

144
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

CAMPUS IZTACALA

“TERMOTOLERANCIA, HALOTOLERANCIA Y TEMPERATURA OPTIMA EN JUVENILES DE CALLO DE HACHA (*Atrina maura* Sowerby, 1835)”.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A
IGNACIO LEYVA VALENCIA

DIRECTOR DE TESIS: Dr. ALFONSO N. MAEDA MARTINEZ
Co-DIRECTOR DE TESIS: M. en C.: Ma. TERESA SICARD GONZALEZ



LOS REYES IZTACALA, ESTADO DE MEXICO 1999.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es producto del apoyo de muchas personas, por razones de espacio no menciono a todas, sin embargo están presentes en mi mente y siempre les estaré agradecido.

Deseo expresar mi agradecimiento a la ENEP campus Iztacala por la formación que me brindó y orgullosamente ser parte de ella, de igual manera agradezco al CIBNOR por la infraestructura y facilidades proporcionadas que me han permitido continuar mi desarrollo profesional.

Agradezco sinceramente al Dr. Alfonso Maeda y a la M. en C. Teresa Sicard la oportunidad y el apoyo que me han brindado, por sus consejos, su paciencia y la confianza que depositaron en mí. Al proyecto CONACyT No. 1775P-B y al proyecto interno del CIBNOR CM5 (ambos dirigidos por el Dr. Maeda), por el apoyo económico proporcionado durante la realización de este trabajo.

También quiero agradecer a Miguel, Pablito y Teo por proporcionarme los juveniles de callo de hacha, el alimento que utilice durante los experimentos y por los momentos amenos que compartimos, a Cony por sus comentarios siempre constructivos, a Lucelly (eres parte de este logro), Liliana y Salvador por su ayuda desinteresada. A mis amigas (Mene y Esperanza) por su amistad y por permitirme compartir con ellas un hogar. A Carlos, Ana María, Horacio, Aldo y Tony por su valiosa ayuda.

Finalmente quiero agradecer a mis profesores y sinodales por la formación académica que me dieron y por sus valiosos comentarios para mejorar este trabajo, a la familia Sierra-Hernández por su amistad, y principalmente a **mi familia**, a quienes les debo todo, nuevamente GRACIAS por creer en mí y brindarme todo su apoyo siempre.

DEDICATORIA

Este logro lo dedico a mis padres Ignacio y Margarita quienes significan todo para mi, a mis hermanas Ara, Gris y Ana por su apoyo, comprensión y confianza incondicionales, a mi gran Tío Mario por ser como mi hermano y animarme a seguir siempre adelante. A los demás integrantes de mi familia que siempre han apoyado mis desiciones. De igual manera lo dedico a mis Directores Tere y Alfonso por abrirme las puertas y porque gran parte de él se lo debo a ustedes.

Igualmente va dedicado a los amigos de la carrera que han sido mi segunda familia, a Cris, Javi y Charly que han hecho que el tiempo lejos de casa y los momentos difíciles transcurran rápido y especialmente a Mene, Esperanza, Bere y Joaquin con quienes tuve la oportunidad de compartir gran parte de esta "aventura".

Finalmente dedico este trabajo a la persona que ha estado a mi lado en los momentos más difíciles y con la que he compartido también los más felices durante este tiempo, por tu comprensión y apoyo GRACIAS Delia.

INDICE

LISTA DE FIGURAS.....	1
GLOSARIO.....	4
RESUMEN.....	5
INTRODUCCIÓN.....	6
ANTECEDENTES.....	11
JUSTIFICACIÓN.....	11
OBJETIVOS.....	12
MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
Organismos experimentales.....	12
Peso seco de tejido (PST).....	13
Termotolerancia superior.....	14
Halotolerancia inferior y superior.....	16
Temperatura óptima.....	16
MARCO DE ACTIVIDAD	
Tasa respiratoria activa (TRA).....	17
Tasa respiratoria estándar (TRE).....	22
Tasa de ingestión y tasa de aclaramiento.....	22
Crecimiento y supervivencia.....	25

RESULTADOS	26
Peso seco de tejido (PST).....	26
Termotolerancia superior(TLM_{s96}).....	27
Halotolerancia inferior (SLM_{i96}) y superior (SLM_{s96}).....	28
TEMPERATURA ÓPTIMA	
MARCO DE ACTIVIDAD	
Tasa respiratoria activa.....	30
Tasa respiratoria estándar.....	32
Tasa de ingestión y tasa de aclaramiento.....	35
Crecimiento y supervivencia.....	37
DISCUSIÓN	39
CONCLUSIONES	41
RECOMENDACIONES	41
ANEXO	43
REFERENCIAS	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Criterio utilizado para determinar la anchura de la concha en los juveniles de <i>Atrina maura</i>	13
Figura 2. Sistema utilizado para el mantenimiento de los juveniles en condiciones de laboratorio.....	15
Figura 3. Procedimiento utilizado para la incubación de los juveniles de <i>Atrina maura</i> en las determinaciones de tasa respiratoria.....	19
Figura 4. Sistema miniaturizado microWinkler empleado para la determinación de oxígeno disuelto en muestras de agua.....	20
Figura 5. Toma y fijación de muestras de agua para determinar el consumo de oxígeno en juveniles de callo de hacha (<i>Atrina maura</i>).....	21
Figura 6. Sistema de flujo cerrado para determinación de la tasa de ingestión y de aclaramiento.....	24
Figura 7. Relación entre el voltaje del fluorómetro y la concentración de microalgas (<i>Isochrysis galbana</i>).....	25
Tabla 1. Peso seco de tejido registrado en juveniles de callo de hacha <i>Atrina maura</i> entre 15 y 30 mm de anchura.....	26
Figura 8. Tolerancia térmica superior en juveniles de callo de hacha (<i>Atrina maura</i>)....	27

Figura 9. TLM ₉₆ de juveniles de callo de hacha (<i>Atrina maura</i>) calculada gráficamente.....	28
Figura 10. Halotolerancia superior e inferior de los juveniles de callo de hacha (<i>Atrina maura</i>).....	29
Figura 11. SLM ₉₆ y tiempo letal medio a 50‰ en juveniles de callo de hacha (<i>Atrina maura</i>).....	30
Figura 12. Tasa respiratoria activa y tasa respiratoria estándar en juveniles de callo de hacha (<i>Atrina maura</i>) a diferentes temperaturas.....	31
Tabla 2. Análisis de varianza y prueba de Tukey practicados a los resultados de tasa respiratoria activa en juveniles de callo de hacha (<i>Atrina maura</i>).....	32
Figura 13. Tasa respiratoria de juveniles de callo de hacha (<i>Atrina maura</i>), sometidos a inanición, a distintas temperaturas.....	33
Tabla 3. Análisis de varianza y prueba de Tukey practicados a los resultados de tasa respiratoria estándar en juveniles de callo de hacha (<i>Atrina maura</i>).....	34
Figura 14. Marco de actividad de juveniles de callo de hacha (<i>Atrina maura</i>), aclimatados a diferentes temperaturas.....	35
Figura 15. Tasa de ingestión y tasa de aclaramiento en juveniles de callo de hacha (<i>Atrina maura</i>).....	36
Figura 16. Efecto de la temperatura sobre el crecimiento de juveniles de callo de hacha (<i>Atrina maura</i>).....	37

Figura 17. Supervivencia de juveniles de callo de hacha (*Atrina maura*), aclimatados a diferentes temperaturas experimentales.....38

GLOSARIO

ACLIMATACIÓN. Mecanismo de adaptación metabólica que presenta un organismo como respuesta a cambios ambientales, normalmente inducidos en el laboratorio, los cuales pueden demorar días o semanas.

ACLIMATIZACIÓN. Mecanismo de adaptación que presenta el organismo en respuesta a los cambios en el ambiente natural, el cual ocurre en un periodo de horas a días.

MARCO DE ACTIVIDAD. Diferencia aritmética entre la Tasa Metabólica Activa vs. la Tasa Metabólica Estándar, representa la cantidad de energía disponible para realizar el trabajo externo. Por ejemplo, crecimiento, maduración gonádica, reproducción, entre otros.

TASA DE ACLARAMIENTO. Volumen de agua que ha quedado libre de partículas de alimento, por unidad de tiempo.

TASA DE INGESTIÓN. Cantidad de partículas de alimento retenidas de un volumen de agua, por unidad de tiempo.

TASA RESPIRATORIA ACTIVA. Consumo de oxígeno por unidad de tiempo de un animal en condiciones de máxima actividad metabólica, cuando ha sido alimentado a saciedad.

TASA RESPIRATORIA ESTÁNDAR. Consumo de oxígeno por unidad de tiempo de un organismo en mínima actividad metabólica, el cual se produce cuando el animal es mantenido en ayuno prolongado.

RESUMEN

En el presente trabajo se determinó la termotolerancia y halotolerancia de juveniles de callo de hacha (*Atrina maura*) exponiendolos a 19, 22, 24, 28, 30, 32 y 35°C y 15, 20, 25, 30, 38, 42, 45 y 50‰ respectivamente durante 96 h. Se calculó gráficamente la temperatura letal media superior y la salinidad letal media inferior ambas a 96 h, resultando 33.2°C y 16.25‰ respectivamente. La salinidad letal media superior 96 h no se alcanzó a la máxima salinidad probada (50‰), sin embargo, se obtuvo el tiempo letal medio a esta salinidad que fue de 168 h. Adicionalmente se trató de determinar la temperatura óptima a través del marco de actividad (tasa respiratoria activa menos tasa respiratoria estándar), la tasa de ingestión y la tasa de aclaramiento en 16, 19, 25 y 29°C. El valor más alto de marco de actividad se obtuvo en el tratamiento de 29°C (0.913 ml O₂/g/h), esta misma tendencia se observó en los resultados de tasa de ingestión (6.9 x 10⁷ céls/g/h) y la tasa de aclaramiento (2.2 L/g/h). Lo anterior concuerda con los resultados del experimento de crecimiento, donde se obtuvo a 29°C el mayor incremento en anchura de la concha (0.69 mm/día). La mortalidad registrada en esta temperatura fue despreciable (15%). Con estos resultados puede considerarse que los juveniles de callo de hacha (*Atrina maura*) tienen un amplio intervalo de tolerancia a la temperatura y la salinidad, y la temperatura óptima para su desarrollo probablemente sea de 29°C o mayor, en virtud de que no se realizaron experimentos a temperaturas superiores que permitieran definir con mayor precisión cual es la temperatura óptima para la especie. Esta información puede ser útil para la producción de semillas en el laboratorio o en la búsqueda de sitios adecuados para su cultivo.

INTRODUCCIÓN

En el noroeste del Pacífico Mexicano se explotan más de cincuenta y cuatro especies de moluscos (Baqueiro, 1984), los cuales sostienen una importante actividad comercial en la región. Entre las especies más aprovechadas se encuentran: la almeja catarina (*Argopecten ventricosus*), la almeja mano de león (*Nodipecten subnudosus*), el callo de hacha larga (*Pinna rugosa*) y el callo de hacha china o de riñón (*Atrina maura*). Esta última es muy apreciada por su sabor y es por ello sujeto de una de las pesquerías más importantes, generadora de ingresos en Baja California Sur y en menor grado en las regiones mexicanas del Pacífico Sur (Vélez-Barajas y Fajardo-León, 1996). De estos organismos sólo se consume el músculo aductor, cuyo precio en playa por kilogramo oscila entre los \$70 y \$80 pesos y entre \$110 y \$140 pesos precio al público.

