# CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE EDUCACIÓN SUPERIOR DE ENSENADA



## PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN ACUICULTURA

# CONSUMO DE OXÍGENO Y EXCRECIÓN AMONIACAL EN LARVAS FILOSOMAS DE ESTADIOS I Y II DE LA LANGOSTA ROJA, *Panulirus interruptus* (RANDALL, 1840), DURANTE EL DÍA Y LA NOCHE

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

FRANCISCO GALICIA GALICIA

Ensenada, Baja California, México, noviembre del 2006.

TESIS DEFENDIDA POR **Francisco Galicia Galicia** Y APROBADA POR EL SIGUIENTE COMITÉ

> Dr. Eugenio Díaz Iglesias Director del Comité

Dra. Bertha Eugenia Lavaniegos Espejo *Miembro del Comité*  Dr. Luis Fernando Bückle Ramírez

Miembro del Comité

Dr. Alexei Fedórovish Licea Navarro

*Coordinador del programa de posgrado en Acuicultura*  *Dr. Edgar Gerardo Pavía López* Director de Estudios de Posgrado

21 de noviembre del 2006

# CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE EDUCACIÓN SUPERIOR DE ENSENADA



## PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN ACUICULTURA

# CONSUMO DE OXÍGENO Y EXCRECIÓN AMONIACAL EN LARVAS FILOSOMAS DE ESTADIOS I Y II DE LA LANGOSTA ROJA, *Panulirus interruptus* (RANDALL, 1840), DURANTE EL DÍA Y LA NOCHE

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

FRANCISCO GALICIA GALICIA

Ensenada, Baja California, México, noviembre del 2006.

**RESUMEN** de la tesis de **Francisco Galicia Galicia**, presentada como requisito parcial para la obtención del grado de MAESTRO EN CIENCIAS con orientación en ACUICULTURA. Ensenada, Baja California. Noviembre del 2006.

## CONSUMO DE OXÍGENO Y EXCRECIÓN AMONIACAL EN LARVAS FILOSOMAS DE ESTADIOS I Y II DE LA LANGOSTA ROJA *Panulirus interruptus* (RANDALL, 1840) DURANTE EL DÍA Y LA NOCHE

Resumen aprobado por:

Dr. Eugenio Díaz Iglesias Director de Tesis

La pesquería de langostas tiene una importancia económica en México y diversas partes de mundo, sobre todo las especies que pertenecen a la familia Palinuridae. En México destaca la langosta roja *Panulirus interruptus* y la langosta del caribe *P. argus*. Sin embargo, su explotación se encuentra en el máximo permisible y la acuicultura no se ha desarrollado por falta de una metodología que permita el cultivo de los estadios larvarios. Se han realizado investigaciones en cuanto a su alimentación, sistemas de cultivo y patología, siendo aún insuficientes. Dado a la importancia en el conocimiento de la bionergética de los organismos, en este trabajo se midió el consumo de oxígeno y excreción amoniacal diurna y nocturna, así como también se calculó la relación oxígeno – nitrógeno en larvas filosomas de los estadios I y II de la langosta roja *P. interruptus* cultivadas en laboratorio a 21°C.

Durante el ayuno de las larvas filosomas se observó un descenso continuo en el consumo de oxígeno, de 5.29 mg  $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$  en la primera hora a 3.54 mg  $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$  a las catorce horas, siendo significativamente diferentes (p < 0.01\*\*). El estado postabsortivo se alcanzó después de 13.5 horas de ayuno, por lo cual se consideró colocar las larvas filosomas en ayuno antes de realizar las mediciones del consumo de oxígeno y excreción amoniacal.

El consumo de oxígeno diurno fue significativamente mayor que el nocturno en ambos estadios. En el primer estadio hubo un consumo de oxígeno de 4.28 mg  $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$  en el día y de 3.66 mg  $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$  en la noche, por su parte en el segundo estadio fue de 3.8 y 3.17 mg  $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$  respectivamente. En la excreción amoniacal no hubo diferencias significativas manteniéndose entre 0.011 y 0.095 mg NH<sub>4</sub> · g^{-1} · h^{-1} en larvas del primer estadio y entre 0 y 0.65 mg NH<sub>4</sub> · g^{-1} · h^{-1} en el segundo estadio. El consumo de oxígeno y la excreción amoniacal fue significativamente mayor en el primer estadio. Por otro lado, en la relación oxígeno – nitrógeno diurna y nocturna no hubo diferencias significativas, registrando una relación de 59.1 a 422.4 en los dos estadios, esto representa un catabolismo que va desde mezclas iguales de proteínas y lípidos hasta la utilización de lípidos y carbohidratos.

**Palabras clave**: Langosta roja, *Panulirus interruptus*, larvas filosomas, consumo de oxígeno, excreción amoniacal, diurno, nocturno, ayuno.

**ABSTRACT** of the thesis presented by **Francisco Galicia Galicia** as a partial requirement to obtain the MASTER OF SCIENCE degree with orientation in AQUACULTURE. Ensenada, Baja California, Mexico. November 2006.

## OXYGEN CONSUMPTION AND AMMONIUM EXCRETION IN PHYLLOSOMA LARVAE OF THE STAGE I AND II OF RED LOBSTER, *Panulirus interruptus* (RANDALL, 1840), DURING THE DAYTIME AND NIGHTTIME

Lobster fishery of family Palinuridae species, are economy important in Mexico and different part of Word. In Mexico detach *Panulirus interruptus* and *P. argus*. However, its exploitation is near to the maximum acceptable, and aquaculture himself has not development by absent of methodology that permits the culture of phyllosoma larvae. Investigations have been to make above yours alimentation, culture systems and pathology, being even not sufficient. The knowledge of the bioenergetic of organism is important therefore in this work is measured the nocturnal and diurnal oxygen consumption and ammonium excretion is measured as well as is calculated oxygen – nitrogen ratio in phyllosoma larvae of stage I and II of red lobster *P. interruptus* cultivated in laboratory of 21°C.

During the starvation of the larvae filosomas a continuous descent in the oxygen consumption was observed, of 5.29 mg  $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$  in the first hour to 3.54 mg  $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$  at fourteen hour, being significantly different (p <0.01\*\*). The state postabsorptive was reached after 13.5 hours of starvation, by which was considered to place the phyllosoma larvae in starvation before carrying out the measurements of the oxygen consumption of oxygen and ammonium excretion.

Diurnal oxygen consumption is significant larger that nocturnal in start I and II. In stage I hands oxygen consumption of 4.28 mg  $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$  in daytime and 3.66 mg  $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$  in nighttime, in turn in second stage went of 3.8 y 3.17 mg  $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$  respectively. Ammonium excretion do not there was significant differences, maintained among 0.011 and 0.095 mg NH<sub>4</sub> · g^{-1} \cdot h^{-1} in larvae of the first stage and among 0.0 and 0.65 mg NH<sub>4</sub> · g^{-1} \cdot h^{-1} in the second start. Oxygen consumption and ammonium excretion had larger in stage I that in star II. Among diurnal and nocturnal ratio oxygen – nitrogen do not there was differences significant, registering a ratio of 59.1 to 422.4 in both stage. This represents a catabolism that goes since equal mixtures of protein and lipid in same quantity to utilization of lipids and carbohydrates.

**Keywords:** Red lobster, *Panulirus interruptus*, phyllosoma larvae, oxygen consumption, ammonium excretion, diurnal, nocturnal, starvation.

## DEDICATORIAS

A mis padres:

Francisco Galicia Hernández y Luz María Galicia Flores

A mis hermanos:

Virginia Juliani, Luís Alberto, Verónica y José Guadalupe

A mi hija:

Itzel Alejandra Galicia Copalcua

A mis abuelos:

Francisco Galicia Reyes y Marina Flores Jácome

A mi tío:

Delfino Galicia Hernández

A la Sra.

Guadalupe García Reyes

### AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis Dr. Eugenio Díaz Iglesias por el apoyo recibido, por la paciencia y por la formación que me aportó.

A mis sinodales Dr. Luís Fernando Bückel Ramírez y Dra. Bertha Eugenia Lavaniegos Espejo, dado que siempre tuvieron entusiasmo para que el trabajo saliera lo mejor posible.

Al Concejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada.

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada por la formación académica.

A la Asociación Pesquera REGASA de El Rosario, Ensenada, B. C. por la donación de hembras ovígeras.

## CONTENIDO

# Página

I. INTRODUCCIÓN	1
II. HIPÓTESIS	13
III. OBJETIVOS	13
III.1. Objetivo general	13
III.2. Objetivos particulares	13
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	14
IV.1. Obtención de larvas filosomas	14
IV.2. Descripción del sistema de cultivo	14
IV.3. Siembra de larvas y mantenimiento del sistema	16
IV.4. Alimentación	18
IV.5. Determinación del consumo de oxígeno, de la excreción	
amoniacal y del peso seco	18
IV.6. Determinación de la relación oxígeno – nitrógeno	20
IV.7. Determinación de inicio del tiempo postabsortivo	21
IV.8. Determinación del metabolismo diurno y nocturno	22
IV.9. Análisis estadístico	23
V. RESULTADOS	24
V.1. Longitud y peso de las larvas filosomas	24
V.2. Consumo de oxígeno y excreción amoniacal a diferentes	
tiempos de ayuno	25
V.3. Consumo de oxígeno diurno y nocturno	32
V.4. Excreción amoniacal diurna y nocturna	33
V.5. Relación oxígeno – nitrógeno diurna y nocturna	34
VI. DISCUSIONES	36
VII. CONCLUSIONES	42
VIII. RECOMENDACIONES	43

# CONTENIDO (continuación)

# Página

IX. LITERATURA CITADA	44
X. APÉNDICE	56
X.1. Experimentos preliminares sobre el consumo de oxígeno	
y excreción amoniacal	52
X.2. Longitud de Artemia sp	56
X.3. Longitud y peso seco de las larvas filosomas	
de <b>Panulirus interruptus</b>	57
X.4. Consumo de oxigeno, excreción amoniacal y relación	
oxígeno – nitrógeno de las larvas filosomas	59

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Langosta roja Panulirus interruptus	1
2	Distribución de las langostas espinozas <i>P. interruptus</i> y <i>P. argus</i> en México	3
3	Huevos de langosta roja P. interruptus	5
4	Larva filosoma en estadio I de la langosta roja <i>P. interruptus</i> tomada de Johnson (1956).	6
5	Recipiente de cultivo de Hughes (1974) para larvas filosomas. El agua es inyectada en el fondo para crear corrientes de afloramiento	15
б	Esquema que representa el sistema de cultivo para larvas filosomas	16
7	Respirómetro: (a) oxímetro, (b) cámara respirométrica, (c) electrodo y (d) cámara refrigerante	19
8	Consumo de oxígeno en las larvas filosomas del estadio I a diferentes tiempos de ayuno. El punto indica la media, el cuadro el error estándar de 0.95 y la línea vertical la desviación estándar de 0.95. Las letras señalan diferencias significativas de acuerdo a la prueba estadística <i>a posteriori</i> de Tukey con p < 0.05	26
9	Excreción amoniacal de las larvas filosomas del estadio I a diferentes tiempos de ayuno. El punto indica la media, el cuadro el error estándar de 0.95 y la línea vertical la desviación estándar de 0.95. Las diferencias significativas se muestran con letra de acuerdo a la prueba estadística <i>a posteriori</i> de Tukey con p < 0.05	28
10	Relación oxígeno – nitrógeno de larvas filosomas del estadio I a diferentes tiempos de ayuno. El punto indica la media, el cuadro el error estándar de 0.95 y la línea vertical la desviación estándar de 0.95	30
11	Regresión del consumo de oxígeno en las larvas filosomas del estadio I a diferentes tiempos de ayuno. Las líneas punteadas indican el intervalo de confianza de 0.95	31

## LISTA DE FIGURAS (continuación)

Figura		Página
12	Regresión del consumo de oxígeno en las larvas filosomas del estadio I y II en función de la concentración de oxígeno en el agua. La línea superior representa a el estadio II y la línea inferior al estadio I	53
13	Regresión de la excreción amoniacal de las larvas filosomas a diferentes tiempos de ayuno. Las líneas puntuadas indican el intervalo de confianza del 0.95 y las letras denotan diferencias significativas ( $p < 0.01^{**}$ ) de acuerdo a la prueba estadística <i>a posteriori</i> de Tukey	55

## LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
I	Factores fisicoquímicos registrados durante el cultivo de las larvas filosomas	17
II	Promedio y desviación estándar de la longitud y peso seco de las larvas filosomas cultivadas en laboratorio. También se muestran los resultados de la prueba estadística "t Student" entre estadios en la cohorte dos y entre cohortes para el estadio uno	24
111	Consumo de oxígeno por las larvas filosomas del estadio I a diferentes tiempos de ayuno	25
IV	Análisis de varianza de dos vías del consumo de oxígeno en las larvas filosomas del estadio I a diferentes tiempos de ayuno	25
V	Excreción amoniacal de las larvas filosomas del estadio I a diferentes tiempos de ayuno	27
VI	Análisis de varianza de dos vías de la excreción amoniacal en las larvas filosomas del estadio I a diferentes tiempos de ayuno	27
VII	Relación oxígeno - nitrógeno de las larvas filosomas del estadio I a diferentes tiempos de ayuno	29
VIII	Análisis de varianza de dos vías de la relación oxígeno - nitrógeno en las larvas filosomas del estadio I a diferentes tiempos de ayuno	29
IX	Consumo de oxígeno diurno y nocturno en las larvas filosomas del estadio I y II de la langosta <i>P. interruptus</i>	32
Х	Comparación entre el consumo de oxígeno diurno y nocturno en las larvas filosomas utilizando la prueba estadística "t Student"	32

## LISTA DE TABLAS (continuación)

Tabla		Página
XI	Excreción amoniacal diurna y nocturna en las larvas filosomas del estadio I y II de la langosta roja <i>P. interruptus</i>	33
XII	Comparación entre la excreción amoniacal diurna y nocturna de las larvas filosomas utilizando la prueba estadística "t Student"	33
XIII	Relación oxígeno – nitrógeno diurna y nocturna de las larvas filosomas del estadio I y II de la langosta <i>P.</i> <i>interruptus</i>	34
XIV	Comparación entre la relación oxígeno – nitrógeno diurna y nocturna de en las larvas filosomas utilizando la prueba estadística "t Student"	35
XV	Consumo de oxígeno, excreción amoniacal y relación oxígeno – nitrógeno en larvas filosomas de <i>P. interruptus</i> en estadio I.	52
XVI	Consumo de oxígeno, excreción amoniacal y relación oxígeno – nitrógeno en larvas filosomas de <i>P. interruptus</i> en estadio II	53
XVII	Excreción amoniacal a diferentes tiempos de ayuno en larvas filosomas del estadio II	54
XVIII	Análisis de varianza de dos vías de la excreción amoniacal en las larvas filosomas en estadio II a diferentes tiempos de ayuno	54
XIX	Longitud de la <i>Artemia franciscana</i> con diferentes tiempos de incubación	56
XX	Longitud total en milímetros de las larvas filosomas de la cohorte uno y dos	57

## LISTA DE TABLAS (continuación)

Tabla		Página
XXI	Peso seco en µg de las larvas filosomas de la cohorte uno y dos	58
XXII	Consumo de oxígeno, excreción amoniacal y relación O:N a diferentes tiempos de ayuno en larvas filosomas en estadio I	59
XXIII	Consumo de oxígeno, excreción amoniacal y relación O:N durante el día de las larvas filosomas en estadio I	60
XXIV	Consumo de oxígeno, excreción amoniacal y relación O:N durante la noche de las larvas filosomas en estadio I	61
XXV	Consumo de oxígeno, excreción amoniacal y relación O:N durante el día de las larvas filosomas en estadio II	62
XXVI	Consumo de oxígeno, excreción amoniacal y relación O:N durante la noche de las larvas filosomas en estadio II	63

## I. INTRODUCCIÓN

Se les conoce con el nombre de langostas a los decápodos de las familias Homaridae, Nephropsidae, Palinuridae y Scyllaridae, sin embargo, el término se aplica principalmente a las especies de la familia Palinuridae (Figura 1), también conocidas como langostas espinosas (Gracía y Kensler, 1980).

Las langostas son un producto pesquero muy apreciado en México y en otros países (Nowark, 1970; Gracía y Kensler, 1980; Palero-Pastor, 2004), ya que es bien cotizado y tiene una gran demanda (Lozano-Álvarez, *et al.*, 1981). La pesquería de langosta constituye una actividad importante, sobre todo en la parte noroeste del país, donde la especie *Panulirus interruptus* Randall (1840) es abundante (Gracia y Kensler, 1980).



Figura 1. Langosta roja Panulirus interruptus.

Las costas mexicanas albergan siete especies de langostas espinosas del género Panulirus (Briones-Fourzán y Lozano-Álvarez, 2000). La langosta roja de California *P. interruptus* y la langosta del caribe *P. argus* aportaron el 91% de la producción pesquera nacional entre 1985 y 1997 (Anónimo, 1998). El restante 9% lo constituyeron *P. inflatus* y *P. gracilis*. Las especies *P. penicillatus*, *P. guttatus*, *P. laevicauda* no tienen importancia económica (Briones-Fourzán y Lozano-Álvarez, 2000). Dentro del periodo que comprende de 1996 a 2004 la pesquería de langosta en la Península de Baja California representó cerca del 70% del total nacional, del cual el 94% fue a portado por *P. interruptus* y el restante 6% por *P. inflatus* y *P. gracilis* (Vega-Velázquez *et al.*, 2005).

*P. argus* se distribuye en las costas del Caribe de México, a lo largo de las costas de Yucatán y sobre formaciones coralinas en los estados de Campeche, Tamaulipas y Veracruz en el Golfo de México (Briones-Fourzán, 1995), aunque el 98% de su captura se encuentra en Quintana Roo y Yucatán (Briones-Fourzán y Lozano-Álvarez, 2000). La especie *P. interruptus* se distribuye en las costas de la Península de Baja California (Chapala, 1964), y sobre la costa oeste del Golfo de California (Duffy, 1973; Ayala y Chávez, 1985; Ayala *et al.*, 1988). La mayor abundancia de *P. interruptus* se ubica en la zona centro de las costas de Baja California (Lindberg, 1955; Johnson, 1960; Ortuño-Manzanares, 2003) (Figura 2).

Para evitar la sobre explotación de *P. interruptus* las normas vigentes incluyen el cierre de zonas costeras; un tamaño mínimo legal de pesca (82.5 mm de cefalotórax), restricciones para los aparejos pesqueros y la protección de hembras grávidas (Briones-Fourzán y Lozano-Álvarez, 2000). La captura de esta especie en el litoral costero ha disminuido un 50% desde 1975 a la temporada de 2003-2004. La zona centro de la

Península de Baja California presenta una sólida estabilidad pesquería, y el aprovechamiento es cercano al máximo rendimiento. En contraste con las zonas sur y norte que tienen una tendencia a declinar (Caballero-Alegría, 2003). La pesquería de *P. argus* en el caribe mexicano se encuentra en el máximo rendimiento sostenible (Aguilar *et al*, 2003).



Figura 2. Distribución de las langostas espinosas P. interruptus y P. argus en México.

El ciclo de vida de la langosta esta constituido por cinco fases: huevo (Figura 3), filosoma, puerulo, juvenil y adulto.

La fecundidad en las hembras de *P. interruptus* con tallas de 63 y 163 mm de cefalotórax es de 91,000 y 1,988,000 huevos respectivamente y esta inversamente relacionada con la latitud en la Península de Baja California (Pineda *et al.*, 1981). La

fecundidad para las langostas de Punta Eugenia en Baja California Sur con un tamaño entre 57.0 mm y 81.2 mm se representa en la siguiente función:

Fecundidad = 
$$0.91977L^{2.7}$$
 (r = 0.846) (1)

donde L es la longitud del cefalotórax en milímetros. A su vez la relación expresada en peso total es;

Fecundidad = 
$$-14425.7 + 716.22 \text{ w} (\text{r} = 0.865)$$
 (2)

donde *w* es igual a peso en gramos (Tapla-Vázquez y Castro-González, 2000). De acuerdo a estos autores, esta relación varía, dado que la fecundidad es muy susceptible a factores externos y propios de la especie, como son la variabilidad en la talla, el peso, la edad y la latitud.



Figura 3. Huevos de langosta roja *P. interruptus*.

La duración del desarrollo embrionario hasta la eclosión de larvas esta directamente relacionado con la temperatura de incubación. Por ejemplo, el desarrollo embrionario de las larvas filosomas de *Jasus edwardsii* demora 30 días en completarse a 18°C y 87 días a 10.5°C. Los embriones incubados a temperatura elevada (18°C) son más pequeños y contienen niveles reducidos de ácido eicosapentanoico (20:5n-3) y esteroles. En cambio, en los embriones incubados a baja temperatura se encuentran reservas de ácido ascórbico más altas, por lo cual se sugiere que las altas temperaturas tienen un efecto perjudicial (Smith *et al.*, 2002). Por otra parte, la manipulación de la temperatura en los reproductores para acortar el ciclo anual no es recomendable, dado que reduce la fertilidad de las hembras, se producen larvas de pequeño tamaño y un gran número de ellas no son viables mas allá de naupliosoma (Smith *et al.*, 2003a).



Figura 4. Larva filosoma en estadio I de la langosta roja *P. interruptus*. Tomada de Johnson (1956).

La langosta espinosa, *P. interruptus* (Randall), eclosiona como larva filosoma y pasa a través de XI estadios (Figura 4). Estas larvas son planctónicas y requieren de 7.75 meses para completarlos (Johnson, 1956).

Los estadios larvarios de la filosoma de *P. interruptus* fueron descritos por Johnson (1956) a partir de muestras recolectadas del ambiente. Sin embargo, cuando fue cultivada en el laboratorio se observó que pueden requerirse más de una muda para pasar de un estadio a otro (Mitchell, 1971; Dexter, 1972). Estos autores lograron cultivar filosomas hasta el estadio VI con una supervivencia del 1%, observando que entre los estadio III y IV requieren de tres a cuatro mudas dependiendo del tipo de alimento. El desarrollo larvario en el laboratorio ha sido muy complicado para las especies de la familia Palinuridae, aunque ya se ha logrado completar en otras especies como *Jasus lalandii*, *J. edwardsii*, *J. verreauxi*, *Panulirus elephas*, *P. longipes*, *P. japonicus* y *P. argus* (Kittaka, 1994; Kittaka, 1997a; Kittaka, 1997b; Kittaka y Abrunhosa, 1997; Matsuda y Yamakama, 2000; Ritar,

2001; Goldstein *et al.*, 2006). En México, el cultivo de *P. interruptus* se ha podido desarrollar hasta el III estadio (Vea-Campa, 2003), y VI estadio con una supervivencia del 3.5% (López-Zenteno, 2004).

La temperatura en la que se desarrollan los diferentes estadios larvarios influye directamente sobre los periodos de muda. Las larvas de *P. interruptus* alcanzan el estadio II en 8 días a 25°C y en 15 días a 22°C, para el estadio III requieren entre 7 y 13 días respectivamente (López-Zenteno, 2004). El preferendum térmico para esta especie se encuentra entre 21 y 24 °C y una salinidad apropiada de 30 a 40 ppm (Serrano-Flores, 2001).

En el XI estadio la filosomas se convierte mediante una metamorfosis en puerulos. El puerulo es transparente y estructuralmente se parece a un adulto, excepto que su segunda antena es tres veces más larga que su cuerpo (Serfling y Ford, 1975). La duración de esta fase larvario es controlado básicamente por la temperatura del agua y las condiciones nutricionales de la filosoma (Sekine *et al.*, 2000). Los juveniles se alimentan de crustáceos, en su mayor parte anfípodos e isópodos y material vegetal como algas rojas, también viven sobre las algas *Phyllospadix scouleri* y *Gelidium robustum* (Castañeda-Fernández *et al.*, 2005).

Las larvas filosomas cultivadas han sido alimentadas principalmente con *Artemia sp.* y gónadas de mejillón (*Mytillus sp.*), debido a su simplicidad de obtenerlos (Mitchell, 1971). En las larvas de *Panulirus cygnus* de los estadios I, II y III la mínima densidad de *Artemia sp.* para un buen crecimiento es mayor de 1 nauplio por mililitro (Liddy *et al.*, 2004a), de igual manera, no encontraron diferencias significativas en la supervivencia, tamaño o periodo de intermuda para las larvas de *J. edwardsii* del estadio I al III cuando

son alimentadas con Artemia sp. de 1.5 mm a densidades de 1.2, 3 o 6 nauplios por mililitro, o para el estadio III al IV cuando se alimentan a las mismas densidades pero añadiéndoles gónadas de mejillón a razón de 0.04 trozos por mililitro (Ritar et al., 2002). La talla y concentración de la Artemia sp. que se proporciona a las larvas filosomas de J. edwardsii influyen en su desarrollo, ya que al incrementar la densidad de Artemia sp. de 1mm de tamaño, las larvas del estadio III y V tienen un periodo de intermuda más corto y lo mismo ocurre cuando son alimentadas con Artemia sp. de 2 a 3 mm a una densidad de 1 nauplio por mililitro (Tong et al., 2000). La obtención de puérulos de P. longipes se ha logrado en el laboratorio alimentando las larvas filosomas de los estadios del I al IV con Artemia sp. de 0.6 mm a una densidad de 4 nauplios por mililitro, e incrementado el tamaño del alimento progresivamente de 0.8 a 4 mm en el V estadio y disminuyendo la densidad de 2 a 0.3 nauplios por mililitro. A partir del V estadio se adicionó a la dieta gónadas de mejillón, aumentando de 0.25 a 3.5 mm<sup>3</sup> y se disminuyendo el número de piezas por mililitro de 0.1 a 0.03 de conforme fueron creciendo las larvas filosomas (Matsuda y Yamakawa, 2000).

