

CENTRO DE INVESTIGACION CIENTIFICA Y  
EDUCACION SUPERIOR DE ENSENADA

EFEECTO DE LA TEMPERATURA Y LA ALIMENTACION EN  
ALGUNOS PROCESOS FISIOLÓGICOS DE *Atrina tuberculosa*  
Sowerby, 1835 (Mollusca, Bivalvia) BAJO CONDICIONES  
DE LABORATORIO.

T E S I S  
MAESTRIA EN CIENCIAS

Mario Nieves Soto

Resumen de la tesis de MARIO NIEVES SOTO presentada como requisito parcial para la obtención del grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN OCEANOLOGIA con opción en ECOLOGIA MARINA.

Ensenada, Baja California, México, Junio de 1988.

EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y LA ALIMENTACION EN ALGUNOS PROCESOS FISIOLÓGICOS DE Atrina tuberculosa Sowerby, 1835 (Mollusca, Bivalvia) BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO.

Resumen aprobado por



Dr. Luis Fernando Bückle Ramirez

Se estimaron los efectos combinados de la temperatura y de la concentración del alimento en las tasas de filtración, clarificación y energía potencial de crecimiento, así como en la variable fisiológica eficiencia de asimilación de Atrina tuberculosa. En cada nivel de temperatura se determinaron además las tasas de consumo de oxígeno, excreción amoniacal y la razón O:N. Los niveles de temperatura (17.0, 22.5 y 28.0 °C)

fueron elegidos en base a las variaciones observadas en la Bahía de Los Angeles, Baja California, México. Los organismos fueron alimentados con la microalga Isochrysis galbana en las concentraciones de 0.579, 1.195 y 1.741 mg P.S.A./l. Con la técnica de superficie de respuesta se determinó que los factores de temperatura y de concentración del alimento influyeron sinérgicamente en las respuestas de A. tuberculosa a las tasas de filtración, clarificación y energía potencial de crecimiento. Con esta técnica se infiere que es necesario redimensionar los factores de temperatura y de concentración del alimento, para encontrar los valores óptimos correspondientes a estas respuestas fisiológicas de A. tuberculosa. Sin embargo la temperatura y la concentración del alimento influenciaron la eficiencia de asimilación la cual disminuyó en general con el aumento de la concentración del alimento. Las tasas de consumo de oxígeno y la excreción amoniacal aumentaron con el ascenso de la temperatura y los incrementos fueron significativos únicamente entre 17.0 y 22.5 °C. La razón O:N disminuyó significativamente en la medida que la temperatura del medio aumentó. Los valores de la energía potencial de crecimiento de A. tuberculosa, fueron más altos en la temperatura de 28.0 °C comparativamente a los estimados en la temperatura de 17.0 °C. La excreción amoniacal del comensal Pontonia pinnae se considera importante en relación a la de A. tuberculosa y debe ser tomado en cuenta.

CENTRO DE INVESTIGACION CIENTIFICA Y DE EDUCACION SUPERIOR  
DE ENSENADA, B. C.

DIVISION DE OCEANOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA MARINA

EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y LA ALIMENTACION EN ALGUNOS  
PROCESOS FISIOLOGICOS DE Atrina tuberculosa Sowerby, 1835  
(Mollusca, Bivalvia) BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO.

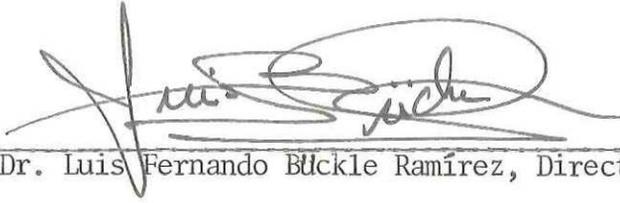
T E S I S

que como requisito parcial para obtener  
el grado de MAESTRO EN CIENCIAS  
presenta

MARIO NIEVES SOTO

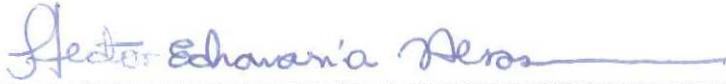
Ensenada, B.C., Junio de 1988.

TESIS APROBADA PARA SU DEFENSA POR:



---

Dr. Luis Fernando Bückle Ramírez, Director del Comité



---

Dr. Héctor Echavarría Heras, Miembro del Comité



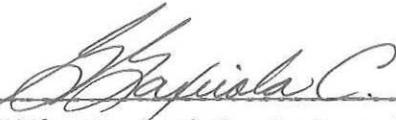
---

M.C. Gregory Hammann, Miembro del Comité



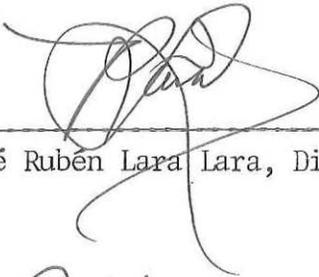
---

M.C. Arturo Velázquez Ventura, Miembro del Comité



---

M.C. Gilberto Gaxiola Castro, Jefe del Departamento de Ecología Marina



---

Dr. José Rubén Lara Lara, Director de la División de Oceanología



---

M.C. Cuauhtémoc Nava Button, Director Académico

Tesis presentada en Junio 02, 1988

## AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer a mi director de tesis Dr. Luis Fernando Buckle Ramirez, por haberme brindado su constante apoyo durante la realización de este estudio, así como su dedicación y esfuerzo para la terminación de este trabajo. Para él mi más sincero reconocimiento.

A los sinodales Dr. Hector Echaverría Heras, M.C. Gregory Hammann Kupperstein y M.C. Arturo Velázquez Ventura, por sus correcciones y sugerencias durante el desarrollo de este trabajo.

Al M.C. Gregory Hammann Kupperstein y al M.C. Jorge Adrián Rosales Casión por haberme facilitado las instalaciones del laboratorio de Ecología Pesquera.

Al jefe de la Sección de Paleoceanografía Ph. D. Timothy Baumgartner por las facilidades brindadas en el uso del contador de partículas, y especialmente al Oc. Vicente Ferreira Bartrina por su invaluable ayuda técnica en el uso de este instrumento.

A los técnicos del laboratorio de la Sección de Acuicultura Francisco Valenzuela y Norberto Flores por su colaboración en la producción de microalgas durante el desarrollo de este estudio.

Al c.M.C. Arturo Siqueiros Valencia por su valiosa y constante ayuda tanto en el campo como en el laboratorio durante la realización de este trabajo.

Al M.C. Eduardo Aguirre Hinojosa por su valiosa colaboración en el trabajo de campo.

Al pescador Eliborio Valenzuela por su participación desinteresada y por su disponibilidad en las colectas de los organismos.

A los Oceanólogos Enrique Valenzuela, Luis McNally y Enrique Baltazar por su valiosa ayuda y orientación en las técnicas de cultivo de las microalgas.

A la M.C. Beatriz Cordero Esquivel, c.M.C. Francisco Correa Sandoval, M.C. Roxana Rico Mora y Oc. Julio A. Villaescusa Celaya, por su ayuda y sugerencias aportadas para el mejoramiento de este trabajo.

A los dibujantes Fabián Cabrera y Sergio Ramos por su trabajo esmerado en la elaboración de las figuras.

Al CONACYT y al CICESE por haberme apoyado con becas para mis estudios de postgrado.

## CONTENIDO

	Página
I. INTRODUCCION	1
I.1. Objetivos.	5
II. ANTECEDENTES	7
III. MATERIALES Y METODOS.	10
III.1. Epocas, método de colecta y transporte de los organismos al laboratorio.	10
III.2. Mantenimiento y aclimatación de los organismos.	11
III.3. Producción de alimento.	13
III.4. Diseño y programación de los experimentos.	17
III.5. Diseño del sistema experimental.	18
III.6. Estimación de las tasas fisiológicas.	20
III.6.1. Tasa de filtración.	20
III.6.2. Tasa de clarificación.	24
III.6.3. Eficiencia de asimilación.	24
III.6.4. Tasas de consumo de oxígeno y excreción amoniacal.	26
III.6.5. Razón oxígeno-nitrógeno.	28
III.6.6. Energía potencial de crecimiento.	28
III.6.7. Tasas de consumo de oxígeno y excreción amoniacal de <u>Pontonia pinnae</u> .	29
III.6.8. Procesamiento de datos	30
IV. RESULTADOS.	32
IV.1. Tasa de filtración.	33
IV.2. Tasa de clarificación.	38
IV.3. Eficiencia de asimilación.	42
IV.4. Tasa de consumo de oxígeno y excreción amoniacal.	45
IV.5. Razón oxígeno-nitrógeno.	47
IV.6. Energía potencial de crecimiento.	51
IV.7. Tasas de consumo de oxígeno y excreción amoniacal del comensal <u>Pontonia pinnae</u> .	55
V. DISCUSION.	59
VI. CONCLUSIONES.	82
LITERATURA CITADA.	84

LISTA DE FIGURAS.

Figura

Página

- 1 Mapa del lugar donde se localiza Bahía de Los Angeles. A. Zona de donde se extrajeron los organismos de Atrina tuberculosa para experimentación. 4
- 2 Estanque usado para transportar a Atrina tuberculosa. B = bomba que recircula y oxigena el agua de mar. C = cincho para sujetar externamente las bolsas que contienen los organismos. E = cable que se conecta directamente al acumulador del medio de transporte. T = tubo de PVC de 3/4 de pulgada para sujetar la bomba. RA = bolsa de red anchovetera con dos ejemplares. Las flechas indican la dirección del flujo. 12
- 3 Se ilustra uno de los acuarios de aclimatación. A = alimento. AI = Aire. ARo = Agua de mar a la temperatura experimental deseada. At = ejemplar de Atrina tuberculosa. G = cuadrícula para sostener verticalmente a los organismos. O = opresor para regular velocidad del alimento. PD = piedra difusora. S = salida del agua de mar al filtro biológico. So = sujetadores de la cuadrícula. 14
- 4 Diagrama del Sistema para experimentar diferentes temperaturas y concentraciones de alimento en Atrina tuberculosa. A1...A10 = acuarios experimentales. AI = aire. AL = recipiente con alimento para los organismos en proceso de aclimatación. AS = agua del filtro biológico. BP = bomba peristáltica. BP1 = bomba peristáltica que distribuye el alimento a los acuarios experimentales. C = calentador de Inmersión. CH = estanque colector. CH1 = estanque que contiene los acuarios experimentales en baño María. E = enfriador. F = filtros cunco de 10, 5 y 1 micras. I = Intercambiadores de calor. L = llave de paso de 1/2" L1 = llave de paso de 3/8" para regular la velocidad del agua de mar. L2 = llave de paso de 3/8". L3 = llave de paso de 3/4". O = opresor. P = llave para purgar a BP1. Ro = tanque de 200 litros. R1 = reservorio con agua de mar filtrada a una micra. R2 = reservorio

- con cultivo de microalgas de alta concentración. R3 = reservorio con alimento diluido. R4 = recipiente de un litro de capacidad con alimento de alta densidad. S = agua de mar que retorna al filtro biológico. UV = aparato de rayos ultravioleta. 15
- 5 Proyección vertical del recipiente usado para el baño María, las flechas indican la dirección del flujo de agua. B = bomba para mantener en recirculación el agua del baño María. C = calentador de inmersión. CH = estanque de fibra de vidrio (238.5X74.4X15.0 cm). CT = aparato termoregulador. TC = termómetro de contacto. 21
- 6 Ilustración de uno de los acuarios experimentales. A = alimento. Al = aire. At = ejemplar de Atrina tuberculosa. PD = piedra difusora. S = alambre marino doble # 14, para sostener verticalmente el organismo. TN = tubo para fijar el nivel del agua de mar. 23
- 7 Gráfica de la tasa de filtración normalizada promedio (T.F.N.) de Atrina tuberculosa, y de los intervalos del 95% de confianza para la media ( $\bar{X} \pm t_{\alpha/2} S$ ). 35
- 8 Superficie de respuesta de la tasa de filtración de Atrina tuberculosa alimentada con Isochrysis galbana. 36
- 9 Gráfica de las mediciones de excreción amoniacal promedio de Atrina tuberculosa durante los experimentos donde se determinaron las tasas de filtración. 37
- 10 Gráfica de la tasa de clarificación promedio (T.C.) de Atrina tuberculosa, y de los intervalos del 95% de confianza para la media ( $\bar{X} \pm t_{\alpha/2} S$ ). 40
- 11 Superficie de respuesta de la tasa de clarificación de Atrina tuberculosa, alimentada con Isochrysis galbana. 41
- 12 Gráfica de la eficiencia de asimilación porcentual promedio (E.A.(%)) de Atrina tuberculosa, y de los intervalos del 95% de confianza para la media ( $\bar{X} \pm t_{\alpha/2} S$ ). 43

cont. LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
13	Superficie de respuesta de la eficiencia de asimilación de <u>Atrina tuberculosa</u> , alimentada con <u>Isochrysis galbana</u> .	44
14	Gráfica de la razón Oxígeno-Nitrógeno promedio (O:N) de <u>Atrina tuberculosa</u> en función de la temperatura. Se muestran los intervalos del 95% de confianza para la media ( $\bar{X} \pm t_{\alpha/2} S\bar{X}$ ).	49
15	Gráfica de la energía potencial de crecimiento promedio (E.P.C.) de <u>Atrina tuberculosa</u> , y de los intervalos del 95% de confianza para la media ( $\bar{X} \pm t_{\alpha/2} S$ ).	53
16	Superficie de respuesta de la energía potencial de crecimiento de <u>Atrina tuberculosa</u> , alimentada con <u>Isochrysis galbana</u> .	54
17	Gráfica de las relaciones alométricas de <u>Pontonia pilinae</u> : (a) Tasa del consumo de Oxígeno ( $\dot{V}O_2$ ) en función del peso húmedo (P.H.); (b) Tasa de la excreción amoniacal ( $\dot{V}NH_3$ ) en función del peso húmedo (P.H.).	58

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
I Tasa de filtración normalizada (l/h/g P.S.) de <u>Atrina tuberculosa</u> , alimentada con <u>Isochrysis galbana</u> en nueve combinaciones diferentes de temperatura (T) y concentración de alimento (A). Se muestran los valores promedios ( $\bar{X}$ ), el error estándar de la media ( $S\bar{X}$ ), y los valores máximo (MAX.) y mínimo (MIN.) de cada combinación. Cada estimación proviene de seis observaciones.	35
II Regresión múltiple por pasos correspondiente a la tasa de filtración de <u>Atrina tuberculosa</u> , alimentada con <u>Isochrysis galbana</u> en nueve combinaciones diferentes de temperatura (T) y concentración de alimento (A). T.F.N. = Tasa de Filtración Normalizada; T, T <sup>2</sup> = efecto lineal y cuadrático de la temperatura; A, A <sup>2</sup> = efecto lineal y cuadrático de la concentración de alimento; T*A = efecto interactivo de la temperatura y la concentración de alimento; R <sup>2</sup> (%) = coeficiente de determinación múltiple; EE = error estándar; gl = grados de libertad; P = nivel de significancia.	36
III Mediciones de la excreción amoniacal (mg/l) de <u>Atrina tuberculosa</u> al final de cada experimento de filtración, alimentada con <u>Isochrysis galbana</u> en nueve combinaciones diferentes de temperatura (T) y concentración de alimento (A). Se muestran los valores promedios ( $\bar{X}$ ), el error estándar de la media ( $S\bar{X}$ ), y los valores máximo (MAX.) y mínimo (MIN.) de cada combinación. Cada estimación proviene de un total de nueve observaciones.	37
IV Tasa de clarificación (mg P.S.A./h/g P.S.) de <u>Atrina tuberculosa</u> , alimentada con <u>Isochrysis galbana</u> en nueve combinaciones diferentes de temperatura y concentración de alimento (A). Se muestran los valores promedios ( $\bar{X}$ ), el error estándar de la media ( $S\bar{X}$ ), y los valores máximo (MAX.) y mínimo (MIN.) de cada combinación. Cada estimación proviene de seis observaciones.	40
V Regresión múltiple por pasos correspondiente a la tasa de clarificación de <u>Atrina tuberculosa</u> ,	

- alimentada con Isochrysis galbana en nueve combinaciones diferentes de temperatura (T) y concentración de alimento (A). T.C. = Tasa de Clarificación; T, T<sup>2</sup> = efecto lineal y cuadrático de la temperatura; A, A<sup>2</sup> = efecto lineal y cuadrático de la concentración de alimento; T\*A = efecto interactivo de la temperatura y la concentración de alimento; R<sup>2</sup>(%) = coeficiente de determinación múltiple; EE = error estándar; gl = grados de libertad; P = nivel de significancia. 41
- VI Eficiencia de asimilación porcentual de Atrina tuberculosa, alimentada con Isochrysis galbana en nueve combinaciones diferentes de temperatura (T) y concentración de alimento (A). Se muestran los valores promedios ( $\bar{X}$ ), el error estándar (S $\bar{X}$ ), y los valores máximo (MAX.) y mínimo (MIN.) de cada combinación. Cada estimación proviene de un total de nueve observaciones. 43
- VII Regresión múltiple por pasos correspondiente a la eficiencia de asimilación de Atrina tuberculosa, alimentada con Isochrysis galbana en nueve combinaciones diferentes de temperatura (T) y concentración de alimento (A). E.A.(%) = Eficiencia de asimilación; T, T<sup>2</sup> = efecto lineal y cuadrático de la temperatura; A, A<sup>2</sup> = efecto lineal y cuadrático de la concentración de alimento; T\*A = efecto interactivo de la temperatura y la concentración de alimento; R<sup>2</sup>(%) = coeficiente de determinación múltiple; EE = error estándar; gl = grados de libertad; P = nivel de significancia. 44
- VIII Tasas promedios del consumo de Oxígeno y excreción amoniacal normalizados a un gramo de peso seco del tejido blando de Atrina tuberculosa, sometida a tres temperaturas diferentes, sin alimento y con 24 horas de inanición.  $\bar{X}$  = valor promedio, S = desviación estándar, MAX. = valor máximo observado, MIN. = valor mínimo observado, n = número de organismos. 46
- IX Prueba no paramétrica de comparaciones múltiples aplicada a datos de consumo de consumo de Oxígeno (mg O<sub>2</sub>/h/g P.S.) de Atrina tuberculosa, en los tres niveles de temperatura. Entre paréntesis se encuentran los niveles de temperatura en °C, formando parejas que indican la comparación entre

cont. LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
	las distribuciones de las mediciones de los diferentes niveles de temperatura.	48
X	Prueba no paramétrica de comparaciones múltiples aplicada a datos de excreción amoniacal ( $\text{mg NH}_3/\text{h/g P.S.}$ ) de <u>Atrina tuberculosa</u> , en los tres niveles de temperatura. Entre paréntesis se encuentran los niveles de temperatura en °C, formando parejas que indican la comparación entre las distribuciones de las mediciones de los diferentes niveles de temperatura.	48
XI	Estimaciones descriptivas de la razón Oxígeno-Nitrógeno (O:N) en tres niveles de temperatura. $\bar{X}(\text{O:N})$ = valor promedio de la razón Oxígeno-Nitrógeno; S = desviación estándar; $S\bar{X}$ = error estándar; n = número de observaciones por nivel de tratamiento; valores máximo (MAX.) y mínimo (MIN.).	49
XII	Análisis de varianza paramétrico de una vía aplicado a los datos de la razón Oxígeno-Nitrógeno (O:N), obtenidos con individuos de <u>Atrina tuberculosa</u> en tres niveles de temperatura (17.0, 22.5 y 28.0 °C).	50
XIII	Matriz que muestra los resultados de la prueba paramétrica de comparaciones múltiples de Newman-Keuls (SNK) modificada para muestras desiguales (Kramer, 1956; Steel y Torrie, 1960), aplicada a las diferencias de los promedios de la razón Oxígeno-Nitrógeno $\bar{X}(\text{O:N})$ de <u>Atrina tuberculosa</u> . La prueba se realizó con un nivel de significancia del 5%.	50
XIV	Energía potencial de crecimiento (Joules/h/g P.S.) de <u>Atrina tuberculosa</u> , alimentada con <u>Ischrysis galbana</u> en nueve combinaciones diferentes de temperatura (T) y concentración de alimento (A). Se muestran los valores promedios ( $\bar{X}$ ), el error estándar de la media ( $S\bar{X}$ ), y los valores máximo (MAX.) y mínimo (MIN.) de cada combinación. Cada estimación proviene de un total de seis observaciones.	53
XV	Regresión múltiple por pasos correspondiente a la energía potencial de crecimiento de <u>Atrina tuberculosa</u> , alimentada con <u>Ischrysis galbana</u> en	

- nueve combinaciones diferentes de temperatura (T) y concentración de alimento (A). E.P.C. = Energía Potencial de Crecimiento; T, T<sup>2</sup> = efecto lineal y cuadrático de la temperatura; A, A<sup>2</sup> = efecto lineal y cuadrático de la concentración de alimento; T\*A = efecto interactivo de la temperatura y la concentración de alimento; R<sup>2</sup>(%) = coeficiente de determinación múltiple; EE = error estándar; gl = grados de libertad; P = nivel de significancia.
- 54
- XVI Relación de las tasas de consumo de Oxígeno y excreción amoniacal de Pontonia pinnae a 17.0 °C y un volumen de agua de mar de 2.5 litros y 34 ‰ de salinidad durante seis horas de experimentación. P.H. = peso húmedo de un individuo de P. pinnae en gramos (g),  $\bar{X}$  = valor promedio, S = desviación estándar, S $\bar{X}$  = error estándar, Lt = longitud total.
- 57
- XVII Registros de la presencia de Pontonia pinnae en el interior de Atrina tuberculosa durante los experimentos en el laboratorio. H = hembra, M = macho, el asterisco significa presencia.
- 57

EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y LA ALIMENTACION EN ALGUNOS PROCESOS FISIOLOGICOS DE Atrina tuberculosa Sowerby, 1835 (Mollusca, Bivalvia) BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO.