Los callos de hacha son moluscos bivalvos de conchas alargadas con forma triangular, sexos separados y filtroalimentadores. Su dieta está constituida básicamente por diatomeas, microflagelados, copépodos y protozoarios (Rodríguez e Izabal-Zazueta, 1982). Los adultos llegan a medir de 250 hasta 300 mm de longitud. Habitan en zonas intermareales en bahías protegidas con fondo arenoso-rocosas, enterradas y ancladas al substrato por el biso. Estos pueden encontrarse desde el límite inferior de la marea hasta 10 m de profundidad, aunque se han encontrado en algunas bahías a más de 45 m (Villarar, 1965; Noguera y Gómez-Aguirre, 1972).

Particularmente, *Atrina maura* se distribuye desde Baja California hasta el sur de Perú. En México se localiza en ambas costas de la Península de Baja California. En su litoral occidental, en las Lagunas de Guerrero Negro, Ojo de Liebre, San Ignacio, y en los Esteros El Dátil, El Bateque, San José de Gracia y en Bahía Magdalena. En el Golfo de California en la Bahía de La Paz, Canal de San Lorenzo, Isla San José, Puerto Escondido, Bahía Concepción y en las costas de Sonora, Sinaloa y Nayarit (Baqueiro *et al.*, 1982).

Dada su amplia distribución, es un organismo que aparentemente tolera un amplio intervalo de temperaturas y salinidades, ignorándose a la fecha los límites de tolerancia y los valores óptimos de crecimiento a dichas variables. La extracción que se ha mantenido durante décadas se realiza de manera artesanal. La falta de regulación en el aprovechamiento de este recurso provocó que a partir de 1990, esta pesquería declinara hasta en un 95% en 1995 (Reynoso *et al.*, 1996), obligando a recurrir al buceo para su colecta. Vélez-Barajas y Fajardo-León (1996), mencionan que la presión de explotación que soportan estos bancos, por la falta de una adecuada regulación pesquera, y de la extracción ilegal que ocurre durante todo el año, han provocado el agotamiento del recurso en las bahías de la costa occidental de Baja California Sur.

Como una alternativa de producción y a fin de contrarrestar los efectos de sobreexplotación pesquera, se ha recurrido a la acuicultura de estos organismos. Los primeros intentos se hicieron en el Centro Acuícola de San Blas, Nayarit, de 1982 a 1984 con *Pinna rugosa*, logrando inducir al desove a los reproductores y cultivar las larvas. En varios intentos, se produjo un número reducido de juveniles los cuales fueron sembrados en el medio natural sin haberles dado seguimiento (Rangel-Dávalos, 1990). Posteriormente Arizpe-Covarrubias y Félix-Uraga (1986) realizaron un cultivo de *P. rugosa* empleando juveniles colectados del medio natural. Ellos mencionan que el crecimiento de esta especie puede variar dependiendo del sitio y los artefactos de cultivo que se utilicen.

En años más recientes, el Centro de Reproducción de Especies Marinas de Estado de Sonora (CREMES) produjo larvas de *Atrina maura*, las cuales lograron mantener hasta alcanzar la capacidad de fijación (Herrera, 1995). Sin embargo, la producción de estos organismos no ha sido continúa, por lo que no se ha podido satisfacer la creciente demanda de juveniles. En Abril de 1997 se produjeron 110,000 juveniles de *A. maura* a nivel experimental, en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, pero la producción ha sido inconsistente (Robles-Mungaray, com. pers.¹).

¹Miguel Robles-Mungaray, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., La Paz, B. C. S.

Para impulsar el desarrollo de una industria basada en el cultivo de moluscos marinos en una región determinada, es necesario que la tolerancia de los organismos, sea compatible con las variaciones de los factores ambientales como son la temperatura, la salinidad, etc. Por ello, antes de iniciar un cultivo es conveniente conocer los datos históricos de variabilidad de dichos factores en el sitio potencialmente elegido, así como de los rangos de tolerancia de las especies a los mismos.

Adicionalmente, sería conveniente determinar el valor óptimo de dichos factores, donde el crecimiento y la supervivencia fueran máximos, y así obtener el mayor rendimiento económico posible. Para ello, la ecofisiología ofrece herramientas que pueden ser aplicadas en el laboratorio. Por ejemplo, para determinar los valores de tolerancia térmica máximos y mínimos de las especies, se aplica el método de dosis letal media a un tiempo determinado (normalmente 96 h) (Rand y Petrocelli, 1985), que nos indica el valor del factor ambiental donde muere la mitad de la población sujeta a experimentación.

Por otra parte, para determinar el valor óptimo de crecimiento y supervivencia, pueden hacerse ensayos donde se expongan organismos de un mismo lote a diferentes temperaturas, registrando periódicamente el crecimiento y la supervivencia. Este método tiene la desventaja de que los experimentos deben realizarse en tiempos prolongados, hasta que se obtengan diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en talla, peso, etc. Otros métodos precisos y rápidos para determinar valores óptimos, son los que se basan en la medición de respuestas fisiológicas a diferentes factores ambientales. Un indicador del estado fisiológico del organismo es el consumo de oxígeno a un tiempo determinado, también conocido como tasa respiratoria (TR), la cual refleja el metabolismo del animal (Smith-Nielsen, 1979).

Basado en estudios hechos en peces por Widdows (1937), Fry (1947) describe diferentes niveles de respiración para los moluscos: 1) Tasa respiratoria activa (TRA), es el nivel de consumo de oxígeno bajo condiciones de máxima actividad, cuando el animal está alimentado a saciedad por largos períodos de tiempo; 2) Tasa respiratoria

estándar (TRE) también conocida como metabolismo basal, se refiere a la energía mínima requerida para mantener todas las funciones vitales en un organismo inactivo que se encuentra bajo condiciones de ayuno prolongado. El conocimiento de ambos niveles permite determinar el valor óptimo donde el organismo tiene mayor energía para crecer o reproducirse, lo cual refleja su balance energético. Este valor óptimo será donde la diferencia aritmética de la TRA menos la TRE sea máxima, a esta diferencia se le conoce como Scope for Activity (Fry, 1947) o Marco de Actividad (MA) (Sicard-González, 1999).

La TRA puede ser inducida en el laboratorio proporcionando a los organismos alimento de manera constante durante períodos de tiempo prolongados, en tanto que la TRE se puede provocar privando al organismo de alimento, de tal manera que el animal utiliza sus reservas energéticas para mantenerse vivo hasta un cierto nivel previo a la muerte. En los moluscos bivalvos, la tasa respiratoria se ha determinado calculando la diferencia entre la cantidad de oxígeno disuelto inicial en una cámara de incubación con los organismos, menos el volumen de oxígeno al final del tiempo de incubación (Van Dam, 1954; Read, 1962; Iglesias y Navarro, 1991; Navarro *et al.*, 1991; Espina y Bückle Ramírez, 1994). Para medir oxígeno disuelto, se pueden utilizar oxímetros con electrodos, los cuales son prácticos en su manejo pero de baja resolución y precisión. Sin embargo, el método químico de Winkler, (1888) es de alta precisión. Bryan *et al.* (1976) desarrollaron un método que aumenta considerablemente la precisión del método de Winkler, Maeda-Martínez (1985) desarrolló una versión miniaturizada del titulador de Bryan, que permite titular muestras de 3 a 7 ml sin modificar la precisión del método.

Otros factores que pueden ser importantes en los estudios ecofisiológicos de los moluscos son la Tasa de Ingestión (TI), que es el número de partículas (microalgas) retenidas en las branquias de un determinado volumen de agua por unidad de tiempo, y la Tasa de Aclaramiento (TA), que representa el volumen de agua que ha quedado libre de partículas por unidad de tiempo. Bayne (1976) y Sicard (1999) encontraron

en el mejillón (*Mytilus edulis*) y en la almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) respectivamente, que la tasa de ingestión y la tasa de aclaramiento de partículas, varían de la misma forma que el marco de actividad dentro de un cierto rango de temperaturas, por lo que podrían considerarse también como indicadores para determinar los valores óptimos buscados. El conocimiento de factores que influyen en la eficiencia con que los organismos obtienen sus fuentes energéticas (alimento), es de suma importancia. En la actualidad se sabe que debido a la doble función que realizan las branquias (respiratoria-alimenticia), la tasa de ingestión y la tasa de aclaramiento son afectadas por factores similares a los que influyen en la tasa respiratoria (Bayne, 1976).

En el presente trabajo se presentan los resultados de un estudio de temperatura letal media superior a 96 h (TLM_{s96}). Por otra parte, se determinó la salinidad letal media inferior (SLM_{i96}) y superior (SLM_{s96}) en juveniles de callo de hacha, pues como se mencionó anteriormente, son organismos que viven en zonas intermareales y esteros, condición que los expone a los cambios de salinidad que suelen ocurrir en esos sitios. Adicionalmente se buscó determinar la temperatura óptima para el desarrollo de los mismos juveniles, a través del marco de actividad y las tasas de ingestión y de aclaramiento, comparando el efecto de las temperaturas experimentales sobre su crecimiento y supervivencia.

ANTECEDENTES

La información publicada sobre la familia Pinnidae es escasa y se extiende sólo a algunas especies. Particularmente en *Pinna rugosa*, se han realizado investigaciones sobre su biología (Singh-Cabanillas *et al.*, 1995), histología de gónadas (Noguera, 1968 y Coronel, 1981), crecimiento en campo (Holguín, 1975; Cendejas *et al.*, 1985; Arizpe-Covarrubias y Félix-Uraga, 1986) y reclutamiento (Bojórquez-Verástica, 1986).

En *Atrina pectinata*, se han realizado trabajos morfofuncionales (Liang y Morton, 1988; Suzuki, 1988), fisiológicos (Yamamoto *et al.*, 1996) y sobre la producción de juveniles a nivel experimental (Cheong *et al.*, 1986; Bishui-Lin *et al.*, 1987).

En *Atrina tuberculosa*, se realizó un estudio en el laboratorio sobre el efecto de la temperatura y la alimentación en las tasas de filtración y de aclaramiento, eficiencia de asimilación, el consumo de oxígeno, la relación O/N y la energía potencial de crecimiento (Nieves-Soto, 1988).

En *Atrina maura*, se ha estudiado el desarrollo gonádico por métodos histológicos (Aguilar, 1964), aspectos poblacionales y de crecimiento (Soria, 1989), estudios reproductivos (Maeda-Martínez *et al.*, 1996), la producción de semillas a nivel experimental (Lauz-Sanchez, 1993; Maeda-Martínez *et al.*, 1996) y la nutrición en juveniles (Ruíz-Velasco-Cruz, 1998).

JUSTIFICACIÓN

Aunque los estudios realizados a la fecha para *Atrina maura*, están enfocados al aprovechamiento de esta especie, aún se desconocen las condiciones de temperatura y salinidad más adecuadas para la producción de juveniles en laboratorio, así como para la elección de sitios donde se pueda desarrollar el cultivo de estos organismos a nivel comercial. Con los resultados obtenidos, los futuros acuicultores, contarán con información valiosa tanto para la producción de juveniles en el laboratorio, como para hacer una correcta elección de los sitios de cultivo.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar el efecto de la temperatura y la salinidad sobre los juveniles de callo de hacha (*Atrina maura*) utilizando técnicas ecofisiológicas que permitan determinar el marco ambiental favorable para su cultivo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la temperatura letal media superior a 96 h (TLM_{96}) en juveniles de callo de hacha *A. maura*.
2. Determinar la halotolerancia inferior y superior en juveniles de *A. maura*.
3. Determinar la temperatura óptima para la especie mediante el estudio del marco de actividad, la tasa de ingestión, la tasa de aclaramiento, el crecimiento y la supervivencia a diferentes temperaturas en juveniles de callo de hacha.