En las larvas de *J. edwardsii* se han encontrado las enzimas digestivas proteasa, tripsina, amilasa, alfa- glucosidasa, quitinasa y lipasa en los estadios cultivados del I al VI y silvestres del V al XI, detectando que la actividad de la proteasa y la lipasa es más alta que la amilasa y la alfa-glucosidasa. Lo cual sugiere que una dieta a base de proteína y lípidos es más importante que la de carbohidratos (Johnston *et al.*, 2004). Se ha observado en filosomas de *P. japonicus* que la absorción de materia orgánica suspendida y disuelta a través del tracto digestivo y posiblemente vía tegumento, quizás podría suplementar la dieta macroscópica (Rodríguez-Souza *et al.*, 1999).

El contenido de ácidos grasos se ha determinado en larvas filosomas de estadio I y II de *P. cygnus* y se ha encontrado seis ácidos grasos en mayor cantidad; 16:0, 18:1n-9, 18:0, 20:4n-6 (ácido araquidónico; AA), 20:5n-3 (ácido eicosapentanoico; EPA) y 22:6n-3 (ácido decosahexanoico; DHA). Todos estos ácidos grasos incrementaron su contenido en las larvas alimentadas y disminuyó en las larvas en ayuno (Liddy *et al.*, 2004b). Así mismo en *J. edwardsii* la abundancia de ácidos grasos monoinsaturados 16:1n-7, 18:1n-8, 18:1n-7 incrementó en las larvas alimentadas, pero decreció en las larvas en inanición (Smith *et al.*, 2003b). Se ha encontrado también una correlación positiva entre la concentración de ácido ascórbico y la supervivencia en cultivo de larvas de esta especie en cultivos de esta especie (Smith, 2004).

Un aspecto crítico del cultivo de larvas filosomas esta relacionado a aspectos patológicos. Estas se pueden infectar por microorganismos, proliferando externamente en los apéndices y cutícula grandes cantidades con bacterias filamentosas y protozoarios sésiles. Las comunidades dominantes pertenecen a la familia Vibrionacea, sin embargo, no se ha encontrado una correlación entre la abundancia de bacterias en la columna de agua, capa microbiana en el estanque y las mortalidades de filosomas (Bourne *et al.*, 2004). También se ha encontrado la bacteria *Leucothrix* sp., que provee un hábitat para una comunidad compleja de microbios constituida por conglomerados de pequeñas bacterias, ciliados peritricos, otros ciliados como *Chilodonella*, amibas y ocasionalmente hongos. El agua con una concentración alta de amoniaco y baja de oxígeno ocasionan un exoesqueleto sucio y necrosis en las agallas, efecto que se controla manipulando las condiciones ambientales (Handlinger *et al.*, 1999). Las larvas afectadas por vibriosis luminosa son opacas, exhibiendo pequeñas manchas rojas a través del cuerpo y los periópodos, levemente

luminoso cuando se ve en la oscuridad. La histología de larvas afectadas muestran placas masivas de bacterias en el intestino y en los túbulos del hepatopáncreas, atrofiando y neurotizando las células internas del lumen (Diggles *et al.*, 2000).

La alimentación con *Artemia sp.* u otro tipo de alimento puede ser un foco de infección de *Vibrio* sp. que afecta las larvas filosomas. Sin embargo, el enriquecimiento por seis horas, ya sea con la microalga *Chaetoceros muelleri* o emulsiones de aceite, minimiza la contaminación bacteriana y proporciona una adecuada composición bioquímica de la *Artemia sp.* (Ritar *et al.*, 2004). Ritar (2001) recomienda la desinfección de las larvas antes de sembrarse con 25 ppm de formaldehído durante 30 minutos, la desinfección de *Artemia sp.* con 100 ppm durante 10 minutos y la desinfección de las trozos de mejillón con 100 ppm de hipoclorito de sodio durante 30 minutos.

Para los estudios bioenergéticos relacionados con la nutrición de los organismos se utilizan tres índices: el incremento de calor aparente (ICA), la excreción postalimentaria (UPA) como una forma de medir los costos energéticos asociados con las transformaciones mecánicas y bioquímicas del alimento (Rosas-Vásquez, 2003) y la relación oxígeno: nitrógeno (O:N) para inferir el sustrato energético utilizado por los organismos (Mayzaud y Conover, 1988.).

La concentración de oxígeno en el medio acuático es el principal factor que limita la actividad metabólica de los organismos, debido a que este es utilizado directamente en procesos de oxidación dentro del metabolismo. Así, una disminución en la concentración de oxígeno en el agua se refleja en descenso de la tasa metabólica en los organismos (Thomas, 1954). La larvas de *P. interruptus* son inactivas por debajo de 2 -2.5 mg  $O_2 \cdot L^{-1}$  (Belman y Childress, 1973).

El aprovechamiento del oxígeno del medio es afectado por diversos factores. En la langosta *Homarus vulgaris*, se ha encontrado una relación directamente proporcional entre el oxígeno asimilado por el organismo y la concentración de este elemento en el agua de mar. En contraste, el peso es inversamente proporcional al consumo de oxígeno (Thomas, 1954), Esta relación inversa también se mantiene en otras especies como en *Emerita talpoida* (Edwards e Irving, 1943).

La temperatura influye directamente sobre la tasa metabólica y el consumo de oxígeno (Moshiri *et al.*, 1970). Existe claramente un efecto de la temperatura sobre el consumo de oxígeno en larvas de langosta *J. edwarsdsii* (Bermudes, 2002). La tasa de consumo de oxígeno en *P. interruptus* se incrementa con la temperatura. Por ejemplo, a 12.5°C el consumo de oxígeno de las larvas filosomas se ha encontrado 0.57 mg  $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ , aumentando a 1.61 mg  $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$  a 17.4°C y a 3.09 mg  $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ a 24.6°C (Belman y Childress, 1973).

La tasa de consumo de oxígeno también puede modificarse por el incremento de calor aparente después de alimentar los organismos, como resultado de una excitación locomotora y otras actividades como trituración, digestión de los alimentos y la absorción de los nutrientes (Du-Preez *et al.,* 1992). El incremento de calor aparente en *Crangon franciscorum* representó un incremento en la tasa metabólica en un intervalo de 14 a 43% por encima del metabolismo de rutina (Nelson *et al.,* 1985).

La excreción amoniacal también es afectada por la temperatura, así como el peso corporal, el proceso de la muda, la concentración de amoniaco en el medio, la salinidad, el ritmo circadiano y la alimentación (Crear y Forteath, 2002). La excreción potalimentaria está en función de la calidad y composición proximal del alimento (Díaz-Iglesias *et al.*,

1996; Rosas-Vázquez, 2003). La excreción amoniacal podría estar en función de un ritmo circadiano, pues se ha observado que la langosta *J. edwardsii* es mayor durante la noche que en el día, aunque en *P. cygnus* no se detecta esta tendencia (Crear y Forteath, 2002).

Otras especies donde se ha observado que el ritmo circadiano afecta el metabolismo de los organismos son: en el camarón café *Crangon crangon* (Donk y De Wilde, 1981), el camarón tigre *Penaeus monodon* (Du Preez *et al.*, 1992) y los adultos de la langosta roja *Panulirus interruptus* (Díaz-Iglesias *et al.*, 2004), en los cuales se han encontrado tasas de consumo de oxígeno significativamente mayor durante la noche que durante el día.

En este trabajo se determinó el consumo de oxígeno y la excreción amoniacal durante el día y la noche en las larvas filosomas de los estadios I y II de la langosta *P. interruptus*. Con esto se desea contribuir al conocimiento de la bioenergética de las filosomas para la utilización de futuras investigaciones enfocadas al cultivo de los estadios larvales de esta especie de langosta.

Los estudios relacionados con el consumo de oxígeno y excreción amoniacal, así como los factores que los afectan, son útiles dentro de la acuicultura para determinar las condiciones de manejo de los organismos, asegurando una buena calidad de agua que permita el desempeño óptimo de los organismos cultivados (Crear y Forteath, 2002; Díaz-Iglesias, 2004). Aunado a esto permiten la formulación de modelos para predecir la producción de biomasa y poder determinar la cantidad de alimento con el que se obtendrá una mayor biomasa. (Rosas-Vásquez, 2003).

## **II. HIPÓTESIS**

Las tasas de consumo de oxígeno y de excreción amoniacal, diurna y nocturna en larvas filosomas de la langosta roja *Panulirus interruptus* son diferentes.

#### **III.OBJETIVOS**

#### **IV.1. Objetivo general**

Determinar la diferencia entre la tasa metabólica diurna y nocturna en larvas filosomas de la langosta *Panulirus interruptus* durante sus primeros estadios de desarrollo.

## **IV.2.** Objetivos particulares

Determinar el inicio del estado postabsortivo en las larvas filosomas de P. interruptus.

Encontrar las diferencias entre la tasa de consumo de oxígeno diurna y nocturna en larvas filosomas de *P. interruptus*.

Medir las diferencias entre la excreción amoniacal diurna y nocturna en larvas filosomas de *P. interruptus*.

## **IV. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### IV.1. Obtención de las larvas filosomas

Se obtuvieron hembras ovígeras de la langosta roja *Panulirus interuptus* (Randall, 1940) de la localidad de El Rosario, Ensenada, B. C. ubicada a una latitud de 30° 04′ N y una longitud de 115° 45′ W. Se transportaron al laboratorio de acuicultura del CICESE donde se mantuvieron en tinas de 80 litros con recambio de agua constante a 21°C hasta la eclosión de las larvas filosomas. Estas hembras se alimentaron con mejillón *Mytilus galloprovincialis* vivo cada tercer día. En la salida de agua de la tina se colocó una malla de 200 micras para retener las larvas filosomas una vez eclosionadas.

#### IV.2. Descripción del sistema de cultivo

Las larvas filosomas se cultivaron en recipientes de 15 litros en los cuales se inyecta el agua desde el fondo para crear una corriente vertical ascendente o afloramiento e impedir el asentamiento de las larvas. Cada recipiente tiene en la salida de agua una malla de 200 micras (Figura 5). El sistema de cultivo consta de una circulación cerrada de agua que pasa sucesivamente por un enfriador, un calentador, un biofiltro para convertir el amoniaco en nitratos, un sistema de filtrado físico de 10, 5 y 1 micras y una lámpara de luz ultravioleta para desinfectar el agua. Se mantuvo una temperatura de 21°C, un recambio de agua diario del 10% y un fotoperiodo de 12 horas luz.

El agua de mar antes de entrar al sistema pasa a través de un sistema de filtrado físico con una retención de partículas de 10, 5 y 1 micras, se almacena en un tanque cerrado de 90 litros donde se desinfecta por medio ozono y se airea. De aquí, se toma el agua para el recambio de agua del sistema de cultivo (Figura 6).



Figura 5. Recipiente de cultivo de Hughes (1974) para larvas filosomas. El agua es inyectada en el fondo para crear corrientes de afloramiento.



Figura 6. Esquema que representa el sistema de cultivo para larvas filosomas

## IV.3. Siembra de larvas y mantenimiento del sistema

Se recolectaron las larvas en un tamíz, se lavaron con agua de mar filtrada y ozonificada. De allí se colocó dicho tamíz dentro de un recipiente para desinfectarlas con formalina a razón de 15 ppm, después de este tratamiento se lavaron para retirar la mayor parte de formalina. Una vez desinfectadas se contaron y se sembraron a una densidad de 100 larvas por litro de agua. Se utilizaron 5 recipientes de 15 litros, sembrando un total de 75 000 larvas.

Se sembraron cohortes de larvas en diferentes fechas para tener disponibilidad de organismos durante el desarrollo de los experimentos. La primera cohorte se mantuvo durante todo el primer estadio y segunda cohorte se mantuvo hasta el segundo estadio de desarrollo.