I. INTRODUCCION.

La actividad de la pesca en diversos paises avanzados del orbe es uno de los aspectos que demanda la constante atención gubernamental que se preocupa de regular y vigilar la explotación de los recursos acuáticos en general. Para estos objetivos se llevan a cabo programas de Investigaciones e Innovaciones tecnológicas que confluyen en un mejor manejo y explotación de la riqueza marina y dulceacuícula. Comparativamente en las naciones en vías de desarrollo esta visión gubernamental no es tan eficiente debido a la aplicación de políticas sin acierto o sencillamente por la ausencia de ellas. Esto, ha creado una ventaja difícil de alcanzar si no se reacciona eficientemente creando programas estratégicos de desarrollo científico y tecnológico, que resguarden el patrimonio acuático de la Nación y a la vez beneficie a sus habitantes, con una política racional de explotación pesquera.

La longitud del litoral Mexicano asciende a 10 760 Km, de los cuales corresponden al Oceano Pacífico y sus Islas 7 939 y los 2 821 Km restantes pertenecen al Golfo de México, al Mar Caribe y sus Islas. El territorio nacional tiene 500 000 Ha de

aguas Interiores (Cruz y Rueda, 1981).

La línea de costa del Pacífico Mexicano contiene 932 365 Ha de lagunas costeras y estuarios, que soportan muchas poblaciones de moluscos comercialmente importantes, de los cuales únicamente 29 de las 60 especies identificadas son intensamente explotadas a lo largo de todo el rango de su distribución. Esta explotación irracional es el resultado de un inadecuado conocimiento de la biología de los moluscos, que desemboca en una regulación pesquera inapropiada que no permite aconsejar al pescador acerca del manejo de las poblaciones naturales; es por esto que los pescadores y los investigadores deben ser educados acerca de los beneficios de la acuicultura (Baquero, 1984).

En años recientes, México ha puesto mucho interés en la Acuicultura y particularmente en la investigación de organismos de importancia comercial, esto desde luego incluye varias especies de bivalvos donde se ha desarrollado una biotecnia para producir juveniles, lo que requiere entre otras cosas del conocimiento biológico de la especie y en particular de su ecofisiología. Los estudios biológicos básicos sobre moluscos en el país son escasos, con excepción de Crassostrea gigas, que se investiga más ampliamente que cualquier otro bivalvo.

En las bahías y estuarios del Golfo de California, se

localizan varias especies de bivalvos formando bancos naturales. Entre las organismos de mayor importancia comercial se encuentran: Argopecten circularis ("almeja catarina"), Argopecten vogdesi ("almeja voladora"), Spondylus calclifer ("escalopa de roca"), Liropecten subnodosus ("mano de león"), Pinna rugosa ("callo de hacha larga"), Atrina maura ("callo de hacha china") y Atrina tuberculosa ("callo de hacha botijona"). Estos organismos son colectados por pescadores libres o Sociedades Cooperativas, a tal grado que los bancos naturales han disminuido drásticamente por el efecto de una explotación Intensa. Estos productos desde el punto de vista económico son altamente redituables. En 1970 se capturaron en Baja California Sur, 13 Toneladas de P. rugosa y en 1974 descendieron a tres Toneladas (Holguín, 1975b).

Según la lista anterior, las especies más Intensamente explotadas, son las que se ubican en los géneros Pinna y Atrina (Baquero, 1984). Por esta razón se decidió seleccionar a la especie Atrina tuberculosa localizada en la zona Intermareal de Bahía de los Angeles, Baja California (Fig. 1). Con este trabajo se espera contribuir al conocimiento del comportamiento de esta especie en el laboratorio, lo que puede permitir en un futuro próximo, Incidir sobre la recuperación de los bancos naturales, mediante la producción de larvas y semillas en condiciones de laboratorio.

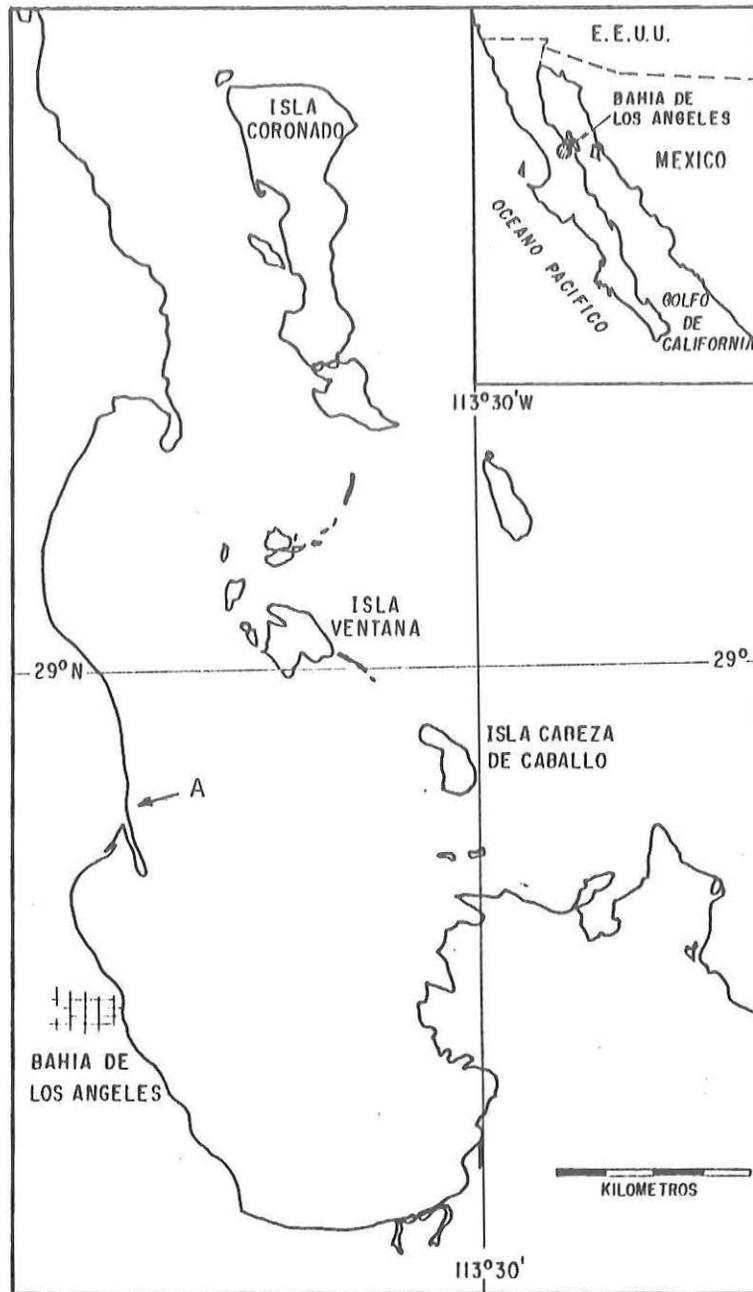


Figura 1. Mapa del lugar donde se localiza Bahía de Los Angeles. A. Zona de donde se extrajeron los organismos de *Atrina tuberculosa* para experimentación.

Los estudios básicos referentes a fisiología de vertebrados que describen las relaciones entre la ración alimenticia y el metabolismo o tasa de crecimiento fueron realizados con peces por Ivlev (1939). Posteriormente estos estudios se extendieron a los invertebrados bivalvos Lamelibranchios aplicándose el concepto de "campo de crecimiento" formulado por Warren y Davis (1967), que fue adoptado posteriormente por Widdows y Bayne (1971), Bayne (1975) y Widdows (1978b) entre otros, para estimar la condición fisiológica de los mejillones con estrés generado por su permanencia en un laboratorio.

Widdows (1985a), considera que las respuestas fisiológicas de más relevancia son cuatro y cuyos conceptos fundamentales son aplicables a diferentes especies y ellas son: el campo de crecimiento, la eficiencia de crecimiento, la razón oxígeno-nitrógeno, y el índice de condición. Todos estos índices que reflejan estrés con excepción del índice de condición, son el producto de la integración de los procesos biológicos básicos, los cuales para su análisis deben ser planteados en un nivel de experimentación factorial (Alderdice, 1972), donde las respuestas se puedan analizar en función de los factores intrínsecos y extrínsecos.

### 1.1. Objetivos.

Esta investigación tuvo como objetivos, estudiar los siguientes aspectos de la especie Atrina tuberculosa: Estimar las tasas de filtración y clarificación, la eficiencia de asimilación, en tres niveles de temperatura y concentración de alimento con organismos de aproximadamente la misma talla. También se investigó la razón oxígeno-nitrógeno y el campo de crecimiento en tres niveles de temperatura diferentes. Todo este estudio se hizo en el laboratorio.

## II. ANTECEDENTES.

La literatura referente a la familia Pinnidae es escasa (Butler y Brewster, 1979), a pesar de que es de considerable importancia económica por la gran demanda del músculo aductor o "callo", y por producir perlas de valor moderado. Esta familia de moluscos, se consume en el Japón, en la Polinesia y en varios países más de las Islas del Indo Pacífico así como en la costa Oeste de México (Rosewater, 1961).

En el Golfo de California se encuentran las especies Atrina maura, Atrina tuberculosa y Pinna rugosa, de las cuales la última es la más común (Brusca, 1980). Su distribución biogeográfica se extiende desde la región Sur de Baja California hasta el Sur de Panamá e Isla de Clipperton en el Pacífico tropical (Keen, 1971).

El hábitat de la familia Pinnidae es el de asentarse en sustratos suaves, de tipo arenoso fangoso, donde la temperatura del agua de mar se enmarca como tropical o caliente (Rosewater, 1961).

La primera información biológica del género Atrina en las aguas Mexicanas fue publicada por Aguilar (1964), quien realizó un estudio histológico de las gónadas de Atrina maura con ejemplares colectados frente a la Base Naval de Icacos

Acapulco, Guerrero; sus resultados indicaron que los desoves masivos sucedieron entre abril y junio, pero también se detectó una segunda época de menor intensidad entre noviembre y enero. Con colectas procedentes de la Bahía de la Paz, Baja California Sur, Noguera y Gómez (1972) estudiaron el ciclo sexual de Pinna rugosa, con el cual determinaron que la maduración y la expulsión de los productos sexuales, suceden desde mediados de primavera hasta finalizar el verano.

El uso de colectores para la obtención de semillas a partir de las poblaciones adultas de mejillones del medio natural, es una práctica usual en la mayoría de los países donde se distribuye el género (Figueras, 1976). Por ejemplo, Hoiguín (1975a) transplató P. rugosa para repoblar la zona de Bahía Falsa, dentro de Bahía de la Paz en Baja California Sur. Como resultado de este experimento encontró pequeños individuos "supuestamente procedentes de los individuos de P. rugosa sembrados". El Japón ha mejorado las técnicas de cultivo, diseñando colectores para captar semillas de escalopas (Taguchi, 1976). Siguiendo esta técnica Cendejas et al. (1985) llevó a cabo un estudio sobre colecta y crecimiento de semillas de P. rugosa, especie localizada en Bahía Bacoichibampo lugar cercano a la ciudad de Guaymas Sonora. Durante seis meses de experimentación colectó 1031 semillas de las cuales el 84% se fijó entre los tres y los 11 metros de profundidad.

De acuerdo con los antecedentes descritos, es visible que la literatura en relación a la familia Pinnidae es escasa, y particularmente las investigaciones de laboratorio que estudien la fisiología del género Atrina.

### III. MATERIALES Y METODOS.

Para el desarrollo de este estudio se utilizó la Infraestructura del laboratorio de la Sección de Acuicultura del CICESE.

III.1. Epocas, método de colecta y transporte de los organismos al laboratorio.

Las épocas de colecta fueron tres y correspondieron a las siguientes fechas: 6 de abril, 15 de julio y 25 de septiembre de 1987, donde la temperatura superficial del océano fue de 17.0, 22.5 y 28.0 °C respectivamente, y la salinidad fluctuó entre 35 y 36 ‰. Los muestreos fueron determinados en base a la variación mensual de la temperatura en el área de estudio medida por Aguirre (1987). Cuando el lugar de colecta había alcanzado la temperatura del mar deseada, se realizaba la colecta de los organismos con una panga, un motor fuera de borda Mercury de 50 HP y tres personas a bordo, dos de las cuales buceaban para extraerlos. Durante esta operación se procuraba desprender cuidadosamente a los animales los cuales se encontraban fuertemente fijados por el bisco.

Una vez que se habían colectado de 30 a 35 organismos, estos fueron colocados de a dos y cuatro individuos en bolsas (hechas previamente con red anchovetera), en posición semejante

a la que tenían en el medio ambiente. Posteriormente fueron suspendidos en un estanque con 150 litros de agua de mar, en cuyo fondo se instaló una bomba sumergible RULE 3500 de 12 Voltios de corriente directa (Fig. 2) para mantener el agua recirculando y oxigenándose durante el traslado de los organismos al laboratorio. La duración del traslado siempre fue entre ocho y diez horas, durante los cuales la bomba era activada cinco minutos cada media hora.

Este método de transporte se consideró ser el más apropiado debido a que las valvas de estos organismos no se cierran tan bien como los de otros bivalvos, como por ejemplo Modiolus capax, que pueden ser transportados sin agua. Si en A. tuberculosa no se evita la deshidratación de las branquias y del manto, genera como consecuencia un estrés agudo, del cual el organismo ya no se recupera.

### III.2. Mantenimiento y aclimatación de los organismos.

En el laboratorio, a todos los organismos se les eliminó cuidadosamente la epibiosis y enseguida fueron medidos con un ictiómetro para seleccionar aquellos cuya talla estuviera entre 17.5 y 20.5 cm, después se colocaron cinco individuos por acuario con un volumen funcional de 40 litros de agua con una salinidad de  $34 \pm 1$  ‰. Distribuidos de esta manera, fueron posicionados de manera semejante a la del medio, mediante la

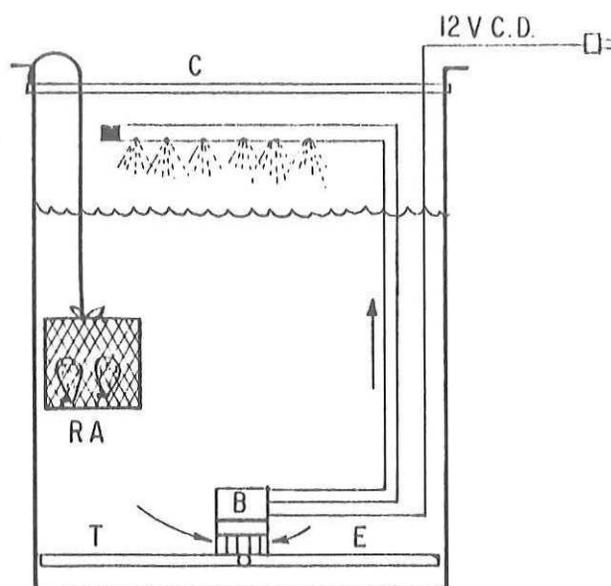


Figura 2. Estanque usado para transportar a *Atrina tuberculosa*. B = bomba que recircula y oxigena el agua de mar. C = cincho para sujetar externamente las bolsas que contienen los organismos. E = cable que se conecta directamente al acumulador del medio de transporte. T = tubo de PVC de 3/4 de pulgada para sujetar la bomba. RA = bolsa de red anchovetera con dos ejemplares. Las flechas indican la dirección del flujo.

Inmersión de una cuadrícula sólida en el interior de cada acuario, construida con tubería de PVC de 1/2 pulgada y alambre eléctrico #12 protegido con plástico (Fig.3-G). La temperatura fue regulada con un enfriador/calentador BLUE M modelo PCC-24A-3, auxiliado por calentadores de inmersión EBO-Jager Typ. TH 200 (Fig.4-C).

Durante el período de aclimatación que fue de un mes el flujo de agua de mar oxigenada se fijó en aproximadamente 500 ml/min, y a cada acuario se le adicionaron 15 litros de cultivo de microalgas compuestos por 13 litros provenientes de un estanque de 600 litros y dos litros de un Carboy, ambos con siete días de edad. La velocidad promedio del suministro del alimento fue de aproximadamente 60 ml/min/acuario (Fig.3-A y Fig. 4).

### III.3. Producción de alimento.

Para criar reproductores o cultivar larvas exitosamente bajo condiciones de laboratorio, se requiere de una producción constante de alimento en cantidad y calidad suficientes. La microalga utilizada como alimento fue Isochrysis galbana, cultivada con los medios f y f/2 de Guillard y Ryther (1962). El medio f se utilizó a nivel de Carboy (15 litros) y el medio f/2 a nivel de estanque (600 litros). Cuando los cultivos de microalgas estaban en la fase exponencial de crecimiento se

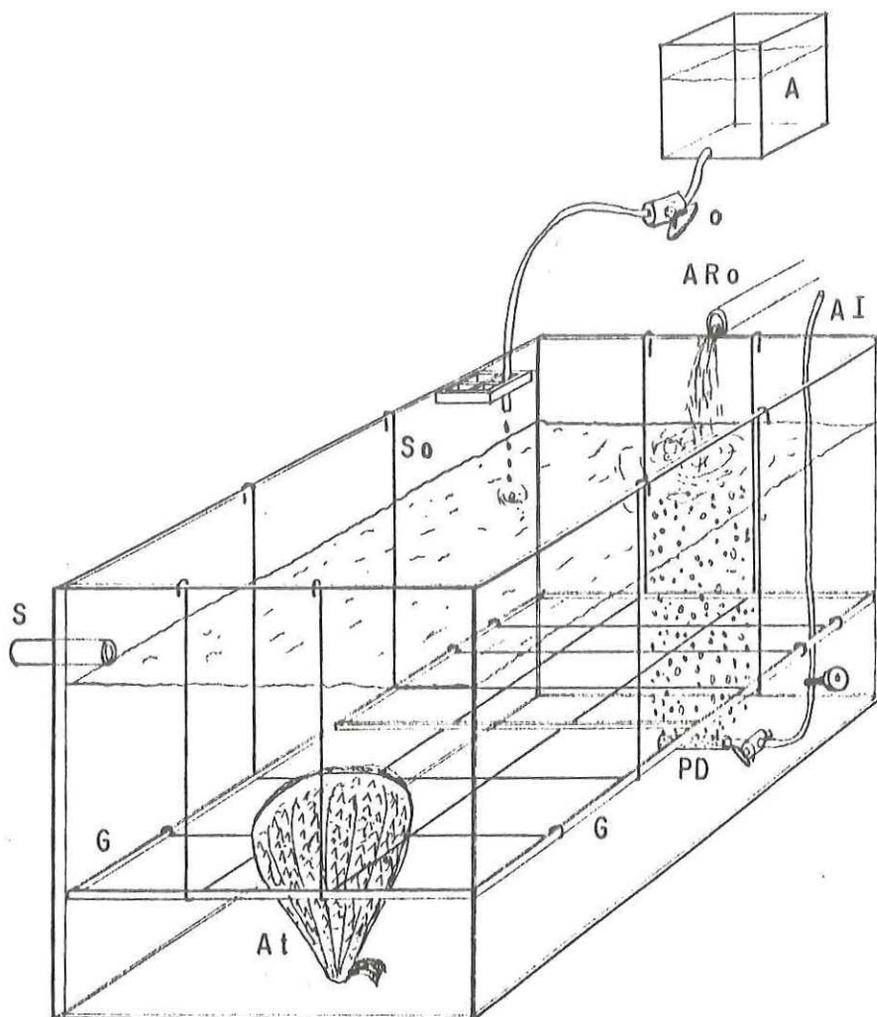


Figura 3. Se ilustra uno de los acuarios de aclimatación. A = alimento. AI = Aire. ARo = Agua de mar a la temperatura experimental deseada. At = ejemplar de Atrina tuberculosa. G = cuadrícula para sostener verticalmente a los organismos. O = opresor para regular velocidad del alimento. PD = piedra difusora. S = salida del agua de mar al filtro biológico. So = sujetadores de la cuadrícula.