MATERIALES Y MÉTODOS

Organismos experimentales

Juveniles del callo de hacha *Atrina maura* producidos en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) de aproximadamente 16 mm de anchura, fueron mantenidos en recipientes de plástico de 70 L con 40 L de agua marina filtrada ($5\mu m$), a 22°C de temperatura, 38‰ de salinidad y aireación constante. Estos fueron alimentados con 4×10^9 céls/día de una mezcla de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros gracilis* en proporción 1:1. La temperatura de los tanques se mantuvo estable con un calentador de inmersión Ebo-Jager de 250 Watts de potencia con termostato integrado. Diariamente se registró la temperatura y la salinidad y se hizo un recambio de agua del 50%, eliminando las heces por sifoneo.

PESO SECO DE TEJIDO (PST)

En virtud de la escasez de organismos experimentales, de su variación de tallas y con el fin de hacer comparativos los resultados de este trabajo con los reportados en otras especies, los resultados obtenidos fueron estandarizados para el peso seco de los tejidos (PST) a partir de la anchura de la concha (Fig.1). Para ello, se determinó la relación anchura-PST experimentalmente empleando 24 juveniles entre 15 y 30 mm de anchura. En este trabajo se prefirió la anchura como medida de talla en lugar de la longitud, considerando que el margen distal de la concha, de donde se tomaría la longitud es frágil, pudiendo arrojar errores en la medición en caso de fractura durante el manejo de los organismos.

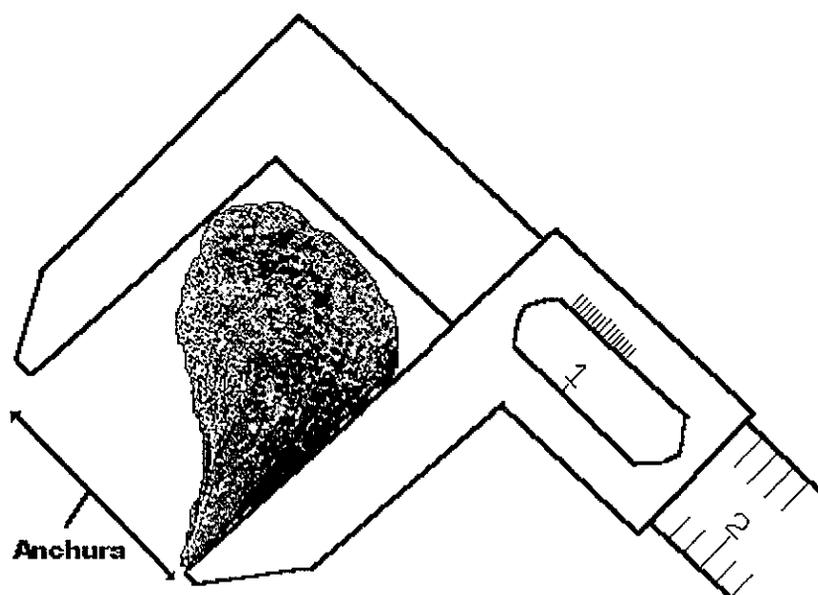


Figura 1. Criterio utilizado para determinar la anchura de la concha en los juveniles de *Atrina maura*.

Una vez medidos con un calibrador vernier, los organismos fueron limpiados cuidadosamente con un cepillo dental y agua destilada con el fin de retirar cualquier material extraño que pudiera causar errores en el pesaje de las valvas, a continuación se secaron en una estufa a una temperatura de $60^{\circ}\text{C} \pm 1$ por 3 días. Posteriormente

los animales fueron pesados en una balanza analítica (OHAUS, modelo Galaxy 110) con 1×10^{-4} g de resolución. Los tejidos fueron separados de las valvas con una aguja de disección y pesados por separado. El peso seco de tejido se obtuvo por la diferencia en peso del organismo completo menos el peso de los tejidos. Los datos de anchura y PST se sometieron a un análisis de regresión para buscar el modelo que describiera mejor la relación entre ambas variables. Cabe señalar que todos los experimentos que se describen a continuación fueron realizados en un laboratorio equipado con sistema de aire acondicionado, manteniendo una temperatura promedio de 22°C durante las 24 h del día.

TERMOTOLERANCIA SUPERIOR

La determinación de la temperatura letal media superior 96 h (TLM_{s96}), se realizó siguiendo el diseño experimental de la Figura 2. Siete juveniles de callo de hacha de aproximadamente 16 mm de anchura se colocaron en cubetas de plástico de 3.5 L, conteniendo agua de mar a 38 ‰ a diferentes temperaturas (19, 22, 24, 28, 30, 32 y 35°C). Posteriormente se registró la supervivencia de los organismos a tiempos predeterminados (4, 8, 24, 72 y 96 h) (Rand y Petrocelli, 1985). Cada tratamiento se llevo a cabo por triplicado, se consideró que un organismo estaba muerto cuando se aplicaban estímulos suaves en el manto y músculo por medio de una aguja de disección y no había respuesta. Durante la época del año en que se realizaron los experimentos de termotolerancia el agua de mar tenía una salinidad de 38‰, dado que esta salinidad es muy cercana a la salinidad promedio en los sitios potenciales de cultivo, se decidió utilizar esta concentración a fin de observar cual podría ser el comportamiento de los organismos ante variaciones de temperatura extremas. Las temperaturas de los distintos tratamientos se lograron por baño maría introduciendo las cubetas en tanques de 40 L con agua a las temperaturas experimentales.

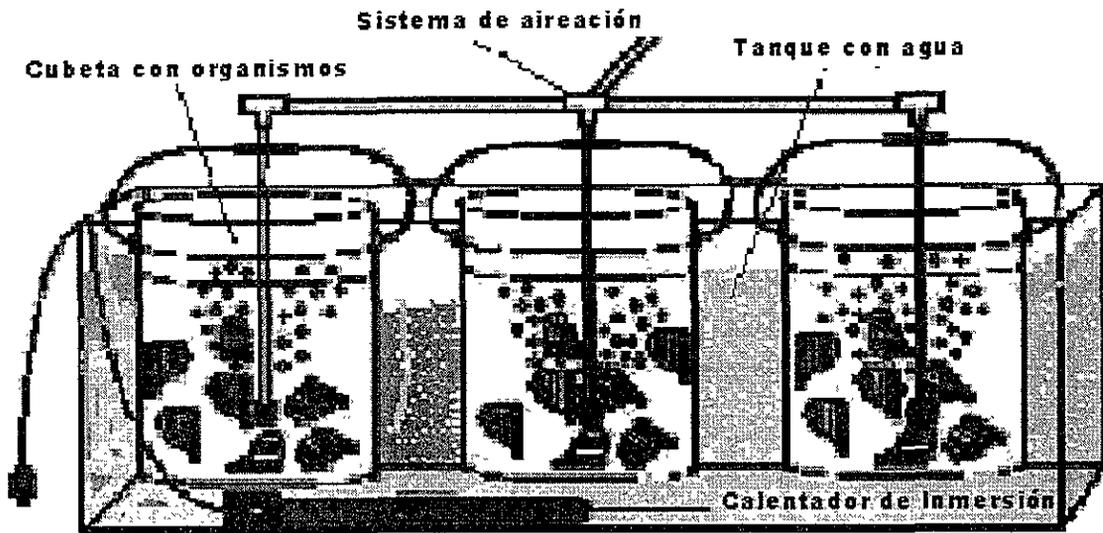


Figura 2. Sistema utilizado para el mantenimiento de los juveniles en condiciones de laboratorio.

La temperatura de los tanques se mantuvo introduciendo el calentador de inmersión Ebo-Jager de 250 Watts de potencia con termostato integrado. En el tratamiento de 19°C, el tanque con su calentador de inmersión, se introdujo a su vez a un tanque de 1,100 L conectado a un enfriador de agua recirculante Acrytec de 1 H. P. a 15°C. Las temperaturas experimentales fueron elegidas en base al gradiente de temperaturas que observadas en el habitat natural de estos organismos, buscando llegar al limite superior. No se determinó la temperatura letal media inferior porque en los sitios donde estos organismos habitan se registra una temperatura mínima promedio de 19°C y su variación es mínima, en comparación con las temperaturas superiores a 25°C. En base a la disponibilidad de organismos juveniles, se decidió utilizar tres lotes con siete organismos para cada tratamiento buscando obtener resultados confiables, para lo cual se realizaron pruebas preliminares donde se consideró la variación de tallas entre organismos de un mismo lote, entre las réplicas de un mismo tratamiento y entre los tratamientos mismos. El agua de cada cubeta fue previamente filtrada (3 μ m) y recibió aireación continua. Los organismos fueron

alimentados agregando 22.5×10^6 céls/org/día de microalgas *I. galbana* y *Ch. gracilis* en proporción 1:1, dado que a esta concentración no se observó formación de pseudoheces (asumiendo que ingerían todo el alimento que se adicionaba). Cuando moría algún juvenil se extraían los restos y se hacía un recambio parcial del agua a la misma temperatura y salinidad para evitar contaminación por bacterias o amonio, de igual forma cada 24 h se realizaba un recambio de agua bajo las mismas condiciones mediante sifoneo.

HALOTOLERANCIA INFERIOR Y SUPERIOR

La determinación de la salinidad letal media inferior 96 h (SLM_{i96}) y superior (SLM_{s96}), se realizó siguiendo el diseño experimental anterior. En este experimento los organismos fueron expuestos a salinidades de 15, 20, 25, 30, 38, 42, 45 y 50‰ en agua marina a 25°C, registrando la supervivencia en cada concentración a las 24, 46, 72 y 96 h. Las salinidades experimentales fueron seleccionadas en base a las registradas en los esteros o lagunas donde habitan comúnmente, con el fin de tener un rango amplio de salinidades. La temperatura de 25°C fue elegida en primera instancia debido a el alto porcentaje de supervivencia que presentan los organismos en ésta, además de la facilidad de mantener dicha temperatura en el laboratorio con varios lotes experimentales simultaneos. Por otra parte en las salinidades extremas, el tiempo de registro se prolongó más allá de 96 h, en caso de no obtenerse mortandades.

TEMPERATURA ÓPTIMA

Se trató de determinar la temperatura óptima a través de la evaluación del marco de actividad (MA), la tasa de ingestión (TI), la tasa de aclaramiento (TA), así como el crecimiento y la supervivencia dentro de un intervalo entre 16 y 29°C. Los organismos destinados para estos experimentos fueron aclimatados previamente en tanques de 40 L con agua marina a las condiciones de salinidad (38‰) y temperatura (22°C) normales del laboratorio. Posteriormente se llevo a cabo un proceso de aclimatación

durante catorce días, variando la temperatura 1°C cada dos días hasta alcanzar las temperaturas experimentales (16, 19, 25 y 29°C). Durante el periodo de aclimatación, los juveniles fueron alimentados con 36.45×10^6 céls/org/día de *I. galbana* y *Ch. gracilis* en proporción 1:1, usando para cada temperatura, 3 cubetas de plástico de 19 L con 8 organismos cada una. Una vez alcanzadas las temperaturas experimentales, los organismos permanecieron bajo esas condiciones por lo menos durante 10 días, antes de iniciar los experimentos.