Se realizó un recambio de agua al sistema de cultivo del 10 % diario para mantener los niveles de nitratos bajos. Los factores fisicoquímicos que se midieron fueron: el pH, la temperatura, la concentración de oxígeno, la concentración de amoniacal y la salinidad. El pH se midio con un pHmetro digital, la temperatura y la concentración de oxígeno con un oxímetro (YSI) y la salinidad por medio de una sonda digital (YSI). Para medir la concentración de amoniaco se utilizó un electrodo (Thermo Orion 9512). La concentración de oxígeno dentro de los recipientes de cultivo se encontró a un 88% de la saturación (Tabla I).

	Temperatura ℃	Oxígeno mg O <sub>2</sub> ·L <sup>-1</sup>	Salinidad pp mil	рН	Nitrógeno amoniacal mg NH <sub>4</sub> ·L <sup>-1</sup>
Media	20.9	6.82	34.2	8.3	0.036
Desviación estándar	1.4	0.13		0.14	0.007
n	7	4	3	4	4

Tabla I. Factores fisicoquímicos registrados durante el cultivo de las larvas filosomas.

Periódicamente se lavaron los conductos de polietileno que abastecían de agua cada unidad del sistema dado crecía constantemente una biopelicula.

#### **IV.4.** Alimentación

Se alimentó diariamente con nauplios de *Artemia franciscana*, cosechada a las 48 horas de incubación y un tamaño de 0.8 mm (D. E. = 0.06, n = 20). Esta se enriqueció durante dos horas con las microalgas *Isochrysis sp.* y *Chaetoceros muelleri*, que poseen un perfil alto en ácidos grasos poliinsaturados (Ching-Piao y Liang-Ping, 2001; Ritar *et al.*, 2004; Araújo y Tavano-Garcia, 2005) En la última hora se agregó fomalina a razón de 100 ppm para desinfectarlas y después se lavaron antes de alimentar.

La densidad en la que se aplicó el alimento fue de 3 nauplios por mililitro, los cuales se mantuvieron durante 24 horas en el sistema de cultivo de larvas de filosomas, retenidas por mallas de 200 micras, después retiradas por medio del cambio de la maya de 200 micras por una de 400 micras. Las mallas después de utilizarlas se desinfectaban con hipoclorito de sodio (6%) a razón 3 ml·l<sup>-1</sup> por lo menos durante una hora y posteriormente se neutralizaba con tiosulfato de sodio a razón de 0.16 g·l<sup>-1</sup>.

# IV.5. Determinación del consumo de oxígeno, de la excreción amoniacal y del peso seco

Se obtuvo el consumo de oxígeno, la excreción amoniacal y el peso seco en todos los experimentos. Para medir el consumo de oxígeno se utilizaron dos cámaras respirométricas estáticas (Figura 7) con un volumen de 2.7 ml acopladas a dos electrodos microcatódicos polarográficos de oxígeno y un oxímetro de dos canales Strathkelvin 782. Para medir la excreción amoniacal se extrajo una muestra de agua de la cámara y se midió la

concentración con un electrodo Thermo Orion 9512 para amoniaco y para obtener el peso seco se utilizó una balanza analítica Metler AE 240. Se mantuvo una temperatura de 21°C dentro de las cámaras respirométricas por medio de cámaras refrigerantes.



Figura 7. Respirómetro: (a) oxímetro, (b) cámara respirométrica, (c) electrodo y (d) cámara refrigerante.

Para obtener el peso seco, las larvas se recuperaron después de cada experimento y se lavaban con una solución de formiato de amonio (3%) para eliminar las sales del agua de mar, se colocaban en un filtro de fibra de vidrio (Whatman GF/A 21 mm) prequemado y se secaban en una estufa a 60°C durante 48 horas.

El consumo de oxígeno y la excreción amoniacal por muestra se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$R = (V (C_f - C_i)) \cdot 1000^{-1}$$
(3)

donde; *R* son los mg de oxígeno consumidos o los mg de amoniaco excretado, *V* es el volumen de la cámara respirométrica en mililitros,  $C_f$  la concentración final en mg·l<sup>-1</sup>, y  $C_i$  la concentración inicial en las mismas unidades. Por último se dividió el resultado entre el peso seco en *g* y el tiempo en *h* para expresar el resultado en  $mg \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ . Los valores estimados en el consumo de oxígeno se corrigieron con datos de experimentos de control con intervalos de 6 horas sin larvas dentro de las cámaras.

El agua de mar utilizada en las cámaras respirométricas, así como la ocupada en los recipientes utilizados para mantener las larvas en ayuno, se filtró a 10, 5 y 0.3 micras, también se pasó a través de luz ultravioleta.

#### IV.6. Determinación de la relación oxígeno - nitrógeno

La relación atómica oxígeno – nitrógeno se obtienen a partir de la división del consumo de oxígeno entre la excreción amoniacal, ambos expresados en  $mg \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ , y la multiplicación de este resultado por 1.25. La relación oxígeno – nitrógeno es tabulada e interpretada de acuerdo a los siguientes criterios (Mayzaud y Conover, 1988): un valor de 3 a 16 indica un catabolismo a base de proteínas, una relación de 17 a 50 una mezcla de proteínas y lípidos, de 50 a 60 representa mezclas iguales de proteínas y lípidos. Por último una relación por arriba de 60 indica un catabolismo de lípidos y carbohidratos.

#### IV.7. Determinación de inicio del periodo postabsortivo

Se mantuvieron en ayuno las larvas filosomas en recipientes de 200 mililitros, a una densidad de 25 larvas por recipiente, con recambios de agua cada 6 horas. Los tiempos de ayuno utilizados fueron de 1, 5, 14, 21 y 59 horas. Para cada tiempo de ayuno se hicieron tres repeticiones en los cuales se midió el consumo de oxígeno, la excreción amoniacal y el peso seco. En cada muestra se utilizaban nueve larvas, las cuales duraban dentro de la cámara respirométrica 1.5 horas. Se ocuparon en este experimento un total de 154 larvas.

Todas repeticiones se realizaron bajo condiciones de iluminación a 212 Lux en fotoperiodo luminoso. Sin embargo, al colocar las larvas en periodos de ayuno, si esta muestra se realizaba en la noche se utilizaba luz roja. Esta serie de mediciones se realizó solo con larvas del primer estadio, después de tres días de eclosión y antes de los doce días.

El cálculo del número de larvas colocadas en recipientes de 200 ml para mantenerlas en ayuno, el número de larvas colocadas dentro de las cámaras respirométricas, así como el tiempo en que tardó cada experimento se calculó de acuerdo a experimentos previos.

A partir de los resultados obtenidos también se calculó la relación oxígenonitrógeno. Los resultados de las primeras 21 horas de ayuno se sometieron a una regresión de una función parabólica de forma canónica,

$$y = B_0 + B_1 x + B_2 x^2 \tag{4}$$
Para de terminar el tiempo en el cual el metalismo se encuentra más bajo se usó la siguiente formula:

$$X_{\min} = B_1 \cdot (2B_2)^{-1}$$
(5)

## IV.8. Determinación del metabolismo diurno y nocturno

Las larvas filosomas se dejaron 12 horas en ausencia de alimento antes de introducirlas a las cámaras respirométricas, para esto se utilizaron recipientes con un volumen de 200 ml donde se colocaban 25 larvas del primer estadio o 14 larvas del segundo estadio, con un recambio de agua a las 6 horas.

Se introdujeron nueve larvas filosomas del estadio I o seis del estadio II en cada cámara respirométrica por repetición. Se mantuvieron dentro de la cámara respirométrica durante 1.5 horas, no consumiendo más del 30% de la concentración de oxígeno del agua de la cámara. En las muestras obtenidas durante la noche se utilizó luz roja para introducir las larvas a la cámara y oscuridad durante el resto del experimento. De cada repetición experimental se obtuvo el consumo de oxígeno, la excreción amoniacal y el peso seco. A partir de estos resultados también se calculó la relación oxígeno – nitrógeno.

Se realizaron 14 experimentos en la noche y 14 en el día con larvas de primer estadio, en cambio, en larvas del segundo estadio se realizaron 13 durante la noche y 13 durante el día. Se un total de 244 larvas de primer estadio y 156 larvas de segundo estadio.

## IV.9. Análisis estadístico

Se hicieron tres repeticiones para cada tiempo de ayuno y los resultados se compararon con un análisis de varianza (ANOVA) de dos vía para corroborar si existían diferencias significativas entre cada tiempo de ayuno. Cuando se encontraron diferencias significativas se realizó la prueba estadística *a posteriori* de Tukey para detectar cuales tiempos de inanición eran específicamente diferentes.

A los resultados obtenidos destinados a buscar diferencias significativas del consumo de oxígeno y excreción amoniacal entre el día y la noche, se les aplicó la prueba estadística "t de Student". También se utilizó esta misma prueba para conocer si existían diferencias entre el estadio uno y dos.

Los análisis estadísticos, cálculos y gráficos se realizaron mediante el paquete estadístico STATISTICA 6.1 2002 y el programa Microsoft Excel XP.

#### V. RESULTADOS

#### V.1. Longitud y peso de las larvas filosomas

La longitud total, así como el peso seco entre cohortes y estadios (Tabla II) son significativamente diferentes ( $p < 0.001^{***}$ ). La longitud de las larvas de primer estadio fue de 1.79 mm y 1.54 mm dependiendo de la cohorte, y un peso seco de 8.6 µg y 7.24µg respectivamente. En el segundo estadio se encontró una longitud de 2.07 mm y un peso seco de 8.88 µg. Las larvas del primer estadio aumentaron su tamaño en un 34% y su peso en un 22%, este incremento es a los 21 días cuando ya han pasado al segundo estadio. El tiempo del primer estadio fue de 15 días para las dos cohortes.

Tabla II. Promedio y desviación estándar de la longitud total y peso seco de las larvas filosomas cultivadas en laboratorio. También se muestran los resultados de la prueba estadística "t Student" entre estadios en la cohorte dos y entre cohortes para el estadio uno.

	Cohorte	Estadio I	Estadio II	g l*	"t	р
					Student	
	1	$1.79 \pm 0.064$ (20)				
Longitud total (mm)	2	$1.54 \pm 0.065$ (20)	$2.07 \pm 0.075 \ (20)$	38	21.8	p < 0.001 ***
(mm)	CCE1**			26	7.2	P < 0.001 ***
	1	8.60 ± 0.37 (242)				
Peso seco (µg)	2	$7.24 \pm 0.34$ (127)	$8.88 \pm 0.79~(151)$	14	10.9	p < 0.001 ***
	CCE1**			32	10.9	P < 0.001 ***

\*Grados de libertad

\*\* Comparación de las cohortes del estadio I

#### V.2. Consumo de oxígeno y excreción amoniacal a diferentes tiempos de ayuno

Se encontraron diferencias altamente significativas en el consumo de oxígeno de las larvas sometidas a diferentes tiempos de ayuno, así como se confirmó que la variabilidad interna de cada grupo no intervino en el resultado de este análisis estadístico (Tabla IV). Por consiguiente, se aplicó el análisis estadístico *a posteriori* de Tukey.

Tabla III. Consumo de oxígeno de las larvas filosomas del estadio I a diferentes tiempos de ayuno.

	Horas de ayuno					
	1	5	11	14	21	59
$\frac{\text{Media}}{(\text{mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1})}$	5.29	4.76	4.18	3.54	4.55	2.41
D. E.	0.29	0.11	0.17	0.26	0.17	0.46
n	3	3	3	3	3	3

Tabla IV. Análisis de varianza de dos vías del consumo de oxígeno en las larvas filosomas del estadio I a diferentes tiempos de ayuno.

	Grados de libertad	F	р
Entre tiempos de ayuno	5	38.58	p < 0.001***
Entre repeticiones	2	0.61	$p = 0.56^{ns}$

Se observó un descenso continuo en el consumo de oxígeno a partir de la primera hora de ayuno encontrando un valor significativamente bajo a las 14 horas (Figura 8). Sin embargo, a las 21 horas de experimentación el consumo se volvió a incrementar siendo igual que al de una y once horas de ayuno. Posteriormente el consumo de oxígeno vuelve a disminuir y a las 59 horas el consumo de oxígeno se encontró significativamente más bajo  $(p < 0.01^{**})$  que en los demás tiempos de ayuno.



Figura 8. Consumo de oxígeno en las larvas filosomas del estadio I a diferentes tiempos de ayuno. El punto indica la media, el cuadro es error estándar de 0.95 y las línea vertical la desviación estándar de 0.95. Las letras señalan diferencias significativas de acuerdo a la prueba estadística *a posteriori* de Tukey con p < 0.05.

