Fig. 11D) la respuesta disminuye, y solo se distingue la isolínea de 70%.

Los diagramas de contorno generados al resolver la ecuación para diferentes concentraciones de alimento muestran que el comportamiento de la respuesta es muy similar al de ocho días, obteniéndose la isolínea de 100% al aumentar la concentración, pero la respuesta disminuye a concentraciones tan altas como 200 cel/ μ l (Fig. 11d). En éste caso igual que a los ocho días se nota un efecto de interacción entre temperatura y salinidad, y la temperatura es también la variable más importante.

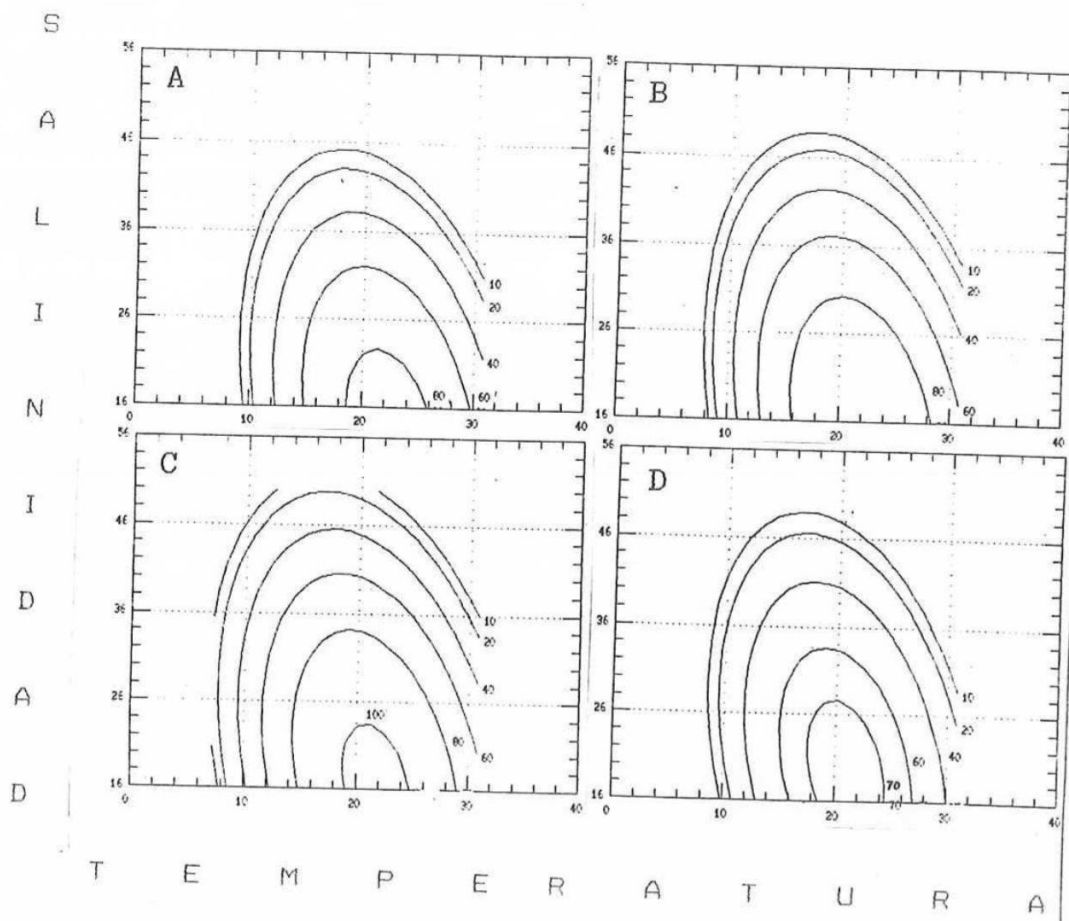


Fig. # 11 Contornos de superficies de respuestas para crecimiento de larvas de *Mytilus californianus* a los 14 días de edad a diferentes concentraciones de alimento A: 2 cel/ μ l; B: 40 cel/ μ l; C: 101 cel/ μ l; D: 200 cel/ μ l.

3.2.3 CRECIMIENTO A LOS 20 DIAS

Para esta edad, el crecimiento máximo (Tabla XIII) se registró en el extremo inferior de salinidad, en tanto que en el extremo superior se obtuvo 20.2%, las larvas a 7.22°C alcanzaron un incremento en talla de 19.2%, el cero porciento se registró en la temperatura extrema superior y en la condición de 26°C y 43‰ en las dos concentraciones de alimento, dicho punto corresponde al factorial, en el resto del mismo el porcentaje registrado va desde 38.2 hasta 119.3. En los extremos inferior y superior de la concentración de alimento se registró 42 y 106.8% respectivamente y para la concentración media el 115.5%.

La ecuación que describe el comportamiento del crecimiento es el siguiente:

$$\begin{aligned}
 Y = & -194.542971 + 22.594161(T) + 4.244657(S) + 0.403106(A) \\
 & - 0.495474(T^2) - 0.074712(S^2) - 0.001062(A^2) \\
 & - 0.103571(T*S) - 0.001671(T*A) + 0.00079(S*A)
 \end{aligned}$$

El modelo explica el 89.15% de la variación total de los datos experimentales.

TABLA XIII DATOS DE CRECIMIENTO DE LARVAS DE *Mytilus californianus* DE 20 DIAS DE EDAD BAJO DIFERENTES CONDICIONES EXPERIMENTALES DE TEMPERATURA, SALINIDAD Y CONCENTRACION DE ALIMENTO (EXPRESASO EN MICRAS)

SALIN	ALIMENTO	T E M P E R A T U R A °C				
		7.22	12.00	19.0	26.00	30.77
16.18	151.5			140.0		
23.00	63.24 239.76		86.3 97.0		124.0 116.7	
33.00	3.00 151.50 300.00	20.0		43.7 120.1 111.0		0.0
43.00	63.24 239.76		39.7 42.0		0.0 0.0	
49.82	151.50			21.0		

El análisis de varianza del modelo indica que los términos significativos son: lineal de la salinidad y concentración de alimento y cuadrático de la temperatura, salinidad y concentración de alimento (Tabla XIV), por lo que el modelo se puede ajustar de la siguiente manera:

$$Y = -194.542971 + 4.244657(S) + 0.403106(A) \\ - 0.495474(T^2) - 0.074712(S^2) - 0.001062(A^2)$$

Al efectuar la transformación a la forma canónica tenemos que:

$$Y - 109.63 = -0.99948Z_1^2 - 0.149424Z_2^2 - 0.002124Z_3^2$$

al igual que en los dos casos anteriores todos los signos del lado derecho de la ecuación son negativos lo que indica que el dominio de la respuesta presenta una configuración elipsoidal cerrada con respuesta máxima al centro la cual se calcula que ocurre en:

$$S = (20.9^{\circ}\text{C}; 14.8\text{‰}; 178.8 \text{ cel}/\mu\text{l})$$

Nuevamente la salinidad óptima calculada se localiza fuera del rango experimental.

TABLA XIV ANALISIS DE VARIANZA PARA DATOS DE CRECIMIENTO DE LARVAS DE *Mytilus californianus* A LOS 20 DIAS DE EDAD GENERADO POR LA ECUACION DE REGRESION. $\alpha=0.05$

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	G.L.	CUAD MED	VALOR F	VALOR α
T	6.40432	1	6.40432	.06	.8165
S	8773.19164	1	8773.19164	79.02	*.0000
A	609.73978	1	609.73978	5.49	*.0357
T ²	9287.05578	1	9287.05578	83.64	*.0000
S ²	873.30960	1	873.30960	7.87	*.0149
A ²	1088.65088	1	1088.65088	9.80	*.0080
T*S	420.50000	1	420.50000	3.79	.0736
T*A	8.52845	1	8.52845	.08	.7889
S*A	3.89205	1	3.89205	.04	.8563
MODELO	21071.2725	9			

$$R^2 = .8915$$

Al resolver la ecuación con 3 cel/ μl (Fig. 12 A) la isolínea más alta que se alcanza es la 70%. El porcentaje de crecimiento aumenta (isolínea de 90%) al aumentar la concentración a 60 cel/ μl (Fig. 12B). Con la concentración de

151.5 cel/ μ l (Fig. 12C) se alcanza la isolínea de 100%, sin embargo al aumentar la concentración a 300 cel/ μ l (Fig. 12D) la respuesta disminuye y sólo se alcanza la isolínea de 90%.

En las gráficas de contorno generadas por la ecuación a diferentes concentraciones de alimento se nota que al aumentar la cantidad de células alimenticias se obtienen mejores crecimientos pero este vuelve a decaer en la concentración de 300 cel/ μ l, el comportamiento de la respuesta es muy similar al de los ocho y 14 días. Así mismo podemos apreciar que la temperatura es el factor que ejerce mayor influencia sobre la respuesta y por la inclinación que presentan las isolíneas se ve que existe un efecto de interacción de la temperatura y salinidad.