MARCO DE ACTIVIDAD

TASA RESPIRATORIA ACTIVA (TRA)

La TRA fue determinada en juveniles de callo de hacha de 13 a 33 mm de anchura, aclimatados a las temperaturas experimentales (16, 19, 25 y 29°C) y alimentados a saciedad con una mezcla de *I. galbana* y *Ch. gracilis* en proporción 1:1. Para cada tratamiento se utilizaron lotes de 5 juveniles por triplicado, fueron incubados durante 30 minutos en botellas de 300 ml con tapón esmerilado, conteniendo agua de mar filtrada a través de una membrana GF/F ($0.75\mu\text{m}$), a la temperatura deseada y saturada de oxígeno, a 38 ‰ de salinidad. Cabe señalar que se emplearon botellas con tapón esmerilado porque no permiten el paso de aire a su interior, además son fáciles de manipular, y su tamaño y volumen permiten introducir suficientes juveniles para lograr detectar el decremento en la concentración de oxígeno, tal como se observó en las pruebas realizadas para elegir el número de individuos que se utilizarían por réplica. Se incubaron tres, cinco y ocho juveniles en botellas de 300 ml en tiempos de 30, 60 y 120 minutos, observando que en los lotes con ocho organismos el consumo de oxígeno era muy rápido, ante tal situación la tensión de oxígeno fue menor y los juveniles disminuían su tasa respiratoria, lo cual podría ser una fuente de error en los resultados. Otro inconveniente para utilizar esta cantidad, era que los animales quedaban muy presionados en el interior y podría ser una causa de estrés. Para los lotes de tres y cinco individuos, no se presentó el problema de capacidad

mencionado anteriormente, tampoco se observaron diferencias significativas en el consumo de oxígeno. Sin embargo, se decidió utilizar cinco organismos para tener un número de muestras más representativo, incubandolos durante treinta minutos ya que fue el tiempo máximo al cual la tasa respiratoria no fue afectada por la disminución en la tensión de oxígeno disuelto, es decir se mantuvo constante para los cuatro tratamientos. Como se mencionó anteriormente, los resultados de estos experimentos fueron referidos o estandarizados en peso seco de tejidos (PST), a partir de la anchura de la concha.

El agua con que se llenaron las botellas se preparó previamente en cubetas de plástico de 20 L (Fig.3a). Las botellas con los organismos se llenaron por sifón, empleando una manguera de plástico de 9 mm de diámetro, al cual se introdujo hasta el fondo de la botella para evitar burbujeo y turbulencia (Fig. 2b). Durante este proceso, se dejó que el agua se derramara al menos dos veces su volumen para lograr una solución homogénea. Posteriormente la manguera se sacó y se selló la botella con su respectivo tapón, considerando ese momento como tiempo inicial. Para mantener la temperatura experimental, las botellas se colocaron dentro de un baño termorregulado a la misma temperatura. Además de las 3 réplicas con organismos, se incubó un blanco sin organismos al inicio y al final del experimento (Fig. 3c).

Al terminar la incubación, el contenido del oxígeno de las botellas fue determinado por el método Winkler, empleando una versión miniaturizada (Maeda-Martínez, 1985) (Fig. 4) del titulador de Bryan *et al.*, (1976). Cada botella fue submuestreada 4 veces en tubos de vidrio con tapón esmerilado de aproximadamente 7 ml (Fig. 5), siguiendo el procedimiento descrito por Maeda- Martínez (1985). El consumo de oxígeno por los organismos, fue calculado por diferencia entre el blanco y las botellas con organismos, como se muestra en el anexo de este trabajo.

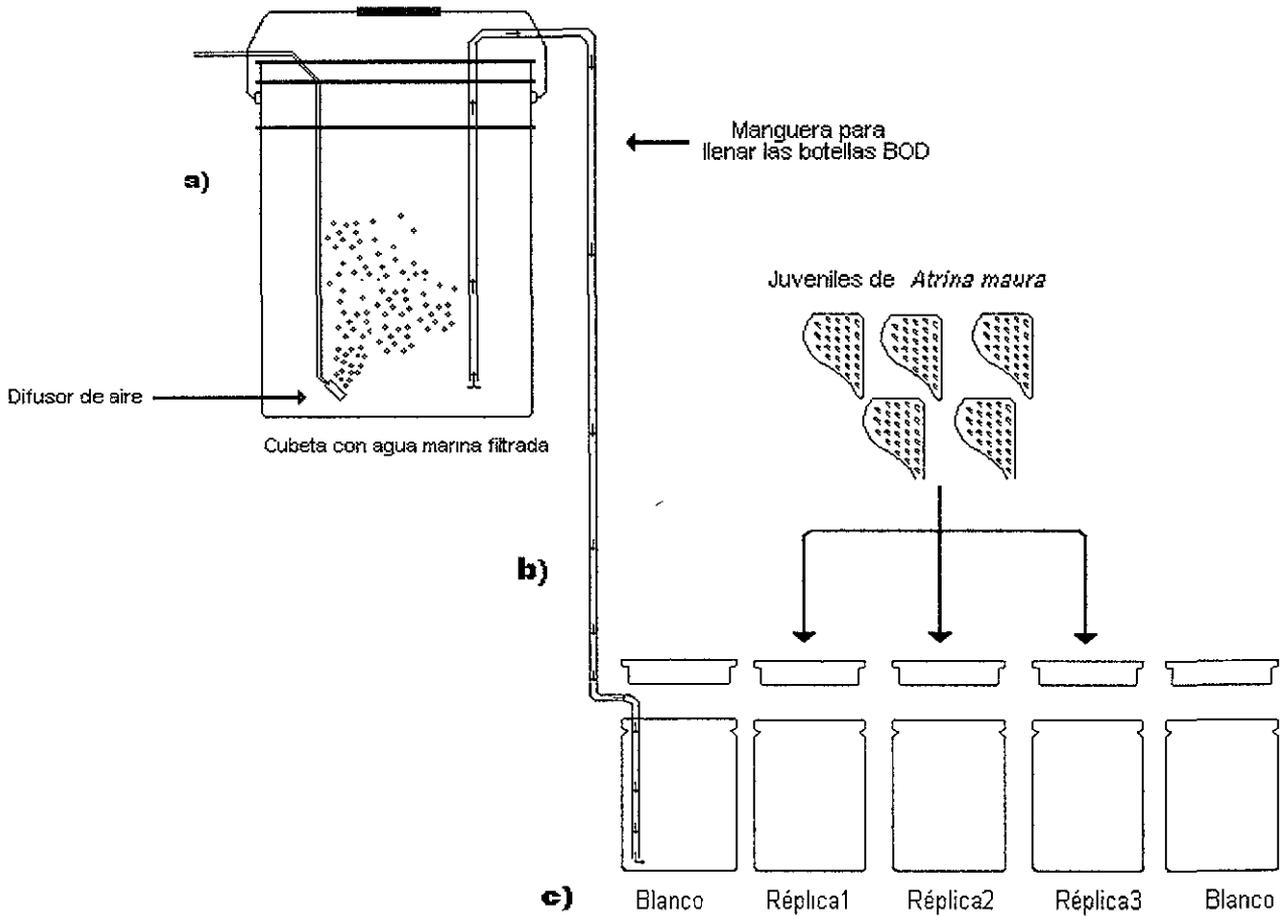


Figura 3. Procedimiento utilizado para la incubación de los juveniles de *Atrina maura* en las determinaciones de tasa respiratoria.

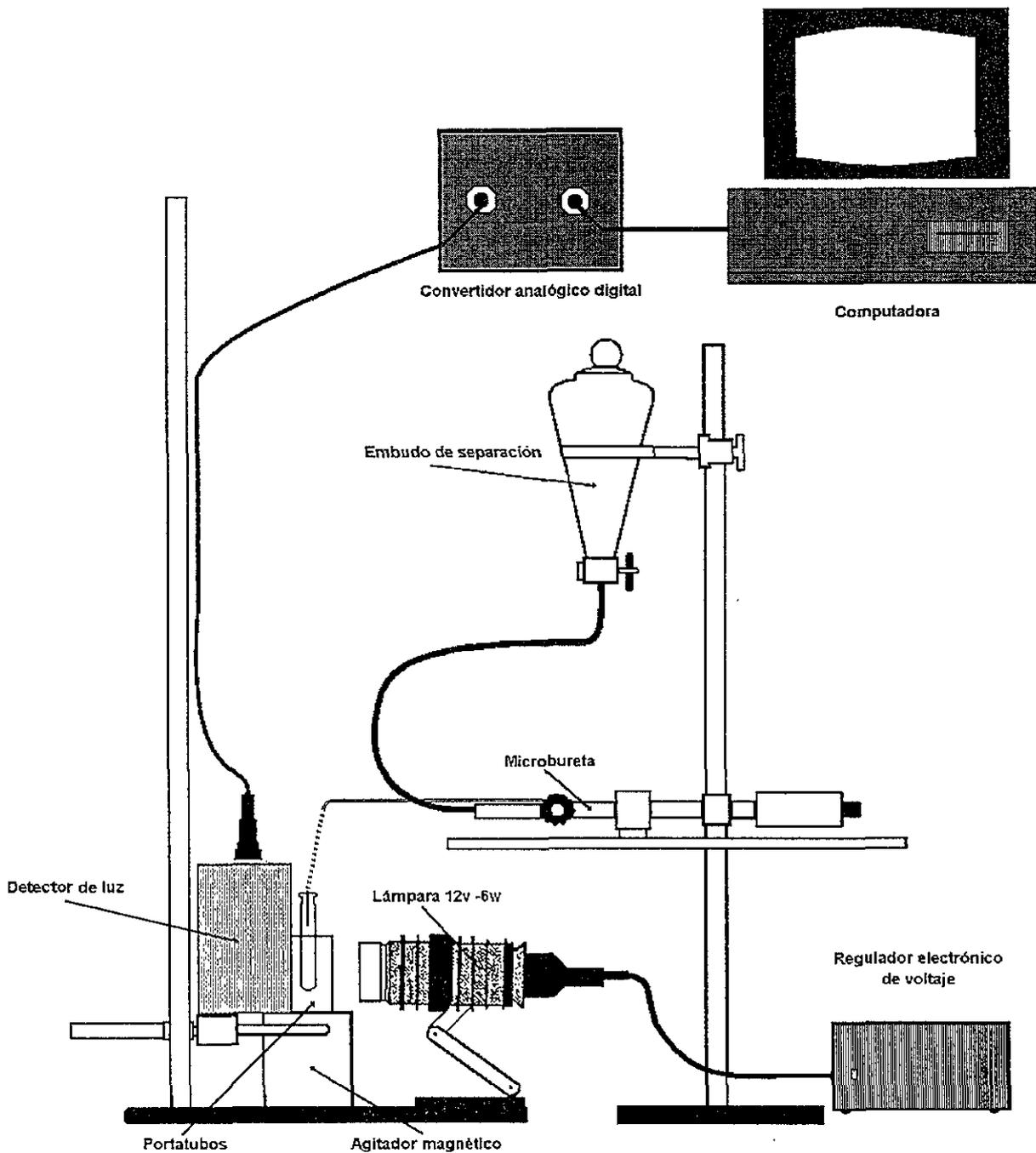


Figura 4. Sistema miniaturizado microWinkler empleado para la determinación de oxígeno disuelto en muestras de agua (Tomado de Sicard-González, 1999).