En cuanto a la excreción amoniacal aunque no se observó un descenso continuo se encontraron diferencias significativas realizando un análisis de varianza (Tabla VI). La prueba Tukey mostró que la excreción a una hora de ayuno es significativamente mayor (p  $< 0.05^*$ ) que a cinco y catorce horas. En la primera hora de ayuno se registró una excreción amoniacal de 0.084 mg NH<sub>4</sub>·g<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>, descendiendo a las cinco horas a 0.028 mg NH<sub>4</sub>·g<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>. El resto de los valores no difieren estadísticamente (Figura 9).

Tabla V. Excreción amoniacal de las larvas filosomas del estadio I a diferentes tiempos de ayuno.

	1	5	11	14	21	59
Media (mg NH4:g <sup>-1</sup> :h <sup>-1</sup> )	0.084	0.028	0.047	0.028	0.055	0.049
D. E.	0.017	0.020	0.020	0.010	0.011	0.009
n	3	3	3	3	3	3

Tabla VI. Análisis de varianza de dos vías de la excreción amoniacal en las larvas filosomas del estadio I a diferentes tiempos de ayuno.

	Grados de libertad	F	р
Entre tiempos de ayuno	5	3.89	p < 0.05
Entre repeticiones	2	0.13	$P = 0.87^{ns}$



Figura 9. Excreción amoniacal de las larvas filosomas del estadio I a diferentes tiempos de ayuno. El punto indica la media, el cuadro es error estándar de 0.95 y las línea vertical la desviación estándar de 0.95. Las diferencias significativas se muestran con letra de acuerdo a la prueba estadística *a posteriori* de Tukey con p < 0.05.

Los valores de la relación oxígeno – nitrógeno comprenden desde 61.5 hasta 174.2 (Tabla VII). De acuerdo a las tabulaciones de Mayzaud y Conover (1988), el sustrato metabólico de las larvas filosomas en las condiciones experimentales de este trabajo consumen una mezcla de lípidos y carbohidratos, dado que se registraron valores superiores a 60. El comportamiento de la relación oxígeno – nitrógeno a diferentes tiempos de según el análisis de varianza de dos vías, podría considerarse significativo, aunque la probabilidad asociada cae en la zona crítica (p = 0.05) para decidir si se acepta o se rechaza la hipótesis nula (Tabla VIII) por una ligera variabilidad entre repeticiones se mantuvo como no

tiempos de ayuno.							
	1	5	11	14	21	59	
Media (Relación O:N)	80.5	174.2	140.3	171.6	109.0	61.5	
D. E.	13.6	74.3	78.9	72.7	31.6	1.6	
n	3	3	3	3	3	3	

Tabla VII Relación ovígeno - nitrógeno de las larvas filosomas del estadio I a diferentes

significativa, debido a la desigualdad en la desviación estándar de las mediciones (Figura

10).

Tabla VIII. Análisis de varianza de dos vías de la relación oxígeno - nitrógeno en las larvas de estadio I a diferentes tiempos de ayuno.

	Grados de libertad	F	р
Entre tiempos de ayuno	5	3.41	$p = 0.052^{ns}$
Entre repeticiones	2	3.49	$P = 0.07^{ns}$



Figura 10. Relación oxígeno – nitrógeno en las larvas filosomas del estadio I a diferentes tiempos de ayuno. El punto indica la media, el cuadro es error estándar de 0.95 y las línea vertical la desviación estándar de 0.95.

Puesto que se encontraron diferencias significativas en el consumo de oxígeno, se sometieron los datos a una regresión no lineal para encontrar el tiempo en el cual se encuentra un valor mínimo en el metabolismo. El consumo de oxígeno a 59 horas de ayuno se descartó dado que es un tiempo prolongado. Según la función parabólica estimada el tiempo de ayuno en el cual se encuentra el consumo de oxígeno mas bajo es a 13.5 horas (Figura 11).



Figura 11. Regresión del consumo de oxígeno por larvas filosomas de estadio I a diferentes tiempos de ayuno. Las líneas punteadas indican el intervalo de confianza de 0.95.

## V.3. Consumo de oxígeno diurno y nocturno

El consumo de oxígeno en larvas del I y II estadio fue significativamente mayor en el día que en la noche (p <  $0.01^{**}$ ). En el estadio I consumieron un promedio de 3.66 mg O<sub>2</sub>·g<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> en la noche y 4.28 mg O<sub>2</sub>·g<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> en el día, representado un incremento del 17%. En cambio, en las larvas del segundo estadio este incremento fue de 19%. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas (p <  $0.01^{**}$ ), así como entre estadios cuando se comparan entre grupos diurnos y nocturnos (Tabla X).

Estadio Larvario	Periodo	$\begin{array}{c} \text{Media} \\ (\text{mg } \text{O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) \end{array}$	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	n
_	Día	4.28	0.33	3.60	4.80	14
Ι	Noche	3.66	0.59	2.64	4.89	14
	Día	3.80	0.29	3.09	4.22	13
II	Noche	3.17	0.62	2.17	4.50	13

Tabla IX. Consumo de oxígeno diurno y nocturno en las larvas filosomas del estadio I y II de la langosta *P. interruptus*.

Tabla X. Comparación entre el consumo de oxígeno diurno y nocturno en las larvas filosomas utilizando la prueba estadística "t de Student".

Comparación	Grupo	Grados de	"t	Р
		libertad	Student"	
Entre día y noche	Estadio I	21	3.4	p < 0.01 **
	Estadio II	17	3.2	p < 0.01 **
Entre estadio I y II	De día	25	3.9	P < 0.001***
	De noche	25	2.1	P < 0.05*

## V.4. Excreción amoniacal diurna y nocturna

La mayor excreción amoniacal se observó en el estadio filosoma I tanto en mediciones diurnas como nocturnas (Tabla XI). Pero no se encontraron diferencias significativas en la excreción amoniacal entre el día y la noche.

Tabla XI. Excreción amoniacal diurna y nocturna de las larvas filosomas del estadio I y II de la langosta *P. interruptus*.

Estadio	Periodo	Media	Desviación	Mínimo	Máximo	n
Larvario		$(\text{mg NH}_4 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1})$	estándar			
	Día	0.047	0.026	0.011	0.095	14
Ι	Noche	0.037	0.017	0.012	0.070	14
	Día	0.014	0.021	0.000	0.065	13
II	Noche	0.016	0.010	0.003	0.034	13

Tabla XII. Comparación entre la excreción amoniacal diurna y nocturna en las larvas filosomas utilizando la prueba estadística "t de Student".

Comparación	Grupo	Grados de	"t	р
		libertad	Student"	
Entre día y noche	Estadio I	26	1.12	$p = 0.26^{ns}$
	Estadio II	17	0.31	$p = 0.75^{ns}$
Entre estadio I y II	De día	25	3.58	p < 0.01**
	De noche	21	3.95	$p < 0.001^{***}$

#### V.5. Relación oxígeno - nitrógeno diurna y nocturna

Los promedios de la relación oxígeno - nitrógeno presentan desviaciones estándar muy grandes (Tabla XIII), por lo cual no se encontraron diferencias significativas entre el día y la noche, ni entre estadios (XIV). En el segundo estadio se excluyeron del promedio aquellos experimentos en que la excreción amoniacal fue cero. Los valores oscilaron entre 59.1 y 422.4 en ambos estadios lo cual indica el uso de sustratos metabólicos que oscilan desde una mezcla en cantidades iguales de proteínas y lípidos, hasta el metabolismo de carbohidratos en su totalidad (Tabla XIII y XIV).

Estadio Larvario	Periodo	Media (Relación O:N)	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	n
	Día	156.7	102.8	59.1	422.4	14
Ι	Noche	148.9	72.6	64.2	292.8	14
	Día	161.1	77.6	74.1	258.2	5
II*	Noche	204.5	85.7	120.5	346.6	5

Tabla XIII. Relación oxígeno - nitrógeno diurna y nocturna de las larvas filosomas del estadio I y II de la langosta *P. interruptus*.

\* En el segundo estadio se omitieron todos aquellos en los que la excreción amoniacal fue cero.

Comparación	Grupo	Grados de	"t	Р
		Libertad	Student"	
Entre día y noche	Estadio I	26	0.23	$p = 0.81^{ns}$
	Estadio II	8	0.83	$p = 0.42^{ns}$
Entre estadio I y II	De día	17	0.085	$p = 0.93^{ns}$
	De noche	17	1.4	$p = 0.17^{ns}$

Tabla XIV. Comparación entre la relación oxígeno – nitrógeno diurna y nocturna de las larvas filosomas utilizando la prueba estadística "t de Student".

#### **VI. DISCUSIONES**

La mediciones realizadas sobre la longitud total en los primeros estadios larvales de Panulirus interuptus ha indicado que la elección de la hembra desovante para la realización de experimentos es importante, ya que el tamaño de las larvas filosomas dependió de la hembra de la cual se obtuvieron, en el primer estadio la longitud total promedio fue de 1.54 y 1.79 mm según la hembra de procedencia. El tamaño de las larvas cultivadas en laboratorio reportados para esta especie para el primer estadio va desde 1.2 a 1.7 mm y para el segundo estadio de 1.81 a 2.18 mm (López-Zenteno, 2004). El aumento de peso del primer al segundo estadio en larvas cultivadas reportado es de 25% (Dexter, 1972), 23% (Ramaje, 1971), 36% (Vea-Campa, 2003), 23% (López-Zenteno, 2004) y de 34% en este trabajo. Sin embargo, si es comparado este aumento con larvas recolectadas del medio natural es aún reducido, ya que estas aumentan un 86% del primer al segundo estadio (Johnson, 1956). El tamaño menor de los organismos cultivados es un hecho común (Ritar, 2001), dado que las condiciones ambientales así como las ofertas nutricionales son limitadas en un cultivo. Es por eso que el aumento de tamaño durante los primeros estadios puede ser un indicador sobre el éxito en el desarrollo larvario y por lo cual los estudios bioenergéticos para la especie *P. interruptus* se deben enfocar principalmente a este periodo de vida.

La colocación de organismos en ayuno antes de medir el consumo de oxígeno ha sido ampliamente practicada en organismos adultos para alcanzar el tiempo postabsortivo y diminuir la acción dinámica específica o incremento de calor aparente de los alimentos (Dall y Smith, 1986; Beamish y Triple, 1990), además de aclimatar para disminuir el estrés por el manejo y no obtener errores al realizar las mediciones. Por ejemplo, las langostas adultas de P. interruptus se mantienen sin alimento 72 horas antes de realizar experimentos y 12 horas dentro del respirómetro para disminuir el estrés (Díaz-Iglesias, 2004), el camarón Peneus monodon requiere de 6 a 8 horas de ayuno (Du-Preez et al., 1992) y en las especies de camarón Litopenaeus vannamei y L. setiferus se han utilizado 12 horas (Rosas et al., 2001). Sin embargo, en estadios larvarios se han realizado pocos trabajos sobre el periodo postabsortivo, y la aclimatación no ha sido comúnmente evaluada no estando claro si esto ocurre. Ya que un alto consumo de oxígeno puede deberse al efecto calorigénico del alimento y no al estrés por manejo (Lemos et al., 2003). En las larvas filosoma I de la langosta Jasus edwardsii el tiempo de ayuno al que se someten antes de realizar experimentos, tiempo en el cual se dejan de utilizar los nutrientes del alimento para el catabolismo e inicio del periodo postabsortivo, se considera de 17.5 horas cuando son cultivadas entre 16 y 17 °C (Bermudes, 2002) y para las larvas zoea III del camarón Farfantepenaeus paulensis se considera en 1.6 horas cuando se cultiva a 26°C (Lemos et al., 2003). En las larvas filosomas de P. interruptus en estadio I cultivadas a 21°C el consumo de oxígeno descendió continuamente hasta alcanzar un punto bajo a las 13.5 horas, considerándose este tiempo el comienzo del periodo postabsortivo. La diferencia en el estado posabsortivo entre este trabajo y los citados anteriormente debe radicar en las diferencias de la tasa metabólica, la temperatura en que se realizaron estos trabajos y el preferendum térmico de la especie, dado que la tasa de consumo de oxígeno en larvas de J. *edwardsii* fue de 1.15 mg  $O_2$ : g<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> (Bermudes, 2002), mientras que en larvas de F. *paulensis* fue de 18.7 mg  $O_2$ : g<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> (Lemos *et al.*, 2003) y en este trabajo fue de 3.89 mg  $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ . También depende de la cantidad, calidad y balance energético del alimento ingerido (Du-Preez et al., 1992; Rosas et al., 1996). En larvas de *J. edwardsii* después de 17.5 horas de ayuno se incrementó la excreción amoniacal atribuyéndose al comienzo de la utilización de proteína de reserva (Bermudes, 2002), sin embargo, en el presente estudio después de 13.5 horas solo se incrementó el consumo de oxígeno y no la excreción amoniacal. Un comportamiento similar en el metabolismo se ha reportado para en el camarón *L. vannamei*, donde el consumo de oxígeno se incrementó a 1.75  $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$  entre los días 3 a 9 de ayuno con una excreción amoniacal estable, diminuyendo a 1.13 mg  $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$  en los días 12 a 15 de ayuno (Comoglio *et al.*, 2004).