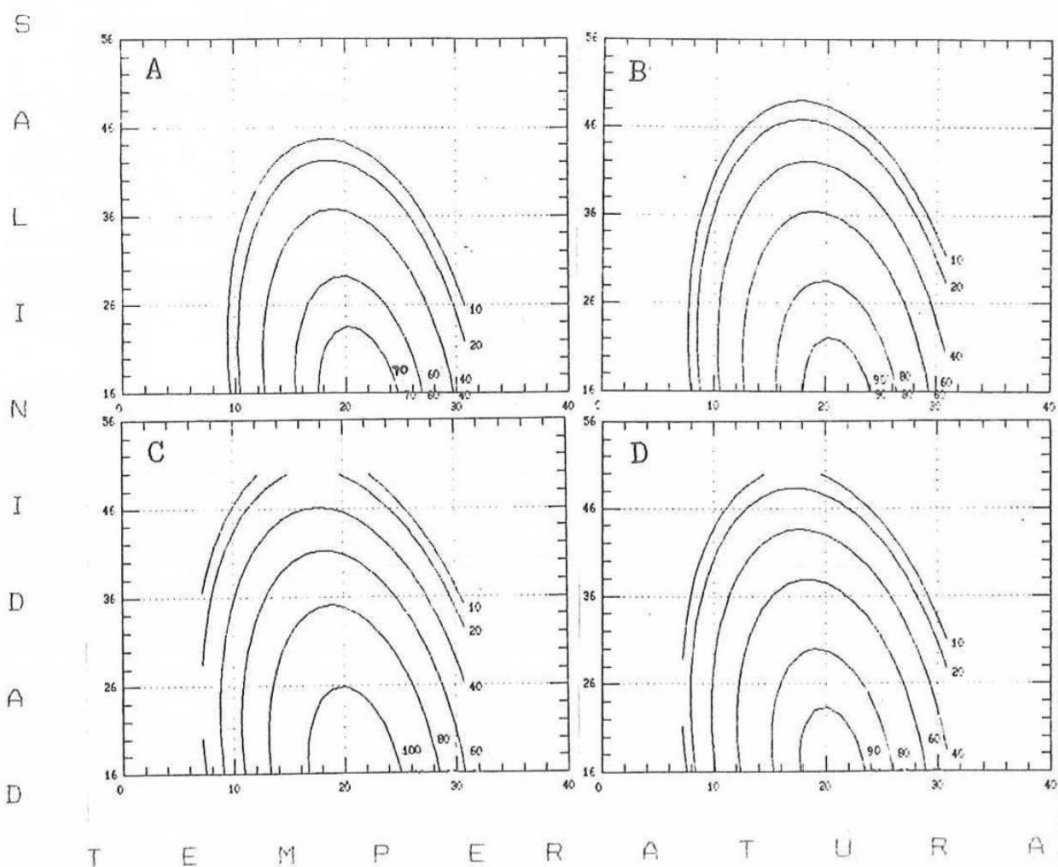


Fig. # 12 Contornos de superficies de respuestas para crecimiento de larvas de *Mytilus californianus* a los 20 días de edad a diferentes concentraciones de alimento A: 3 cel/ μ l; B: 60 cel/ μ l; C: 151.5 cel/ μ l; D: 300 cel/ μ l.

También se encontró que las larvas crecen muy poco (20 micras) a baja temperatura y que en la temperatura alta no se registra crecimiento ya que las larvas murieron en los primeros días del experimento a 30.77 °C (Fig. 13).

El rango de salinidad que esta especie soportó en este experimento va de 16.18 a 49.82‰ y la salinidad extrema inferior fué en la que se registro el crecimiento máximo y a 49.82‰ se registró el menor crecimiento (Fig. 14)

Cuando se comparan los efectos de las diferentes concentraciones de alimento bajo condiciones iguales de temperatura y salinidad se nota que las larvas alimentadas con la densidad más baja (1-3 cel/ μ l son 100 micras más pequeñas, sin embargo la diferencia en talla entre la concentración de 50.5 a 151.5 y 100 a 300 cel/ μ l no es muy marcada (10 micras aproximadamente) (Fig. 15).

Comparando los puntos correspondiente al factorial se obtuvo el crecimiento más alto (aproximadamente 120 micras) en la combinación de 26°C/23‰ en las dos combinaciones de alimento, mientras que en la combinación de temperatura y salinidad altas el crecimiento fue de sólo 8 y 10 micras en la concentración baja y alta de alimento respectivamente ya que esta combinación de temperatura y salinidad fue letal para las larvas desde los 14 días de edad (Figs. 16 y 17).

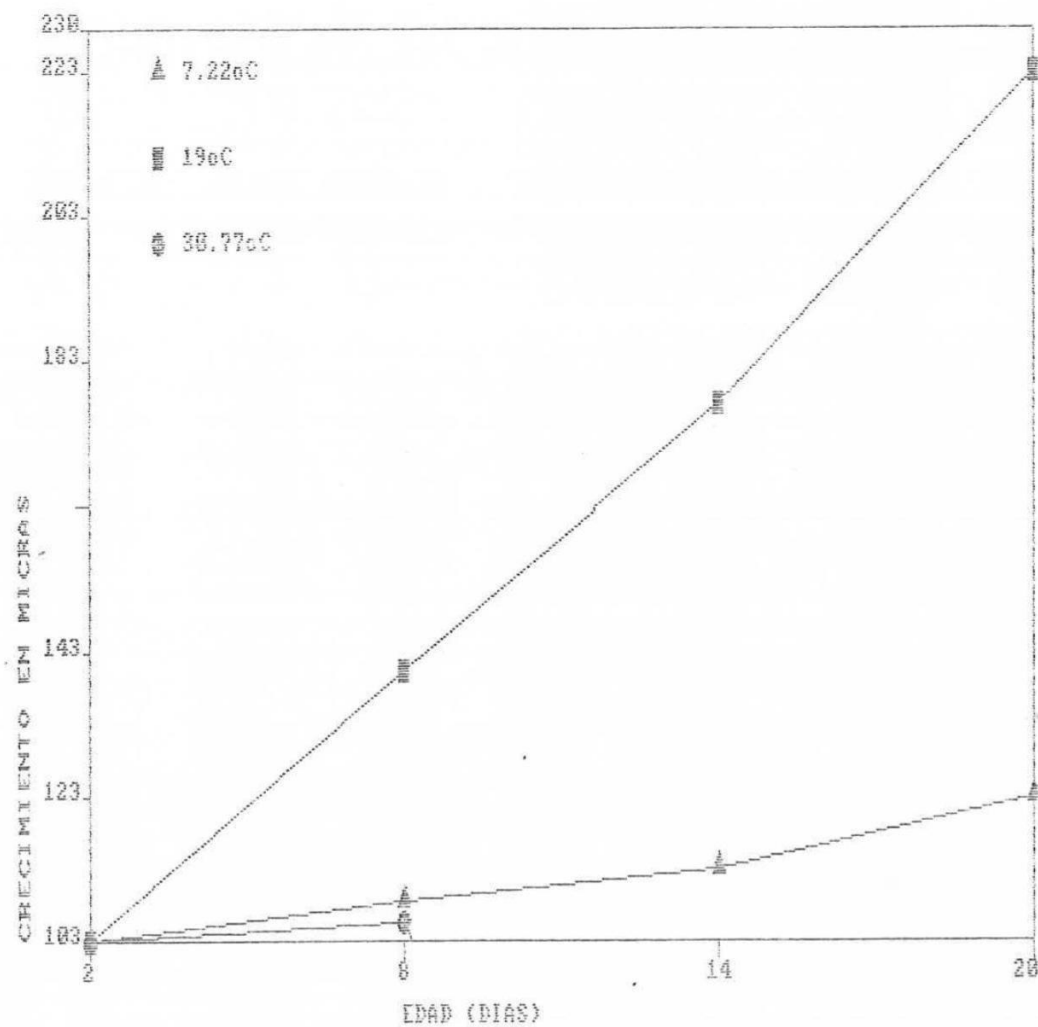


Fig. # 13 Efecto de la temperatura en el tiempo sobre el porcentaje de crecimiento de larvas de *Mytilus californianus* a salinidad y concentración de alimento constantes (33 ppm, 50.50-151.5 cel/ μ l).