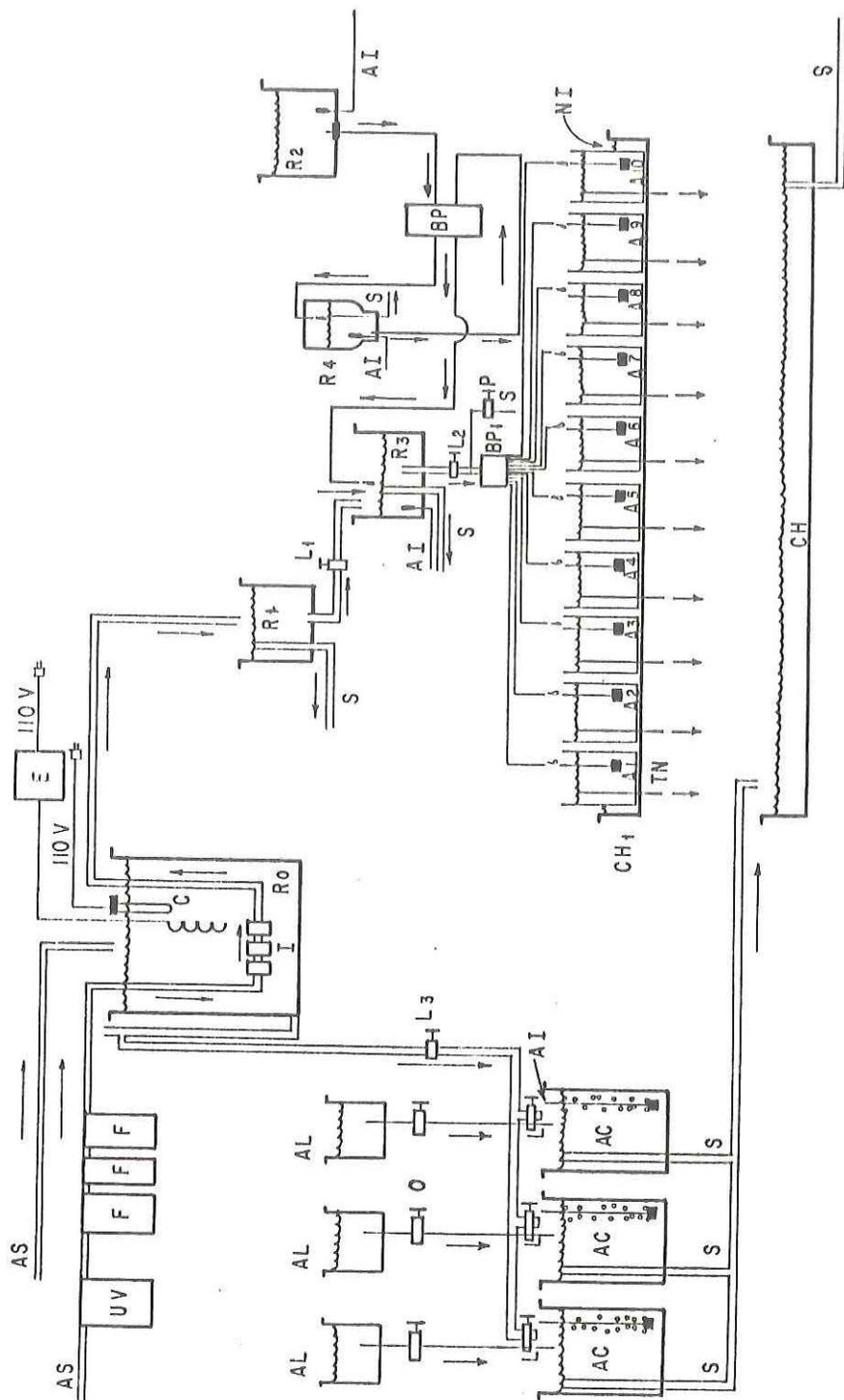


Figura 4. Diagrama del sistema para experimento. difusores resistentes y concentraciones de almidón en abasco tabercolosa. AI = aire, AL = aeration, AS = agua de abasco, BP = bomba peristáltica, CH = cámara de clarificación, C = cámara de clarificación, E = energía eléctrica, F = filtro, I = interruptor, L1 = línea de agua de abasco, L2 = línea de agua de abasco, L3 = línea de agua de abasco, NI = línea de agua de abasco, P = bomba peristáltica, R1, R2, R3, R4 = reactores con agua de abasco, S = agua de abasco, UV = ultravioleta.

suministraron a los organismos ubicados en los acuarios de aclimatación (Fig. 3).

Antes de usar el agua de mar para la producción del alimento proporcionado a los experimentos donde se determinaron las tasas de filtración, clarificación y eficiencia de asimilación, se filtró a 0.2 micras, para posteriormente dar marcha a los cultivos a nivel Carboy utilizando el medio f; estos cultivos se cosecharon en la fase exponencial de crecimiento.

La estimación del peso de una microalga de Isochrysis galbana se hizo utilizando un cultivo a nivel Carboy obtenido con la metodología de cultivo descrita en el párrafo anterior. De un Carboy se extrajo una muestra de 100 ml y se subdividió en 10 alícuotas de 10 ml, de cada una de éstas fueron filtradas las microalgas en filtros de membrana nuclepore de 4.7 cm de diámetro y 0.4  $\mu\text{m}$  de poro, y lavadas con 30 ml de agua desionizada para eliminar las sales adventicias, enseguida se introdujeron en una estufa BLUE M modelo SW-17TA a 60.0 °C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo los filtros fueron pesados en una balanza Mettler modelo HLS2 de  $\pm 0.01$  mg de precisión, para obtener el peso seco de las microalgas de cada muestra e inferir el peso de una de ellas a partir de una concentración conocida.

#### III.4. Diseño y programación de los experimentos.

Para determinar el efecto de la temperatura y la concentración del alimento, en las respuestas de A. tuberculosa a las tasas de filtración, clarificación y eficiencia de asimilación; se seleccionaron las temperaturas de 17.0, 22.5 y 28.0 °C y las concentraciones de microalgas de 20 000, 40 000 y 60 000 células/ml respectivamente. Con estos niveles de tratamientos experimentales se obtiene un total de nueve combinaciones diferentes de temperatura y concentración de alimento. Estos extremos de temperatura se escogieron principalmente, porque son cercanos a los valores extremos que se registraron en el área de estudio de donde se colectaron los organismos (14 a 30 °C) (Aguirre, 1987), y por considerarse que este espacio térmico fue suficiente para detectar diferencias en las respuestas fisiológicas. Por otra parte el criterio de selección de las concentraciones de alimento se basó en evitar la producción de pseudoheces.

Antes de llevar a cabo cualquier experimento, los individuos permanecieron sin alimentarse durante 24 horas, para que en este lapso el tracto digestivo se vacíe y no interfiera en las mediciones ulteriores.

Para cada temperatura experimental se utilizaron individuos provenientes de diferentes colectas, de acuerdo al

ascenso de la temperatura en el área de estudio. Cada grupo de individuos en una determinada temperatura experimental fue sometido a las tres concentraciones de alimento en orden ascendente, donde se medían las tasas de filtración, clarificación y eficiencia de asimilación.

Una vez experimentada la primera concentración de microalgas, los organismos fueron transvasados nuevamente a los acuarios de aclimatación, donde se siguió alimentándolos diariamente durante cinco días, después de los cuales se volvieron a transferir a los acuarios experimentales para ensayar la segunda concentración de alimento y así sucesivamente, hasta terminar con los objetivos del diseño.

Después de haber experimentado la última concentración de microalgas, se procedió a dar marcha al experimento para estimar el consumo de oxígeno y la excreción amoniacal, derivando de aquí la evaluación de la razón oxígeno-nitrógeno. Concluido esto, los animales fueron sacrificados para determinarles el peso seco del tejido blando, introduciéndolos en una estufa BLUE M modelo OV-560.0A-2 a 60°C durante cinco días, y así normalizar todas las variables fisiológicas medidas a un gramo de peso seco del tejido blando (P.S.).

### III.5. Diseño del sistema experimental.

El sistema experimental de flujo abierto se esquematiza en la figura 4. El agua proveniente del filtro biológico del laboratorio se esterilizó con rayos ultravioleta (UV) y enseguida se filtró a través de tres filtros cunco colocados en serie de 10, 5 y 1 micras. El agua así tratada, continúa su recorrido por tres Intercambiadores de calor que se ubican en el fondo del reservorio de 200 litros con agua de mar (Fig.4-1) el cual se mantiene a la temperatura experimental deseada, y el fluido continúa hasta un reservorio de 20 litros (Fig.4-R1). El alimento proporcionado a los acuarios experimentales se inicia también en un reservorio (20 litros) que contiene el cultivo denso de microalgas (Fig.4-R2), éste se transfiere con una manguera a una motobomba peristáltica Manostat (Fig.4-BP) para mantener un nivel constante en un recipiente de un litro (Fig.4-R4), del cual nuevamente sale el alimento a la motobomba peristáltica y de ésta hacia un tercer reservorio con capacidad de 20 litros (Fig.4-R3), donde se diluye para distribuirlo a los acuarios a la concentración experimental necesaria.

En este estudio, la velocidad del fluido de entrada en los acuarios experimentales se fijó en 50 ml/min, tomando en cuenta que en un experimento preliminar se estimó una tasa de filtración mínima de 45 ml/min.

Las dimensiones de los acuarios experimentales fueron 40.5X20.5X26.5 cm donde el volumen se fijó en 15 litros con un

tubo de nivel desplazable (Fig.4-TN). Todos los acuarios experimentales estuvieron en un baño María (Fig.4-CH1), en el caso de las temperaturas de 22.5 y 28.0 °C se controlaron con calentadores y un termómetro de contacto conectado a un termoregulador (Fig.5-CT) que la mantuvo en  $\pm 0.5$  °C. Con el fin de evitar gradientes de temperatura en los acuarios experimentales, el agua del baño María fue recirculada constantemente con una motobomba pequeña (Fig.5-B).

### III.6. Estimación de las tasas fisiológicas.

#### III.6.1 Tasa de filtración.

La tasa de filtración se define como el volumen de agua de la cual todas las partículas suspendidas son extraídas en una unidad de tiempo. Esta tasa se estimó en un sistema con fluido continuo, mediante la siguiente ecuación (Hildreth y Crisp, 1976):

$$T.F. = \frac{(C_1 - C_2)F}{C_0} \quad (1)$$

donde F es la velocidad del fluido a través del acuario experimental,  $C_1$  es la concentración de microalgas en la entrada;  $C_2$  es la concentración de las microalgas en la salida del acuario experimental (tubo de nivel Fig.4-TN) y  $C_0$  es la concentración de microalgas en torno al animal.

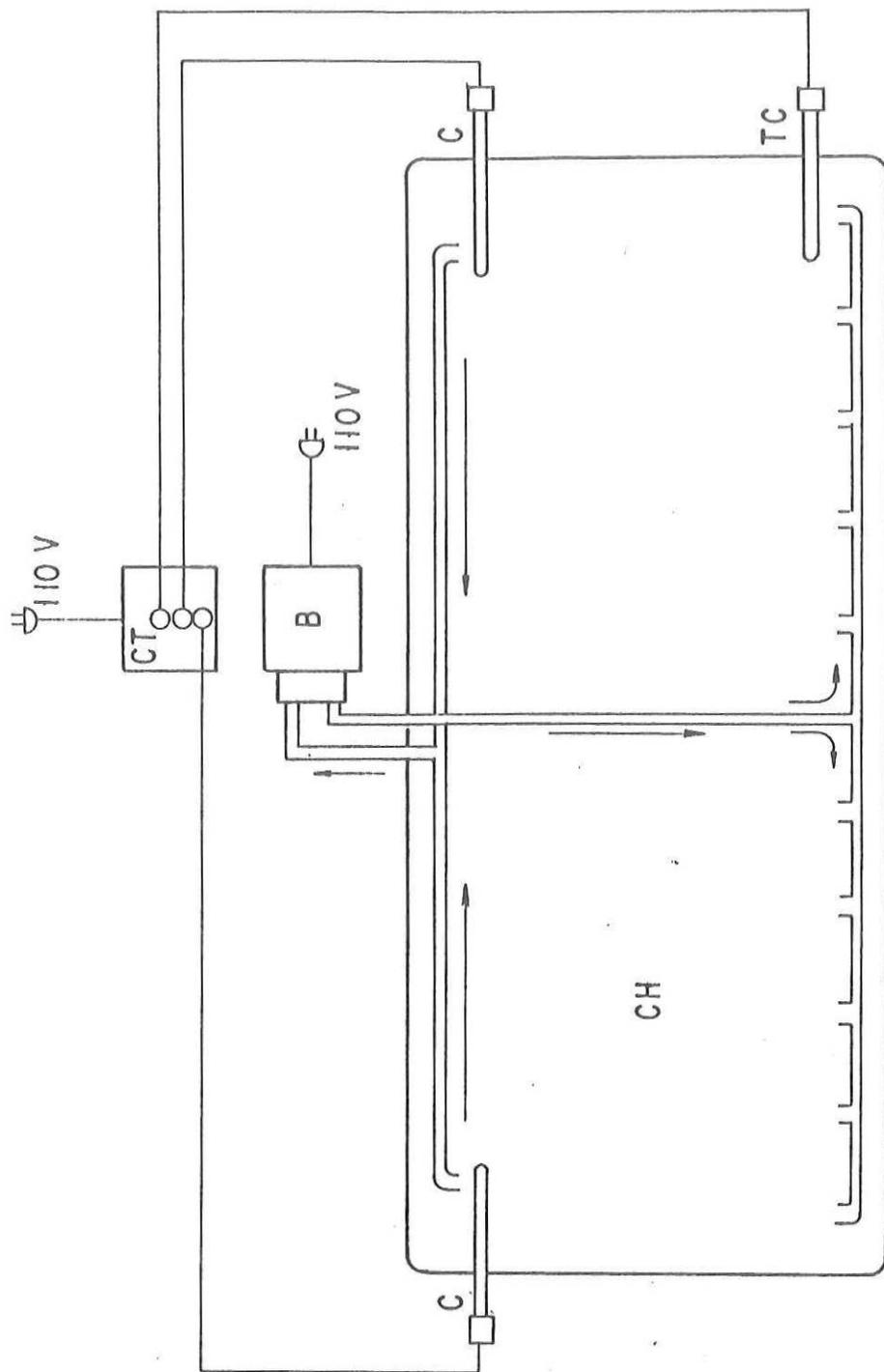


Figura 5. Proyección vertical del recipiente usado para el baño María. Las flechas indican la dirección del flujo de agua. B = bomba para mantener en recirculación el agua del baño María. C = calentador de inmersión. CH = estufa de fibra de vidrio (228, 5x73, 4x13, 0 ca). CT = contactor de control. TC = aparato termostático.

Para fijar los niveles experimentales de la concentración del alimento, el recuento de las microalgas se hizo con un hematocitómetro Fuchs-Rosental de 0.2 mm de profundidad y un microscopio Olympus modelo BH-2. Antes de introducir a los organismos en los acuarios experimentales se regularon los flujos (Fig. 4) controlando la velocidad  $F$ , y la temperatura. En cada acuario se acomodó un organismo como se ilustra en la figura 6. Una vez que habían transcurrido dos horas se tomaron las primeras muestras correspondientes a  $C_0$ ,  $C_1$  y  $C_2$ , y se preservaron con una solución de Lugol para contar las microalgas posteriormente; la muestra para estimar  $C_1$  se extrajo del reservorio R3 (Fig. 4). El experimento duró 12 horas y el muestreo se hizo cada dos horas, de esta manera se obtuvieron un total de siete estimaciones de la tasa de filtración (T.F.) por individuo, incluyendo la que correspondió al tiempo inicial ( $t=0$ ). Posteriormente se promediaron las T.F. de los nueve individuos, obteniéndose así una T.F. promedio asociada a cada dos horas de experimentación en las nueve combinaciones de temperatura y concentración de alimento. La primera estimación fue ignorada por considerarse en algunos casos que la T.F. no se había estabilizado. Una vez conocido el peso seco del tejido blando del animal (P.S.) se normalizó la T.F. a litros/hora/g P.S. que se define como tasa de filtración normalizada y se denota como T.F.N..

Las estimaciones de  $C_0$ ,  $C_1$  y  $C_2$  se efectuaron con un

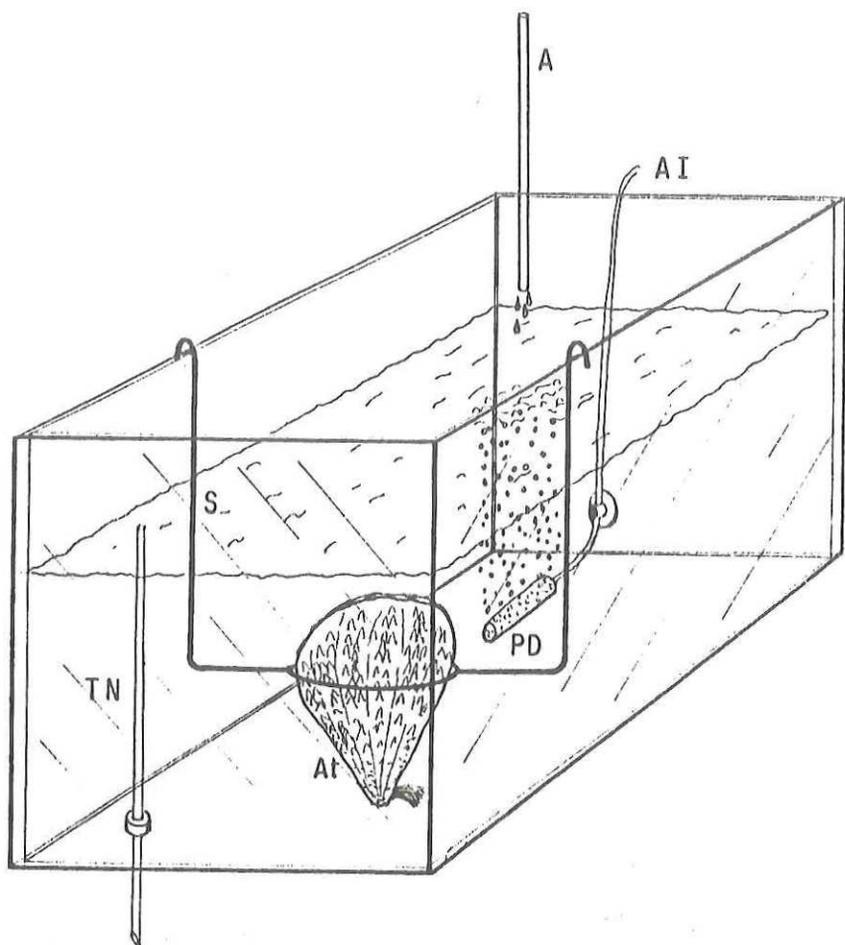


Figura 6. Ilustración de uno de los acuarios experimentales. A = alimento. AI = aire. At = ejemplar de *Atrina tuberculosa*. PD = piedra difusora. S = alambre marino doble # 14, para sostener verticalmente el organismo. TN = tubo para fijar el nivel del agua de mar.

contador de partículas ELECTROZONE Modelo 112LSD/SSP utilizando un sensor con orificio de 48 micras de diámetro, conectado a una sección volumétrica de 200 microlitros (0.2 ml). Para convertir a número de células por mililitro, se multiplicaron los recuentos del instrumento por un factor de cinco.

Adicionalmente, al final de cada experimento donde se estimó la T.F., se colectaron muestras de agua de mar de cada acuario para determinar la concentración de la excreción amoniacal.

#### III.6.2. Tasa de clarificación.

Un método para la determinación de la tasa de clarificación (T.C.) fue el propuesto por Winter (1978), y consiste en multiplicar la tasa de filtración normalizada (T.F.N.) por la concentración del alimento en la entrada del acuario experimental ( $C_i$  en mg P.S.A./L). Las unidades derivadas de esta operación son mg P.S.A./h/g P.S que significa la cantidad de alimento retenido en miligramos de peso seco por hora por gramo de peso seco del tejido blando del animal.

#### III.6.3. Eficiencia de asimilación.

Para estimar la eficiencia de asimilación porcentual E.A.% de los organismos se utilizó el método propuesto por Conover

(1966), que no requiere recobrar cuantitativamente todas las heces producidas; este porcentaje se expresa como:

$$E.A.\% = \frac{(F-E)}{(1-E)F} \times 100 \quad (2)$$

donde F = razón del peso seco libre de cenizas del alimento : peso seco del alimento y E = razón peso seco libre de cenizas de las heces : peso seco de las heces.

Para la estimación de la E.A.% se utilizaron filtros de fibra de vidrio GFC de 4.5 cm de diámetro, previamente secados a 450 °C en una mufla Lindberg modelo 51894 durante cuatro horas, posteriormente fueron pesados en una balanza Mettler modelo HLS2 de  $\pm 0.01$  mg de precisión.

Las heces se colectaron cada tres horas con una pipeta conectada a una bomba de succión manual en uno de los extremos. Esta operación se hizo durante las 12 horas que duró el experimento de filtración. Posteriormente los filtros que contenían las heces fueron lavadas con aproximadamente 30 ml de agua desionizada para eliminar las sales adventicias y enseguida se introdujeron a una estufa BLUE M modelo SW-17TA a 60 °C durante 24 horas para determinar el peso seco. Inmediatamente después se introdujeron a la mufla durante seis horas a 450 °C, para determinar el peso seco libre de cenizas de las heces y con estos datos calcular E. Para estimar F, se

colectaron cada dos horas muestras del alimento del reservorio R2 (Fig. 4). Con dos alícuotas de 50 ml cada una, se hicieron dos estimaciones de F cada dos horas; inmediatamente después se procedió de igual manera que para estimar E.