En cuanto a la relación oxígeno - nitrógeno nuestros experimentos con larvas filosomas del estadio I no arrojaron diferencias significativas entre las horas de ayuno. Los valores promedio se mantuvieron superiores a 80, lo que indica que las larvas utilizaron para el metabolismo una mezcla de lípidos y carbohidratos. A las 59 horas la relación fue de 61.5, pues a diferencia de la primera hora de ayuno este valor es producido por la reducción del consumo de oxígeno y no por el aumento de la excreción amoniacal, indicando que se utiliza una mezcla de proteína y lípidos. En los organismos marinos los lípidos son el mayor recurso energético durante el ayuno, limitándose al catabolismo de proteínas cuando las reservas de lípidos son limitadas (Anger y Nair, 1979; Dawirs, 1986). El incremento del consumo de oxígeno después de las 13.5 horas en larvas filosomas que ya han consumido los nutrientes del alimento ingerido, podría explicarse por la obtención de energía a partir de la beta-oxidación de los ácidos grasos del hepatopáncreas, como ha sido reportado por Comoglio et al. (2004). Contradictoriamente, las larvas de filosomas de Jasus edwardsii y P. cygnus al someterse a períodos de ayuno disminuyen el contenido de lípidos solo el 17.8 y 6.5% respectivamente de la diferencia en el peso seco, sugiriendo que los lípidos no son el sustrato catabólico durante periodos de ayuno y que la proteína y en menor cantidad los carbohidratos representan el sustrato catabólico en larvas en ayuno, limitando la utilización de los lípidos para los periodos de muda (Smith *et al.* 2003b; Liddy et al. 2004b). La relación oxígeno – nitrógeno depende del estado nutricional del organismo (Mayzaud y Conover, 1988), por eso si el alimento ingerido es menor que el requerido para el catabolismo, el organismo puede aumentar su dependencia de los lípidos como sustrato energético (Huggins y Munday, 1968). La relación oxígeno - nitrógeno en los experimentos realizados en este trabajo siempre se mantuvo arriba de 60 por lo cual se deduce que existe una preferencia por los lípidos y carbohidratos durante los periodos de ayuno, sin embargo no se puede concluir que el alimento sea deficiente, dado que después de la utilización de una mezcla de lípidos y carbohidratos se detecto una disminución de la relación oxígeno – nitrógeno y por consecuente una utilización de una mezcla de lípidos y proteínas. Esta última deducción podría prestarse a confusión dado que no hay diferencias significativas entre los tiempos de ayuno (Figura 10), pero la probabilidad se encuentra en un valor crítico ( $p = 0.052^{ns}$ ).

El aumento de la tasa de consumo de oxígeno en larvas filosomas de *P. interruptus* durante el día, es similar al *J. edwardsii* (Bermudes, 2002) donde también se ha encontrado una mayor excreción amoniacal y una mayor tasa de alimentación en condiciones de iluminación que en oscuridad. Larvas de otras especies en que se ha encontrado una mayor tasa de alimentación durante condiciones de iluminación son las de los cangrejos *Rhithropanopeus harrissii* (Cronin y Forward, 1980) y *Ranina ranina* (Minagawa, 1994). Mientras que en la presente investigación el consumo de oxígeno de los estadios filosoma uno y dos fue mayor durante el día que en la noche en condiciones de ayuno, la excreción

amoniacal y la relación oxígeno – nitrógeno no presentó diferencias significativas. Esto refleja que la iluminación puede afectar indirectamente el consumo de oxígeno al aumentar el movimiento como ha sido reportado en J. edwardsii (Bermnudes, 2002) y por ello pueden alimentarse más, reflejando un mayor incremento en el tamaño de las larvas con un fotoperido donde fase luz es extensa (Moss et al., 1999). Sin embargo, no puede concluirse en este trabajo que fue solamente la iluminación el factor que provocó un aumento en el consumo de oxígeno, ya que en algunos trabajos se sugiere indirectamente la existencia de un ritmo biológico, como en las larvas filosomas de P. japonicus (Matsuda y Takenouchi, 2003) y de Thenus orientalis (Mikami, 2005) cultivadas dentro de un fotoperido controlado, en las que se ha observado que mudan sincrónicamente a la misma hora del día aunque a unas se les cambie el fotoperido unos días antes de este proceso. La luz es probablemente el factor más importante y sincronizador que influye sobre las actividades endógenas de los organismos (Mikami y Greenwood, 1997), aunque existen otros factores como la presión hidrostática (Childress, 2004), salinidad, temperatura, movimientos del agua, respuestas a la gravedad e interacción entre presa y depredador (Taylor y Francis, 2006).

La larvas filosomas de los primeros estadios tienen un fototropismo positivo y por eso se observan durante el día altas densidades de larvas de *J. edwardsii* en la superficie del mar (Bruce *et al.*, 2000). Los cultivos de las larvas filosomas de *P. interruptus* se han realizado con un fotoperiodo de 12 horas luz, sin embargo en el medio natural la eclosión se inicia a principios de verano principalmente (Johnson, 1960) cuando el tiempo de iluminación es mas largo que el de oscuridad. Esto indica que las larvas filosomas tienen un tiempo de mayor actividad y alimentación, lo cual se refleja en el mayor tamaño de las larvas capturadas que las cultivadas.

La relación oxígeno – nitrógeno en el estadio I y II durante el periodo postabsortivo se mantuvo por arriba de 250 con una utilización de carbohidratos y lípidos para el catabolismo. Esto indica que del alimento suministrado, las proteínas tienen una baja utilización para la obtención de energía y pueden ser canalizadas para el anabolismo, es decir el crecimiento de las larvas. Aunque se necesitan más experimentos para confirmarlo, el alargamiento del tiempo de iluminación en el cultivo de larvas filosomas proporcionaría mejores condiciones para que las larvas ingieran mayor cantidad de alimento el cual se vería reflejado en un mayor tamaño de las larvas.

### **VII. CONCLUSIONES**

- 1. Las larvas filosomas de langosta *Panulirus interruptus* del primer estadio alcanzan el estado postabsortivo a las 13.5 horas de ayuno.
- La tasa de consumo de oxígeno en larvas del primer y segundo estadio es mayor (p < 0.001\*\*\*) en el día que en la noche en un 16% y 19% respectivamente.
- La tasa de excreción amoniacal y la relación oxígeno nitrógeno no presentan valores estadísticamente diferentes entre el día y en la noche.
- El sustrato catabólico preferente para las larvas filosomas de *P. interruptus* de los estadios I y II en las condiciones experimentales descritas en este trabajo es una mezcla de lípidos y carbohidratos.

## VIII. RECOMENDACIONES

- Se debe aplicar un fotoperiodo a los cultivos de larvas filosomas donde la fase luminosa sea más larga que la obscura.
- 2. Realizar experimentos en cuanto al efecto del tamaño de la *Artemia sp.* y el mejoramiento nutricional de las larvas filosomas de *Panulirus interruptus*.

#### IX. LITERATURA CITADA

- Aguilar, W., P. Arceo Briceño, J. González Cano, A. I. Medina, V. Ríos Lara, E. Sosa Cordero y A. Wakida Kusonoki. 2003. En: La pesquería de langosta en Yucatán y Quintana Roo, México. En: Informe del segundo taller sobre el manejo de las pesquerías de la langosta espinosa del Caribe de área de COPACO. FAO, Roma, Informe de pesca No. 715: 119-130 p.
- Anger, K. y K. K. C. Nair. 1979. Laboratory experiments on larval development of *Hyas araneus* (Decapoda: Mejidae), Helgoländer Meeresunters. 32: 36-54 p.
- Anónimo, 1998. Anuario Estadístico de Pesca 1997. Sría. Medio Ambiente, Rec. Nat. y pesca, México, 241 p.
- Araújo, S. y V. M. Tavano-Garcia. 2005. Growth and biochemical composition of the diatom *Chaetoceros* cf. *wighamii* brighwell Ander different temperatura, salinity and carbon dioxide levels. I. Protein, carbohydrates and lipids. Aquaculture. 246: 405-412 p.
- Ayala, M. Y. y H. Chávez. 1985. Notas sobre la colecta de larvas y juveniles de langosta roja, *Panulirus interruptus* (Randall), en la costa occidental de Baja California, México. Ciencias Marinas. 11(2): 93-100 p.
- Ayala, Y., J. G. González-Avilés y G. Espinoza-Castro. 1988. Biología y pesca de langosta en el Pacífico Mexicano. En: Los Recursos Pesqueros del País. Secretaría de Pesca. México. 251-286 p.
- Beamish, F. y E. Triple. 1990. Heat increment: a static or dynamic dimension in bioenergetics models? Transactions of the American Fisheries Society. 119: 649-661 p.
- Belman, B. W. y J. J. Childress. 1973. Oxygen consumption of the larvae of the lobster *Panulirus interruptus* (Randall) and the crab Cancer productus Randall. Comp. Biochem. Physiol. 44A: 821-828 p.
- Bermudes, M. F. M. 2002. Environmental physiology of cultured early-stage southern rock lobster (*Jasus edwardsii* Hutton, 1875) larvae. Tesis de doctorado. Universidad de Tasmania. Australia. 171 p.
- Bourne, D. G., N. Young, N. Webster, M. Payne, M. Salmon, S. Demel y M. Hall. 2004. Microbial community dynamics in a larval aquaculture system of the tropical rock lonbster, *Panulirus ornatus*. Aquaculture. 242: 31-51 p.

- Briones-Fourzán, P. 1995. Biología y pesca de las langostas en México. En: F. González yJ. De la Rosa (eds.). Temas selectos de oceanografía biológica en México.Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, B. C., 207-236 p.
- Briones-Fourzán, P. y E. Lozano Álvares. 2000. The spiny lobster fisheries in México. En: Phillips y J. Kittaka (eds.). Spiny lobster: fisheries and culture. Fishing news books, Segunda edición, USA, 169-188 p.
- Bruce, B., R. Bradford, D. Griffin, C. Gardner y J. Young. 2000. A synthesis of existing data on larval rock lobster distribution in the southern Australia. Final Report. Project. No. 96/107. Fisheries research and development corporation. Australia.
- Caballero-Alegría, F. 2003. Estado de la pesquería de langosta roja (*Panulirus interruptus*) en Baja California México. En: Memorias del I Foro de Intercambio Científico sobre Recursos Bentónicos de México del 1-3 de septiembre. Instituto Nacional de Pesca -CRIP, La Paz, B. C. S., 41 p.
- Castañeda-Fernández, V., E. Serviere-Zaragoza y S. Hernández-Vázquez. 2005. Feeding ecology of juvenile spiny lobster, *Panulirus interruptus*, on the Pacific coast of Baja California Sur, México. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research. 39: 425-435 p.
- Chapala, H. 1964. Contribución al conocimiento de las langostas de Pacífico mexicano y su pesquería. Inst. Nal. Invest. Biol. Pesq. Sría. Ind. Comercio, Publ. 6, 68 p.
- Childress, J. J. 2004. Effects of pressure, temperature and oxygen consumption rate of the midwater copepod *Gaussia princes*. Marine Biology. 39(1):19-24 p.
- Ching-Piao, L. y L. Liang-Ping. 2001. Ultrastructural study and lipid formation of *Isochysis sp.* CCMP14324. Bot. Bull. Acad. Sin. 42: 207-214 p.
- Comoglio, L. I., G. Gaxiola, A. Roque, G. Cuzon y O. Amin. 2004. The effect of starvation on refeeding, digestive enzyme activity, oxygen consumption, and ammonia excretion in juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Journal of Shellfish Research. 23(1):243-249 p.
- Crear, B. J. y G. N. R. Forteath. 2002. Feeding has the largest effect on the ammonia excretion rate of the southern rock lobster, *Jasus edwarsii*, and the western rock lobster, *Panulirus cygnus*. Aquacultural engineering. 26: 239-250 p.
- Cronin, T. W. y R. B. Forward. 1980. The effect of starvation on phototasis and swimming of larvae of the crab *Rhithropanopeus harrisii*. Biolgical Bulletin. 158: 283-294 p.
- Dall, W. y D. M. Smith. 1986. Oxygen consumption and ammonia excretion in fed and starved tiger prawns, *Penaeus esculentus* Haswell. Aquaculture. 55: 23-33 p.