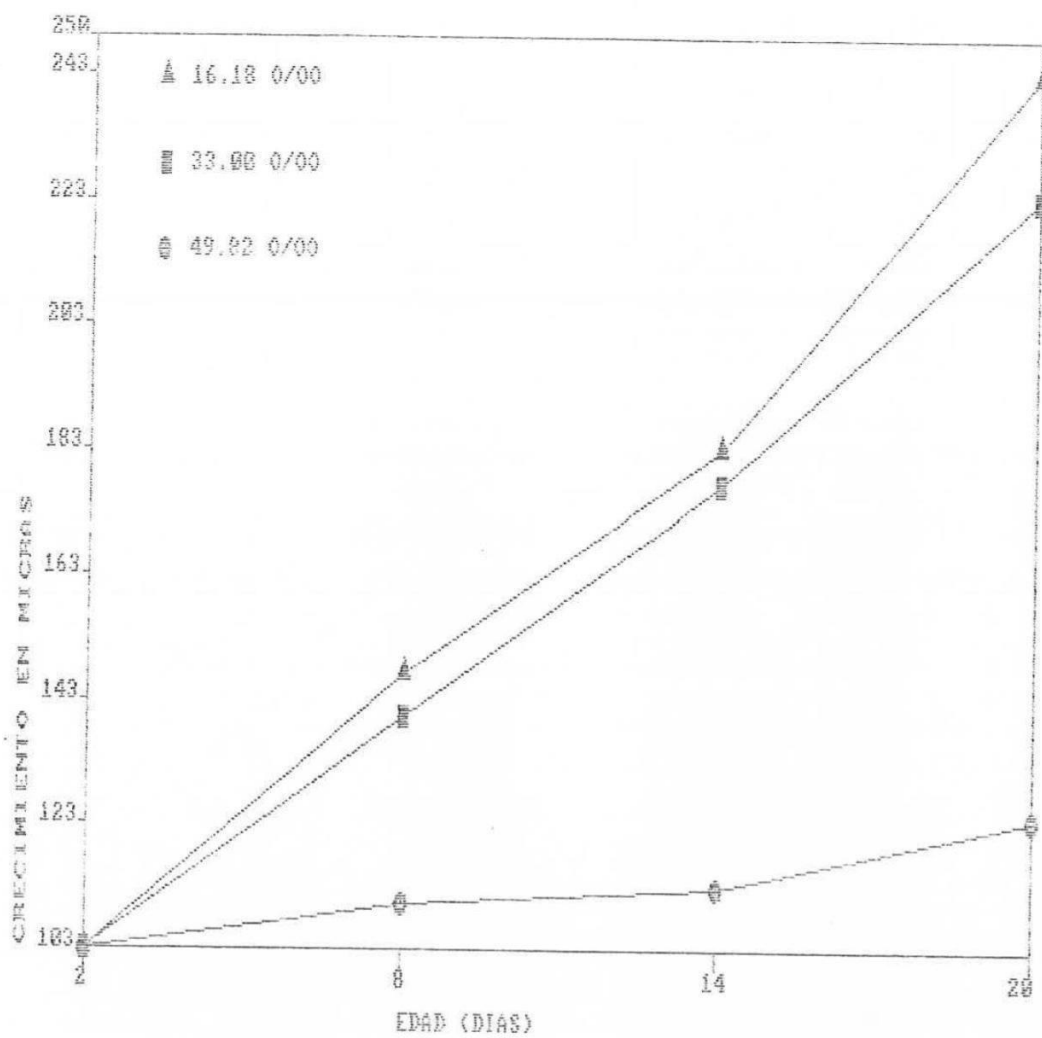


Fig. # 14 Efecto de la salinidad en el tiempo sobre el porcentaje de crecimiento de *Mytilus californianus* a temperatura y concentración de alimento constantes (19 °C, 50.5-151.5 cel/ μ l).

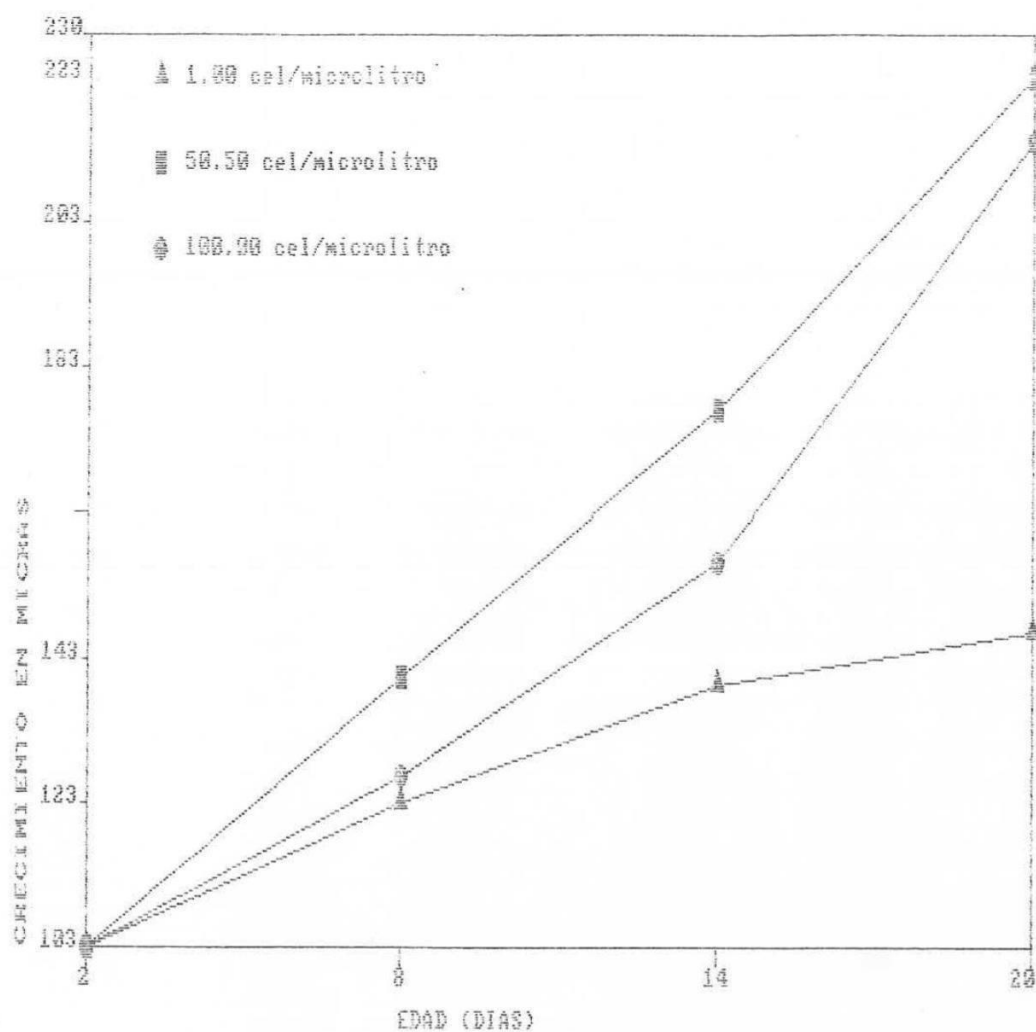


Fig. # 15 Efecto de la concentración de alimento sobre el porcentaje de crecimiento de *Mytilus californianus* a temperatura y salinidad constantes (19° C, 33 ppm.).

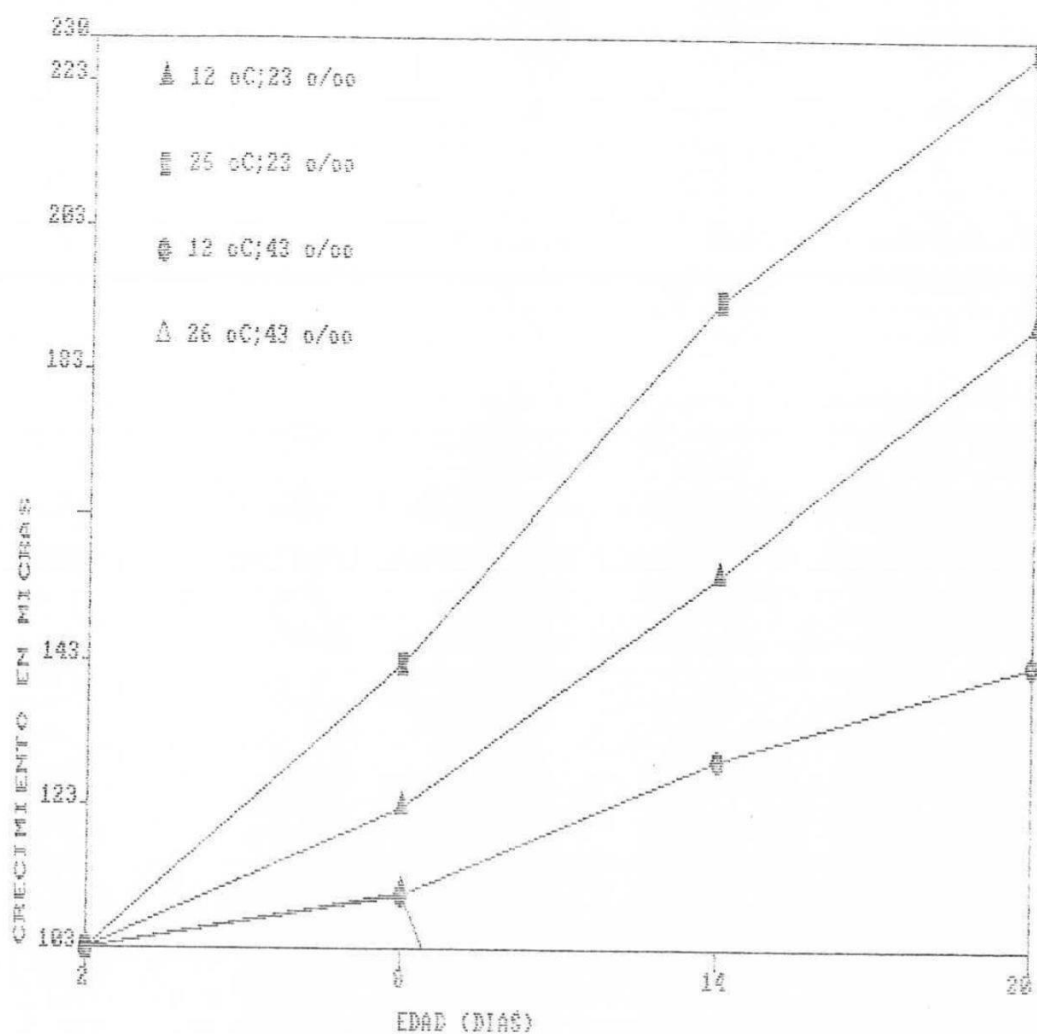


Fig. # 16 Efecto combinado de la temperatura y salinidad sobre el porcentaje de crecimiento de *Mytilus californianus* bajo la misma concentración de alimento (21.08 cel/ μ l.).