#### III.6.4. Tasas de consumo de oxígeno y excreción amoniacal.

Antes de ser sometidos a esta fase experimental los animales permanecieron en inanición durante 24 horas. Las mediciones de oxígeno se hicieron en un sistema cerrado por carecer de un respirómetro, y consistió en llenar los acuarios con agua de mar filtrada a una micra y doblemente esterilizada con rayos UV. Una vez que los acuarios tenían un volumen de 15 litros de agua, ésta se ajustaba a la temperatura experimental con un baño María, mientras tanto se aireaba vigorosamente para saturarla de oxígeno. Enseguida se introdujeron los organismos a los acuarios como se indica en la figura 6. Después se retiró la aireación de cada acuario justo antes de ser sellados con una capa de aceite vegetal de aproximadamente 0.5 cm de espesor. Inmediatamente después de sellar cada acuario se colectaron las muestras iniciales (10 muestras incluyendo el testigo) a través de un tubo de nivel sumergido bajo el límite inferior de la capa de aceite (Fig.6-TN).

El período de incubación de los acuarios en el baño María fue de acuerdo a la temperatura fijada para cada experimento siendo éstos de nueve, cinco y cinco horas para 17.0, 22.5 y 28.0 °C, tiempo en el cual fue posible detectar cambios apreciables en la concentración de oxígeno y de la excreción amoniacal.

Las muestras para determinar la concentración de oxígeno se colectaron en botellas BOD de 300 ml y se procesaron inmediatamente con un analizador digital de iones Orion, modelo 901 y con un electrodo para medir oxígeno marca Orion modelo 97-08-00.

Para determinar la excreción amoniacal, se tomaron muestras de 100 ml a las cuales se les bajó el pH a valores menores que seis con una solución de HCl 1 M para fijar el  $\text{NH}_3$  y convertirlo a  $\text{NH}_4$ , enseguida se guardaron en un refrigerador a 2.0 °C. Al siguiente día se iniciaron las determinaciones de  $\text{NH}_3$ , agregando 1 ml de NaOH 10 M a la muestra justo antes de efectuar la medición del amoníaco con un electrodo específico marca Orion modelo 95-10, conectado al mismo analizador de iones referido anteriormente. Las mediciones resultantes se expresaron en mg/l.

Con las diferencias entre las estimaciones iniciales y finales de las concentraciones de oxígeno y de excreción

amoniacal, corregidas con respecto al testigo, se obtuvo la concentración final las cuales a su vez fueron convertidas a mg O<sub>2</sub>/h/g P.S. y a mg NH<sub>3</sub>/h/g P.S. respectivamente.

#### III.6.5. Razón oxígeno-nitrógeno.

La razón oxígeno-nitrógeno fue calculada a partir de las tasas de consumo de oxígeno y de excreción amoniacal en equivalentes atómicos (Widdows, 1985b), en base a la siguiente formulación.

$$\text{Razón O:N} = \frac{\text{mg O}_2/\text{h}}{16} : \frac{\text{N-NH}_3/\text{h}}{14} \quad (3)$$

#### III.6.6. Energía potencial de crecimiento.

La energía disponible para el crecimiento o energía potencial de crecimiento (E.P.C.) representa el balance de la energía de un animal influenciado por un conjunto de variables en su medio ambiente. Este índice provee una estimación del balance energético entre la energía obtenida del alimento y la energía perdida en los procesos metabólicos del organismo, sin especificar donde se almacena la energía acumulada.

Para determinar la E.P.C. de *A. tuberculosa* en condiciones de laboratorio, se utilizaron las mediciones del consumo de oxígeno y de la excreción amoniacal como se indicó

en el acápite III.6.4, bajo la consideración que tanto el consumo de oxígeno como la excreción amoniacal son independientes de la concentración y calidad del alimento. La ecuación que se utilizó en este trabajo, y el equivalente calórico del alimento que es de 2.43 cal/mg P.S.A. absorbido es la de Bayne y Widdows (1978):

$$E.P.C. = A - (R + U) \quad (4)$$

donde E.P.C. = energía potencial de crecimiento, A = energía absorbida por los organismos como el producto del valor energético del alimento consumido por la eficiencia de asimilación (E.A.(%)), R = energía perdida por la respiración, U = energía perdida por la excreción amoniacal. Los equivalentes calóricos para R y U son, 4.86 cal/ml de O<sub>2</sub> consumido (Crisp, 1971) y 5.94 cal/mg NH<sub>3</sub> excretado (Elliot y Davison, 1975). En este estudio los resultados la E.P.C. se transformaron a Joules/hora según el Sistema Internacional de Medidas y se normalizaron a g P.S. (1 cal = 4.184 Joules).

III.6.7. Tasas de consumo de oxígeno y excreción amoniacal de Pontonia pinnae.

En el interior de A. tuberculosa se encuentra (en la mayoría de los casos observados) el comensal Pontonia pinnae. Para determinar las cantidades de oxígeno y NH<sub>3</sub> excretado por

este animal, se procedió como se estipula en el acápite III.6.5. con la diferencia que se utilizaron cinco individuos de P. plinnæ con pesos marcadamente diferentes e introducidos en cámaras con 2.5 litros de agua de mar a 34 ‰, en 17.0 °C y seis horas de experimentación.

Los datos resultantes de las tasas de consumo de oxígeno ( $\dot{V}O_2$ ) y de la excreción amoniacal ( $\dot{V}NH_3$ ), así como el peso húmedo individual (P.H.), fueron ajustados a la función alométrica que se define como:

$$Y = AX^B \quad (5)$$

donde los parámetros A y B de la función se estimaron por aproximaciones sucesivas (Snedecor y Cochran, 1980), X representa el peso húmedo y Y se sustituye por  $\dot{V}O_2$  o  $\dot{V}NH_3$ , respectivamente.

Con estas estimaciones fue posible tener una idea de como influenciaron los comensales las mediciones de las tasas de consumo de oxígeno, y la excreción amoniacal de A. tuberculosa al menos a 17.0 °C.

#### III.6.8. Procesamiento de datos.

Con la información recabada se hicieron pruebas de homoscedasticidad y normalidad para determinar si se usaban

métodos estadísticos paramétricos o no paramétricos en el análisis de los datos (Sokal y Rohlf, 1979).

Los datos correspondientes a cada una de las variables fisiológicas, fueron ajustados a un polinomio de segundo grado por el método de mínimos cuadrados, con el fin de generar superficies de respuestas para describir la relación entre las variables experimentales a que fueron sometidos los individuos (Snedecor y Cochran, 1980).

Esta parte del trabajo se hizo con los paquetes estadísticos MINITAB, ESIMSL y PECS, del Centro de Cómputo del CICESE.

#### IV. RESULTADOS.

El método de transporte utilizado para trasladar a *A. tuberculosa* al laboratorio fue exitosa, con una supervivencia del 100%, este mismo resultado se obtuvo durante los diferentes períodos de aclimatación y en la fase experimental.

Para la transformación en unidades de peso seco del alimento (P.S.A.) se determinó primeramente el peso de una célula de *Isochrysis galbana* que fue de  $0.0303 \pm 0.0011$  ng, infiriéndose de este dato que un millón de células pesan 0.0303 mg.

Los datos correspondientes a las variables fisiológicas medidas en *A. tuberculosa*, fueron sometidas a la prueba de Kolmogorov-Smirnov de bondad de ajuste a la distribución normal utilizando para esto los residuos. También se les aplicó la prueba de Bartlett para determinar la homoscedasticidad de la información generada. Ambas pruebas se realizaron con un nivel de significación del 5%. Según a los resultados obtenidos, al aplicar las pruebas anteriores, solo en los datos correspondientes a las tasas de consumo de oxígeno u excreción amoniacal las hipótesis de normalidad y homoscedasticidad fueron rechazadas.

Las temperaturas experimentales donde se estimaron las

tasas fisiológicas se mantuvieron en 17.0, 22.5 y  $28.0 \pm 0.5$  °C, y los tres niveles de concentración de microalgas fueron 0.579, 1.195 y  $1.741 \pm 0.011$  mg P.S.A./l que corresponden a 19 109, 39 439 y 57 459 células/ml respectivamente.

#### IV.1. Tasa de filtración.

La tasa de filtración normalizada (T.F.N.) de Atrina tuberculosa alimentada con Isochrysis galbana, fue independiente con respecto a la concentración de alimento (A) en la temperatura (T) de 17.0 °C. La respuesta con el valor promedio mínimo de todos los experimentos fue de 0.281 l/g P.S. en una concentración de alimento de 1.195 mg P.S.A./l (Tabla I).

Las estimaciones de la T.F.N. a 22.5 °C registraron una tendencia a aumentar con respecto a la concentración de alimento hasta un promedio máximo de 1.394 l/h/g P.S. con 1.195 mg P.S.A./l, disminuyendo posteriormente hasta un valor promedio de 0.443 l/h/g P.S. en 1.741 mg P.S.A./l (Fig. 7).

A 28.0 °C la respuesta de A. tuberculosa a la T.F.N. fue siempre la de aumentar constantemente con respecto a la concentración de alimento, desde 1.177 l/h/g P.S. en 0.579 mg P.S.A./l a 3.962 l/h/g P.S. en 1.741 mg P.S.A./l.

La T.F.N. con respecto a la temperatura siempre aumentó en los tres niveles de concentración de alimento experimentales.

Para describir más cuantitativamente la magnitud de los efectos de la temperatura (T) y la concentración de alimento (A) sobre la T.F.N., se ajustaron los datos de la respuesta a un polinomio de segundo grado:

$$T.F.N. = 10.2197 + 0.8848T - 3.2802A + 0.0186T^2 - 0.3734A^2 + 0.2161T*A$$

Este polinomio solo explica el 87.90% de la varianza total de los datos, donde los efectos lineal y cuadrático de la temperatura ( $T, T^2$ ), el efecto interactivo de la temperatura y la concentración del alimento ( $T*A$ ), y el efecto lineal de la concentración de alimento (A), resultaron ser altamente significativos ( $P < 0.001$ ), mientras que el efecto cuadrático de la concentración de alimento ( $A^2$ ) tuvo un nivel de significancia  $P > 0.3$  (Tabla II).

Las isoplejas obtenidas a intervalos de 0.25 l/h/g P.S. (Fig. 8), sugieren que la T.F.N. tiene una tendencia a incrementar en las temperaturas mayores de 20.0 °C. Estas isolneas tienen una orientación en sentido diagonal con respecto a la temperatura y a la concentración del alimento, lo que explica la alta significancia de la interacción ( $T*A$ ), aunque el primer paso en el ajuste del polinomio corresponde al

Tabla I. Tasa de filtración normalizada (l/h/g P.S.) de Atrina tuberculosa, alimentada con Isochrysis galbana en nueve combinaciones diferentes de temperatura (T) y concentración de alimento (A). Se muestran los valores promedios ( $\bar{X}$ ), el error estándar de la media (SE), y los valores máximo (MAX.) y mínimo (MIN.) de cada combinación. Cada estimación proviene de seis observaciones.

(A) mg P.S.A./l		TEMPERATURA (°C)		
		17.0	22.5	28.0
0.579	$\bar{X}$	0.374	0.750	1.177
	SE	0.034	0.032	0.031
	MAX.	0.484	0.870	1.266
	MIN.	0.268	0.638	1.080
1.195	$\bar{X}$	0.281	1.394	2.323
	SE	0.018	0.023	0.032
	MAX.	0.327	1.454	2.413
	MIN.	0.215	1.317	2.217
1.741	$\bar{X}$	0.389	0.443	3.962
	SE	0.019	0.030	0.022
	MAX.	0.463	0.583	4.042
	MIN.	0.332	0.386	3.909

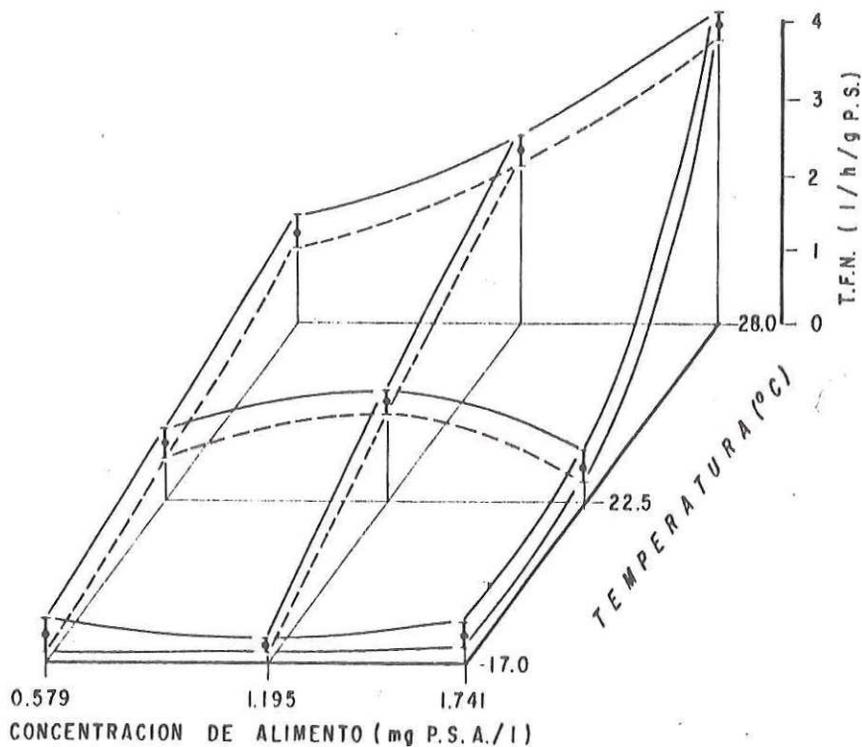


Figura 7. Gráfica de la tasa de filtración normalizada promedio (T.F.N.) de Atrina tuberculosa, y de los intervalos del 95% de confianza para la media ( $\bar{X} \pm t_{\alpha/2} S$ ).

Tabla II. Regresión múltiple por pasos correspondiente a la tasa de filtración de Atrina tuberculosa, alimentada con Isochrysis galbana en nueve combinaciones diferentes de temperatura (T) y concentración de alimento (A). T.F.N. = Tasa de Filtración Normalizada; T, T<sup>2</sup> = efecto lineal y cuadrático de la temperatura; A, A<sup>2</sup> = efecto lineal y cuadrático de la concentración de alimento; T\*A = efecto interactivo de la temperatura y la concentración de alimento; R<sup>2</sup>(%) = coeficiente de determinación múltiple; EE = error estándar; gl = grados de libertad; P = nivel de significancia.

Ecuación de la regresión:

$$T.F.N. = 10.2197 - 0.9948T - 3.2802A + 0.0186T^2 - 0.3734A^2 + 0.2161T*A$$

Paso No.	FUENTE DE VARIACION	R <sup>2</sup> (%)	EE	NIVEL F	gl	P
1	T <sup>2</sup>	59.79	0.7436	77.306	1,52	0.000
2	T*A	72.99	0.6153	24.931	1,51	0.000
3	A	81.90	0.5027	24.618	1,50	0.000
4	T	97.64	0.4247	22.730	1,49	0.000
5	A <sup>2</sup>	87.90	0.4245	1.048	1,48	0.311

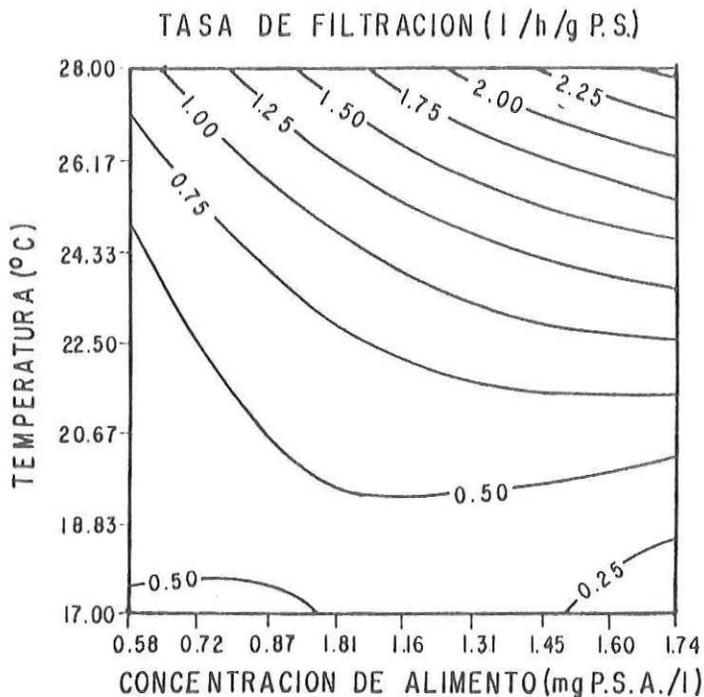


Figura B. Superficie de respuesta de la tasa de filtración de Atrina tuberculosa, alimentada con Isochrysis galbana.

Tabla III. Mediciones de la excreción amoniacal (mg/l) de *Atrina tuberculosa* al final de cada experimento de filtración, alimentada con *Isochrysis galbana* en nueve combinaciones diferentes de temperatura (T) y concentración de alimento (A). Se muestran los valores promedios ( $\bar{X}$ ), el error estándar de la media (SE), y los valores máximo (MAX.) y mínimo (MIN.) de cada combinación. Cada estimación proviene de un total de nueve observaciones.

(A) mg P.S.A./l	TEMPERATURA (°C)			
	17.0	22.5	28.0	
0.579	$\bar{X}$	0.069	0.059	0.074
	SE	0.006	0.008	0.014
	MAX.	0.097	0.110	0.132
	MIN.	0.054	0.035	0.022
1.195	$\bar{X}$	0.094	0.160	0.118
	SE	0.008	0.010	0.009
	MAX.	0.118	0.215	0.155
	MIN.	0.057	0.119	0.079
1.741	$\bar{X}$	0.062	0.203	0.120
	SE	0.003	0.005	0.008
	MAX.	0.075	0.225	0.148
	MIN.	0.047	0.187	0.079

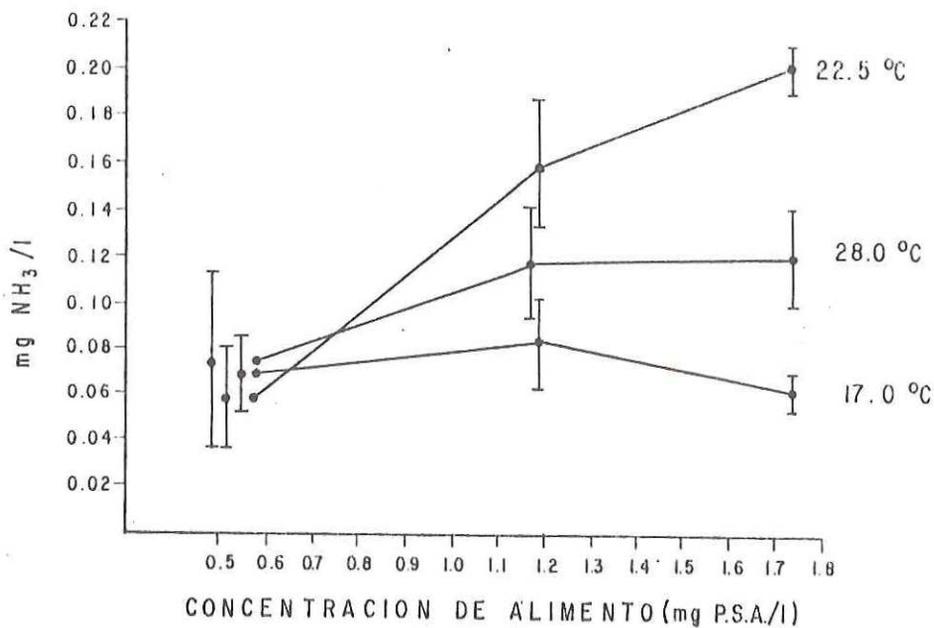


Figura 9. Gráfica de las mediciones de excreción amoniacal promedio de *Atrina tuberculosa*, durante los experimentos donde se determinaron las tasas de filtración.

efecto cuadrático de la temperatura ( $T^2$ ).

Debido a que la excreción amoniacal de A. tuberculosa puede inhibir la respuesta de la T.F.N., esta se determinó en las nueve combinaciones diferentes de concentración de alimento y temperatura. Los resultados se muestran en la Tabla III; estos datos revelan que en la temperatura de 17.0 °C, la excreción amoniacal fluctuó entre 0.069 y 0.062 mg NH<sub>3</sub>/l con un valor máximo de 0.084 mg NH<sub>3</sub>/l en una concentración de alimento de 1.195 mg P.S.A./l, mientras que en las temperaturas de 22.5 y 28.0 °C la tendencia es la de aumentar la concentración de NH<sub>3</sub> con respecto al incremento de la concentración de alimento (Fig. 9). En resumen el valor promedio mínimo de la concentración de NH<sub>3</sub> fue de 0.059 mg NH<sub>3</sub>/l y el valor máximo de 0.203 mg NH<sub>3</sub>/l a 22.5 °C.

#### IV.2. Tasa de clarificación.

La respuesta de A. tuberculosa a esta tasa fisiológica, en presencia de J. galbana, fue la de incrementarse significativamente de acuerdo con el aumento de la concentración de alimento en las temperaturas de 17.0 y 28.0 °C (Tabla IV), mientras que a 22.5 °C se registró un máximo de 1.709 mg P.S.A./h/g P.S. a una concentración de alimento de 1.195 mg P.S.A./l.