- Dawirs, R. R. 1986. Influence of limited food supply on growth and elemental composition (C, N. H) of *Carcinus maenas* (Decapoda) larvae reared in the laboratory. Mar Ecol. Pro. Ser. 31: 201-208 p.
- Dexter, D. M. 1972. Molting and growth in laboratory reared phyllosomes of the California spiny lobster, *Panulirus interruptus*. Cal. Fish and Games. 58(2): 107-115 p.
- Díaz-Iglesias, E., F. Díaz Herrera, A. Dense Re-Araujo, M. Báez Hidalgo, M. López Zenteno, G. Valdés Sanchéz, A. K. López Murrillo. 2004. Temperatura preferida y consumo de oxígeno circadiano de la langosta roja, *Panullirus interruptus* (Randall, 1842). Ciencias Marinas. 30(1B): 169-178.
- Díaz-Iglesias, E., R. N. de L. Conceiçao, R. Brito Pérez y M. Báez Hidalgo. 1996. Consumo de oxígeno y excreción amoniacal de juveniles de langosta *Panulirus argus* (Latreille, 1804) alimentados con dieta natural: incremento de calor aparente y relación O:N. Rev. Invest. Mar. 17(1): 51-58 p.
- Diggles, B. K., G. A. Moss, J. Carson y C. D. Anderson. 2000. Luminous vibriosis in rock lobster *Jasus verreauxi* (Decápoda : Palinuridae) phyllosoma larvae associated with infertion by *Vibrio harveyi*. Dis. Aquat. Org. 43: 127-137 p.
- Donk, Ellen Van y P. A. W. J. De Wilde. 1981. Oxygen consumption and motile activity of the brown shrimp *Crangon crangon* related to temperature and body size. Neth. J. Sea. Res. 15(1): 54-64 p.
- Du Preez, H. H., C. Houng Chen y H. Chieh Shih. 1992. Apparent specific dynamic action of food in the grass shrimp, *Penaeus monodon* Fabricius. Comp. Biochem. Physiol. 103A(1): 173-178 p.
- Duffy, J. M. 1973. The status of the California spiny lobster resource. Calif. Dep. Fish Game Mar. Res Tech. Rep. 10: 15 p.
- Edwards, G. A. y L. Irving. 1943. The influence of temperature and season upon the oxygen consumption of the sand crab, *Emerita talpoida* Say. J. Cell. and Comp. Physiol. 21: 169-182 p.
- Goldstein, J., H. Matsuda y M. Butler. 2006. Success. Caribbean spiny lobster, *Panulirus argus* is cultured from egg to juvenile for the first time. The lobster newsletter. 19 (1): 7-8 p.
- Gracía A. y C. B. Kensler. 1980. Las langostas de México: su biología y pesquería. An. Inst. Cienc. Del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México. 7(2): 111-128 p.
- Handlinger, J., J. Carson, A. J. Ritar, B. J. Crear, D. P. Taylor y D. Johnston. 1999. Disease conditions of cultured phyllosoma larvae and juveniles of the southern rock lobster

(*Jasus edwardsii*, Decapoda; Palinuridae). Proceedings, International symposium on lobster health management, Australia, September 1999. 75-87 p.

- Huggins, A. K. y K. A. Munday. 1998. Crustacean metabolism. Advances in comparative physiology and biochemistry. 3:271-378 p.
- Hughes, J. R., R. A. Shleser y G. Tchobanoglous. 1974. A rearing tank for lobster larvae and other aquatic species. Prog. Fish. Cult. 36: 129-132 p.
- Johnson, M. W. 1956. The larval development of the California spiny lobster, *Panulirus interruptus* (Randall), with notes on *Panulirus gracilis* streets. California Academy of Sciences. 29(1): 1-19 p.
- Johnson, M. W. 1960. Producctión and distribution of larvae of the spiny lobster *Panulirus interruptus* (Randall) with records on *Panulirus gracilis* streets. Scripps Inst. Oceanogr. 6: 413-462.
- Johnston, D., A. Ritar, C. Thomas y A. Jeffs. 2004. Digestive enzyme profiles of spiny lobster *Jasus edwardsii* phyllosoma larvae. Mar. Ecol. Prog. Ser. 275: 219-30 p.
- Kittaka, J. 1994. Culture of phyllosomas of spiny lobster and its application to studies of larval recruitment and culture. Crustacean. 66 (2): 258-270 p.
- Kittaka, J. 1997a. Application of ecosystem culture method for complete development of phyllosomas of spiny lobster. Aquaculture. 155: 319-331 p.
- Kittaka, J. 1997b. Culture of larval spiny lobster: a review of work done in northern Japan. Mar Freshwater Res. 48: 923-930 p.
- Kittaka, J. y A. B. Abrunhosa. 1997. Characteristics of palinurids (Decapoda; Crustacea) in larval culture. Hydrobiology. 358: 305-311 p.
- Lemos, D., R. L. V. Jorge y V. N. Phan. 2003. Simultaneous measurements of oxygen consumption and ammonia-N excretion in embryos and larvae of marine invertebrates. Comparative Biochemistry and Physiology. A (13): 321-328 p.
- Liddy, G. C., Bruce F. Phillips, G. B. Maguire. 2004a. Effects of temperature and food density on the survival and growth of early stage phyllosoma of the western rock lobster, *Panulirus cygnus*. Aquaculture. 242: 207-215 p.
- Liddy, G. C., M. M. Nelson, P. D. Nichols, B. F. Phillips y G. B. Maguire. 2004b. The lipid composition of early stage western rock lobster (*Panulirus cygus*) phyllosoma: importance of polar lipid and essential fatty acids. J. Sellfish. Res. 23(1): 265-273 p.

- Lindberg, R. G. 1955. Growth, population dynamics and field behavior in the spiny lobster, Panulirus interruptus (Randall). Univ. Calif. Publ. Zool. 59 (6): 157-248 p.
- López-Zenteno, M. 2004. Comparación de dos sistemas de cultivo de larva filosoma de la langosta roja *Panulirus interruptus*, a escala de laboratorio. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Ensenada, B. C., México. 77 p.
- Lozano-Álvarez, E., P. Briones-Fourzán, C. B. Kensler. 1981. Análisis de las probabilidades de cultivar langostas (Crustacea, Palinuridae) en México. An. Inst. Cienc. Del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México. 8(1): 69-78 p.
- Matsuda, H. y T. Yamakawa. 2000. The complete development and morphological changes of larval *Panulirus longipes* (Decapoda, Palinuridae) under laboratory conditions. Fisheries Science. 66: 278-293 p.
- Matsuda, H., T. Takenouchi y T. Yamakawa. 2003. Diel timing of molting and metamophosis of *Panulirus japonicus* phyllosoma larvae under laboratory conditions. Fisheries Science. 69(1): 124 p.
- Mayzaud, P. y R. J. Conover. 1988. O:N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism. Mar. Ecol. Prog. Ser. 45: 289-302 p.
- Mikami, S. 2005. Moulting behavior responses of Bay lobster, *Thenus orientalis*, to environmental manipulation. Marine and Freshwater Research. 39:287-292 p.
- Mikami, S. y J. G. Greenwood. 1997. Influence of light regimes on phyllosomal growth and timing of moulting in *Thenus orientalis* (Lund) (Decapoda: Scyllaridae). Marine and Freshwater Research. 48:777-782 p.
- Minagawa, M. 1994. Effects of photoperiod on survival, feeding and development of larvae of the red frog crab, *Ranina ranina*. Aquaculture. 120: 105-114 p.
- Mitchell, J. R. 1971. Food preferentes, feeding mechanism, and related behavior in phyllosoma larvae of the California spiny lobster, *Panulirus interruptus* (Randall). Tesis de Maestria. Faculty of San Diego State College. USA. 90 p.
- Moshiri, G., C. R. Goldman, G. L. Gobshalk y D. R. Mull. 1970. The effects of variations in oxygen tension on certain aspects of respiratory metabolism in *Pacifastacus leniusculus* (Dana) (Crustacea: Decapoda). Phys. Zoöl. 43(1): 23-29 p.
- Moss, G. A., L. J. Tong y J. Illingworth. 1999. Effects of light intensity and food density on the growth and survival of early stage phyllosoma larvae of the rock lobster *Jasus edwardsii*. Marine and Freshwater Research. 50(2): 129-134 p.

- Nelson, S. G., M. A. Simmons y A. W. Knight. 1985. Calorigenic effect of diet on the grass shrimp *Crangon franciscorum* (Crustacea: Crangonidae). Comp. Biochem. Physiol. 82A (2): 373-376 p.
- Nowark, W. S. W. 1970. The marketing of shellfish. Fishing News (Books) Ltd. Londres. 263 p.
- Ortuño-Manzanares, G. 2003. Abundancia y distribución de larvas filosoma de langosta roja (*Panulirus interruptus*) en la parte sur de la corriente de California durante el 2000. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y de educación Superior de Ensenada. Ensenada, B. C., México. 148 p.
- Palero-Pastor, F. 2004. El cultivo de la langosta: un reto para el siglo XXI. CIVA. 44-50 p.
- Pandian, M. y F. J. Vernberg. 1987. Animal Energetics. Vol.1 Protozoa Through Insectc. Academia Press Inc. San Diego, California.
- Pineda B., J., A. J. Díaz de León C. y F. Uribe O. 1981. Fecundidad de la langosta roja Panulirus interruptus (Randall, 1842) en Baja California. Ciencia Pesquera. 1(1):99-118 p.
- Ramaje, M. J. 1971.Food preferences, feeding mechanism and related behavior in phyllosoma larvae of the California spiny lobster, *Panulirus interruptus* (Randall). Tesis de Maestría. Facultad de San Diego State College. San Diego. 110 p.
- Ritar, A. J. 2001. The experimental culture of phyllosoma larvae of southern rock lobster (*Jasus edwardsii*) in a flow-through system. Aquacultural Engineering. 24: 149-156 p.
- Ritar, A. J., C. W. Thomas y A. R. Beech. 2002. Feeding Artemia and shellfish to phyllosoma larvae of southern rock lobster (*Jasus edwardsii*). Aquaculture. 212: 179-190 p.
- Ritar, A. J., G. A. Dunstan, y M. M. Nelson. 2004. Nutritional and bacterial profiles of juvenile *Artemia sp.* fed different enrichments and during starvation. Aquaculture. 239: 535-373 p.
- Rodriguez-Souza, J. C., C. A. Strüssman, F. Takashima, S. Sekine y Y. Shima. 1999. Absorption of dissolved and dispersed nutrients from sea-water by *Panulirus japonicus* phyllosoma larvae. Aquaculture Nutrition. 5: 41-51 p.
- Rosas, C., A. Sánchez, E. Díaz., L. A. Soto, G. Gaxiola y R. Brito. 1996. Effect of dietary protein level on apparent heat increment and post-prandial nitrogen excretion of *P. setiferus*, *P. notialis*, *P. schmitti* and *P. duorarum* postlarvae. Journal of the World Aquaculture Society. 27: 92-102 p.

- Rosas, C., G. Cuzon, G. Tabeada, C. Pascual, G. Gaxiola y A. Van-Wormhoudt. 2001. Effect of dietary protein and energy levels on growth, oxygen consumtion, haemolymph and digestive gland carbohydrates, nitrogen excretion and osmotic pressure of *Litopenaeus vannamei* (Boone) and *L. setiferus* (Linne) juveniles (Crustacea, Decapoda; Penaeidae). Aquaculture Research. 32: 531-547 p.
- Rosas-Vásquez, C. 2003. Bioenergética de camarones peneidos: una forma de comprender los mecanismos fisiológicos involucrados en la nutrición. Avances en Nutrición Acuícola III. 81-98 p.
- Sekine, S., Y. Shima, H. Fushimi y M. Nonaka. 2000. Larval period and molting in the japanese spiny lobster *Panulirus japonicus* under laboratory conditions. Fisheries Science. 66: 19-24 p.
- Serfling, S. A. y R. F. Ford. 1975. Ecology studies of the puerulus larvae stages of the California spiny lobster, *Panulirus interruptus*. U. S. Natl. Ma. Fish. Serv. Fish. Bull. 73(2):360-377 p.
- Serrano-Flores, E. D. 2001. Respuestas fisiológicas de larvas de *Panulirus interruptus* ante la variación de la temperatura y salinidad: temperatura y salinidad crítica, metabolismo y preferemdum termal. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad de Baja California, Ensenada, B. C., México. 53 p.
- Smith, G. G. 2004. Maternal and nutritional factors affecting larval competency in the spiny lobster, *Jasus edwarsii*. Tesis de doctorado. University of Tasmania, Australia. 198 p.
- Smith, G. G., A. J. Ritar y G. A. Dunstan. 2003b. An activity test to evaluate larval competency in spiny lobster (*Jasus edwardsii*) from wild and captive ovigerous broodstock held under different environmental conditions. Aquaculture. 218: 293-307 p.
- Smith, G. G., A. J. Ritar, C. G. Carter, G. A. Dunstan y M. R. Brown. 2003a. Morphological and biochemical characteristics of phyllosoma after photothermal manipulation of reproduction in broodstock of the spiny lobster, *Jasus edwardsii*. Aquaculture. 220: 299-311 p.
- Smith, G. G., A. J. Ritar, P. A. Thompson, G. A. Dunstan y M. R. Brown. 2002. The effect of embryo incubation temperature on indicators of larval viability in Stage I phyllosoma of the spiny lobster, *Jasus edwarsii*. Aquaculture. 209: 157-167 p.
- Tapla-Vázquez, O. y J. J. Castro González. 2000. Fecundidad y anatomía microscópica del ovario de la langosta roja *Panullirus interruptus* de Punta Eugenia, BCS., México. Ciencia Pesquera. 14: 63-66 p.