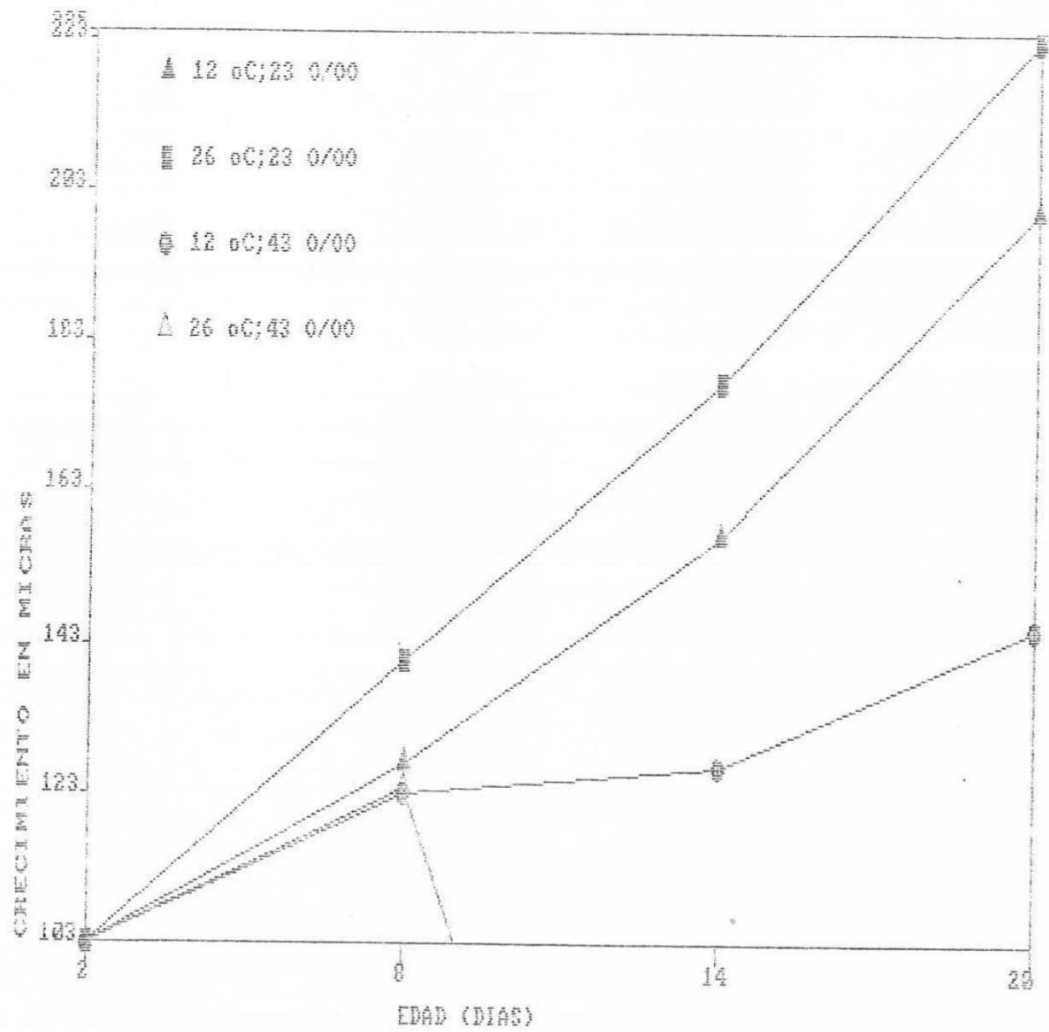


Fig. # 17 Efecto combinado de la temperatura y salinidad sobre el porcentaje de crecimiento de *Mytilus californianus* bajo la misma concentración de alimento (79.92 cel/ μ l.).

3.3 EVALUACION DEL EFECTO COMBINADO DE SOBREVIVENCIA Y CRECIMIENTO

3.3.1 EFECTO COMBINADO DE SOBREVIVENCIA Y CRECIMIENTO A LOS 14 DIAS

La respuesta máxima observada en este tiempo se registró en la misma temperatura y salinidad que para los ocho días en la concentración baja de alimento (Tabla XV), en la condición de temperatura y salinidad altas se registro el cero porciento de la respuesta, para el resto de los puntos del factorial la respuesta va de 59.4 a 98.8%, en los extremos inferior y superior de temperatura se registro 42.3 y cero porciento respectivamente mientras que para el caso de la salinidad fue de 91.5 y 30.3%.

El polinomio que describe el comportamiento de la sobrevivencia y crecimiento combinados es el siguiente:

$$\begin{aligned} Y = & -198.122769 + 22.25462(T) + 6.604401(S) + 0.368202(A) \\ & - 0.417229(T^2) - 0.068972(S^2) - 0.001068(S^2) \\ & - 0.22675(T*S) - 0.003399(T*A) - 0.001741(S*A) \end{aligned}$$

y explica el 88.71% de la variación total de los datos experimentales.

TABLA XV PORCENTAJES COMBINADOS DE SOBREVIVENCIA Y CRECIMIENTO DE LARVAS DE *Mytilus californianus* DE 14 DIAS DE EDAD BAJO DIFERENTES CONDICIONES EXPERIMENTALES DE TEMPERATURA, SALINIDAD Y CONCENTRACION DE ALIMENTO

SALIN	ALIMENTO	T E M P E R A T U R A °C				
‰	cel/l	7.22	12.00	19.0	26.00	30.77
16.18	101.00			91.5		
23.00	42.16 159.84		78.7 91.5		100.0 98.8	
33.00	2.00 101.00 200.00	42.3		67.1 89.0 72.8		0.0
43.00	42.16 159.84		59.4 59.6		0.0 0.0	
49.82	101.00			30.3		

El análisis de varianza generado a partir del modelo indica que los términos con significancia son: lineal de temperatura y salinidad, cuadrático de temperatura y salinidad e interacción de temperatura por salinidad (Tabla XVI), por lo que el modelo puede ajustarse de la manera siguiente:

$$Y = -198.122769 + 22.25462(T) + 6.604401(S) - 0.417229(T^2) - 0.068972(S^2) - 0.22675(T*S)$$

Al hacer la transformación a la forma canónica de la ecuación se tiene que:

$$Y - 118.12 = -0.834458Z_1^2 - 0.137944Z_2^2 - 0.002136Z_3^2$$

tiene al igual que las ecuaciones de crecimiento todos los signos del lado derecho negativos, lo que indica que la respuesta presenta la configuración de un elipsoide con respuesta máxima al centro, el cual se calcula que ocurre en:

$$S=(24^{\circ}\text{C}, 5\text{‰ y } 128 \text{ cel/ml})$$

en este caso el óptimo de salinidad calculado se localiza fuera del rango experimental de manera similar que para el crecimiento a los 14 días.

TABLA XVI ANALISIS DE VARIANZA PARA DATOS COMBINADOS DE SOBREVIVENCIA Y CRECIMIENTO DE LARVAS DE *Mytilus californianus* A LOS 14 DIAS DE EDAD GENERADO POR LA ECUACION DE REGRESION. $*(\alpha=0.05)$

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	G.L.	CUAD MED	VALOR F	VALOR α
T	1356.82326	1	1356.82326	12.92	*.0033
S	8077.49036	1	8077.49036	76.94	*.0000
A	43.86622	1	43.86622	.42	.5360
T ²	6597.87494	1	6597.87494	62.85	*.0000
S ²	750.45549	1	750.45549	7.15	*.0191
A ²	217.53390	1	217.53390	2.07	.1737
T*S	2015.49005	1	2015.49005	19.20	*.0007
T*A	15.68240	1	15.68240	.15	.7094
S*A	8.39895	1	8.39895	.08	.7847
MODELO	19083.6156	9			

$$R^2 = .8871$$

En las gráficas de contorno que se generan a partir del modelo a diferentes concentraciones de alimento se observa que si se aumenta la concentración de alimento de 2 a 40

cel/ μ l el porcentaje de sobrevivencia más crecimiento también aumenta (Fig. 17 A y B); la región de respuesta máxima se localiza en el rango de 16 a 27°C y 17-26‰ a 101 cel/ μ l (Fig. 17 C) y en 17-26°C y 16-22‰ a 200 cel/ μ l (Fig. 17 D); esto es la región de respuesta se hace más pequeña. Al igual que en el caso del crecimiento, se nota que existe un efecto de interacción entre temperatura y salinidad sin embargo la temperatura es el factor que influye en mayor grado sobre la respuesta.

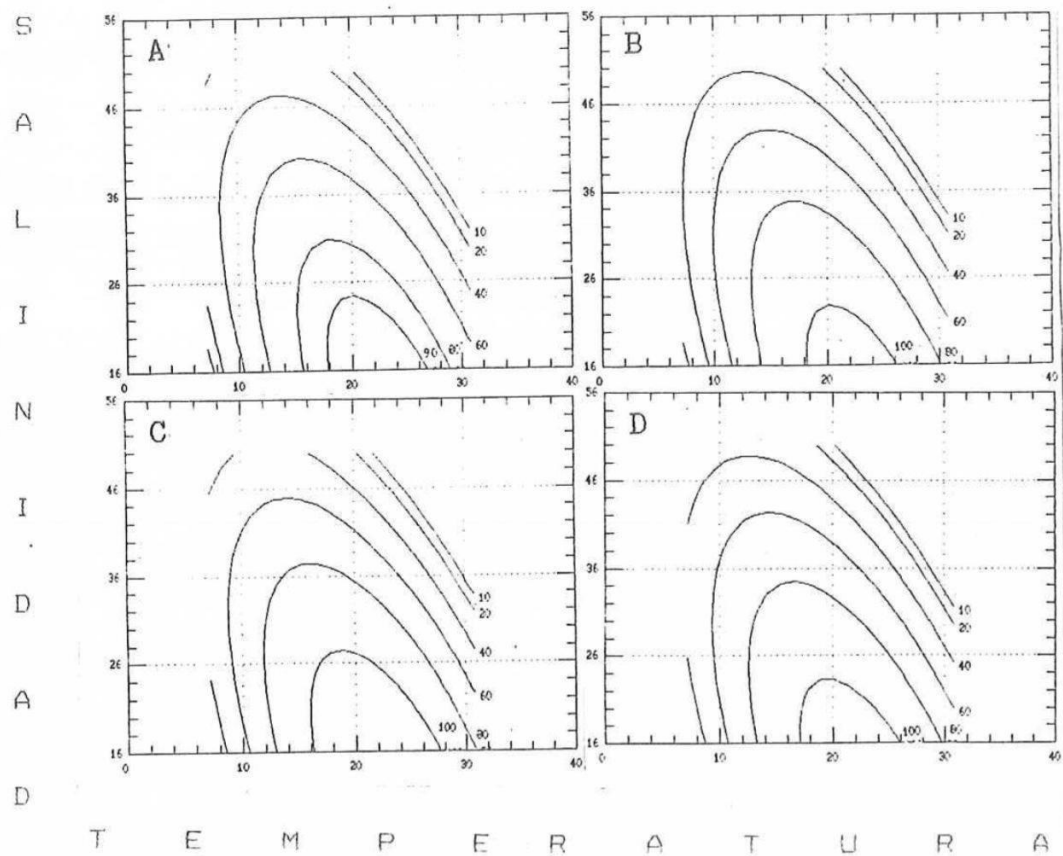


Fig. # 18 Contornos de superficies de respuestas para para datos combinados de sobrevivencia y crecimiento de larvas de *Mytilus californianus* a los 14 días de edad a diferentes concentraciones de alimento A: 2 cel/μl; B: 40 cel/μl; C: 101 cel/μl; D: 200 cel/μl.