El valor promedio mínimo observado en esta tasa fisiológica fue de 0.194 mg P.S.A./h/g P.S. en la concentración de 0.579 mg P.S.A./l a 17.0°C, y el máximo de 6.780 mg P.S.A./h/g P.S. en 1.741mg P.S.A./l.

El cambio de la tasa de clarificación (T.C.) con respecto a la temperatura fue la de incrementarse sistemáticamente, y a los 28.0°C se encontró el valor máximo (Fig. 10).

Los datos de la T.C. de *A. tuberculosa* también fueron ajustados a un polinomio de segundo grado, obteniéndose la siguiente expresión (Tabla V):

$$T.C. = 19.8758 - 1.6437T - 8.0794A + 0.0315T^2 + 0.1029A^2 + 2.6349T*A$$

Este polinomio solo explica el 87.83% de la varianza total de los datos, donde los efectos cuadrático y lineal de la temperatura ( $T, T^2$ ), el efecto lineal de la concentración del alimento (A) y la Interacción entre temperatura y concentración del alimento ( $T*A$ ) fueron altamente significativos ( $P < 0.001$ ), el término restante ( $A^2$ ) no fue significativo ( $P = 0.876$ ).

Las Isolneas obtenidas a intervalos de 0.25 mg P.S.A/h/g P.S. (Fig. 11), señalan incrementos en la respuesta fisiológica para las temperaturas mayores de 19.0°C y las concentraciones de alimento superiores a 0.621 mg P.S.A./l. La orientación de las Isolneas en sentido diagonal al plano de

Tabla IV. Tasa de clarificación (mg F.S.A./h/g P.S.) de *Atrina tuberculosa*, alimentada con *Isophrysis galbana* en nueve combinaciones diferentes de temperatura y concentración de alimento (A). Se muestran los valores promedio ( $\bar{X}$ ), el error estándar de la media (SE), y los valores máximo (MAX.) y mínimo (MIN.) de cada combinación. Cada estimación proviene de seis observaciones.

(A) mg P.S.A./l	TEMPERATURA (°C)			
	17.0	22.5	28.0	
0.579	$\bar{X}$	0.194	0.449	0.759
	SE	0.018	0.025	0.024
	MAX.	0.264	0.524	0.949
	MIN.	0.143	0.340	0.583
1.195	$\bar{X}$	0.314	1.709	2.954
	SE	0.022	0.016	0.027
	MAX.	0.375	1.761	2.915
	MIN.	0.223	1.649	2.738
1.741	$\bar{X}$	0.517	0.749	6.720
	SE	0.023	0.017	0.031
	MAX.	0.592	0.911	6.952
	MIN.	0.523	0.711	6.679

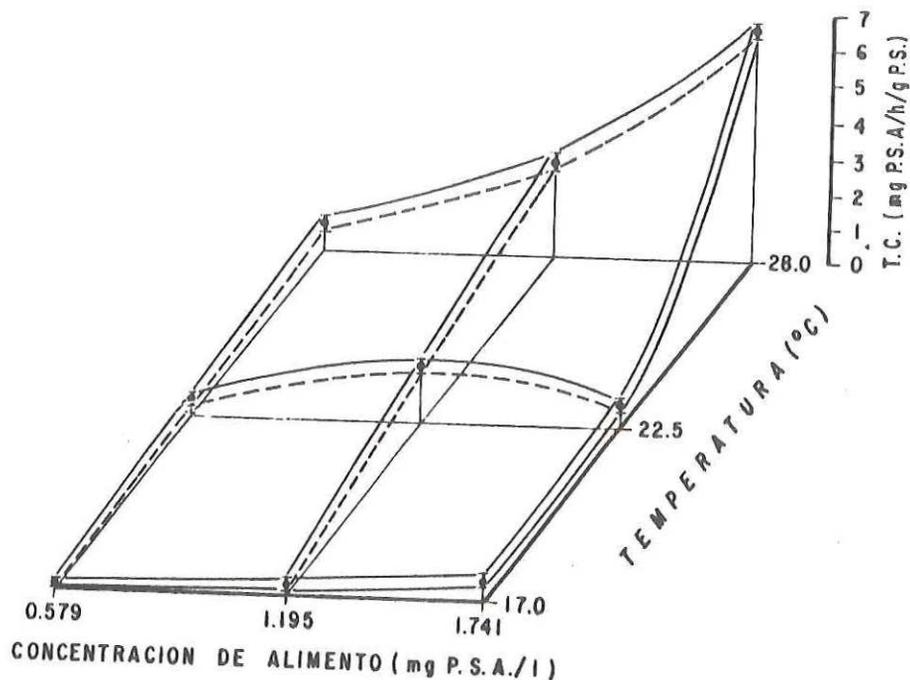


Figura 10. Gráfica de la tasa de clarificación promedio (T.C.) de *Atrina tuberculosa*, y de los intervalos del 95% de confianza para la media ( $\bar{X} \pm t_{\alpha/2} S$ ).

Tabla V. Regresión múltiple por pasos correspondiente a la tasa de clarificación de *Atrina tuberculosa*, alimentada con *Isochrysis galbana* en nueve combinaciones diferentes de temperatura (T) y concentración de alimento (A). T.C. = Tasa de Clarificación; T, T<sup>2</sup> = efecto lineal y cuadrático de la temperatura; A, A<sup>2</sup> = efecto lineal y cuadrático de la concentración de alimento; TxA = efecto interactivo de la temperatura y la concentración de alimento; R<sup>2</sup> (%) = coeficiente de determinación múltiple; EE = error estándar; gl = grados de libertad; P = nivel de significancia.

Ecuación de la regresión:

$$T.C. = 19.8758 - 1.6437T - 8.0794A + 0.0315T^2 + 0.1029A^2 + 2.6349TxA$$

Paso No.	FUENTE DE VARIACION	R <sup>2</sup> (%)	EE	NIVEL F	gl	P
1	TxA	58.25	1.3130	72.537	1,52	0.000
2	A	79.05	0.9392	50.640	1,51	0.000
3	T	82.77	0.8603	10.700	1,50	0.000
4	T <sup>2</sup>	87.83	0.7303	20.379	1,49	0.000
5	A <sup>2</sup>	87.93	0.7377	0.026	1,48	0.976

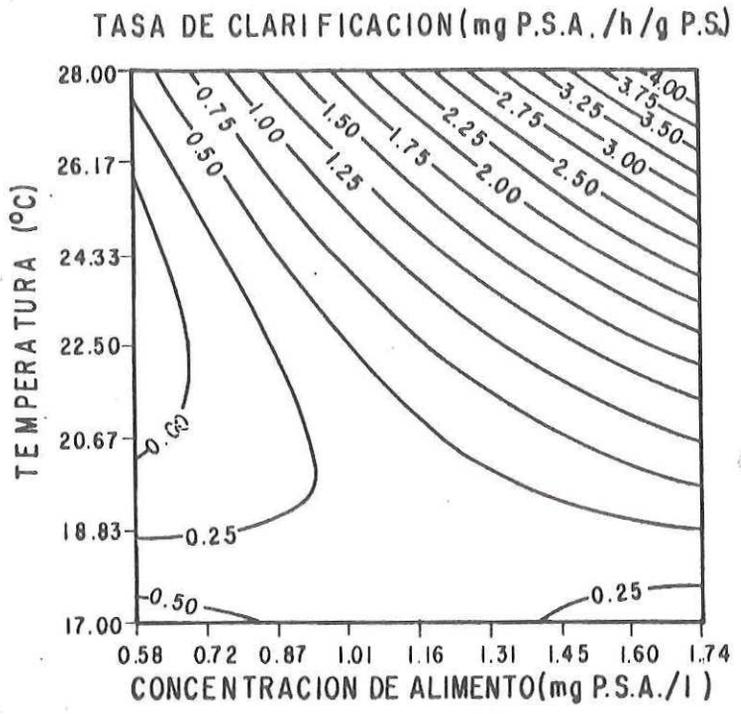


Figura 11. Superficie de respuesta de la tasa de clarificación de *Atrina tuberculosa*, alimentada con *Isochrysis galbana*.

proyección, está asociada estrechamente con el nivel de significancia de la interacción entre la temperatura y la concentración del alimento.

#### IV.3. Eficiencia de asimilación.

En la Tabla VI se encuentran los estimadores básicos de la variable fisiológica eficiencia de asimilación porcentual (E.A.(%)) de *A. tuberculosa* alimentada con *L. galbana*. Analizando los valores promedios se observa que en las temperaturas de 17.0 y 28.0 °C, la tendencia de la E.A.% es la de disminuir concomitantemente con la concentración de alimento, en tanto que a 22.5 °C la respuesta manifiesta cierta independencia con respecto a la concentración del alimento (Fig. 12).

El conjunto de datos de la eficiencia de asimilación porcentual E.A.(%) de *A. tuberculosa*, fueron ajustados a un polinomio de segundo grado (Tabla VII), definiéndose la siguiente ecuación:

$$E.A.(%) = 297.9664 - 19.2873T - 29.2130A + 0.4085T^2 + 0.8485A^2 + 0.4749T*A$$

Este polinomio solo explica el 35.29% de la varianza total de los datos, y en este caso la concentración del alimento (A) y el cuadrado de la temperatura (T<sup>2</sup>) tuvieron un alto nivel de significancia (P<0.01), en tanto que el resto de los términos

Tabla VI. Eficiencia de asimilación porcentual de *Atrina tuberculosa*, alimentada con *Isochrysis galbana* en nueve combinaciones diferentes de temperatura (T) y concentración de alimento (A). Se muestran los valores promedios ( $\bar{X}$ ), el error estándar de la media ( $S\bar{X}$ ), y los valores máximo (MAX.) y mínimo (MIN.) de cada combinación. Cada estimación proviene de un total de nueve observaciones.

(A) mg P.S.A./l	TEMPERATURA (°C)			
	17.0	22.5	28.0	
0.579	$\bar{X}$	74.44	55.76	74.93
	$S\bar{X}$	2.87	5.67	4.90
	MAX.	84.18	82.67	93.34
	MIN.	57.42	28.05	43.69
1.195	$\bar{X}$	73.24	43.16	53.65
	$S\bar{X}$	2.30	3.35	2.78
	MAX.	86.18	58.20	62.02
	MIN.	64.22	28.67	38.63
1.741	$\bar{X}$	42.38	48.29	49.90
	$S\bar{X}$	5.98	5.74	5.43
	MAX.	84.73	78.14	72.04
	MIN.	25.95	31.67	23.93

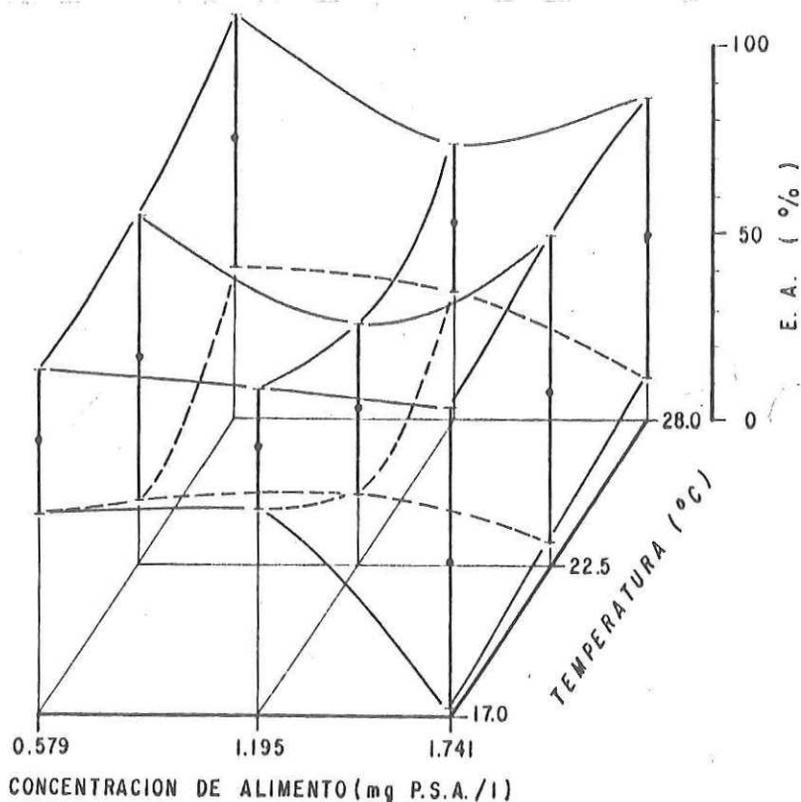


Figura 12. Gráfica de la eficiencia de asimilación porcentual promedio (E.A. (%)) de *Atrina tuberculosa*, y de los intervalos del 95% de confianza para la media ( $\bar{X} \pm t_{\alpha/2} S$ ).

Tabla VII. Regresión múltiple por pasos correspondiente a la eficiencia de asimilación de *Atrina tuberculosa*, alimentada con *Isochrysis galbana* en nueve combinaciones diferentes de temperatura (T) y concentración de alimento (A). E.A.(%) = Eficiencia de Asimilación; T, T<sup>2</sup> = efecto lineal y cuadrático de la temperatura; A, A<sup>2</sup> = efecto lineal y cuadrático de la concentración de alimento; TxA = efecto interactivo de la temperatura y la concentración de alimento; R<sup>2</sup>(%)= coeficiente de determinación múltiple; EE = error estándar; gl = grados de libertad; P = nivel de significancia.

Ecuación de la regresión:

$$E.A. (\%) = 297.9664 - 19.2873T - 29.2130A + 0.4085T^2 + 0.8485A^2 + 0.4749TxA$$

Paso No.	FUENTE DE VARIACION	R <sup>2</sup> (%)	EE	NIVEL F	gl	P
1	A	23.79	15.9449	24.644	1,79	0.000
2	T	24.54	15.9663	0.789	1,78	0.377
3	T <sup>2</sup>	34.97	14.9180	12.348	1,77	0.001
4	TxA	35.28	14.9794	0.370	1,76	0.544
5	A <sup>2</sup>	35.29	15.0781	0.009	1,75	0.930

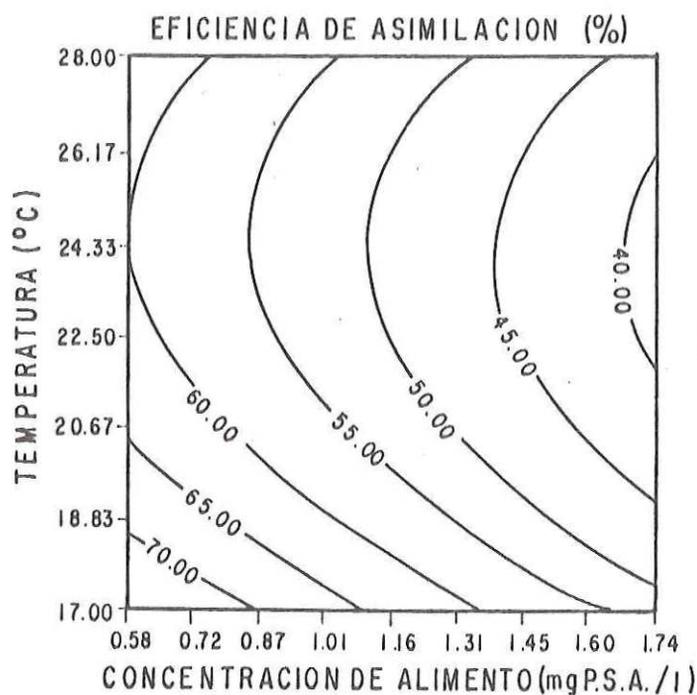


Figura 13. Superficie de respuesta de la eficiencia de asimilación de *Atrina tuberculosa*, alimentada con *Isochrysis galbana*.

(T, T\*A y A<sup>2</sup>), no tuvieron efectos significativos sobre la eficiencia de asimilación (P>0.370).

Las isoclinas de configuración parabólica (Fig. 13), describen una tendencia de la respuesta a disminuir con respecto a la concentración del alimento; los valores altos de la E.A.% (70.00%) se observaron donde las concentraciones de microalgas y la temperatura son bajas.

#### IV.4. Tasa de consumo de oxígeno y excreción amoniacal.

El resultado de las tasas promedio del consumo de oxígeno y excreción amoniacal de *A. tuberculosa* en condiciones de laboratorio se muestran en la Tabla VIII, donde es manifiesto el aumento de ambas tasas fisiológicas con respecto a la temperatura. Los valores mínimos correspondieron a la temperatura de 17.0 °C con 0.11079 mg O<sub>2</sub>/h/g P.S. y 2.054 µg NH<sub>3</sub>/h/g P.S. respectivamente, mientras que los valores máximos se detectaron en la temperatura de 28.0 °C con las tasas de 0.23199 mg O<sub>2</sub>/h/g P.S. y 13.681 µg NH<sub>3</sub>/h/g P.S..

Las determinaciones de las tasas de consumo de oxígeno y excreción amoniacal, fueron sometidas a la prueba de análisis de varianza (ANAVA) no paramétrica de Kruskal y Wallis (1952). Para la tasa de consumo de oxígeno se determinó un valor de H=12.828, mientras que para la tasa de excreción amoniacal fue

Tabla VIII. Tasas promedios del consumo de Oxígeno y excreción amoniacal normalizados a un gramo de peso seco del tejido blando de *Atrina tuberculosa*, sometida a tres temperaturas diferentes, sin alimento y con 24 horas de inanición.  $\bar{X}$  = valor promedio, S = desviación estándar, MAX. = valor máximo observado, MIN. = valor mínimo observado, n = número de organismos.

	TEMPERATURA (°C)		
	17.0	22.5	29.0
mg O <sub>2</sub> /h/g P.S.			
$\bar{X}$	0.11079	0.19313	0.27199
S	0.03325	0.05420	0.11975
MAX.	0.16740	0.30390	0.54210
MIN.	0.07500	0.13690	0.13820
n	8	9	9
$\mu$ g NH <sub>3</sub> /h/g P.S.			
$\bar{X}$	2.054	10.016	13.581
S	0.936	5.249	6.693
MAX.	3.690	21.240	21.230
MIN.	1.080	2.550	5.740
n	8	9	9

H=15.670, en ambos casos los resultados fueron altamente significativos ( $P < 0.001$ ).

Tomando en cuenta las evidencias anteriores, se continuó con el análisis estadístico aplicando las pruebas de comparaciones múltiples con un nivel de significancia del 5% (Tabla IX y X). Los resultados indican que las discrepancias de las distribuciones de ambas tasas en los diferentes niveles de temperatura, fueron significativas entre las temperaturas de 17.0 y 22.5 °C, 17.0 y 28.0 °C. No se encontró discrepancia entre 22.5 y 28.0 °C.

#### IV.5. Razón oxígeno-nitrógeno.

Las estimaciones descriptivas más importantes de la razón oxígeno-nitrógeno (O:N) de *A. tuberculosa* se localizan en la Tabla XI, en la cual se ve una clara disminución de la razón O:N promedio con respecto al incremento de la temperatura (Fig. 14).

Las pruebas de normalidad y homoscedasticidad que se hicieron con los datos de la razón O:N, dieron resultados positivos con un nivel de significancia del 5%, entonces se procedió a efectuar un ANAVA de una vía (Tabla XII). Por el valor de  $F = 25.452$ , se concluye que los diferentes niveles de temperatura tienen un efecto altamente significativo ( $P < 0.001$ ).

Tabla IX. Prueba no paramétrica de comparaciones múltiples aplicada a datos de consumo de Oxígeno ( $\text{mg O}_2/\text{h/g P.S.}$ ) de Atrina tuberculosa, en los tres niveles de temperatura. Entre paréntesis se encuentran los niveles de temperatura en  $^{\circ}\text{C}$ , formando parejas que indican la comparación entre las distribuciones de las mediciones de los diferentes niveles de temperatura.

COMPARACION	DISCREPANCIA OBSERVADA	DISCREPANCIA MAXIMA COMPATIBLE	DECISION AL 5% DE SIGNIFICANCIA
(17.0, 22.5)	10.778	5.524	Significativa
(17.0, 28.0)	12.333	5.524	Significativa
(22.5, 28.0)	1.556	5.359	No Significativa

Tabla X. Prueba no paramétrica de comparaciones múltiples aplicada a datos de excreción amoniacal ( $\text{mg NH}_3/\text{h/g P.S.}$ ) de Atrina tuberculosa, en los tres niveles de temperatura. Entre paréntesis se encuentran los niveles de temperatura en  $^{\circ}\text{C}$ , formando parejas que indican la comparación entre las distribuciones de las mediciones de los diferentes niveles de temperatura.

COMPARACION	DISCREPANCIA OBSERVADA	DISCREPANCIA MAXIMA COMPATIBLE	DECISION AL 5% DE SIGNIFICANCIA
(17.0, 22.5)	11.306	4.894	Significativa
(17.0, 28.0)	13.972	4.894	Significativa
(22.5, 28.0)	2.667	4.748	No Significativa

Tabla XI. Estimaciones descriptivas de la razón Oxígeno-Nitrógeno (O:N) de *Atrina tuberculosa* en tres niveles de temperatura.  $\bar{X}(O:N)$  = valor promedio de la razón Oxígeno-Nitrógeno; S = desviación estándar;  $S\bar{X}$  = error estándar; n = número de observaciones por nivel de tratamiento; valores máximo (MAX.) y mínimo (MIN.).