- Taylor y Francis. 2006. Orientation and navigation in coastal marine estuarine zooplankton. Marine and Freshwater Behavior and Physiology. 39(1):13-24 p.
- Thomas, H. J. 1954. The oxygen uptake of the lobster (*Homarus vulgaris* Edw.). J. Exp. Biol. 31: 228-251 p.
- Tong, L. J., G. A. Moss y M. P. Paewai. 2000. Effect of brine shrimp size on the consumption rate, growth and survival of early stage phyllosoma larvae of the rock lobster *Jasus edwardsii*. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Researh. 34: 469-473 p.
- Vea-Campa, D. O. 2003. Cultivo experimental de los estadios larvarios tempranos de la langosta roja *Panulirus interruptus* (Randall) en un sistema cerrado con microalgas. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, B. C., México. 52 p.
- Vega-Velásquez, A., G. Espinoza-Castro, A. Del Valle Martínez y R. Ayala Murillo. 2005. Revisión del estado actual y perspectivas de la pesquería de langostas espinosas (*Panulirus* spp.) de la Península de Baja California. En: Onceavo foro científico y taller sobre investigación, evaluación y manejo de langostas espinosas. La Paz, B. C. S. del 27 al 29 de julio. Trabajo Número 14.

## X. APÉNDICE

## X.1. Experimentos preliminares sobre el consumo de oxígeno y la excreción amoniacal

Se realizaron experimentos preliminares sobre el consumo de oxígeno y la excreción amoniacal en larvas filosomas de *Panulirus interruptus* para calcular el tiempo y número de larvas a colocar dentro de cada cámara respirométrica. La excreción amoniacal fue medida con la técnica del azul de indofenol. En la tabla XV y XVI se presentan los datos para larvas del estadio I y II respectivamente, con 1.5 horas de ayuno. En la figura 12 representa el consumo de oxígeno con relación a la concentración de oxígeno en el agua. La tabla XVII y figura 13 presenta la excreción amoniacal a diferentes tiempos de ayuno, así como el análisis estadístico correspondiente se muestra en la tabla XVIII.

n	µg O₂·h⁻¹· larva	µg NH₄ ∙h⁻¹·larva	Relación oxígeno – nitrógeno
1	0.29	0.00512	70.8
2	0.31	0.00453	85.5
3	0.24	0.00355	84.5
4	0.36	0.00275	163.6
5	0.29	0.00195	185.8
6	0.30	0.00298	125.8
7	0.28	0.00181	193.3
8	0.50	0.00565	110.6
9	0.36	0.00245	183.6
10	0.32	0.00405	98.7
11	0.36	0.00266	169.1
12	0.30	0.00447	83.8
13	0.41	0.00473	86.6

Tabla XV. Consumo de oxígeno, excreción amoniacal y relación oxígeno - nitrógeno en larvas filosomas de *P. interruptus* en estadio I.

n	µg O₂·h⁻¹· larva	µg NH₄ ·h⁻¹·larva	Relación oxígeno – nitrógeno
1	0.51	0.00130	490.3
2	0.59	0.00817	90.2
3	0.59	0.00145	508.6
4	0.58	0.01023	70.8
5	0.56	0.00173	404.6
6	0.62	0.00180	430.5
7	0.52	0.01078	60.2
8	0.50	0.00577	108.3
9	0.52	0.00706	92.0
10	0.51	0.00222	287.1

Tabla XVI. Consumo de oxígeno, excreción amoniacal y relación oxígeno - nitrógeno en larvas filosomas de *P. interruptus* en estadio II.



Figura 12. Regresión del consumo de oxígeno por larvas filosomas del estadio I y II en función de la concentración de oxígeno en el agua. La línea superior representa al estadio II y la inferior al estadio I.

Horas	mg NH4·g <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup>		
1	0.2117	0.2268	0.2371
2	0.1118	0.1197	0.0736
3	0.0398	0.0426	0.01016
4	0.0000	0.0063	0.01016

Tabla XVII. Excreción amoniacal a diferentes tiempos de ayuno en larvas filosomas del estadio II.

Tabla XVIII. Análisis de varianza de dos vías de la excreción amoniacal de las larvas filosomas del estadio II a diferentes tiempos de ayuno.

	Grados de libertad	F	р
Entre tiempos de ayuno	3	344.3	p < 0.001***
Entre repeticiones	2	0.90	$p = 0.45^{ns}$



gura 12. Regresión de la excreción amoniacal por larvas filosomas II a diferentes tiempos de ayuno. Las líneas punteadas indican el intervalo de confianza del 0.95 y las letras denotan diferencias significativas (p <  $0.01^{**}$ ) de acuerdo a la prueba estadística *a posteriori* de Tukey.

# X.2. Longitud de Artemia sp.

n	24 horas	48 horas	
1	0.73	0.73	
2	0.66	0.77	
3	0.73	0.82	
4	0.73	0.80	
5	0.86	0.75	
6	0.68	0.80	
7	0.68	0.93	
8	0.77	0.84	
9	0.66	0.86	
10	0.66	0.80	
11	0.68	0.71	
12	0.62	0.82	
13	0.66	0.86	
14	0.71	0.80	
15	0.68	0.77	
16	0.60	0.84	
17	0.66	0.84	
18	0.66	0.66	
19	0.66	0.88	
20	0.66	0.71	

Tabla XIX. Longitud de la Artemia franciscana con diferentes tiempos de incubación

# X.3. Longitud y peso seco de las larvas filosomas de Panulirus interuptus

n	Cohorte 1 (Estadio I)	Cohorte 2 (Estadio I)	Cohorte 2 (Estadio II)
1	1.83	1.71	2.00
2	1.80	1.65	2.00
3	1.80	1.71	2.00
4	1.83	1.68	2.12
5	1.62	1.71	2.15
6	1.85	1.65	2.00
7	1.68	1.71	2.10
8	1.74	1.68	2.20
9	1.74	1.62	2.00
10	1.80	1.71	2.00
11	1.85	1.68	2.12
12	1.77	1.65	2.12
13	1.77	1.65	2.22
14	1.88	1.71	2.07
15	1.85	1.65	2.00
16	1.85	1.65	2.10
17	1.77	1.71	2.17
18	1.80	1.68	2.02
19	1.77	1.68	2.05
20	1.85	1.68	2.02

Tabla XX. Longitud total en milímetros de las larvas filosomas de la cohorte uno y dos
n	Cohorte 1 (Estadio I)	Cohorte 2 (Estadio I)	Cohorte 2 (Estadio II)
1	8.33	5.56	8.70
2	8.87	7.93	9.03
3	9.11	7.00	6.92
4	8.69	7.15	8.62
5	8.70	7.70	9.44
6	9.30	6.81	8.17
7	7.69	7.11	9.18
8	9.00	7.10	9.56
9	8.60	7.33	8.72
10	8.72	7.44	10.00
11	8.22	7.22	9.49
12	8.13	7.33	8.78
13	8.70	7.44	
14	8.50	7.33	
15	8.70		
16	8.39		
17	8.50		
18	8.52		
19	8.89		
20	9.13		

Tabla XXI. Peso seco en  $\mu g$  de las larvas filosomas de la cohorte uno y dos

Hora	Repetición	$\operatorname{mg} \operatorname{O}_2 \cdot \operatorname{g}^{-1} \cdot \operatorname{h}^{-1}$	$mg NH_4 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Relación O:N
1	1	4.94	0.064	95.6
1	2	5.44	0.088	76.8
1	3	4.47	0.099	69.1
5	1	4.81	0.009	
5	2	4.84	0.049	121.6
5	3	4.63	0.025	229.8
11	1	4.35	0.067	80.4
11	2	4.19	0.047	110.6
11	3	4.00	0.026	189.3
14	1	3.44	0.034	123.5
14	2	3.84	0.035	136.1
14	3	3.33	0.016	255.4
21	1	4.40	0.075	72.7
21	2	4.50	0.042	130.9
21	3	4.74	0.047	123.5
59	1	2.16	0.042	63.2
59	2	2.13	0.044	60.4
59	3	2.95	0.060	60.9

## X.4. Consumo de oxígeno, excreción amoniacal y relación oxígeno – nitrógeno de las larvas filosomas

Tabla XXII. Consumo de oxígeno, excreción amoniacal y relación O:N a diferentes

tiempos de ayuno en las larvas filosomas en estadio I.

n	$mg O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	mg NH <sub>4</sub> ·g <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup>	Relación O:N
1	3.99	0.037	134
2	3.60	0.014	327
3	4.38	0.032	171
4	4.35	0.037	148
5	3.91	0.079	62
6	4.80	0.040	150
7	4.33	0.088	62
8	4.40	0.038	144
9	4.38	0.076	72
10	4.03	0.029	173
11	4.50	0.095	59
12	4.77	0.055	109
13	4.54	0.035	160
14	4.03	0.012	422

XXIII. Consumo de oxígeno, excreción amoniacal y relación O:N durante el día de las larvas filosomas del estadio I.

n	$mg O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	mg NH <sub>4</sub> ·g <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup>	Relación O:N
1	3.71	0.039	118
2	2.65	0.013	259
3	4.66	0.032	184
4	3.21	0.051	79
5	3.67	0.016	293
6	3.96	0.022	229
7	4.89	0.044	138
8	3.60	0.070	64
9	3.65	0.039	118
10	3.86	0.066	73
11	3.14	0.032	123
12	3.05	0.019	204
13	3.55	0.044	101
14	3.72	0.045	103

XXIV. Consumo de oxígeno, excreción amoniacal y relación O:N durante la noche de las larvas filosomas del estadio I.

n	$mg O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	mg NH <sub>4</sub> ·g <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup>	Relación O:N*	
1	3.54	0.041	108	
2	3.87	0.000	74	
3	4.02	0.065	142	
4	3.49	0.035	258	
5	3.85	0.017	224	
6	4.03	0.000		
7	3.94	0.000		
8	4.00	0.005		
9	3.10	0.022		
10	3.77	0.000		
11	4.22	0.000		
12	4.00	0.000		
13	3.65	0.000		

XXV. Consumo de oxígeno, excreción amoniacal y relación O:N durante el día de las larvas filosomas del estadio II.

\*Los datos de la relación O:N no están ordenados

$\operatorname{mg} \operatorname{O}_2 \cdot \operatorname{g}^{-1} \cdot \operatorname{h}^{-1}$	mg NH <sub>4</sub> ·g <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup>	Relación O:N*
3.73	0.012	172
2.64	0.034	121
2.18	0.014	212
4.50	0.033	347
2.69	0.028	171
2.67	0.016	
3.72	0.004	
3.34	0.012	
3.33	0.024	
3.22	0.006	
2.68	0.011	
3.60	0.007	
2.96	0.012	
	$\begin{array}{c} \text{mg } \text{O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} \\ \hline 3.73 \\ 2.64 \\ 2.18 \\ 4.50 \\ 2.69 \\ 2.67 \\ 3.72 \\ 3.34 \\ 3.33 \\ 3.22 \\ 2.68 \\ 3.60 \\ 2.96 \end{array}$	mg $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ mg $NH_4 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ 3.730.0122.640.0342.180.0144.500.0332.690.0282.670.0163.720.0043.340.0123.330.0243.220.0062.680.0113.600.0072.960.012

XXVI. Consumo de oxígeno, excreción amoniacal y relación O:N durante la noche de las larvas filosomas del estadio II.

\*Los datos de la relación O:N no están ordenados