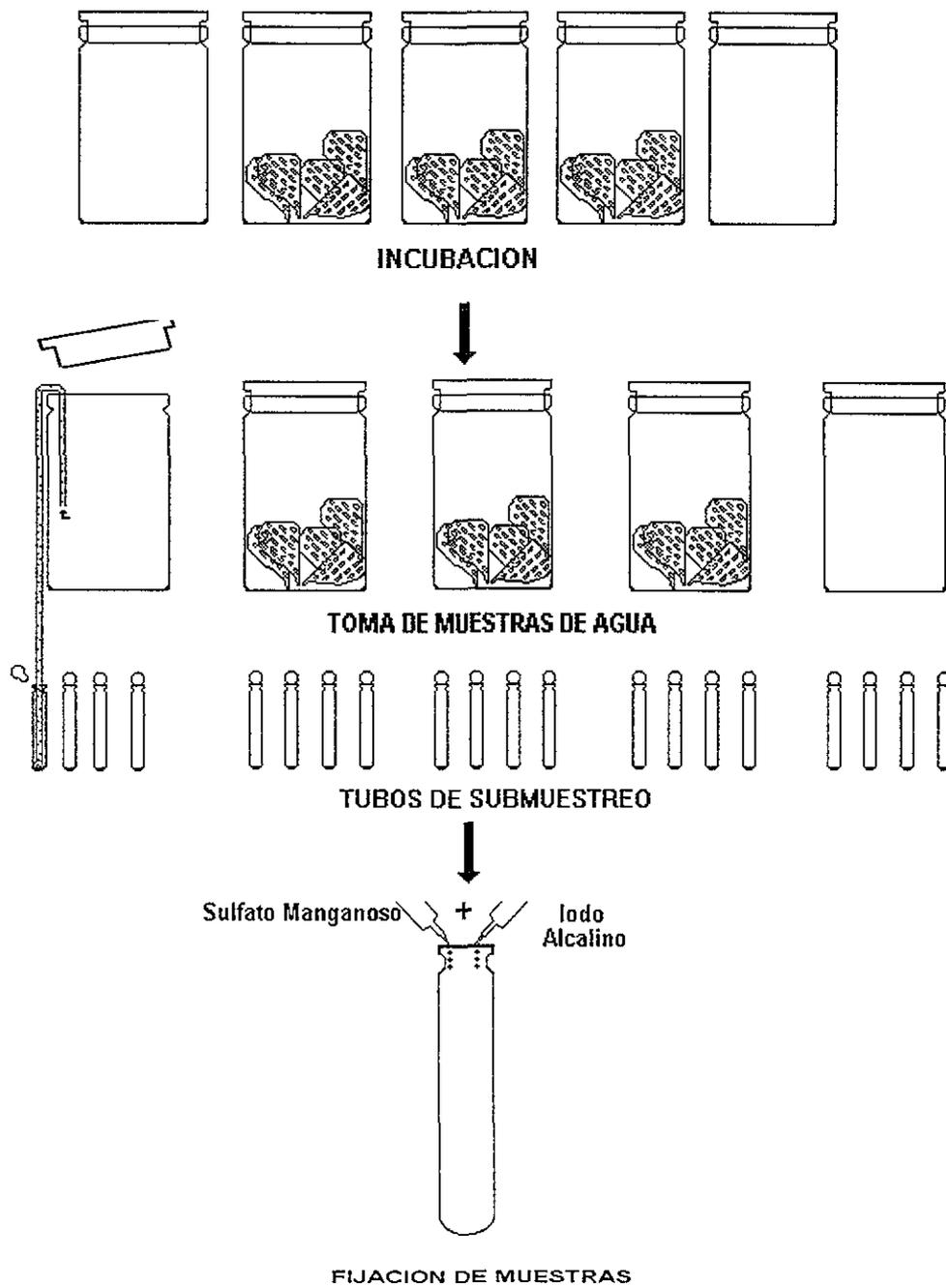


Figura 5. Toma y fijación de muestras de agua para determinar el consumo de oxígeno en juveniles de callo de hacha (*Atrina maura*).

TASA RESPIRATORIA ESTANDAR (TRE)

Una vez determinada la TRA, los organismos de los diferentes tratamientos fueron puestos en inanición a la misma temperatura y salinidad, y periódicamente se les midió su TR. Las TR fueron graficadas con respecto al tiempo de inanición y una vez obtenido un valor mínimo estable previo a la muerte, éste se consideró como TRE.

El marco de actividad fue calculado restando la TRA - TRE a cada temperatura experimental.

TASA DE INGESTION Y TASA DE ACLARAMIENTO

Las tasas de ingestión (TI) y de aclaramiento (TA) se determinaron con el método Winter (1973). Este método consiste en mantener estable la concentración de microalgas en una cámara de incubación con los organismos, reponiendo las microalgas consumidas casi inmediatamente en que ocurre la ingestión. Para ello, se empleó un sistema computarizado desarrollado en el CIBNOR (Sicard-González, 1999), basado en el diseño de Gallagher y Mann (1980) (Figura 6). Los experimentos se realizaron por triplicado para cada tratamiento, en una cámara de incubación con 1 L de agua de mar filtrada a $7 \mu\text{m}$, a la temperatura experimental y a 38‰ de salinidad, durante 2 h. La Cámara de incubación está conectada mediante mangueras de silicón a un fluorómetro (Modelo Turner 112) que su vez cuenta con una celda de flujo continuo y un filtro 47 B específico para clorofila "a" de 420-500 nm de longitud de onda, de tal manera que el agua de la cámara es bombeada continuamente por una bomba peristáltica, a razón de 87 ml/min, hacia el fluorómetro para registrar el nivel de fluorescencia y regresar nuevamente el agua a la Cámara de incubación. El convertidor analógico digital IMI conectado al puerto del fluorómetro, digitaliza la señal analógica del fluorómetro y la envía a un programa diseñado específicamente para este equipo, que compara la señal contra el voltaje deseado, correspondiente al valor de calibración guardado en la memoria del programa. Cuando el voltaje leído era igual o mayor al valor de calibración (deseado), el sistema espera 2 segundos para volver a tomar la lectura. Cuando el valor de fluorescencia es menor, el sistema enciende

automáticamente la bomba peristáltica 1, la cual repone las microalgas a la cámara de incubación hasta lograr equilibrar nuevamente la concentración de alimento al nivel de calibración. Los tiempos de encendido de la bomba peristáltica que adiciona el alimento quedan registrados en el programa de cómputo, estos sirven para calcular posteriormente la TI y la TA.

El funcionamiento del sistema puede ser visualizado por el monitor de la computadora, graficándose en tiempo real, el voltaje digitalizado proveniente del fluorómetro, correspondiente a la concentración de alimento en la cámara de incubación y los tiempos de encendido de la bomba de reposición de alimento.

Se emplearon juveniles de 16 mm de anchura aproximadamente, provenientes del mismo lote del experimento de marco de actividad. Los animales fueron aclimatados a las temperaturas experimentales, alimentándolos con $35 \pm 12 \times 10^7$ céls/org/día de *I. galbana* y *Ch. gracilis* en proporción 1:1. Antes de iniciar los experimentos, las conchas de los ejemplares fueron limpiadas con un cepillo dental, para eliminar epibiontes y posteriormente se hicieron pruebas para determinar la concentración de microalgas donde los organismos no produjeran pseudoheces, las cuales son generadas por los moluscos filtradores cuando hay exceso de partículas en el medio (Foster-Smith, R. L., 1975; Owen, G. y Mc Crae, J. M., 1976). Además se hicieron pruebas para verificar el correcto funcionamiento del sistema, observando la disminución de la fluorescencia por el consumo de microalgas por los organismos en la cámara de incubación, cuando se mantenía deliberadamente apagada la bomba de reposición. Antes de cada experimento, fue determinada la concentración de microalgas del alimento de reposición, con un contador de partículas Coulter Counter ZM, durante el curso de los experimentos el recipiente con el alimento se mantuvo en agitación constante con un difusor de aire. Para evitar la reproducción de las microalgas, la cámara de incubación, el alimento de reposición y las mangueras fueron aisladas de la luz con papel aluminio. Adicionalmente se realizó un experimento similar sin organismos, el cual sirvió como blanco.

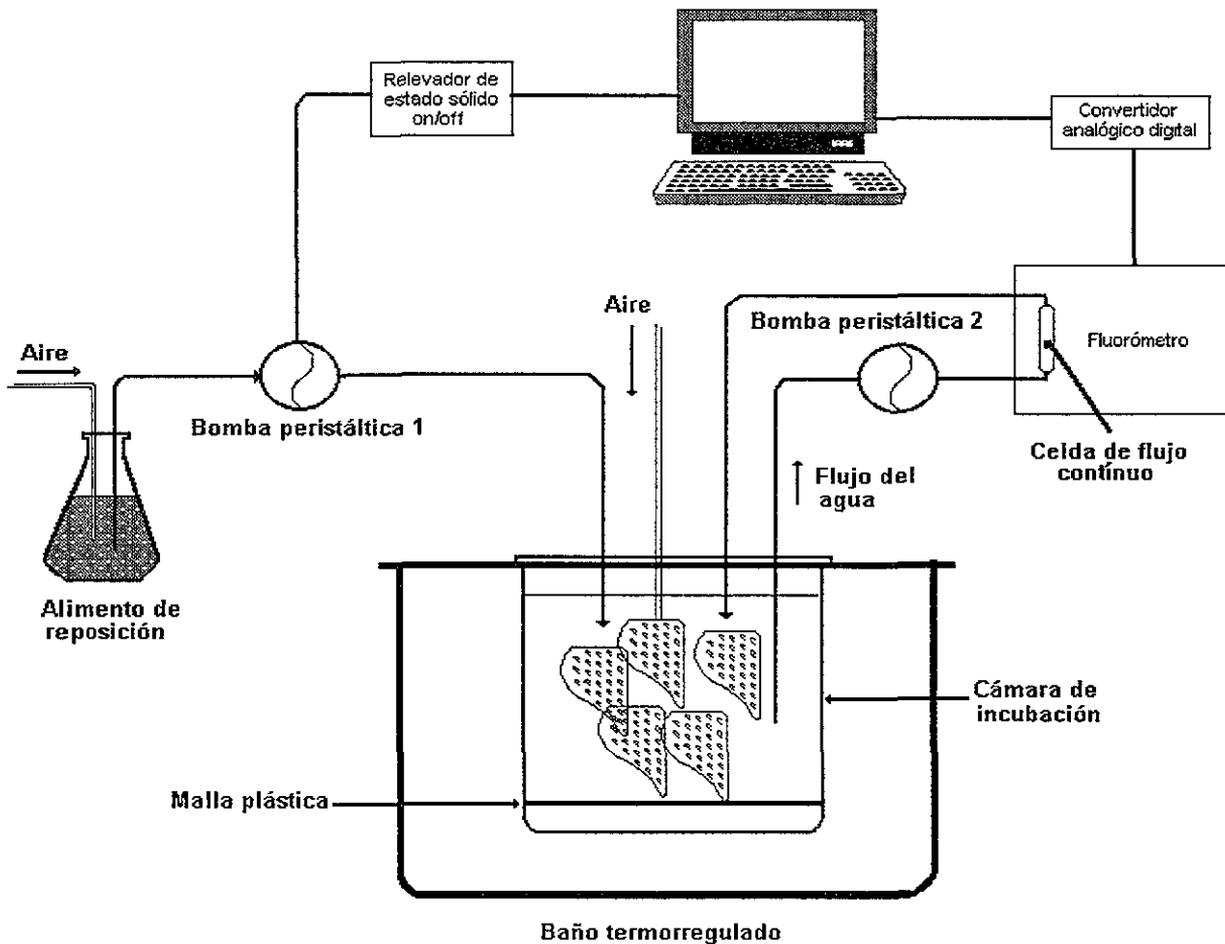


Figura 6. Sistema de flujo cerrado para determinación de la tasa de ingestión y de aclaramiento (Winter, 1973; Gallager y Mann, 1980) (Modificado de Sicard-González, 1999).

La TI se calculó dividiendo el número de células ingeridas (equivalentes a las células repuestas en la cámara de incubación) por hora, entre el PST, dando resultados en céls/g/h. La TA se obtuvo dividiendo la TI entre la concentración de microalgas del medio de incubación, dando resultados en L/g/h. La correlación entre el voltaje (V) del fluorómetro y la concentración de microalgas (CM) (*Isochrysis galbana*), fue obtenida experimentalmente por Sicard-González (1999) y la describe

con la ecuación de regresión lineal ($r= 0.997$; $n=10$) (Fig.7):

$$V = 0.0356 + 4.61 \times 10^{-6} \times CM$$

Crecimiento y supervivencia.

Un total de 96 juveniles de 18.7 - 21.0 mm de anchura, fueron colcados en cubetas de 19 L conteniendo agua de mar aireada constantemente a 16, 19, 25, 29°C y a 38‰. Los juveniles fueron alimentados con $35 \pm 12 \times 10^7$ céls/org/día de *I. galbana* y *Ch. gracilis* en proporción 1:1. Cada siete días se midió la anchura de los organismos durante 42 días, registrando la supervivencia.