	TEMPERATURA (°C)		
	17.0	22.5	28.0
$\bar{X}(O:N)$	50.97	20.84	16.25
S	11.61	11.46	9.22
$S\bar{X}$	4.10	3.82	3.07
n	8	9	9
MAX.	70.68	46.90	32.01
MIN.	34.18	9.62	7.71

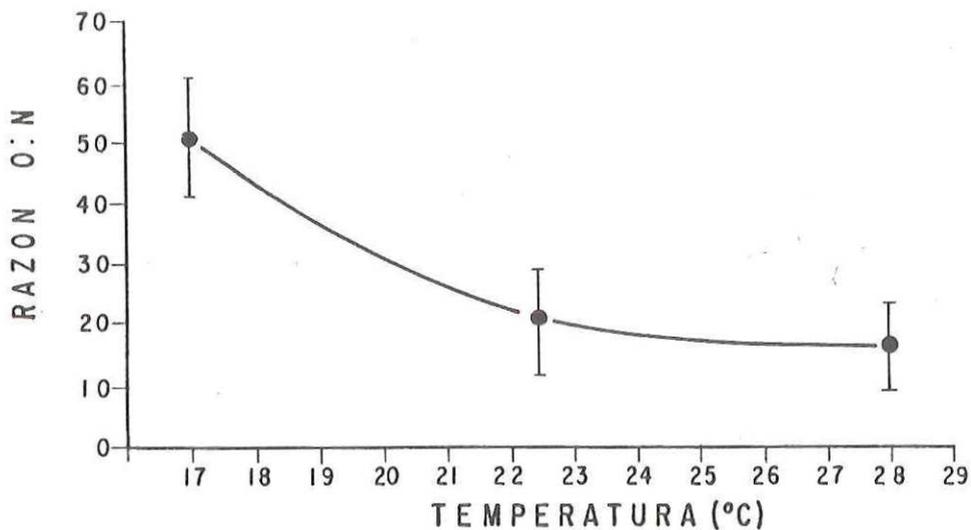


Figura 14. Gráfica de la razón Oxígeno-Nitrógeno promedio (O:N) de *Atrina tuberculosa* en función de la temperatura. Se muestran los intervalos del 95% de confianza para la media ( $\bar{X} \pm t_{\alpha/2} S\bar{X}$ ).

Tabla XII. Análisis de varianza paramétrico de una vía aplicado a los datos de la razón Oxígeno-Nitrógeno (O:N), obtenidos con individuos de Atrina tuberculosa en tres niveles de temperatura (17.0, 22.5 y 28.0°C).

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	F	F <sub>0.05 (2,23)</sub>
ENTRE TEMPERATURAS	5918.33	2	2956.16		
DENTRO DE TEMPERATURAS	2674.05	23	116.26	25.452	3.42
TOTAL	8592.38	25			

Tabla XIII. Matriz que muestra los resultados de la prueba paramétrica de comparaciones múltiples de Newman-Keuls (SNK) modificada para muestras desiguales (Kramer, 1956; Steel y Torrie, 1960), aplicada a las diferencias de los promedios de la razón Oxígeno-Nitrógeno  $\bar{X}(O:N)$  de Atrina tuberculosa. La prueba se realizó con un nivel de significancia del 5% .

TEMPERATURA (°C)	28.0	22.5	17.0
$\bar{X}(O:N)$	16.25	20.84	50.97
28.0	16.25	NS	**
22.5	20.84		**
17.0	50.97		

NS = No significativa.

\*\* = Altamente significativa.

sobre la razón O:N en la respuesta de A. tuberculosa.

En base al resultado anterior se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Newman-Keuls (SNK) modificada para muestras desiguales por Kramer, (1956), y Steel y Torrie, (1960). Aquí el resultado de esta prueba demostró que las diferencias son significativas entre las razones de O:N promedios de 50.97, 16.25 y 50.97, 20.84, que corresponden a los niveles de temperatura de 17.0°C, 28.0°C y 17.0°C, 22.5°C respectivamente (Tabla XIII).

#### IV.6. Energía potencial de crecimiento.

Para la determinación de la E.P.C. es importante conocer el porcentaje vía excreción amoniacal (U) con respecto al total de la energía perdida (R+U). En Atrina tuberculosa estos porcentajes en promedio fueron del 3.1, 7.8 y 10.7 en las temperaturas de 17.0, 22.5 y 28.0°C respectivamente. Los datos obtenidos indican un aumento importante del porcentaje de la energía perdida vía excreción amoniacal con respecto al incremento de la temperatura.

Los valores de la respuesta de A. tuberculosa en la tasa fisiológica de energía potencial de crecimiento (E.P.C.), se presentan en la Tabla XIV y se ilustra gráficamente en la figura 15. Es notorio el aumento de la E.P.C. con respecto al

Incremento de la temperatura, con excepción de la concentración alimenticia de 0.579 mg P.S.A./l donde la E.P.C. fluctúa entre -0.31 y 3.03 Joules/h/g P.S..

También hay un aumento de la E.P.C. con el aumento de la concentración de alimento en las temperaturas de 17.0°C, y particularmente en los 28.0°C, mientras que en la temperatura de 22.5°C la E.P.C. fluctúa entre -0.31 y 1.22 Joules/h/g P.S., con un máximo de 4.59 Joules/h/g P.S. en la concentración media de microalgas (1.195 mg P.S.A./l).

Para determinar el efecto de la temperatura y la concentración del alimento sobre la tasa de la E.P.C. en A. tuberculosa, las estimaciones fueron ajustadas a un polinomio de segundo grado obteniéndose la siguiente expresión:

$$E.P.C. = 124.2055 - 10.4279T - 45.4083A + 0.2055T^2 + 2.1061A^2 + 2.2021T*A$$

Este polinomio solamente explica el 89.14% de la varianza total de los datos (Tabla XV). Los efectos lineal y cuadrático de la temperatura ( $T, T^2$ ), el efecto lineal de la concentración de alimento ( $A$ ), y el efecto interactivo de la temperatura y concentración de alimento, resultaron con un alto nivel de significación ( $P < 0.01$ ); el efecto cuadrático de la concentración de alimento ( $A^2$ ) no fue significativo ( $P = 0.485$ ).

Tabla XIV. Energía potencial de crecimiento (Joules/h/g P.S.) de Atrina tuberculosa, alimentada con Isochrysis galbana en nueve combinaciones diferentes de temperatura (T) y concentración de alimento (A). Se muestran los valores promedios ( $\bar{X}$ ), el error estándar de la media ( $S\bar{X}$ ), y los valores máximo (MAX.) y mínimo (MIN.) de cada combinación. Cada estimación proviene de un total de seis observaciones.

(A) mg P.S.A./l	TEMPERATURA (°C)			
	17.0	22.5	28.0	
0.579	$\bar{X}$	-0.12	-0.31	3.03
	$S\bar{X}$	0.14	0.11	0.19
	MAX.	0.44	0.07	3.69
	MIN.	-0.53	-0.79	2.46
1.195	$\bar{X}$	0.54	4.59	12.03
	$S\bar{X}$	0.17	0.19	0.19
	MAX.	0.90	5.07	12.70
	MIN.	-0.09	3.98	11.46
1.741	$\bar{X}$	0.64	1.22	32.21
	$S\bar{X}$	0.11	0.19	0.22
	MAX.	1.02	2.05	32.91
	MIN.	0.27	0.88	31.66

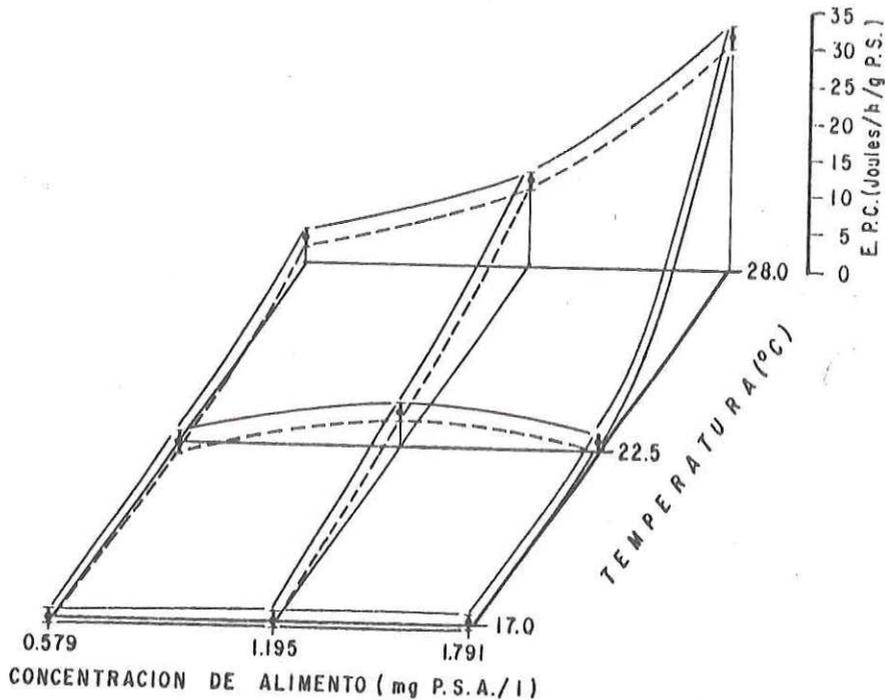


Figura 15. Gráfica de la energía potencial de crecimiento promedio (E.P.C.) de Atrina tuberculosa, y de los intervalos del 95% de confianza para la media ( $\bar{X} \pm t_{\alpha/2} S$ ).

Tabla XV. Regresión múltiple por pasos correspondiente a la energía potencial de crecimiento de Atrina tuberculosa, alimentada con Isochrysis galbana en nueve combinaciones diferentes de temperatura (T) y concentración de alimento (A). E.P.C. = Energía Potencial de Crecimiento; T, T<sup>2</sup> = efecto lineal y cuadrático de la temperatura; A, A<sup>2</sup> = efecto lineal y cuadrático de la concentración de alimento; T\*A = efecto interactivo de la temperatura y la concentración de alimento; R<sup>2</sup>(%) = coeficiente de determinación múltiple; EE = error estándar; gl = grados de libertad; P = nivel de significancia.

Ecuación de la regresión:

$$E.P.C. = 124.2055 - 10.4279T - 45.4093A + 0.2055T^2 + 2.1061A^2 + 2.2021T*A$$

Paso No.	FUENTE DE VARIACION	R <sup>2</sup> (%)	EE	NIVEL F	gl	P
1	T*A	54.17	6.8756	61.470	1,52	0.000
2	A	76.40	4.9825	48.020	1,51	0.000
3	T	80.38	4.5879	10.152	1,50	0.003
4	T <sup>2</sup>	89.03	3.4659	38.610	1,49	0.000
5	A <sup>2</sup>	89.14	3.4839	0.495	1,48	0.485

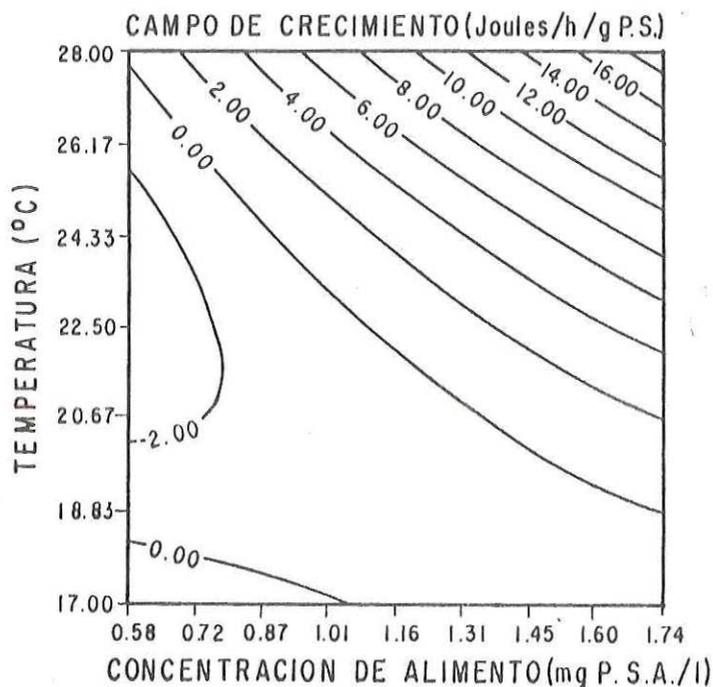


Figura 16. Superficie de respuesta de la energía potencial de crecimiento de Atrina tuberculosa, alimentada con Isochrysis galbana.

Seguendo la orientación diagonal de las isolneas proyectadas en el plano (Fig. 16), es notorio el efecto de la interacción entre la concentración del alimento y la temperatura. Los valores de la E.P.C. mayores que cero, se obtienen a partir de las temperaturas más altas que 20.67 °C y con concentraciones de alimento mayores que 0.740 mg P.S.A./l.

IV.7. Tasas de consumo de oxígeno y excreción amoniacal del comensal Pontonia plinnæ.

Los valores promedio de consumo de oxígeno y excreción amoniacal a 17.0 °C fueron de 2.2920 mg O<sub>2</sub> y 0.0335 mg NH<sub>3</sub> respectivamente (Tabla XVI). Esto significa que en los experimentos llevados a cabo en esta temperatura le corresponderían al 4.33% del consumo total de oxígeno por A. tuberculosa, y 10.56% de la excreción amoniacal total. Los porcentajes anteriores se infieren en base nueve horas de experimentación.

Enseguida se expresan los valores de los parámetros de la ecuación alométrica, para ( $\dot{V}O_2$ ) y ( $\dot{V}NH_3$ ):

$$\dot{V}O_2 = 0.2501W^{0.6970}$$

$$\dot{V}NH_3 = 0.0045W^{0.4814}$$

En las figuras 17a y b se muestran las curvas que se obtuvieron con las funciones alométricas ajustadas, y en torno a éstas, se graficaron los valores observados de las tasas fisiológicas en cuestión.

La presencia de *P. pinnae* en el interior de *A. tuberculosa* nunca fue mayor de dos comensales por hospedero (Tabla XVII). La proporción entre los sexos fue de aproximadamente 1:1 en un total de 25 individuos encontrados durante el desarrollo de este estudio.

Tabla XVI. Relación de las tasas de consumo de Oxígeno y excreción amoniacal de Pontonia pinnæ a 17.0°C y un volumen de agua de mar de 2.5 litros y 34‰ de salinidad durante seis horas de experimentación. P.H. = peso húmedo de un individuo de P. pinnæ en gramos (g),  $\bar{X}$  = valor promedio, S = desviación estándar,  $S\bar{X}$  = error estándar, Lt = longitud total.

P.H. (g)	Lt. (mm)	mg O <sub>2</sub> CONSUMIDO	mg O <sub>2</sub> /h	mg NH <sub>3</sub> EXCRETADO	mg NH <sub>3</sub> /h	
1.5	33.7	1.8200	0.3033	0.0350	0.0058	
1.1	33.3	1.5175	0.2529	0.0200	0.0033	
3.6	49.2	3.8400	0.6400	0.0402	0.0067	
2.3	41.4	2.5050	0.4175	0.0576	0.0096	
0.4	20.5	1.1775	0.1963	0.0150	0.0025	
$\bar{X}$	1.9	35.6	2.2920	0.3620	0.0335	0.0056
S	1.23	10.71	0.9393	0.1755	0.0170	0.0029
$S\bar{X}$	0.55	4.77	0.4201	0.0795	0.0076	0.0013

Tabla XVII. Registros de la presencia de Pontonia pinnæ en el interior de Atrina tuberculosa durante los experimentos en el laboratorio. H = hembra, M = macho, el asterisco significa presencia.

A. <u>tuberculosa</u> No.	<u>Pontonia pinnæ</u>					
	17.0°C		22.5°C		28.0°C	
	H	M	H	M	H	M
1	*	*				
2				*	*	
3		*	*		*	*
4	*	*	*	*	*	*
5	*	*			*	*
6	*		*	*	*	*
7			*	*	*	*
9	*	*	*	*		*
10	*	*	*	*	*	
TOTAL	6	6	6	6	7	6

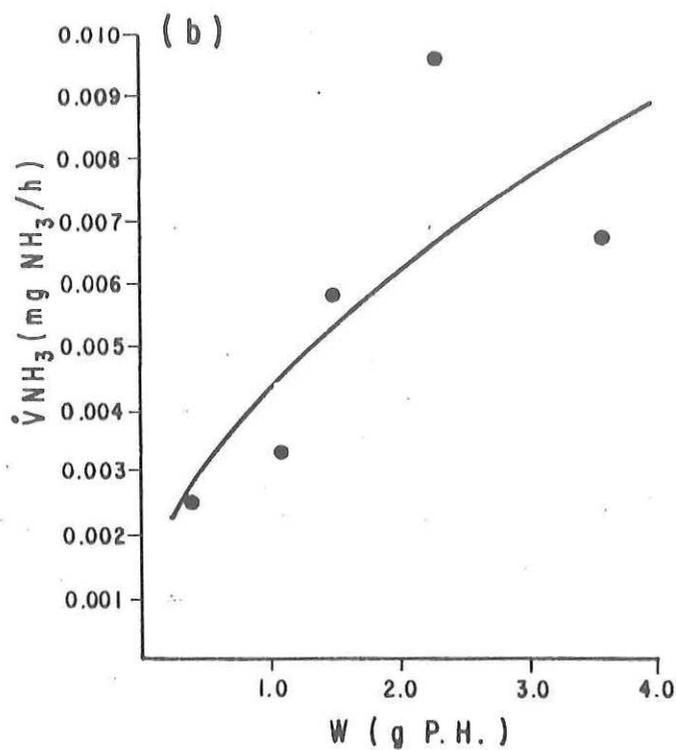
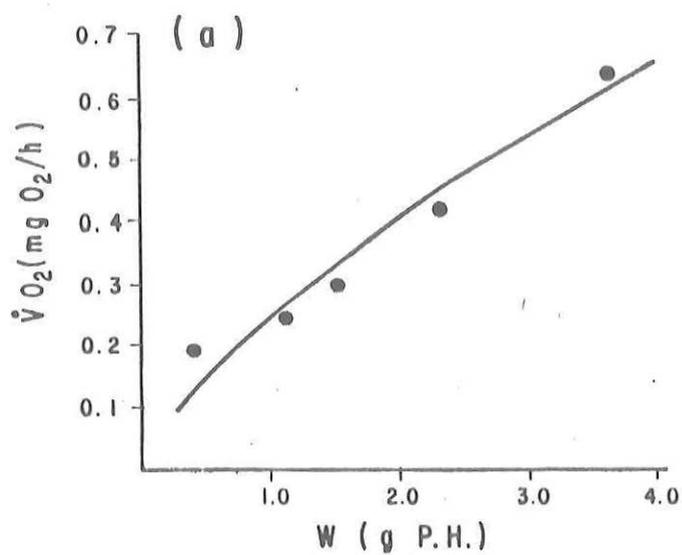


Figura 17. Gráfica de las relaciones alométricas de *Pontonia pinnae*: (a) Tasa del consumo de Oxígeno ( $\dot{V}O_2$ ) en función del peso húmedo (P.H.); (b) Tasa de la excreción amoniacal ( $\dot{V}NH_3$ ) en función del peso húmedo (P.H.).

## V. DISCUSION.

En los estudios de ecofisiología hechos en el laboratorio y llevados a cabo con organismos acuáticos, sigue siendo un reto el tratar de simular, aunque sea burdamente, las condiciones ambientales imperantes del lugar donde se origina la población. La finalidad fundamental de la investigación en este sentido, desemboca en el mejor de los casos, en el conocimiento del comportamiento de la población en el laboratorio, y con muy pocas posibilidades, de extrapolar los resultados para inferir un comportamiento semejante en el medio ambiente natural donde se encuentra confinada la especie.

Existe una gran cantidad de estudios referentes a la biología de los organismos filtradores herbívoros, y particularmente sobre bivalvos. Esta situación conlleva a la utilización de técnicas muy diversas en la estimación de las variables fisiológicas básicas, como por ejemplo la tasa de filtración (Tenore y Dunstan, 1973).

En la literatura referente a este campo, se identifican dos métodos para estimar la cantidad de agua que pasa a través de la cavidad del manto de un bivalvo por unidad de tiempo. El método directo, que consiste en medir directamente la razón con la cual pasa el fluido por el sifón inhalante del organismo, y el método indirecto basado en la cantidad de las partículas

extraídas por unidad de tiempo de una suspensión de volumen conocido (Coughlan, 1969; All, 1970). Para diferenciarlas, la primera se denomina tasa de bombeo o de ventilación, y la segunda se conoce como tasa de filtración, la cual depende del poder de retención de las branquias del bivalvo (Coughlan y Ansell, 1964). La tasa de bombeo y la tasa de filtración son iguales solamente cuando la retención de las partículas en las branquias del bivalvo es eficiente al 100% (Vahl, 1972; Jorgensen, 1975; Molenberg y Riisgard, 1978).

La eficiencia de retención varía de acuerdo a la especie de bivalvo, como una función del tamaño de las partículas. Cuando las partículas cuyo diámetro es mayor de  $4 \mu\text{m}$ , la eficiencia de retención se aproxima al 100% (Newell, 1979). En base a esto, se consideró que Atrina tuberculosa filtró la suspensión de microalgas con un eficiencia del 100%, ya que el tamaño del diámetro de la microalga Isochrysis galbana fue de  $6.7 \mu\text{m}$ .