3.3.2 EFECTO COMBINADO DE SOBREVIVENCIA Y CRECIMIENTO A LOS 20 DIAS

Para los 20 días la respuesta máxima se observó en el extremo inferior de salinidad (Tabla XVII) y la respuesta mínima en el extremo superior de la misma, en los puntos del factorial, se nota la misma tendencia que a los 14 días, ya que se registró el 92% en la combinación de 26°C y 23‰ 92% en la concentración baja de alimento y 89.5% en la concentración alta. A la misma temperatura a 43‰ se registró cero porciento, para la combinación de 12°C y 23‰, se registró 78.8 y 75% para las concentraciones de alimento baja y alta respectivamente, y se registra un decremento en la respuesta de casi 25%

en la misma temperatura a 43‰ de salinidad en ambas concentraiones de alimento; a 7.22°C se encontró 33.2% y a 30.77°C cero porciento; con respecto a la concentración de alimento a 3 cel/ml se obtuvo 47 y 90.3% a 151.5 cel/ml mientras que a 300 cel/ml se obtuvo 79.2%.

La ecuación de regresión que describe el comportamiento de la sobrevivencia más crecimiento es el siguiente:

$$\begin{aligned}
 Y = & -227.633617 + 24.022341(T) + 7.505931(S) + 0.429572(A) \\
 & - 0.436193(T^2) - 0.073291(S^2) - 0.001193(A^2) \\
 & - 0.263607(T*S) - 0.004352(T*A) - 0.002408(S*A)
 \end{aligned}$$

que explica el 90.3% de la variación total de los datos experimentales.

TABLA XVII PORCENTAJES DE SOBREVIVENCIA Y CRECIMIENTO DE LARVAS DE *Mytilus californianus* DE 20 DIAS DE EDAD BAJO DIFERENTES CONDICIONES EXPERIMENTALES DE TEMPERATURA, SALINIDAD Y CONCENTRACION DE ALIMENTO

SALIN	ALIMENTO	T E M P E R A T U R A °C				
		7.22	12.00	19.0	26.00	30.77
16.18	151.50			100.0		
23.00	63.24 239.76		78.8 75.1		92.0 89.5	
33.00	3.00 151.50 300.00	33.16		47.9 90.3 79.2		0.0
43.00	63.24 239.76		52.5 55.5		0.0 0.0	
49.82	151.50			13.57		

El análisis de varianza (Tabla XVIII) indica que los términos con significancia son: lineal de la temperatura y salinidad, cuadrático de temperatura y salinidad e interacción de temperatura por salinidad. El modelo con los términos significativos puede ajustarse de la siguiente manera:

$$Y = -227.633617 + 24.022341(T) + 7.505931(S) - 0.436193(T^2) - 0.073291(S^2) - 0.263607(T*S)$$

Al transformar la ecuación a su forma canónica se tiene que:

$$Y = -0.872386Z_1^2 - 0.146582Z_2^2 - 0.002386Z_3^2$$

al igual que a los 14 días tiene todos los signos del lado derecho negativos lo que indica que la respuesta presenta la configuración de un elipsoide con respuesta máxima al centro, la cual se calcula que ocurre en:

$$S = (26^\circ\text{C}, 1\text{‰ y } 130 \text{ cel}/\mu\text{l})$$

TABLA XVIII ANALISIS DE VARIANZA PARA DATOS DE SOBREVIVENCIA Y CRECIMIENTO DE LARVAS DE *Mytilus californianus* A LOS 20 DIAS DE EDAD GENERADO POR LA ECUACION DE REGRESION. $(\alpha=0.05)$

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	G.L.	CUAD MED	VALOR F	VALOR α
T	1909.56356	1	1909.56356	18.44	*.0009
S	9112.55780	1	9112.55780	87.98	*.0000
A	33.33782	1	33.33782	.32	.5861
T ²	7209.43803	1	7209.43803	69.61	*.0000
S ²	847.03924	1	847.03924	8.18	*.0134
A ²	271.25245	1	271.25245	2.62	.1296
T*S	2723.95805	1	2723.95805	26.30	*.0002
T*A	25.70577	1	25.70577	.25	.6319
S*A	16.06403	1	16.06403	.16	.7042
MODELO	22148.9167	9			

$$R^2 = .9030$$

Los diagramas de contorno generados por la ecuación son muy parecidos a los de 14 días, ya que al incrementar la concentración de alimento de 3 a 151.5 cel/ μl (Fig. 18 A, C) la respuesta aumenta, pero a 300 cel/ml la respuesta decrece y sólo se puede apreciar la isolinia de 60% (Fig. 18 D), a 151.5

cel/ μ l la región de respuesta óptima se localiza en el rango de 18 a 28°C y de 16 a 28‰ (Fig. 18 C). También se nota que existe un efecto de temperatura por salinidad y la temperatura sigue siendo el factor más importante.

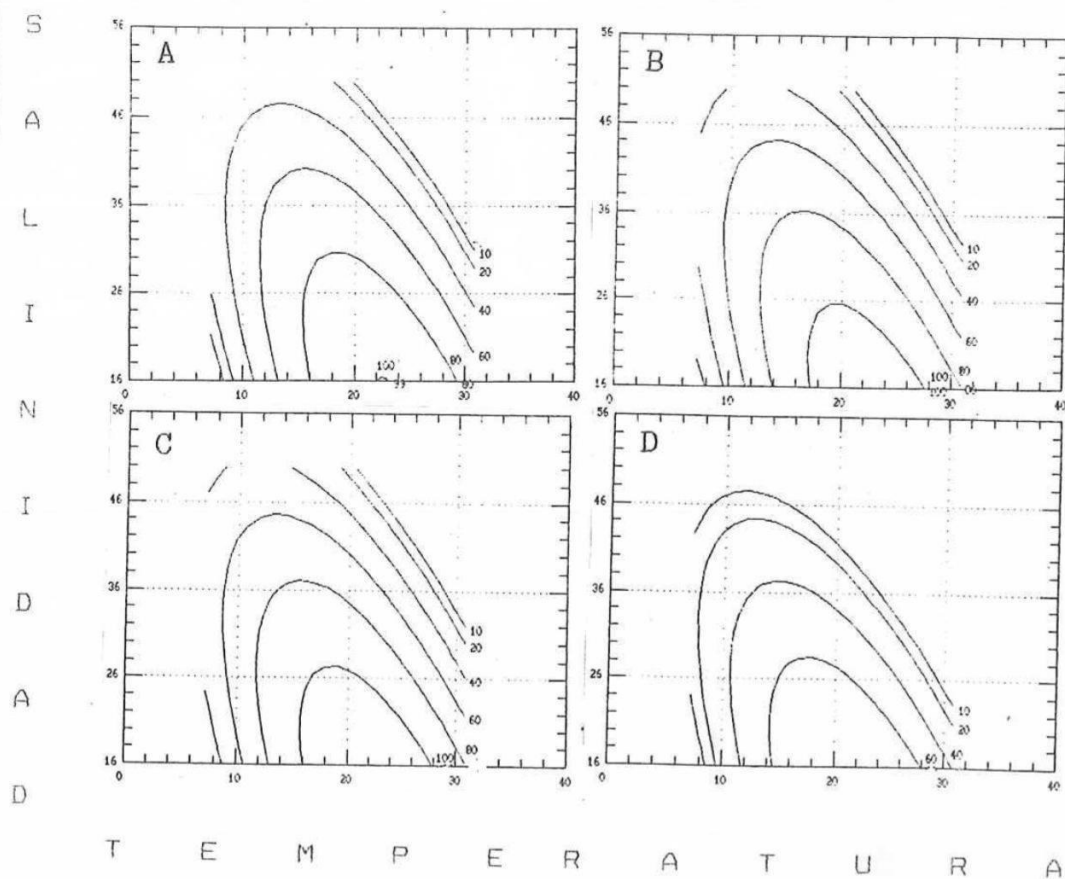


Fig. # 19 Contornos de superficies de respuestas para datos combinados de sobrevivencia y crecimiento de larvas de *Mytilus californianus* a los 20 días de edad a diferentes concentraciones de alimento A: 3 cel/ μ l; B: 60 cel/ μ l; C: 151.5 cel/ μ l; D: 300 cel/ μ l.