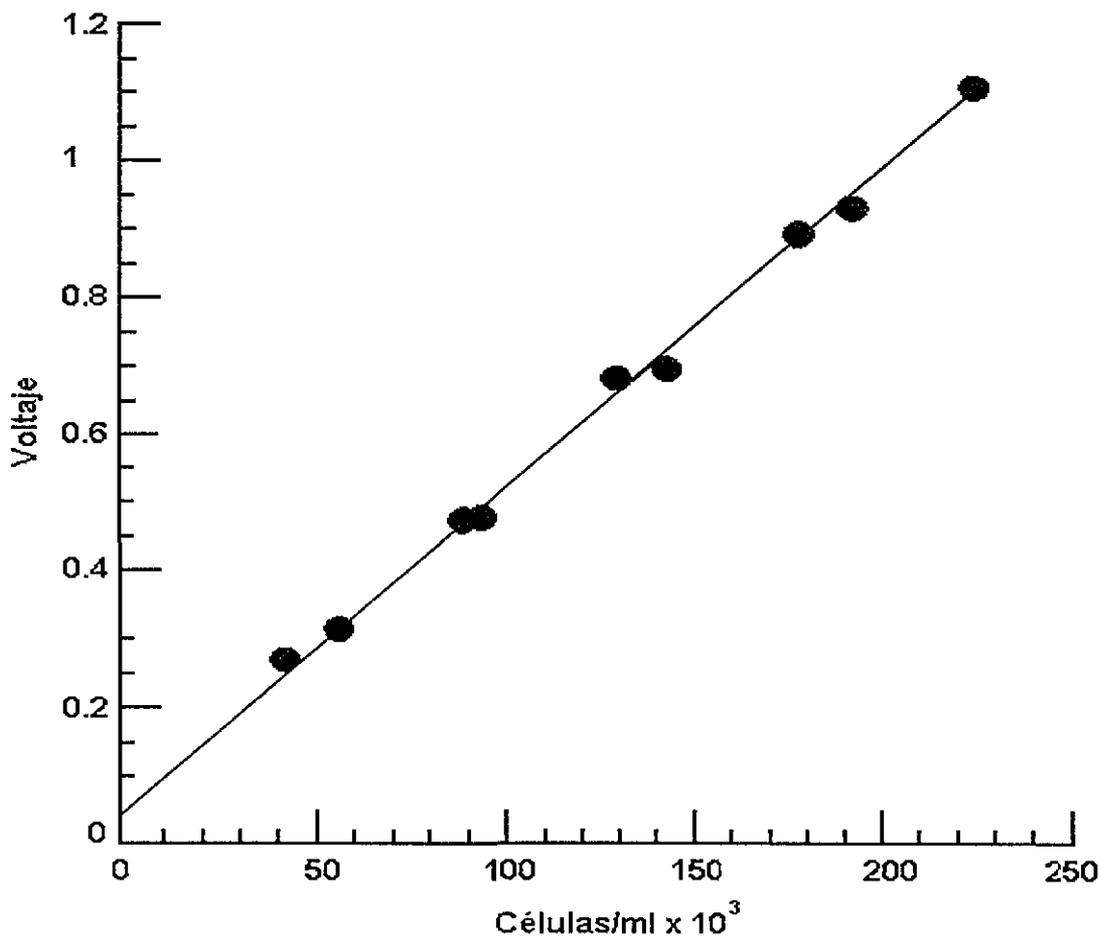


Figura 7. Relación entre el voltaje del fluorómetro y la concentración de microalgas (*Isochrysis galbana*), tomado de Sicard-González, (1999).

RESULTADOS

PESO SECO DE TEJIDO (PST)

La relación de PST contra anchura (A) de juveniles de *A. maura* entre 15 y 30 mm de ancho (Tabla 1), fué descrita por la siguiente ecuación de tipo multiplicativa ($r = 0.95$ $r^2 = 0.98$):

$$\text{PST} = 2.336865632 \times 10^{-6} \times A^{3.5005}$$

Organismo	Anchura	Peso seco de tejido	Organismo	Anchura	Peso seco de tejido
1	16	0.028	13	22	0.1328
2	15.3	0.034	14	24.3	0.121
3	15.4	0.0328	15	26.8	0.2261
4	19.3	0.0682	16	25.8	0.2693
5	19.4	0.0473	17	27.5	0.2267
6	18.7	0.0735	18	28.3	0.3222
7	18.3	0.1147	19	25.5	0.193
8	23.6	0.144	20	25.3	0.135
9	21.3	0.1329	21	28.3	0.2712
10	25.4	0.2189	22	30.2	0.2982
11	23.6	0.1726	23	27.9	0.29
12	28.3	0.3922	24	28.8	0.259

Tabla 1. Peso seco de tejido registrado en juveniles de callo de hacha *Atrina maura* entre 15 y 30 mm de anchura.

TERMOTOLERANCIA SUPERIOR (TLM_{s96})

Los resultados de TLM_{s96} (Fig. 8), muestran que los juveniles de *A. maura* prácticamente sobrevivieron entre los 19 y 32 °C durante las 96 h de exposición, a excepción de que a 32°C se registró una ligera mortalidad del 10% a las 96 h. Sin embargo, a 35°C, la supervivencia declinó rápidamente de tal forma que a las 24 h no hubo sobrevivientes. Con estos datos, la TLM_{s96} fue calculada graficando la supervivencia contra las temperaturas experimentales (Fig. 9), el valor teórico de la TLM_{s96} (33.2°C) se determinó en el punto donde se presentó una mortalidad del 50% de los juveniles.

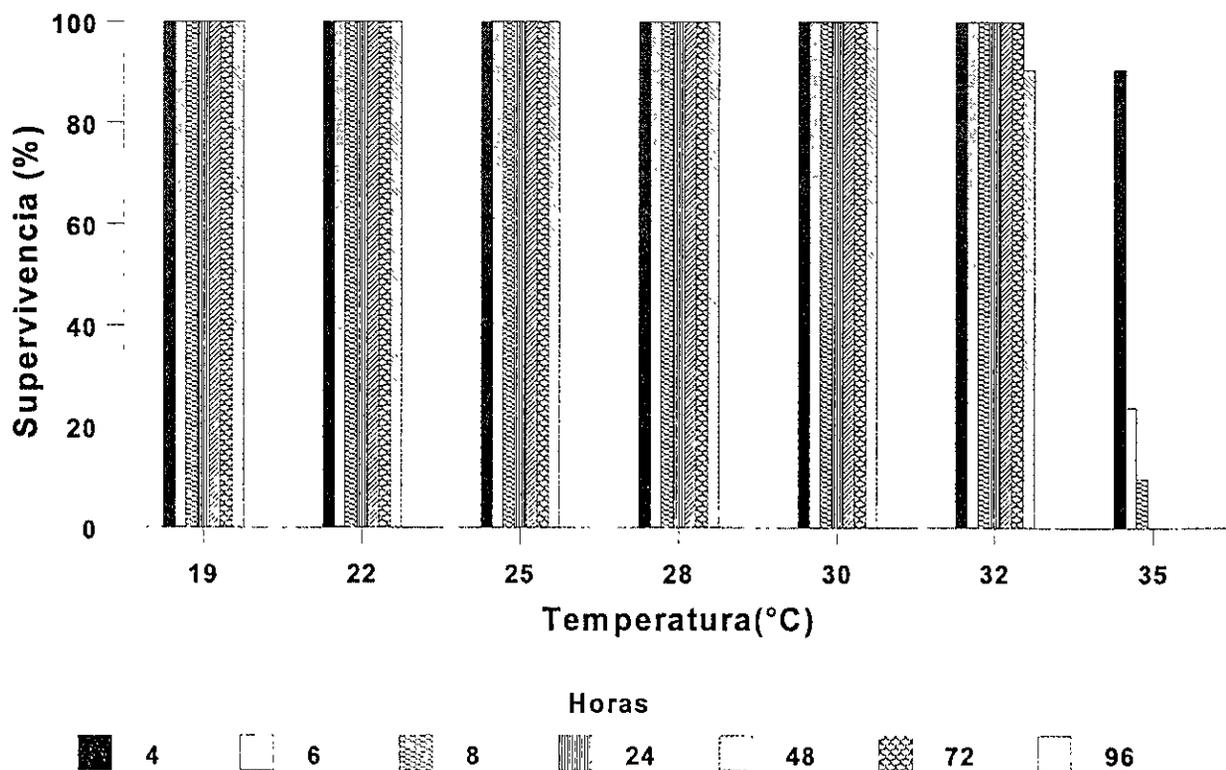


Figura 8. Tolerancia térmica superior en juveniles de callo de hacha (*Atrina maura*).

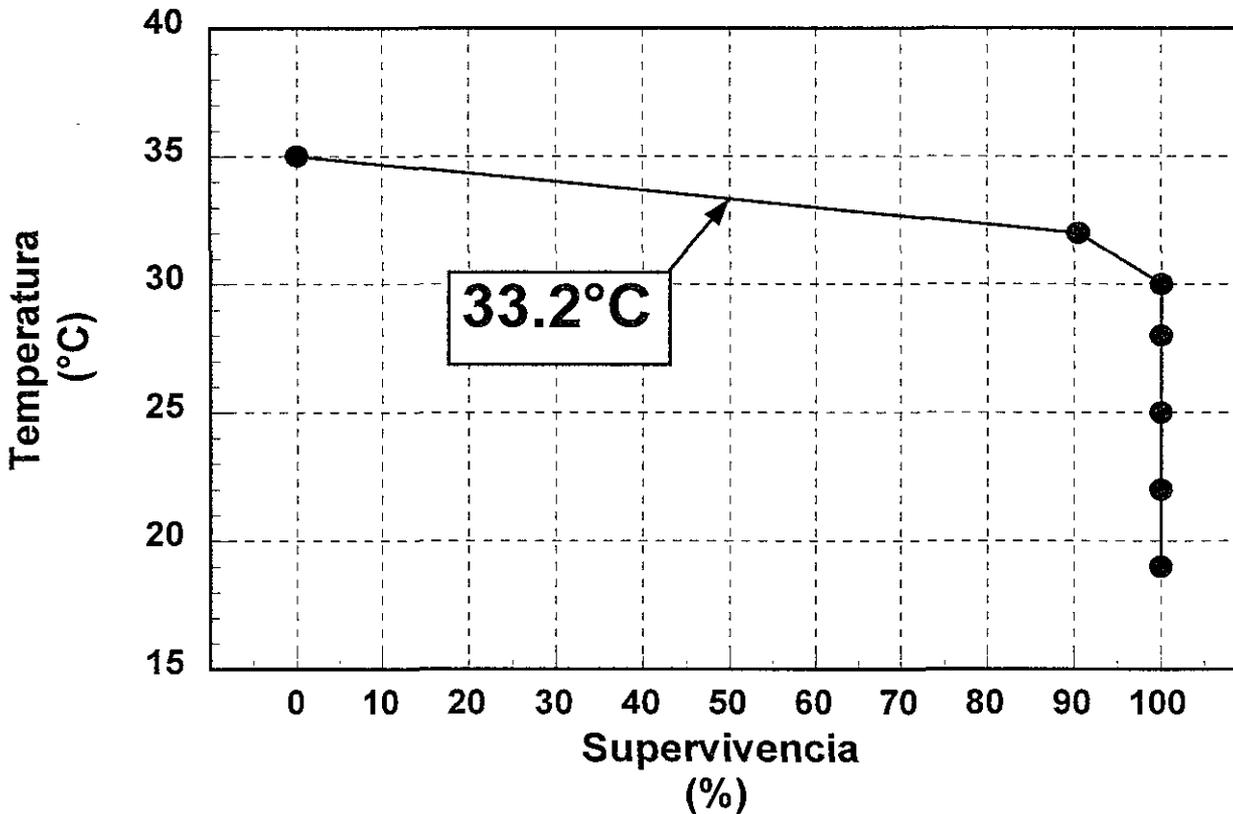


Figura 9. TLM_{s96} de juveniles de callo de hacha (*Atrina maura*) calculada gráficamente.