En la búsqueda de métodos cada vez más precisos para estimar la tasa de filtración en un sistema con fluido continuo, y con la condición de evitar al máximo la recirculación del agua por el organismo sujeto a experimentación, y mantener muy próximas las concentraciones  $C_1$  y  $C_0$ , Hildreth y Crisp (1976) determinaron una fórmula que no se encuentra correlacionada con la tasa del flujo de agua que

fluye a través del recipiente experimental.

Widdows (1985b) sugiere que la tasa mínima de flujo se debe determinar en base al volumen y a la geometría del recipiente experimental, porque ésta varía con la tasa de filtración y el tamaño del animal; y recomienda que "en caso de que no sea posible obtener con el equipo disponible tasas de flujo altas, para evitar la recirculación del agua por el animal, un procedimiento alternativo sería utilizar tasas de flujo bajas (como por ejemplo 50 ml/min), a través de los recipientes experimentales grandes (mayores que un litro de capacidad) y usar la aireación para mantener uniforme la distribución de las partículas".

Este mismo autor comparó las tasas de filtración de Mytilus edulis con tres métodos: uno con la modalidad de fluido cerrado con un volumen de cinco litros; y los otros dos con la modalidad de fluido continuo, uno de ellos con un recipiente de 0.4 litros de capacidad y una tasa de 160 ml/min, y el otro con un recipiente de 1.6 litros y una tasa de 60 ml/min; este autor no encontró diferencias significativas entre los tres métodos utilizados.

Alternativamente a los métodos indirectos mencionados arriba y para estimar la tasa de filtración, se ha seguido investigando en torno al problema a partir de métodos y

técnicas cada vez más sofisticadas como son las utilizadas por Famme et al. (1986) y Jorgensen et al. (1986), que consisten en separar físicamente los sifones inhalante y exhalante para determinar la tasa de bombeo.

En este estudio se tomaron en cuenta los criterios de Widdows (1985b) puesto que si se hubieran utilizado altas tasas en los flujos de los acuarios experimentales, el filtro biológico no habría soportado toda la descarga de microalgas y podría haber disminuido la calidad del agua de mar utilizada en los experimentos. Pese a estas medidas precautorias, se cambiaron mensualmente entre 2 000 y 3 000 de los 8 000 litros de agua de mar que contenía el filtro biológico.

En la mayoría de los estudios ecofisiológicos generalmente se experimenta con una sola variable bajo control, sin embargo, la posibilidad de estudiar las respuestas fisiológicas de un individuo, el cual es sometido simultáneamente a dos o más variables de magnitud semejante a las acontecidas en el medio ambiente natural, ofrece muchas ventajas porque permite obtener una información más acertada y con intervalos más amplios a consecuencia de la combinación de los factores tratados (Widdows, 1978a).

En los estudios relacionados con las tasas de filtración en función de la concentración del alimento, se han obtenido

muchos resultados discutibles y controversiales. Por ejemplo Widdows (1976), en un estudio hecho con Mytilus edulis, encontró que la tasa de filtración se mantuvo independiente con respecto a la concentración del alimento al utilizar concentraciones menores que 20 000 células/ml. Resultados semejantes han sido descritos por Thompson y Bayne (1974) y Foster-Smith (1975a) en un amplio rango de concentraciones que van desde 50 000 a 700 000 células/ml. Por otra parte, Winter (1973) ha asentado que la tasa de filtración de Mytilus edulis disminuyó cuando la concentración de microalgas se incrementó de 10 000 a 40 000 células/ml y de igual manera Schulte (1975) obtuvo resultados semejantes en un rango aún más amplio de concentraciones que fue de 10 000 a 100 000 células/ml.

En este estudio se encontró que la tasa de filtración de Atrina tuberculosa, reflejó tres patrones diferentes relacionados con cada nivel de temperatura donde se varió la concentración del alimento. En la temperatura de 17.0°C se observó que la tasa de filtración permaneció independiente con respecto a la concentración del alimento, y esto es muy probable que se deba a que en esta temperatura la actividad ciliar de las branquias disminuye. Resultados semejantes los obtuvieron Thompson y Bayne (1974) con M. edulis en un rango de concentración de partículas que va de 500 a 25 000 células/ml y a 15.0°C.

En la temperatura de 22.5 °C el patrón de variación de la tasa de filtración difiere del anterior, ya que se aumentó de 0.750 l/h/g P.S. en una concentración de alimento de 0.579 mg P.S.A./l a una tasa de filtración de 1.394 l/h/g P.S. en 1.195 mg P.S.A./l, para luego disminuir notoriamente a 0.443 l/h/g P.S. en 1.741 g.P.S.A./l lo que equivale aproximadamente al 41% de la tasa de filtración obtenida en 0.579 mgP.S.A./l. Esta tendencia coincide con la relación generalizada que existe entre la tasa de filtración y la concentración del alimento. Winter (1978) describió que a partir de bajas concentraciones de microalgas un incremento de éstas trae como consecuencia un ascenso rápido de la tasa de filtración, seguido de una tasa de filtración máxima la cual se independiza momentáneamente de la concentración del alimento, hasta llegar a un umbral de la concentración de microalgas donde la tasa de filtración manifiesta un descenso evidente.

En la temperatura de 28.0 °C la tasa de filtración aumentó al doble en el intervalo de la concentración de alimento que va de 0.579 mgP.S.A./l a 1.195 mg P.S.A./l y a partir del límite superior del intervalo anterior, la tasa de filtración continuó su incremento hasta 3.962 l/h/g P.S. en 1.741 mg P.S.A./l. Con estas respuestas fisiológicas en las condiciones experimentales tratadas queda establecido que nunca se llegó a un valor óptimo de la tasa de filtración de este organismo.

Hasta aquí es evidente que a diferentes niveles de temperatura, la respuesta a la tasa de filtración de A. tuberculosa a las diferentes concentraciones de alimento se ajustan a la relación generalizada entre la concentración del alimento y la tasa de filtración propuesta por Winter (1978). Sin embargo, como se verá más adelante esta relación generalizada no es del todo aplicable a los resultados obtenidos en esta investigación.

El efecto de la temperatura sobre la tasa de filtración ha sido un tema ampliamente estudiado en los bivalvos (Jorgensen, 1975; Winter, 1978). En este estudio los efectos térmicos sobre la tasa de filtración, indican un aumento notorio de ésta en los tres niveles de concentración del alimento y esto era de esperarse, debido al aumento de la actividad metabólica con el incremento de la temperatura, sin embargo, no se llegó a un límite crítico porque los organismos sujetos a experimentación estuvieron en condiciones de seguir aumentando su tasa de filtración.

La respuesta de A. tuberculosa a la tasa de filtración conforme se incrementa la temperatura, es semejante en forma parcial a las determinadas por All (1970) con Hiatella arctica que fue alimentada con Phaeodactylum tricornutum, en el rango de temperatura de 1.5 a 25.0 °C. Este autor repitió sus experimentos dos veces y encontró que la tasa de filtración

aumentó de manera casi exponencial hasta un valor máximo que corresponde a las temperaturas de 15.0 y 17.0 °C, posteriormente a temperaturas más altas la tasa de filtración disminuyó hasta valores cercanos a cero en 25.0 °C. Luego, concluye que las temperaturas en el rango de 15.0 a 18.0 °C son probablemente las óptimas para especies boreo-árticas, y las temperaturas de 20.0 a 25.0 °C son las óptimas para las especies donde se registran temperaturas cálidas. El análisis multivariado en el presente estudio demuestra la existencia del efecto de la temperatura y de la concentración del alimento sobre la tasa de filtración (página 36), pero en los resultados de las tasas de filtración estimadas para *A. tuberculosa* como una respuesta a las temperaturas ensayadas, no existen valores óptimos, pues la tasa de filtración siempre fue en aumento con los incrementos de la temperatura. También Theede (1963), Schulte (1975) y Widdows (1978a) trabajando con *M. edulis* obtuvieron valores máximos de la tasa de filtración con respecto a la temperatura.

En este tipo de investigaciones es necesario asegurarse que el deterioro de la calidad del agua no influya los resultados, para lo cual se deben determinar los niveles de excreción amoniacal durante la realización de cada experimento (Epifanio y Srna, 1975).

Considerando lo anterior, esta incógnita se despejó al medir en todas las combinaciones de temperatura y concentración

del alimento, la concentración de la excreción amoniacal que no superó los 0.203 mg/l, es decir menos de una parte por millón (página 37).

Durante las 12 horas que duró cada experimento, tiempo en el cual se estudió el proceso de filtroalimentación de A. tuberculosa, no se detectó la producción de pseudoheces, por lo tanto la tasa de clarificación debe considerarse equivalente a la tasa de ingestión, la cual a su vez está en función del tamaño del cuerpo del organismo, de la temperatura y de la concentración del alimento (Winter, 1978).

Particularmente en la temperatura de 17.0°C la tasa de clarificación más bien varió en función de la concentración del alimento más que con la tasa de filtración, ya que ésta permaneció independiente de la concentración de las microalgas (página 40). Sin embargo a 22.5 y 28.0°C la respuesta de A. tuberculosa en esta tasa de estuvo fuertemente asociada a la concentración del alimento y a la tasa de filtración. Estas tendencias concuerdan con el modelo generalizado propuesto por Winter (1978), en lo que se refiere a la tasa de ingestión del alimento ofrecido, donde primero se detecta una fase de aumento casi lineal de la tasa de clarificación en correspondencia a un aumento de la tasa de filtración hasta la fase estable de la tasa de filtración. La fase donde se estabiliza la tasa de clarificación y que corresponde al umbral donde se inicia el

decaimiento de la tasa de filtración no se identificó plenamente en este estudio, aunque en la temperatura de 22.5 °C se observó un valor máximo en las tasas de clarificación y de filtración en 1.195 mg P.S.A./l. Es probable que experimentando en torno a esta concentración de alimento, sea posible detectar la fase estable de la tasa de clarificación.

Por otra parte, de acuerdo al nivel de concentración de las microalgas utilizadas en este trabajo, la tasas de clarificación aumentaron constantemente al incrementar la temperatura concomitante con las tasas de filtración. Esto significa que en la capacidad de filtración es más importante el efecto cuadrático de la temperatura sobre A. tuberculosa en la tasa de filtración, lo cual significa que la capacidad de filtración de A. tuberculosa nunca estuvo en equilibrio con la tasa de filtración. Resultados semejantes fueron obtenidos por Winter (1969, 1970), en Arctica islandica y Modiolus modiolus en un rango de temperatura de 4.0 a 20.0 °C y una densidad de 20 000 células/ml. Este autor concluyó que la cantidad de alimento ingerido se incrementó con el aumento de la temperatura.

Como se podrá notar, la mayoría de los trabajos llegan a conclusiones apoyados en un solo factor, ya sea manteniendo la temperatura constante y variando la concentración del alimento o viceversa. Debido al diseño experimental de esta

Investigación fue posible detectar el efecto interactivo de la temperatura de la concentración del alimento sobre la tasa de clarificación.

Con excepción del término cuadrático de la concentración del alimento ( $A^2$ ) (página 41), todos los demás términos fueron altamente significativos ( $P < 0.001$ ), y el polinomio de segundo grado explicó el 87.83% de la variabilidad total. Esto reafirma la hipótesis de trabajo de la existencia de efectos combinados de la temperatura y de la concentración del alimento sobre la tasa de clarificación, donde destaca en el primer paso del ajuste, el efecto interactivo de la temperatura y de la concentración del alimento en la tasa de clarificación de A. tuberculosa (Tabla V).

Los valores de la eficiencia de asimilación reportados para los bivalvos difieren mucho (Foster-Smith, 1975b). Esta variable fisiológica es influenciada por la clase y calidad del alimento, y además por el estado fisiológico del animal; pero aún más importante es la influencia de la cantidad del alimento proporcionado (Bayne, 1985). En los experimentos realizados con A. tuberculosa, es notable la alta variabilidad de los datos obtenidos, sin embargo, es posible detectar tendencias semejantes a las observadas en otras especies de bivalvos.

En las temperaturas de 17.0 y 28.0 °C se advierte una

dismunución de la eficiencia de asimilación con el aumento de la ración del alimento ofrecido. Esta reducción fue significativa cuando la ración del alimento fue de 1.741 mg P.S.A./l (página 43). Resultados análogos obtuvo Winter (1969), cuando a 12.0°C alimentó a Arctica Islandica con tres concentraciones diferentes de Chlamydomonas sp. (10 000, 20 000, 40 000 células/l); lo que también concuerda con los obtenidos por Thompson y Bayne (1972) y Foster-Smith (1975b) con Mytilus edulis alimentado con Tetraselmis suecica y Phaeodactylum sp.. Sin embargo, los resultados de este estudio indican que en la temperatura de 22.5°C la situación es diferente (Tabla VI), debido a que la eficiencia de asimilación disminuyó de 55.76% en 0.579 mg P.S.A./l a 43.16% en 1.195 mg P.S.A./l pero se recupera hasta un 48.29% cuando la ración aumentó a 1.741 mg P.S.A./l. Es muy probable que la fluctuación descrita se deba a la cantidad del alimento depositado en el estómago de A. tuberculosa, y que la glándula digestiva haya sido incapaz de digerir todo el alimento ingerido. La suposición anterior se refuerza manifiestamente con el valor mínimo de la eficiencia de asimilación que se encontró cuando se detectó un valor alto de la tasa de clarificación; esta correspondencia también se observó en las temperaturas de 17.0°C y 28.0°C. Esto es congruente con los resultados obtenidos por Winter (1973) con Mytilus edulis, quien encontró que en períodos de relativamente baja actividad de filtración coinciden con uno de máxima actividad digestiva.

La variación de la eficiencia de asimilación en relación a los incrementos de la temperatura no tuvo una inclinación contundente hacia un aumento o una disminución; y por la alta fluctuación que tiene esta variable fisiológica, lo más probable es que sea independiente de la temperatura, como se observa en la concentración de alimento que correspondió a 1.741 mg P.S.A./l (página 43).

En los experimentos realizados por Winter (1969) con Modiolus modiolus y Arctica islandica, alimentados con una concentración de 20000 células/l de Chlamydomonas sp., encontró que la eficiencia de asimilación no cambió significativamente entre 4.0 y 12.0 °C, mientras que a 20.0 °C la eficiencia de asimilación aumentó notablemente a valores más altos que los observados a las bajas temperaturas. Contrariamente Buxton et al. (1981), no detectaron diferencias significativas en la eficiencia de asimilación, cuando sometieron a Ostrea edulis a la temperatura de 5.0, 10.0, 15.0, 20.0 y 25.0 °C con una concentración de 20 000 células/ml de Tetraselmis suecica.

Por otra parte Bayne et al. (1976) afirman que los organismos que habitan la zona litoral y estuarina, viven en un medio ambiente sujeto a variaciones diarias de la temperatura, ciclos de mareas y ciclos estacionales, por lo cual Mytilus sp. y otros invertebrados marinos serían capaces de aclimatarse a la temperatura, y la mayoría de sus respuestas se matendrían

relativamente independientes de ella.

En base al ajuste de los datos de la eficiencia de asimilación al polinomio de segundo grado (página 44), se aportan más bases que fortalecen la hipótesis de trabajo consistente en que el alimento ingerido a partir de las raciones alimenticias ofrecidas pueden influenciar significativamente la respuesta de *A. tuberculosa*. Lo anterior se infiere debido alto nivel de significancia ( $P < 0.001$ ) del efecto lineal de la concentración del alimento (A), ubicado en el primer paso del ajuste, mientras que el efecto cuadrático de la temperatura ( $T^2$ ) que se localiza en el tercer paso del ajuste resultó ser significativo ( $P < 0.01$ ), y es menos importante debido a que el coeficiente de correlación parcial correspondiente a este término, solo explica el 10.43% de la varianza total, mientras que el efecto lineal de la concentración del alimento explica el 23.70%.

En lo relacionado con el consumo de oxígeno por *A. tuberculosa* hubo algunas limitaciones técnicas como fue, la de no haber sido posible estimar esta variable fisiológica simultáneamente con la tasa de filtración, en cada combinación de temperatura y concentración de alimento, por la carencia de un respirómetro. Esto se resolvió utilizando todos los acuarios experimentales con un ejemplar de *A. tuberculosa* en volúmenes de 15 litros de agua de mar sellándolos con una capa

de aceite vegetal. En un experimento preliminar se observó que después de haber medido la cantidad de oxígeno consumido por esta especie, al extraer el animal, fue imposible evitar la penetración de una considerable cantidad de aceite vegetal, de tal manera que al sacrificarlos se observó que las branquias estaban bañadas de aceite. Por esto no fue posible hacer estimaciones del consumo de oxígeno cuando menos después de 12 horas de alimentación continua en cada combinación de temperatura y concentración de alimento, modalidad utilizada por Navarro y Winter (1982) y Rico (1987).

En consecuencia se decidió medir la tasa de consumo de oxígeno al final de los experimentos de cada nivel de temperatura; para lo cual los animales se mantuvieron durante 24 horas en inanición y simultáneamente se midió la excreción amoniacal correspondiente.

En la fisiología de peces, se han reconocido tres niveles de la tasa metabólica y son la estándar, de rutina y activa (Fry, 1947). Estas tasas metabólicas han sido determinadas en varias clases de invertebrados marinos (Newell, 1979; Bayne et al., 1976), y en particular con Mytilus edulis por Thompson y Bayne (1972).

El concepto de metabolismo estándar se refiere a la cantidad de energía mínima necesaria para mantener todas las

funciones vitales en un organismo inactivo. El metabolismo activo se refiere al consumo de oxígeno en condiciones de máxima actividad; mientras que el metabolismo de rutina es aquel que incluye la demanda de energía debida a la actividad espontánea. La cantidad de energía disponible para una realizar trabajo externo fue definida por Fry (1947) como campo de actividad, que se obtiene por la diferencia entre el metabolismo activo y el estándar.

Las tasas fisiológicas del consumo de oxígeno y de la excreción amoniacal de *A. tuberculosa* estimada, se ubican en este estudio entre el metabolismo de rutina y el estándar, debido a que los organismos después de haber permanecido sin suministrárseles alimento durante 24 horas previas a los experimentos, se les observó durante las estimaciones del consumo de oxígeno y de la excreción amoniacal una notoria cantidad de heces, y la causa se atribuye a que el agua de los acuarios de aclimatación que provenía del filtro biológico no fue filtrada, por filtros cunosemejantes a los utilizados en los experimentos donde se determinaron las tasas de filtración. La concentración de las partículas del agua sin filtrar (del tamaño de la microalga utilizada como alimento) fluctuó entre 80 y 150 partículas/ml y por esta razón las heces generadas en las primeras tres horas donde se estimó la eficiencia de asimilación fueron eliminadas, para asegurarse que la información recabada correspondiera exclusivamente a la

concentración de las microalgas utilizadas. En base a lo anterior se establece que las mediciones del consumo de oxígeno y de la excreción amoniacal corresponden al estado nutricional de *A. tuberculosa* al período de mantenimiento y aclimatación en las temperaturas establecidas.

Los efectos de las temperaturas en las tasas de consumo de oxígeno en los invertebrados marinos que habitan la zona intermareal, han sido ampliamente estudiados por Bayne et al. (1973). En la literatura se describen abundantes patrones de variación de esta respuesta metabólica de los organismos con respecto a la temperatura, como por ejemplo la correspondencia en parte, de la interacción entre la temperatura y los factores tales como el tamaño del cuerpo, el estado nutricional y el nivel de actividad, y estos a su vez relacionados con los efectos debidos a los cambios agudos de la temperatura o aquellos que resultan de los cambios en períodos de tiempo más largos de la temperatura del medio ambiente (Newell, 1979).

Las determinaciones de las tasas de consumo de oxígeno de *A. tuberculosa* registraron una tendencia a incrementar con respecto a la temperatura. Este aumento fue significativo únicamente entre 17.0 y 22.5 °C, mientras que de 22.5 a 28.0 °C no se encontraron diferencias significativas entre las tasas registradas (Tabla IX), a reserva de que en este intervalo térmico, la variabilidad de las mediciones individuales fue

alta, y estuvieron influenciadas por la fisiología propia de cada organismo, que responde de manera muy particular. La influencia positiva de la temperatura sobre el consumo de oxígeno ha sido encontrada en otras especies de invertebrados, como por ejemplo Crassostrea virginica (Dame, 1972), Mytilus edulis (Widdows, 1973) y Littorina littorea (Newell y Pye, 1971).

En relación al cambio de la tasa de excreción amoniacal con el aumento de temperatura, se detectó una tendencia análoga a la tasa del consumo de oxígeno. Esta tasa aumentó significativamente de 2.054 a 10.016  $\mu\text{g NH}_3/\text{h/g P.S.}$  en las temperaturas de 17.0 a 22.5 °C respectivamente, mientras que entre 22.5 y 28.0 °C el incremento no fue significativo. Estos resultados son comparativamente semejantes a los encontrados por Bayne y Scullard (1977), cuando sometieron a Mytilus edulis a las temperaturas de 11.0, 16.0 y 21.0 °C.

De las estimaciones utilizadas para determinar las tasas de consumo de oxígeno y de excreción amoniacal, se derivaron los cálculos que definieron los valores de la razón oxígeno-nitrógeno. Esta variable fisiológica se define como un índice que mide el balance entre las tasas del catabolismo de las proteínas, los carbohidratos y los lípidos; por lo tanto un valor de la tasa catabólica de las proteínas en relación a la tasa catabólica de los carbohidratos y de los lípidos, dan

como consecuencia resultados bajos de la razón O:N, lo cual indica que el organismo se encuentra en una condición de estrés.