En términos generales se tiene que las larvas se vuelven más tolerantes a la temperatura baja a medida que crecen y que la temperatura extrema alta es letal desde los primeros ocho días del experimento. Con respecto a la salinidad se tienen resultados similares ya que se encontró que los organismos estudiados se vuelven más resistentes a la salinidad baja y menos resistentes a la salinidad alta a medida que pasa el tiempo. En la combinación de temperatura baja tanto a salinidad de 23‰ como a 43‰ no se nota una tendencia definida aunque en tres de los cuatro casos se observa que el porcentaje de sobrevivencia disminuye y luego aumenta.

Por otro lado a temperatura de 26°C en la salinidad de 23‰ se nota que las larvas se hacen más resistentes a la salinidad baja cuando se les alimenta con baja concentración de alimento pero cuando se les proporciona una concentración mayor de células no se observa el mismo patrón de comportamiento de la sobrevivencia en el tiempo, a la misma temperatura en la salinidad de 43‰ las larvas jóvenes son bastante resistentes en cualquiera de las dos concentraciones de alimento y a medida que para el tiempo esta combinación es letal.

Respecto a la concentración de alimento tampoco se observa un comportamiento definido en las concentraciones

extremas aunque ésto si ocurre en la concentración media aumentando el porcentaje de sobrevivencia a medida que pasa el tiempo.

4 DISCUSION.

De los factores ecológicos, la temperatura y salinidad son considerados como de los más importantes (Hrs-Brenko y Calabrese, 1969; Alderdice, 1972), y es ampliamente conocido que la temperatura es uno de los que afecta en mayor grado los procesos biológicos y fisiológicos de los seres vivos (Bayne, 1965, 1976; Alderdice, 1972; Cadman y Weinstein, 1988); en general se ha visto que la tasa de crecimiento aumenta a medida que se incrementa la temperatura hasta alcanzar un óptimo, después de lo cual a decae rápidamente (Coe y Fox, 1942; Fox y Coe, 1944; Kinne, 1970).

4.1 SOBREVIVENCIA

En el presente estudio se encontró que la sobrevivencia de las larvas de *Mytilus californianus* estuvo delimitada principalmente por la temperatura. A lo largo del período experimental se observó que las larvas sobrevivieron bien en la temperatura más baja (7.22°C) y se obtiene una sobrevivencia de 40%; mientras que la temperatura más alta (30.77°C) fue letal desde los primeros ocho días del experimento, este hallazgo concuerda con lo que reportan Stickney (1964) para la almeja *Mya arenaria* y Fox y Coe (1942) y Coe y Fox (1944) para *M. californianus*, quienes mencionan que el rango de actividad normal para adultos de ésta especie se

encuentra entre 14-22 °C.

El hecho de que las larvas de *M. californianus* no sobrevivan a temperaturas altas es probable que se deba a un incremento en el metabolismo y por tanto aumenta la cantidad de metabolitos en el medio. Por otro lado se sabe que la mayoría de las células alimenticias utilizadas en este estudio mueren a temperaturas mayores de 27 °C (Davis y Calabrese, 1964) por lo que aumenta la cantidad de materia orgánica presente en el cultivo, esto disminuye la tasa de filtración, Winter, (1970) menciona que a mayor concentración de partículas presentes en el medio la tasa de filtración disminuye.

Con respecto a la salinidad se observó que el rango tolerado por las larvas de ésta especie fue amplio (16.18-49.82‰), sin embargo conforme pasa el tiempo se hace más notable un efecto negativo de la alta salinidad, por el contrario a baja salinidad la sobrevivencia es mayor, esto posiblemente se debe a que a medida que las larvas se acercan a la metamorfosis y por tanto al asentamiento se vuelven más resistentes a la baja salinidad. Bayne (1965, 1976) encontró esta misma tolerancia a salinidades bajas en *M. edulis* y *Mytilus* en general indicando además que ésta va a variar con la temperatura; por el contrario Young (1941) encontró que las

larvas de *M. californianus* son muy susceptibles a salinidades menores de 29‰ y que la sobrevivencia es muy baja a 21.5‰.

La sobrevivencia para las diferentes concentraciones de alimento fue menor en las densidades media y extrema alta (50.5-151.5 cel/ μ l y 100-300cel/ μ l respectivamente); en la concentración de alimento mínima se registró la mejor sobrevivencia pero solo hasta los 14 días; lo que demuestra que los requerimientos alimenticios de las larvas son mayores a medida que pasa el tiempo. Sin embargo la sobrevivencia fue mejor en la concentración media a los 20 días y no en la extrema alta como podría esperarse, esto concuerda con lo reportado por Winter (1970) quien encontró que la utilización de alimento es alta en concentraciones bajas y baja en concentraciones altas.

De acuerdo con el análisis estadístico el alimento como variable no fue significativo en el rango de concentraciones que se trabajó, sin embargo ecológicamente este es un factor muy importante para la sobrevivencia durante las fases tempranas de desarrollo, etapa más crítica de los organismos, en este caso el paso de una larva trocófora, la cual se alimenta de su propio vitelo, a la fase veliger depende principalmente del alimento disponible en el medio y de su habilidad para alimentarse, hecho que se ve claramente en las

diferentes curvas de sobrevivencia (figs.5-9), en donde se nota que la más alta mortalidad (40% a más) se dá en el lapso de dos a ocho días; es precisamente a los dos días de edad cuando las larvas pasan por dicho período crítico.

Day y McEdward (1984) mencionan que la inanición está asociada con la limitación de alimento, sin embargo no es posible asegurar que las tasas de desarrollo sean o no retardadas por las concentraciones naturales de éste, aunque en cultivos de laboratorio si se observa este hecho, lo cierto es que si ocurre una limitación de alimento ésta puede actuar en concierto con otros factores (v.gr temperatura) para producir un conjunto de determinantes de mortalidad.

Por otro lado la sobrevivencia fue alta (>60%) a lo largo de todo el período experimental en los puntos del factorial en las dos concentraciones de alimento excepto para 14 y 20 días en la combinación de temperatura y salinidad altas; el análisis de varianza indica que el término de interacción temperatura salinidad es significativo y el hecho de que en ésta combinación de factores se haya encontrado el 100% de mortalidad nos indica que en realidad existe un efecto sinérgico de estos factores, contrariamente Falmagne (1984) encontró en su estudio con *M. californianus* que este efecto de interacción no es significativo esto probablemente se deba a que la salinidad más alta que probó fue 36‰ y que la

interacción sólo sea importante a salinidades más altas y también a que se trate de dos poblaciones distintas que están adaptadas a diferentes condiciones ambientales, Bayne (1965) encontró esta misma tolerancia a salinidades bajas en *M. edulis* indicando además que ésta va a variar con la temperatura y que difiere de una población a otra.

El análisis de varianza indica que el factor que más afecta la sobrevivencia es la temperatura, en seguida la salinidad y la interacción entre ambas. Estos resultados indican que la temperatura y salinidad son factores importantes para el desarrollo de larvas, por lo cual se enfatiza en la necesidad de tomar en cuenta estos dos factores en la futura investigación encaminada a establecer una biotécnica de cultivo. No obstante para las larvas de ocho días de edad éstos no fueron los factores que las afectaron sino los términos cuadráticos de la salinidad y el alimento, ésta discordancia en los resultados probablemente se deba a que el ajuste de modelos lineales no es el más adecuado para la evaluación de éste tipo de fenómenos, (Schnute y McKinnell, 1984).

4.2 CRECIMIENTO

En las temperaturas bajas el crecimiento de las larvas de *M. californianus* fue muy lento, ya que se registró menos de un 15% de incremento en talla al final del experimento en la

temperatura de 7.22°C, y en la temperatura alta que fue letal desde los primeros ocho días, el crecimiento máximo registrado fue de sólo 5.7%, esta misma tendencia la encontraron Young (1941), Fox y Coe (1942), Coe y Fox (1944) con adultos de ésta misma especie y Calabrese (1969) para *Mulinia lateralis*, Lough y Gonnor (1973, a y b) para *Adula californiensis* y Lough (1974) para *M. edulis*. Así mismo Bayne (1965) en su trabajo con *M. edulis* encontró que de forma general el crecimiento es lento a temperaturas bajas y más rápido a temperaturas altas, Bayne, (1976) también menciona que el crecimiento es más rápido en primavera y verano (temperaturas altas) y más lento en los meses de invierno (temperaturas bajas). Los estudios de Weymouth, MacMillan y Rich (1931) citados por Coe y Fox (1942) sobre el crecimiento de *Siliqua patula* a latitudes ampliamente diferentes sobre las costas del Pacífico norte demuestran que la tasa de crecimiento es mucho más rápida en el sur que en localidades más al norte.

Por otro lado Bayne (1965) encontró que ejemplares de *Mytilus edulis* obtenidos de diferentes poblaciones presentan curvas de crecimiento diferentes bajo las mismas condiciones experimentales; estos mismos resultados han sido encontrados por otros autores para larvas de diferentes especies: Alderdice y Forrester (1970) con bacalao; Alderdice y Velsen (1971) con arenque y Lough y Gonnor (1973 a,b) con el mejillón

Adula californiensis.

La combinación 26°C/23‰ demostró ser la mejor condición para el crecimiento de esta especie. Los rangos de temperatura y salinidad tolerados por el organismo se hacen más estrechos a medida que las larvas tienen más edad, particularmente *M. californianus* presenta un rango de temperatura más estrecho a salinidad media de 33‰ y su rango de salinidad es más amplio a temperatura media de 19°C.