HALOTOLERANCIA INFERIOR (SLM_{i96}) Y SUPERIOR (SLM_{s96})

Los resultados de SLM_{i96} y SLM_{s96} (Fig.10) indican una amplia halotolerancia de los juveniles de callo de hacha. A salinidades inferiores a 20‰ se comenzó a observar mortalidad, obteniéndose la SLM_{i96} por el método gráfico antes descrito a las 16.25‰ (Fig.11). Con respecto a la SLM_{s96} , ésta no fue detectable a la máxima salinidad probada (50‰), ya que a esa salinidad solamente se registró el 14% de mortalidad durante 96 h de exposición. En este caso, el experimento se prolongó hasta 168 h, que fue cuando se registró el 50% de mortalidad, considerando este resultado como el tiempo letal medio (Fig. 11).

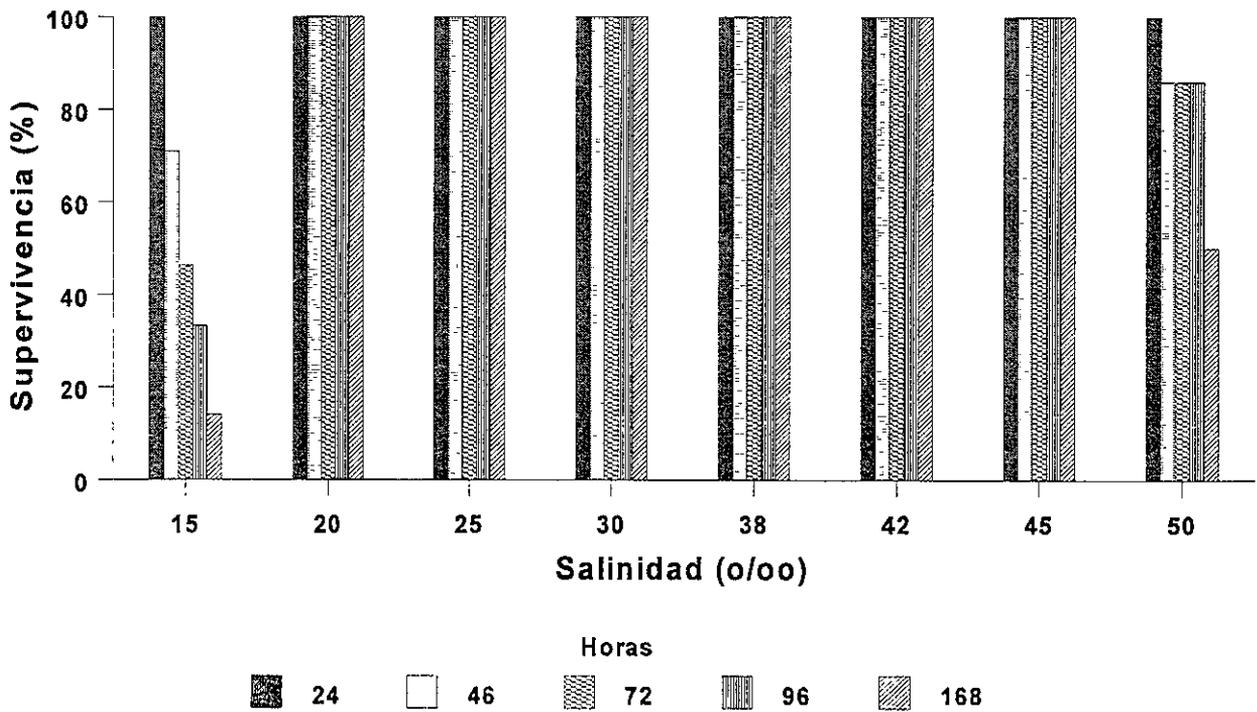


Figura 10. Halotolerancia superior e inferior de los juveniles de callo de hacha (*Atrina maura*).

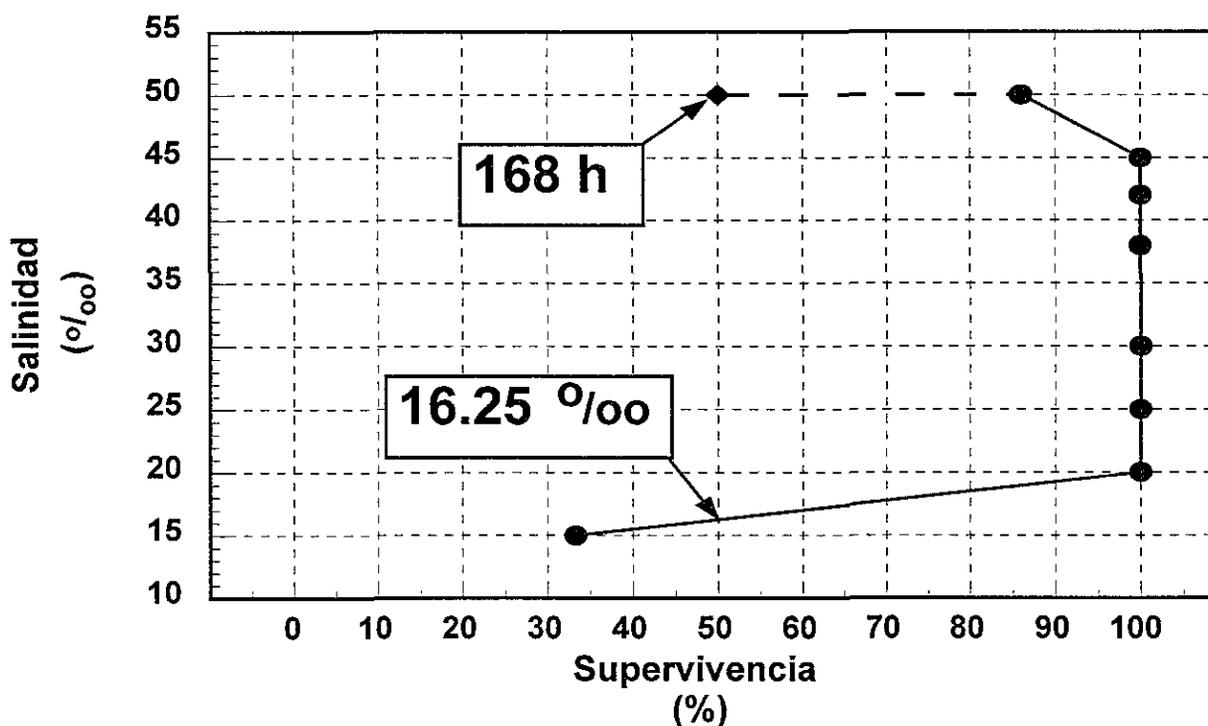


Figura 11. SLM_{100} y tiempo letal medio a 50‰ en juveniles de callo de hacha (*Atrina maura*).

TEMPERATURA ÓPTIMA

MARCO DE ACTIVIDAD

Tasa respiratoria activa

Los resultados de la TRA, muestran que ésta varió directamente proporcional a la temperatura, de 0.64 ml O_2 /g/h a 16°C hasta 1.18 ml O_2 /g/h a 29°C (Fig.12). El análisis de varianza practicado a los resultados de TRA (Tabla 2), indican que existieron diferencias significativas en los tratamientos. Sin embargo, la prueba de rangos múltiples de Tukey, muestra que el consumo de oxígeno en los tratamientos de 16 y 19°C fue similar, por su parte, el consumo de oxígeno en 25 y 29°C hay

diferencias significativas.

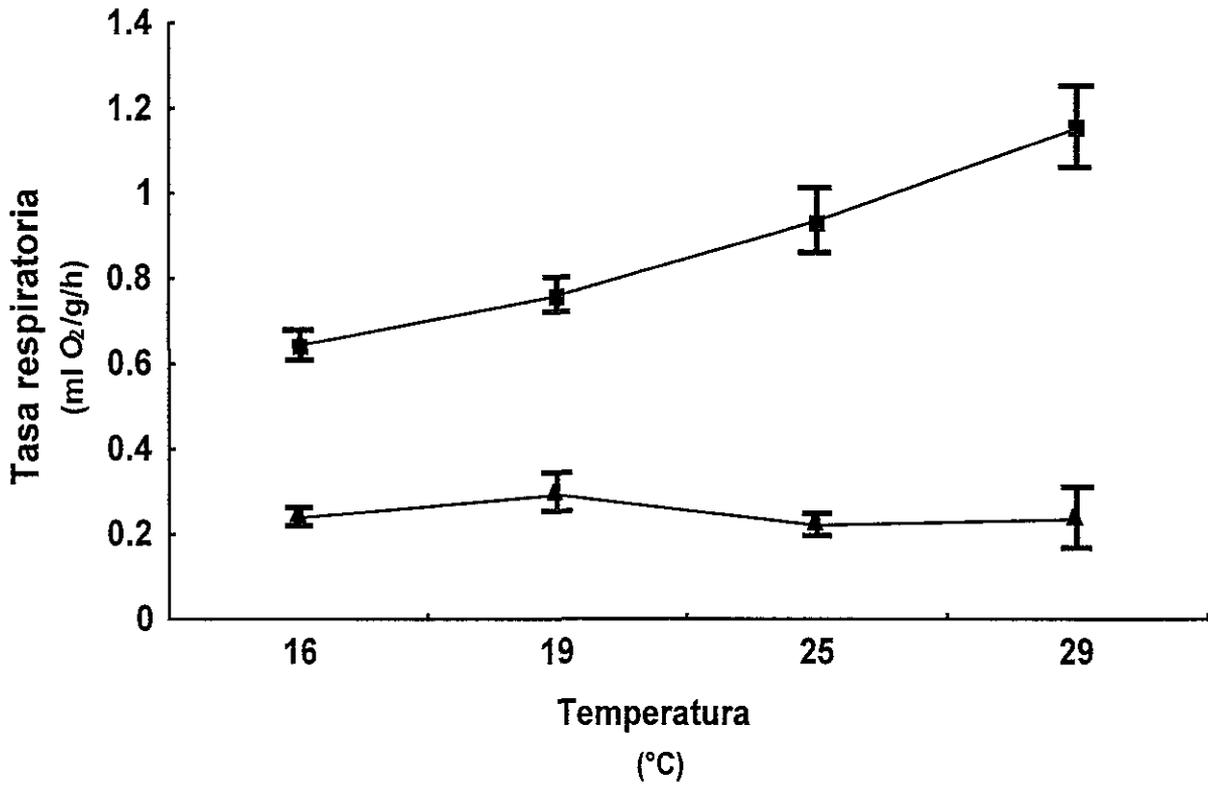


Figura 12. Tasa respiratoria activa (■) y tasa respiratoria estándar (▲) en juveniles de callo de hacha (*Atrina maura*) a diferentes temperaturas. Los puntos son la media \pm desviación estándar.

ANALISIS DE VARIANZA

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
Entre las temperaturas	0.802131	3	0.267377	50.74377	0
Error	0.12646	24	0.005269		

PRUEBA DE TUKEY

Temperaturas	n	Medias	Grupos homogéneos
16	4	0.643651	X
19	6	0.757205	X
25	11	0.932652	
29	7	1.153906	

Tabla 2. Análisis de varianza y prueba de Tukey practicados a los resultados de tasa respiratoria activa en juveniles de callo de hacha (*Atrina maura*).