En este estudio la razón O:N disminuyó con el aumento de la temperatura (página 49), y las pruebas estadísticas indican que existe un efecto significativo de la temperatura sobre la razón O:N, e indica la existencia de una condición de estrés experimental de A. tuberculosa en el laboratorio. Widdows (1978b) al realizar un estudio con Mytilus edulis, encontró que entre 20.0 y 25.0 °C la razón O:N disminuyó drásticamente y argumenta que además de la temperatura, la ración del alimento es un factor positivo que tiende a incrementar la razón O:N es decir, a disminuir el estado de estrés.

En A. tuberculosa hubo una disminución de la razón O:N y fue significativa entre las temperaturas de 17.0 y 22.5 °C, mientras que entre 22.5 y 28.0 °C no se registraron cambios significativos en esta razón (Tabla XIII).

Otros factores que influyen la razón O:N, son las variaciones estacionales en el medio ambiente que se reflejan a través de los ciclos reproductivos de los organismos, de manera tal que la razón O:N disminuye durante e inmediatamente después del período correspondiente al desove, y es comprensible que el

animal se encuentra en una condición fisiológica baja ya que está experimentando la autólisis del tejido que constituye el manto (Widdows, 1985a).

A los ejemplares de *A. tuberculosa* utilizados en las primeras dos temperaturas (17.0 y 22.5 °C) se les observó un alto grado de madurez sexual, en cambio los organismos ocupados en la temperatura experimental de 28.0 °C se les encontró totalmente desovados. Con el cálculo de la razón peso seco del tejido blando, peso seco de la concha muy usada como índice de condición (Lucas y Beninger, 1985), fueron semejantes en las temperaturas de 17.0 y 22.5 °C (0.134 y 0.125 respectivamente), mientras que a 28.0 °C esta razón bajó a 0.072.

En base a lo anterior es posible relacionar los valores de la razón O:N en cierto modo, con el índice de condición, sin embargo no es posible explicar satisfactoriamente la disminución del valor de la razón O:N detectado en la temperatura de 22.5 °C (Fig. 14).

El índice que incluye en su estimación varias de las respuestas medidas ya sea en el laboratorio o en el campo es la energía potencial de crecimiento (E.P.C.), y representa la cantidad de energía disponible de un individuo para el crecer somáticamente y para producir gametos (Warren y Davis, 1967). El cálculo de la E.P.C. en este estudio se basó en la

estimación del consumo de oxígeno y de la excreción amoniacal después de haber realizado todos los experimentos donde se determinaron las tasas de filtración, clarificación y eficiencia de asimilación, correspondientes a cada nivel de temperatura y concentración de alimento, procedimiento semejante al propuesto por Bayne et al. (1973) en donde inclusive no se consideró la energía perdida vía excreción amoniacal.

Los valores de la E.P.C. determinados en este trabajo (página 53) indican en general un aumento con respecto al incremento de la temperatura, de tal manera que en 17.0 y 28.0°C la E.P.C. aumentó constantemente con la concentración del alimento, y en la temperatura de 22.5°C se determinó un máximo de 4.59 Joules/h/g P.S. en 1.195 mg P.S.A./l. En consecuencia la variación de la E.P.C. esta relacionada estrechamente con la ración alimenticia ingerida. En la respuesta de *A. tuberculosa* a la E.P.C. destacan el nivel de significancia de la interacción entre la temperatura y la concentración del alimento (T\*A), los efectos lineales de la concentración del alimento (A) y la temperatura (T); estos tres términos explican el 80.38% de la varianza total de los datos ajustados por el polinomio de segundo grado (Tabla XV).

En este estudio *A. tuberculosa* y su comensal *P. pinnae* fueron considerados como la unidad experimental. Sin embargo,

en las observaciones *in situ* durante los experimentos de filtración, estos organismos mudaron en varias ocasiones en el interior de A. tuberculosa, razón por la cual es difícil evaluar la magnitud de la interferencia de P. pinnae en las respuestas fisiológicas medidas.

Las determinaciones del consumo de oxígeno y de la excreción amoniacal para P. pinnae a 17.0°C, equivalen en promedio al 4.33% y 10.56% respectivamente en relación a los totales medidos en los individuos de A. tuberculosa. La corrección a la información general discutida no fue hecha debido a que no se hicieron mediciones similares a los comensales en las temperaturas de 22.5 y 28.0°C. Se deduce que dependiendo de los porcentajes de oxígeno consumido y NH<sub>3</sub> excretado por este crustáceo en relación al total, los valores de la razón O:N podrían aumentar, debido al mayor porcentaje de amoníaco excretado en relación al consumo de oxígeno de estos comensales.

Courtney y Couch (1981) reportaron la presencia de Pontonia domestica en Atrina rigida, especie localizada en las costas del Golfo de México, Por otra lado Yoo y Kajihara (1985), Investigaron los efectos del parásito Pinnotheres pholadis (cangrejo chícharo) en la capacidad reproductiva del hospedero Mytilus edulis galloprovincialis. Según estos autores sus resultados indicaron que este cangrejo

retrasa el desarrollo de la gónada de este mejillón en aproximadamente un mes y provoca además una disminución en la tasa de engorda debido a la Intercepción del alimento; aclaran además que P. pholadis en si no impide el desove del mejillón, pero si reduce el número de células reproductivas.

Lo anterior significa que se debe estudiar más profundamente la relación entre Pontonia pinnae y Atrina tuberculosa, por que debido a su tamaño (Tabla XVI), se encuentra ocupando un espacio que le corresponde a la gónada del hospedero, por otra parte no se conoce que tan estrecha es la relación entre estos organismos y en que medida afecta al desarrollo de A. tuberculosa.

## VI. CONCLUSIONES.

En las condiciones establecidas en este estudio, los factores de temperatura y de concentración del alimento influyeron sinérgicamente en las respuestas de Atrina tuberculosa a las tasas de filtración, clarificación y energía potencial de crecimiento. En general estas tasas siempre aumentaron al incrementar la temperatura.

La concentración del alimento afectó significativamente la eficiencia de asimilación. En general los valores más altos de la eficiencia de asimilación se registraron en la concentración más baja del alimento.

Los valores de las respuestas fisiológicas de A. tuberculosa a las tasas de filtración, clarificación y energía potencial de crecimiento, fueron más bajas en la temperatura de 17.0°C en comparación con los registrados a 28.0°C.

Las tasas del consumo de oxígeno y de la excreción amoniacal aumentaron significativamente entre las temperaturas de 17.0 y 22.5°C, mientras que entre las temperaturas de 22.5 y 28.0°C no se detectó un aumento significativo.

La razón O:N decreció significativamente entre las temperaturas de 17.0 y 22.5°C, mientras que de los

22.5 a los 28.0 °C la disminución de esta variable no fue significativa.

Los valores registrados de la E.P.C. correspondiente a A. tuberculosa fueron positivos, con excepción de los estimados en las temperaturas de 17.0 y 22.5 °C y en una concentración del alimento de 0.579 mg P.S.A./l. Por lo tanto para mantener a este organismo en buenas condiciones experimentales de laboratorio pueden considerarse las otras concentraciones de alimento ensayadas y particularmente la temperatura de 28.0 °C.

En general se observó que A. tuberculosa nunca reflejó valores óptimos en las estimaciones de las tasas de filtración, clarificación y energía potencial de crecimiento, de igual forma no se observaron valores máximos en la eficiencia de asimilación; lo cual deja abierta la posibilidad de redimensionar la temperatura y la concentración del alimento ampliando los niveles superiores de estos factores.

La excreción amoniacal de Pontonia pinnae influyó las mediciones de la excreción amoniacal de A. tuberculosa, por lo cual es necesario separar ambas fuentes de producción de amoníaco.

## LITERATURA CITADA.

- Agullar, F.I. 1964. Contribución al estudio histológico de las gónadas de Atrina maura Sowerby, 1835. (Mollusca, Pinnidae). Tesis profesional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional, México: 84 pp..
- Aguirre, H.E. 1987. Análisis de la fijación, crecimiento y sobrevivencia del mejillón Modiolus capax (Conrad) (Bivalvia-Mytilidae) durante el desarrollo de una comunidad sobre sustratos artificiales en la Bahía de los Angeles B. C.. Tesis de Maestría en Ciencias, CICESE, México. 106 pp..
- Alderdice, D.F. 1972. Factor Combinations. Responses of marine polkilotherms to environmental factors acting in concert. pp. 1159-1272 In: Marine Ecology, 1: Environmental factors. Ed: O. Kinne, Wiley-Interscience, Lond.
- All, R.M. 1970. The influence of suspension density and temperature on the filtration rate of Hiatella arctica. Mar. Biol., 6: 291-302.
- Baqueiro, C.E. 1984. Status of molluscan aquaculture on the

Pacific coast of México. *Aquaculture*, 39: 83-93.

Bayne, B.L., Thompson, R.J. and Widdows, J. 1973. Some effects of temperature and food on the rate oxygen consumption by Mytilus edulis L.. pp. 181-193 In: *Effects of Temperature on Ectothermic Organisms*. Ed: W. Welser. Springer-Verlag, Berlin.

Bayne, B.L. 1975. Aspects of physiological condition in Mytilus edulis (L.), with special reference to the effects of oxygen tension and salinity. pp. 213-328 In: *Proc. 9th Europ. Mar. Biol. Symp.* Ed: Barnes. Aberdeen Univ. Press..

Bayne, B.L., Thompson, R.J. and Widdows, J. 1976. *Physiology: In Marine mussels: Their ecology and physiology*, edited by B.L. Bayne, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 121-206.

Bayne, B.L. and Scullard, C. 1977. An apparent specific dynamic action in Mytilus edulis L.. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 57: 371-378.

Bayne, B.L. and Widdows, J. 1978. The physiological Ecology of two populations of Mytilus edulis L.. *Oecologia (Berl.)* 37, 137-162.

- Bayne, B.L. (ed.). 1985. Ecological consequences of stress. En: Bayne, B.L. (ed.). The effects of stress and pollution on marine animals. Praeger Scientific Studies, New York, pp. 141-135.
- Brusca, R.C. 1980. Common Intertidal Invertebrates of the Gulf of California. Second Edition. The University of Arizona Press. 513 pp..
- Butler, A.J. and Brewster, F.J. 1979. Size distribution and growth of the fan shell, Pinna bicolor Gmlin (Mollusca: Eulamellibranchia) in South Australia. Aust. J. Mar. Freshwater Rev., 30: 25-39.
- Buxton, C.D., Newell, R.C. and Field, J.G. 1981. Response-Surface analysis of the combined effects of exposure and acclimation temperatures on filtration, oxygen consumption and scope for growth in the oyster Ostrea edulis. Mar. Ecol. Prog. Serv. Vol. 6: 73-82.
- Cendejas, J.M., Carvallo, M.G. and Juárez, L.M. 1985. Experimental spat collection and early growth of the pen shell, Pinna rugosa (Pelecypoda: Pinnidae), from the Gulf of California. Aquaculture, 48: 331-336.

- Conover, R.J. 1966. Assimilation of organic matter by zooplankton. *Limnol. Oceanogr.* 11: 338-354.
- Coughlan, J. 1969. The estimation of filtering rate from the clearance of suspensions. *Mar. Biol.*, 2: 356-358.
- Coughlan, J. and Ansell, A.D. 1964. A direct method for determining the pumping rate of siphonate bivalves. *J. Cons. Int. explor. Mer.*, 29: 205-213.
- Courtney, L.A. and Couch, J.A. 1981. Aspects of the host-comensal relationship between a palaemonid shrimp (Pontonia domestica) and the pen shell (Atrina rigida). *Northeast Gulf Science*. Vol. 5 No. 1: 49-54.
- Crisp, D.J. 1971. Energy flow measurements. In: *Methods for the study of marine benthos*, edited by N.A. Holme and A.D. McIntyre, Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 197-279.
- Cruz, C.F. y Rueda, C.I. 1981. Riqueza pesquera y pobreza de los pescadores. Cuadernos para trabajadores. Cuaderno No. 5. Editorial Cuadernos para trabajadores. Centro de Estudios del Desarrollo. Fac. Cienc. Polít. y Soc., Univ. Nal. Autón. de México. 45 pp..

- Dame, R.F. 1972. The ecological energetics of growth, respiration and assimilation in the Intertidal American oyster Crassostrea virginica. Mar. Biol., 17: 243-250.
- Elliot, J.M. and Davison, W. 1975. Energy equivalents of oxygen consumption in animal energetics. Oecologia (Berl.) 19, 195-201.
- Epifanio, C.E. and Srna, R. 1975. Toxicity of ammonia nitrite ion, nitrate ion, and orthophosphate to Mercenaria mercenaria and Crassostrea virginica. Mar. Biol., 231-236.
- Famme, P., Riisgard, H.U. and Jorgensen, C.B. 1986. On direct measurement of pumping rates in the mussel Mytilus edulis. Mar. Biol. 92, 323-327.
- Figueras, A. 1976. Desarrollo actual del cultivo del mejillón (Mytilus edulis L.) y posibilidades de expansión. En: Advances in Aquaculture, T.V.R. Pillay y W.A. Dill (Eds.) Fishing News (Brooks) Ltd. Farnham, Surrey. pp. 361-370.
- Foster-Smith, R.L. 1975a. The effect of concentration of suspension on the filtration rates and pseudofaecal production for Mytilus edulis L., Cerastoderma edule (L.)

- and Venerupis pullastra (Montagu). J. exp. mar. Biol. Ecol., 17: 1-22.
- Foster-Smith, R.L. 1975b. The effect of concentration of suspension and inert material on the assimilation of algae by three bivalves. J. mar. biol. Ass. U.K., 55: 411-418.
- Fry, F.I.J. 1947. Effects of the environment on animal activity. Univ. Toronto Studies Biol. Ser. 55; Publs Ont. Fish. Res. Lab. 68, 1-62.
- Gulliard, R.R.L. and Ryther, R.J. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. Cyclotella nana Hustedt and Detonula confervacae. (Cleve). Can. J. Microbiol. 8: 229-239.
- Hildreth, D.I. and Crisp, D.J. 1976. A corrected formula for calculation of filtration rate of bivalve molluscs in an experimental flowing system. J. mar. biol. Ass. U.K., 56: 111-120.
- Holgún, Q.O. 1975a. Trasplante de "callo de hacha" en Bahía de la Paz. Boletín Informativo No. 26. Estación de Investigación Pesquera. La Paz B. C. S.. I.N.P.

- Holgún,Q.O. 1975b. El "callo de hacha" y su crecimiento. Boletín Informativo No. 28. Estación de Investigación Pesquera. La Paz B. C. S.. I.N.P..
- Ivlev,V.S. 1939. Energy balance of carps. Zool. Zh., 18: 303-318 (Russian with English Summary).
- Jorgensen,C.B. 1975. Comparative physiology of suspension feeding. Ann. Rev. Physiol., 37: 57-79.
- Jorgensen,C.B., Famme,P., Kriestensen,H.S., Larsen,P.S., Mohlenberg,F. and Riisgard,H.U. 1986. The bivalve pump. Mar. Ecol. Prog. Serv., Vol. 34: 69-77.
- Keen,M.A. 1971. Sea shell of tropical West America. Second ed.. Stanford University Press. Palo Alto, CA, 1064 pp..
- Kramer,C.Y. 1956. Extension of multiple range tests to group means with unequal numbers of replications. Biometrics 12: 307-310.
- Kruskal,W.H. and Wallis,W.A. 1952. Use of ranks in one-criterion analysis of variance. J. Amer. Statist. Assoc. 47: 583-621.
- Lucas,A. and Beninger,P.G. 1985. The use of physiological

- condition Indices In marine bivalve aquaculture. Aquaculture, 44: 187-200.
- Mohlenberg, F. and Riisgard, H.U. 1978. Efficiency of particle retention in 13 species of suspension feeding bivalves. Ophelia 17, 239-246.
- Navarro, J.M. and Winter, J.E. 1982. Ingestion rate, assimilation efficiency and energy balance in Mytilus chilensis in relation to body size and different algal concentrations. Mar. Biol. 67: 255-266.
- Newell, R.C. and Pye, V.I. 1971. Quantitative aspects of the relationship between metabolism and temperature in the winkle Littorina littorea (L.). Comp. Biochem. Physiol., 38B: 635-650.
- Newell, R.C. 1979. Biology of Intertidal animals, 3rd ed., Marine Ecological Surveys Ltd., Faversham, Kent, 781 pp.
- Noguera, F.O. y Gómez, A.S. 1972. Ciclo sexual de Pinna rugosa Sowerby (Lamellibranchia, Pinnidae) de la Paz, B. C., México. Mem. IV Congr. Nac. Ocean. (México): 273-283.
- Rico, M.R. 1987. Efecto interactivo de la temperatura y de la

- concentración de microalgas en la fisiología alimenticia y la energía potencial para el crecimiento de Modiolus capax (Conrad) (Bivalvia: Mytilidae). Tesis de Maestría en Ciencias, CICESE, México. 91 pp.
- Rosewater, J. 1961. The family Pinnidae in the Indo-Pacific. Indo-Pacific Mollusca, Vol. 1, No. 4: 175-226.
- Schulte, E.H. 1975. Influence of algal concentration and temperature on the filtration rate of Mytilus edulis. Mar. Biol., 30: 331-341.
- Snedecor, G.W. and Cochran, W.G. 1980. Statistical methods. 7th edition, The Iowa State University Press. 507 pp..
- Sokal, R.R. y Rohlf, F.J. 1979. Biometría. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica. H. Blume Ediciones. 832 pp..
- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1960. Principles and procedures of statistics. McGraw-Hill Book Company, New York. 481 pp.
- Taguchi, Q.O. 1976. Japanese scallop culture techniques boost yields. Aust. Fish., pp. 20-23.

- Tenore, K.R. and Dunstan, W.M. 1973. Comparison of feeding and biodeposition of three bivalves at different food levels. *Mar. Biol.*, 21: 190-195.
- Theede, H. 1963. Experimentelle Untersuchungen über die Filtrationsleistung der Miesmuschel, Mytilus edulis L.. *Keller Meeresforsch.*, 19: 20-41.
- Thompson, R.J. and Bayne, B.L. 1972. Active metabolism associated with feeding in the mussel, Mytilus edulis L.. *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, 9: 111-124.
- Thompson, R.J. and Bayne, B.L. 1974. Some relationships between growth, metabolism and food in the mussel, Mytilus edulis. *Mar. Biol.* 27, 317-326.
- Vahl, O. 1972. Efficiency of particle retention in Mytilus edulis L.. *Ophelia*, 10: 17-25.
- Warren, C.E. and Davis, G.E. 1967. Laboratory studies on the feeding, bioenergetics and growth of fish. pp. 175-214 In: *The Biological Basis of Freshwater Fish Production*. Ed: S.D. Gerking. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Widdows, J. and Bayne, B.L. 1971. Temperature acclimation of

- Mytilus edulis with reference to its energy budget. J. mar. biol. Ass. U.K., 51: 827-843.
- Widdows, J. 1973. Effect of temperature and food on the heart beat, ventilation rate and oxygen uptake of Mytilus edulis. Mar. Biol. 20: 269-276.
- Widdows, J. 1976. Physiological adaptation of Mytilus edulis L. to cyclic temperatures. Journal of Comparative Physiology, 105: 115-128.
- Widdows, J. 1978a. Combined effects of body size, food concentration, and season on the physiology of Mytilus edulis. J. mar. biol. Ass. U.K. 58, 109-124.
- Widdows, J. 1978b. Physiological indices of stress in Mytilus edulis. J. mar. biol. Ass. U.K., 58: 125-142.
- Widdows, J. 1985a. Physiological measurements. En: Bayne, B.L. (ed.). The effects of stress and pollution on animals. Praeger Scientific Studies New York, pp. 3-39
- Widdows, J. 1985b. Physiological procedures. En: Bayne, B.L. (ed.). The effects of stress and pollution on marine animals. Praeger Scientific Studies, New York, pp. 161-178.

Winter, J.E. 1969. Über den Einfluss der Nahrungskonzentration und anderer Faktoren auf Filtrierleistung und Nahrungsausnutzung der Muscheln Arctica islandica und Modiolus modiolus. Mar. Biol., 4: 87-135.

Winter, J.E. 1970. Filter feeding and food utilisation in Arctica islandica L. and Modiolus modiolus L. at different food concentrations. pp. 196-206 In: Marine Food Chains. Ed: J.H. Steele. Oliver and Boyd, Edinburgh.

Winter, J.E. 1973. The filtration rate of Mytilus edulis and its dependence on algal concentration, measured by a continuous automatic recording apparatus. Mar. Biol., 22: 317-328.

Winter, J.E. 1978. Fundamental knowledge of suspension-feeding in lamellibranchiate bivalves, with special reference to artificial aquaculture systems. Aquaculture, 13: 1-13.

Yoo, M.S. and Kajihara, T. 1985. The effect of the pea crab (Pinnotheres pholadis) on the reproductive capacity of the blue mussel (Mytilus edulis galloprovincialis). Bull. Korean Fish. Soc., Vol. 18, No. 6, pp. 581-585.