Cuando se comparan los efectos de las diferentes concentraciones de alimento sobre el crecimiento se nota que las larvas alimentadas con la densidad más baja (1-3 cel/ μ l) son 100 micras más pequeñas. Sin embargo la diferencia en talla entre la concentración 50.5 a 151.5 y 100 a 300 cel/ μ l no es muy marcada (10 micras aproximadamente). Kirby-Smith y Barber (1974) en un estudio con el bivalvo *Argopecten irradians* mencionan que a concentraciones bajas de alimento el crecimiento es lento pero que en concentraciones altas de alimento éste no se incrementa. Este efecto de la concentración de alimento también es notable al examinar los puntos del factorial en las diferentes densidades de alimento, Winter (1970) encontró que la eficiencia de asimilación va a variar con la temperatura, así a temperatura baja, se requieren concentraciones bajas de alimento, y a temperatura alta, la cantidad de alimento requerida para una mayor

eficiencia de asimilación es mayor. Estos resultados sugieren que el crecimiento no va a estar determinado sólo por la cantidad de alimento proporcionado, sino también por la temperatura, Winter op. cit. además dice que un bivalvo puede digerir y asimilar sólo una cantidad finita de alimento por unidad de tiempo y que, si se suministra más, éste no será usado, ya que existe un umbral para la concentración de alimento presente en el medio y por encima de éste un incremento en la densidad de células puede resultar en un incremento en la producción de pseudoheces. Esto nos lleva a pensar que al proporcionar concentraciones medias de alimento (50.50-151.5 cel/ μ l) a una temperatura media de 19°C proporcionará un mejor crecimiento, lo que es de importancia fundamental para los cultivadores ya que la aplicación de estos principios podría resultar en un incremento en la eficiencia de producción y reducción de costos en cultivos a gran escala, (Winter, 1978).

4.3 ANALISIS COMBINADO DE SOBREVIVENCIA Y CRECIMIENTO

La combinación de sobrevivencia y crecimiento para maximizar ambas respuestas, intuitivamente es favorable ya que uno puede esperar una situación muy parecida en el medio natural (Lough, 1975)

En este estudio se encontró que en el factorial en la combinación de temperatura baja y salinidad alta se observan sobrevivencias altas (55-100%) y los crecimiento más bajos (7.1-42.0 μ) a lo largo de todo el período experimental, pero al combinar la sobrevivencia y crecimiento las más altas respuestas se registraron en la combinación de temperatura alta y salinidad baja, estos resultados indican que la temperatura para máximo crecimiento es desfavorable para la sobrevivencia y viceversa esto concuerda con lo reportado por Lough y Gonor, (1973 a,b) y Lough, (1975).

Para el caso de la salinidad también se nota ésta tendencia donde los valores de sobrevivencias más altos se registraron a salinidades altas (43‰). Mientras que los valores de crecimiento más altos, se presentaron en salinidades bajas (23‰) y las respuestas combinadas más altas se registraron en las salinidades bajas (23‰ o menos).

En cambio no se nota éste efecto al evaluar el efecto de la concentración de alimento, ya que la tendencia general es tanto sobrevivencia como crecimiento mayores en la concentración media de alimento y por consiguiente la combinación de ambas respuestas presentan la misma tendencia; lo que viene a reforzar el hecho de que la temperatura y en menor grado la

salinidad son los factores que más afectan el desarrollo de los organismos en general y de *Mytilus californianus* en particular (Kirby-Smith y Barber, 1974).

Loosanof y Davis (1963) establecen que las bajas temperaturas pueden afectar el crecimiento por la desactivación de ciertas enzimas digestivas, de esto puede deducirse que la sobrevivencia y el crecimiento está determinado en gran medida por la temperatura. Los resultados obtenidos en el presente trabajo sugieren que la temperatura es un factor muy importante para el desarrollo de las larvas de *Mytilus californianus*; Alderdice (1972) ha sugerido que la temperatura es un factor que controla la distribución latitudinal de este organismo.

Los puntos óptimos de sobrevivencia y crecimiento máximos, fueron diferentes para cada edad. Esto sugiere que las larvas de *Mytilus californianus* tienen diferentes requerimientos fisiológicos en cada una de sus fases de desarrollo. Este hallazgo es similar al reportado por otros autores para diferentes especies (Lough 1975; Siddall 1978; Falmagne, 1984; Preston 1985).

Sin embargo al calcular los óptimos se encontraron algunos valores fuera del rango probado, pero existen algunas explicaciones al respecto; primero, Johnson y Leone (1977)

mencionan que la falta de significancia para los términos cuadráticos parece indicar que no existe un nivel óptimo cercano al área del experimento; segundo aún cuando estos términos son significativos de acuerdo con el análisis estadístico y estos valores calculados son erráticos, el hecho de haber empleado modelos lineales para describir las respuestas puede ser la causa principal de dichos valores ya que los modelos no lineales son los más adecuados para describir fenómenos biológicos (Lindsey et al, 1970; Alderdice y Velsen, 1971; Griffiths y Alderdice, 1972; Siddall, 1978; Schnute y McKinnell, 1984).

Los óptimos que se obtuvieron en éste estudio deben ser tomados con reserva, particularmente para el caso de la salinidad, donde el óptimo calculado quedó completamente fuera del rango experimental. Es necesario analizar estos datos en base a modelos no lineales y de acuerdo con los resultados, decidir si se realizan nuevos experimentos, poniendo atención en las respuestas a salinidades bajas a fin de corroborar los resultados de este trabajo.

Los resultados obtenidos sugieren que el no encontrar a *M. californianus* dentro de algunos ecosistemas como lagunas costeras dentro de su zona de distribución se debe probablemente a una combinación de factores bióticos y abióticos (predación, competencia, sustrato adecuado, circulación

de la marea etc.) más que a un solo factor, como podría ser salinidades bajas como lo sugieren Young, (1941), Bayne, (1965, 1976). Situación fácil de detectar con la metodología de superficies de respuesta, donde se evalúan las interrelaciones cuantitativas entre respuestas orgánicas e intensidades de factores ambientales, (Alderdice, 1972.)

Se sabe que los cultivadores a nivel comercial usualmente colectan y cultivan sólo las larvas de organismos que crecen más rápidamente, Losee (1977) menciona que existe una relación entre el crecimiento de larvas y semilla, y que las larvas que se asientan primero tienen un crecimiento más rápido que aquéllas que se asientan al final. Es por esto que los estudios de tolerancia son muy útiles ya que permiten conocer las condiciones óptimas bajo las cuales se puede maximizar la sobrevivencia y el crecimiento de un organismo.

El campo de la acuicultura puede beneficiarse por este tipo de estudios donde se ve claramente que las diferentes fases de un organismo requieren diferentes condiciones óptimas; así las larvas pueden ser criadas en una combinación de condiciones desde la fertilización hasta la fase veliger y después ser transferidas a otras condiciones propias para las fases posteriores (Lough, 1975).

5 CONCLUSIONES.

En el presente estudio se encontró que la sobrevivencia y crecimiento de larvas de *Mytilus californianus* ocurre en el rango de 14-22°C y 16-33‰.

La temperatura es el factor más importante para el desarrollo de *Mytilus californianus* en su fase larval.

A medida que las larvas crecen presentan mayor tolerancia a las bajas salinidades.

Las larvas de *M. californianus* tiene diferentes requerimientos fisiológicos en cada una de sus fases de desarrollo.

Aunque el modelo lineal explique la varianza de los datos, resulta inapropiado para calcular los óptimos, por lo que se sugiere el uso de modelos no lineales para la investigación futura.

La metodología de superficies de respuesta puede servir de base en el proceso de optimización en el establecimiento de una biotécnica de cultivo que asegure la producción de semilla a gran escala.

6 LITERATURA CITADA

- Alderdice, D. F. y C. R. Forrester, 1968. Some effects of salinity and temperature on early development and survival of English sole. J.Fish. Res. Bd. Canada. 25(3):495-521.
- Alderdice, D. F., y F. P. J. Velsen, 1971. Some effects of salinity and temperature on early development of Pacific Herring(*Clupea pallasii*). J. Fish. Res. Bd. Canada, 28:1545-1562.
- Alderdice, D. F., 1972. Factor combinations responses of marine poikilotherms to environmental factors actin in concert. En:Marine Ecology, Vol. 1, Part 3. pp1059-1722. Ed. by O. Kinne, London. Wiley Interscience.
- Anderson, V. L. y K. A. McLean, 1974. Design of experiments. A Realistic Approach. Marcel Dekker, Inc. New York, pp418.
- Bardach, J. E., J.H., Rither y W. P. Mc Larney, 1972. Aquaculture. New York: Intercience. pp868
- Barttlet, B., 1972. Reproductive ecology of California sea mussel *Mytilus californianus* Conrad. M.S. Thesis, Univ. of the Pacific, pp71.
- Bayne, B. L., 1965. Growth and the delay of metamorphosis of larvae of *Mytilus edulis* (L). Ophelia 2(1):1-47.

- Bayne, B. L., 1976. Marine mussel: their ecology and physiology. pp494. Cambridge: Cambridge University Press.
- Berry, S. S., 1954. On the supposed stenobathic habitat of California sea mussel, California Fish, and Game. 40:69-73.
- Breese, W. P. y R. E. Malouf, 1975. Hatchery manual for the pacific oyster. Oregon State University. Sea Grant College program. Publication No.ORESU-H-75-002. pp22.
- Brenko-Hrs, M. y Calabrese, A., 1969. The combined effects of temperature and salinity on larvae of mussel *Mytilus edulis*. Marine Biology. 4:224-226.
- 1978. The relationship of temperature and salinity to larvasl development in mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck). En Physiology and behaviour of marine organisms. McLusky, D. S. y A. J. Berry. [eds.]. Pergamon Press, Oxford. pp359-365.
- Box, G. E. P. y K.B. Wilson, 1951. On the experimental attainment of optimun conditions. Jl. R. Statist. Soc. (B). 13:1-45.
- 1956. The determination of optimun conditions pp495-578. En: O. L. Davis [ed] Design and analysis of indutrial experiments. Chap 11. Oliver and Boyd. London.

- y J. S. Hunter, 1957. Multifactor experimental designs for exploring response surfaces. *Ann. Math. Stat.* 28:195-246.
- Cadman, R. L. y M. P. Weinstein, 1988. Effects of temperature and salinity on the growth of laboratory-reared juvenile blue crabs *Callinectes sapidus* Rathbun. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 121:193-207.
- Cain, T. D., 1973. The combined effects of temperature and salinity on embryos and larvae of the clam *Rangia cuneata*. *Marine Biology.* 21:1-6.
- Calabrese, A., 1969. Individual and combined effects of salinity and temperature on embryos and larvae of the coot clam, *Mulinia lateralis* (Say). *Biol. Bull.* 137(3):417-428.
- Calabrese, A. y H. C. Davis, 1970. Tolerances and requirements of embryos and larvae of bivalve molluscs. *Helgoländer Wiss. Meeresunters.* 20:553-564.
- Cochran, W. G. y G. M. Cox, 1983. *Diseños Experimentales* 8ava Reimp. ed. Trillas. pp661.
- Coe, W. R. y L. D., Fox, 1944. Biology of the california sea mussel (*Mytilus californianus*). III Environmental conditions and rate of growth. *J. Exp. Zool.* 93(2): 59-61.

- Davis, H. C. y A. Calabrese, 1964. Combined effects of temperature and salinity on development of eggs and growth of larvae of *M. mercenaria* y *C. virginica*. Fish. Bull. 63(3):643-655.
- y R. R. Guillard, 1958. Relative value of ten genera of microorganisms of foods for oyster and clam larvae. U. S. Fish and Wildlife Service. Fish. Bull. 136:293-394.
- Day, R. y L. McEdward, 1984. Aspects of the physiology and ecology of pelagic larvae of marine benthic invertebrates. 93-120. Cap. 5. En: Marine plankton life cycle strategies. Karen A. Steidinger y Linda Walker [eds.] C. R. C. Press.
- Falmagne, C. M., 1984. The combined effect of temperature/salinity on survival and growth of *Mytilus californianus* larvae (a response surface analysis) M. S. Thesis. Univ. of Washington. 85 pp.
- Fox, L. D. y W. R. Coe, 1942. Biology of the California sea mussel (*Mytilus californianus*) influence of temperature, food supply, sex and age on the rate of growth. J. Exp. Zool. Vol 90(1):1-29.
- García-Pámanes, L y F. J. Monje, 1981. Experimentos de fijación de larvas en sustratos artificiales. En: IV informe de avance del proyecto bivalvos de Baja California; estudios

básicos de dos especies en vías de extinción *Tivela stultorum* (almeja pismo) y *Mytilus californianus* (mejillón)
Sección mejillón. UABC-IIO-SEP. tomo II.

_____. 1982. Experimentos de fijación de larvas en sustratos artificiales. En: V informe de avance de "estudios para el desarrollo del cultivo comercial de los mejillones *Mytilus californianus* y *M. edulis* en las costas de Baja California UABC-IIO-SEP. Tomo .

García, F., A. Salas y A. Oliva, 1982. Ecología de *Mytilus californianus*. En: IV informe de avance de "estudios para el desarrollo del cultivo comercial de los mejillones *Mytilus californianus* y *M. edulis* en las costas de Baja California. UABC-IIO-SEP. Tomo II.

Griffiths, J. S. y D. F. Alderdice, 1972. Effects of acclimatation and acute temperatura experience of swimming speed of juvenile coho salmon. J. Fish. Res. Bd. Canada 29:251-264.

Johnson, N. L. y F. C. Leone, 1977. Statistics and experimental desing in engineering and the physical sciences, Vol. II. pp593-1082. 2nd Ed. John Wiley y sons.

Kinne, O.,1970. (Ed.) Marine ecology Vol. I Environmental factors. Part I. pp681. New York: Wiley-Intercience.

Kirby-Smith, W. y R. T. Barber, 1974. Suspension-feeding aquaculture system: effects of phytoplankton concentration and temperature on growth of bay scallop. *Aquaculture*. 3:135-145.

Korringa, P., 1976. Farming marine organisms low in the food chain: A multidisciplinary approach to the edible seaweed, mussel and clam production developments in aquaculture and fisheries science. I. New York. Elsevier Scientific Pub. Co. pp264.

Lindsey, J. K.; D. F. Alderdice y L.V. Pienaar, 1970. Analysis of non linear models-The nonlinear response surface. *J. Fish. Res. Bd. Canada*. 27:765-791.

Lindsey, J. K. y A. M. Sandnes, 1972. Program for the analysis of non-linear response surface (Version III). *Fish. Res. Bd. Canada Technical Report* 311. pp145. *

Loosanof, V. L. y H. C. Davis, 1963. Rearing of bivalve molluscs. En: F.S. Russell, Ed., *Adv. Mar. Biol.* 1:1-136.

Losee, E., 1977. Influence of heredity on larval and spat growth in *Crassostrea virginica*. *Proc. World Mar. Soc.* pp101-107.

Lough, R. G. y J. J. Gonor, 1973a. A response surface approach to combined effects of temperature and salinity on the

larval development of *Adula californiensis* (Pelecypoda: Mytilidae). I. Survival and growth of three and fifteen-day old larvae. Marine Biology. 22:241-250.

? _____ 1973b. A response-surface approach to the combined effects of temperature and salinity on larval development of *Adula californiensis* (Pelecypoda Mytilidae). II Long-term larval survival and growth in relation to respiration. Marine Biology. 22:295-305.

Lough, R. G., 1974. A re-evaluation of the combined effects of temperature and salinity on survival and growth of *Mytilus edulis* larvae using response surface techniques. Proceedings of the National Shellfisheries Association. Vol 64:73-76.

✓----- 1975. A reevaluation of the combined effects of temperature and salinity on survival and growth of bivalve larvae using response surface techniques. Fish. Bull. 73(1):86-94.

Mason, J., 1972. The cultivation of the European mussel, *Mytilus edulis* Linnaeus. Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev. 10:437-460.

Mendenhall, W., 1968. Multiparameter hypothesis: analysis of variance. En: Introduction to linear models an the analysis of experiments. Wadsworth Pub. Co. [ed].174-220.

- Mendez, I., 1977. Metodología de superficies de respuesta Vol. 4 pp46.
- Moore, E. A. y F. Sander, 1984. The effect of temperature-salinity combinations on oxigen consumption of the tropical gastropod *Murex pomum* a response-surface approach. Comp. Biochem. Physiol. Vol.77A(4):679-683.
- Paulay, G., L. Boring and R. Stratmann, 1985. Food limited growth and development of larvae: Experiments with natural sea water. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. Vol 93:1-10.
- Peng, K. C., 1967. Response surface designs. Chap. 8:150-172. En: The design and analysis of scientific experiments. Addison-Wesley Co.
- Petersen, J. H., 1984. Larval settlement behavior in competing species: *Mytilus californianus* Conrad and *M. edulis* L. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. Vol 82:147-159.
- 4a Preston, N., 1985. The combined effects of temperature and salinity on hatching success and the survival, growth and development of the larval stages of *Metapenaeus bennettiae* (Racek y Dall). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 85:57-74.
- Reverberi, G., 1971. Mytilus (chap. 6). En: G. Reverberi Ed., Experimental embryology of marine and fresh-water invertebrates. American Elsevier Publ. Co. Inc.

Schnute, J. y S. McKinnell, 1984. A biologically meaningful approach to response surface analysis. Can Fish. Aquat. Sci. 41:936-953.

Seed, R. 1976. Ecology in marine mussels. Their ecology and physiology, U. E. Bayne, B. L. pp81-115. Univ. Press. Cambridge.

Siddall, S. E., 1978. Temporal changes in the salinity and temperature requirements of tropical mussel larvae. Prod. World. Maricul. Soc. 9:549-566.

✓ Stephen, D. y H. P. C. Shetty, 1978. Induction of spawning in four species of bivalves of the Indian coastal waters. Aquaculture 25:153-159.

✓ Stickney, A. P., 1964. Salinity, temperature and food requirements of soft-shell clam larvae in laboratory culture. Ecology. 45(2):283-291.

✓ Tettelbach, S. T. y E. W. Rhodes, 1981. Combined effects of temperature and salinity on embryos and larvae of the Northern Bay Scallop *Argopecten irradians irradians*. Marine Biology 63: 249-256.

✓ Trevelyan, G. A. y E. S. Chang, 1983. Experiments on larval rearing of the California mussel (*Mytilus californianus*). J. World Maricul. Soc. 14:137-148.

Waterstrat, J., K. Chew, K. Johnson y H. Beatie 1980. Mussel culture: a West coast perspective. En: Mussel culture and Harvest a North American perspective. Richard Lutz [ed]. pp141-165. Elsevier Scientific Publish Co.

✓ Widdows, J., 1976. Physiological adaptations of *Mytilus edulis* to cyclic temperatures. J. Comp. Physiol. 105:115-128.

Winter, J., 1970. Feeding and food utilization in *Artica islandica* L. and *Modiolus modiolus* at different food concentrations. En: Marine food chains. pp126-206. J. H. Steele Ed. Edimburgh: Oliver and Boyd. Univ. Calif. Press. Berkeley.

-----1978. Fundamental Knowledge of suspension-feeding in lamelibranchiate bivalves, with special reference to artificial aquaculture systems. Aquaculture. 13:1-33.

Young, 1941. The distribution of the mussel *Mytilus californianus* in relation to the salinity of its environment. Ecology. 22(4):379-386.