Tasa respiratoria estándar

Los valores graficados de TRE (Fig.12) indican que ésta no fué afectada por la temperatura a diferencia de la TRA, manteniendose estable entre 0.2 y 0.3 ml O₂/g/h en el rango de temperaturas estudiado. Por otra parte, el seguimiento de la TR durante el periodo de inanición, se muestran en la figura 13. De aquí se puede concluir que la TRE se obtuvo a los 58 y los 41 días a 16 y 29°C respectivamente. El análisis de varianza (Tabla 3), indicó que existen diferencias significativas entre los tratamientos al 95% de probabilidad. Sin embargo, la prueba de Tukey, mostró que la TRE fue similar en las cuatro temperaturas experimentales.

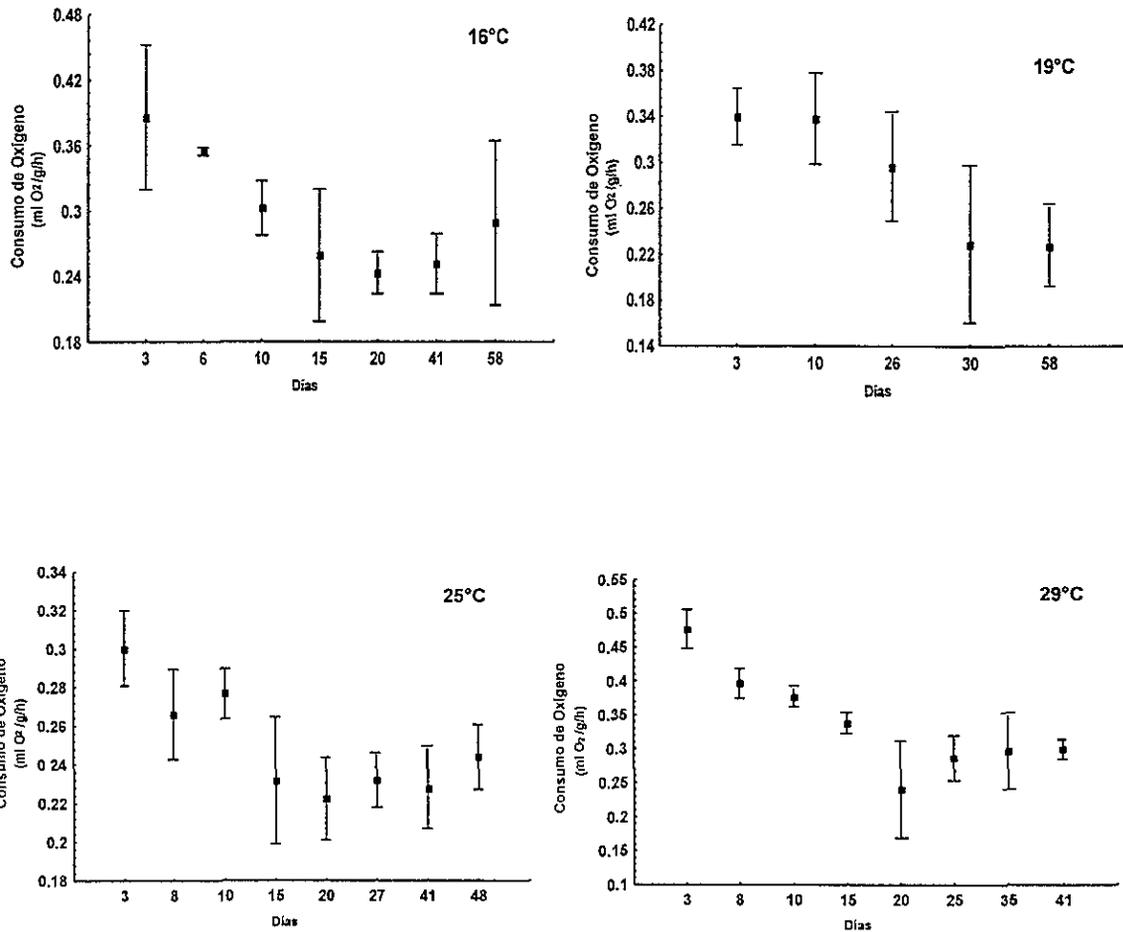


Figura 13. Tasa respiratoria de juveniles de callo de hacha (*Atrina maura*), sometidos a inanición, a distintas temperaturas. Los puntos son la media \pm desviación estándar.

ANÁLISIS DE VARIANZA

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
Entre las temperaturas	0.02633	3	0.008777	4.468738	0.011318
Error	0.053028	27	0.001964		

PRUEBA DE TUKEY

Temperaturas	n	Medias	Grupos homogéneos
16	9	0.2887	X
19	5	0.2269	X
25	9	0.2438	X
29	8	1.2996	X

Tabla 3. Análisis de varianza y prueba de Tukey practicados a los resultados de tasa respiratoria estándar en juveniles de callo de hacha (*Atrinamaura*).

La diferencia aritmética entre la TRA menos la TRE a diferentes temperaturas (Fig.14), muestran que el marco de actividad varió directamente proporcional a la temperatura, obteniéndose el mayor MA en el tratamiento de 29 °C, aunque no se pudo determinar que esta sea la temperatura óptima para esta especie.

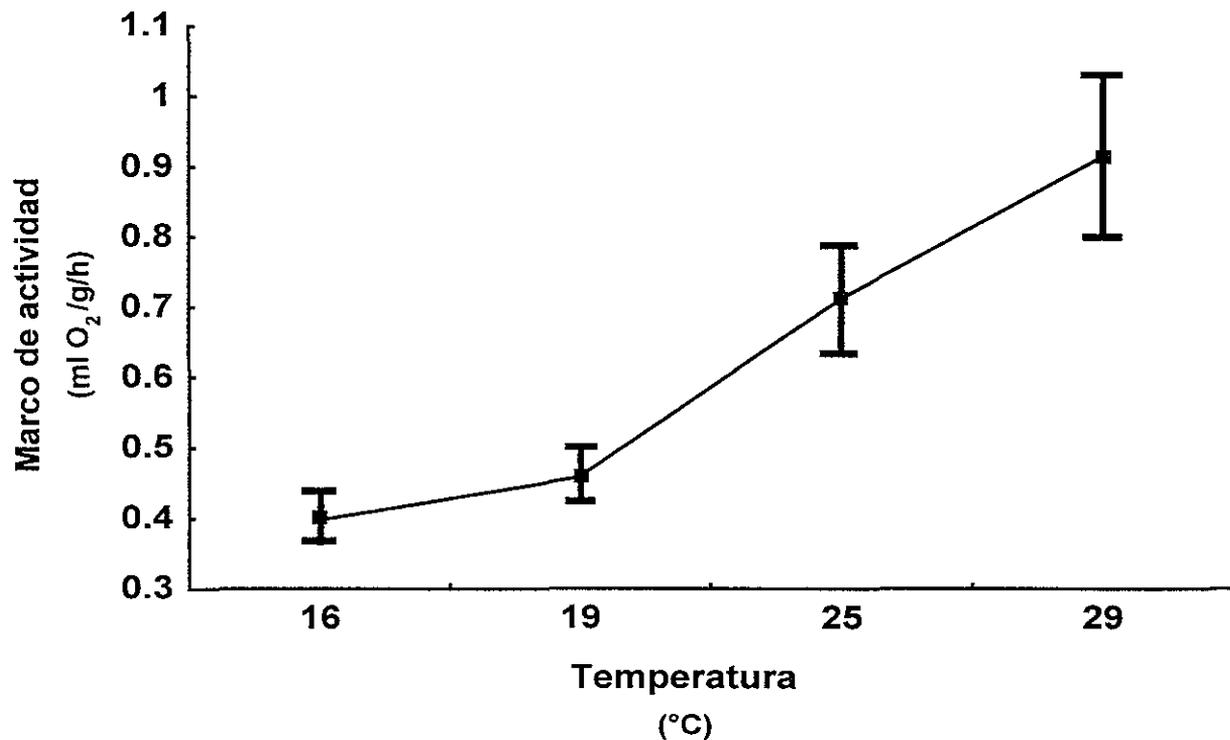


Figura 14. Marco de actividad de juveniles de callo de hacha (*Atrina maura*), aclimatados a diferentes temperaturas. Los puntos son la media \pm desviación estándar.

Tasa de ingestión y tasa de aclaramiento

Las variaciones de TI y TA en relación a la temperatura se muestran en la figura 15. En esta se puede observar que ambas tasas se incrementan proporcionalmente con la temperatura, obteniéndose la mayor ingestión y aclaramiento a los 29 °C con 6.9×10^7 céls/g/h y 2.2 L/g/h respectivamente. La relación tasa de ingestión vs temperatura se describe en la ecuación exponencial $r = 0.99$, $r^2 = 0.98$, $n=4$):

$$TI = 3.14 \times 10^7 e^{0.106 X}$$

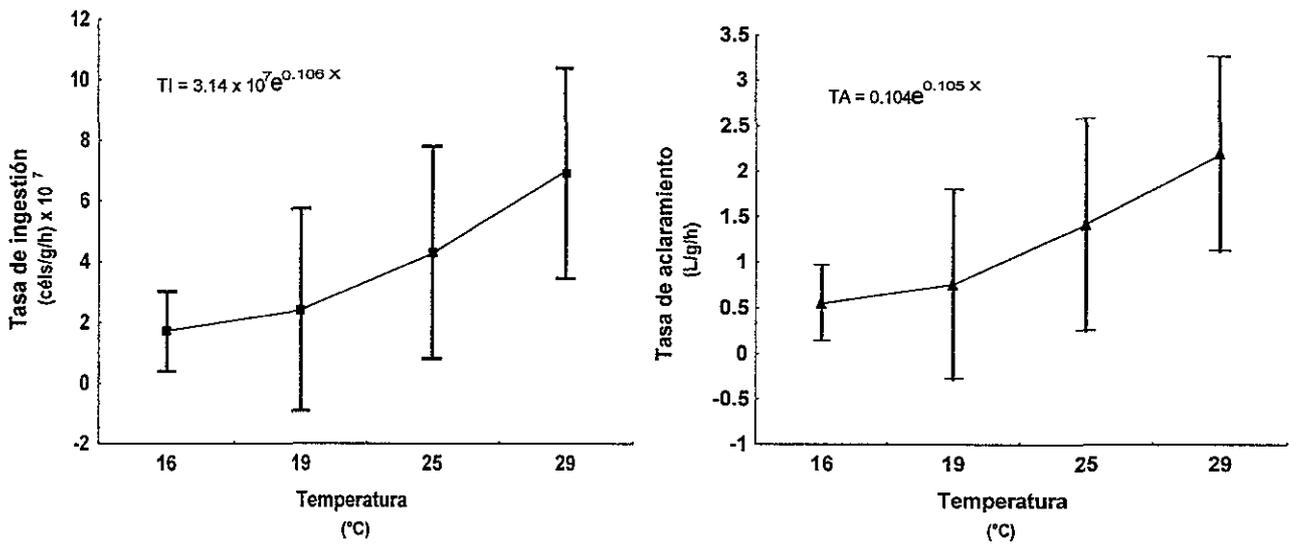


Figura 15. Tasa de ingestión (■) y tasa de aclaramiento (▲) en juveniles de callo de hacha (*Atrina maura*). Los puntos son la media \pm la desviación estándar.

Por otra parte, la relación tasa de aclaramiento vs temperatura se describe en la ecuación

exponencial ($r = 0.99$, $r^2 = 0.98$, $n = 4$):

$$TA = 0.104e^{0.105 X}$$

Estos resultados presentan la misma tendencia que los de marco de actividad, lo cual nos muestra la relación que existe entre ambas tasas fisiológicas.

Crecimiento y supervivencia

El incremento promedio en anchura de la concha de los juveniles, durante los 42 días de experimentación a diferentes temperaturas, se muestra en la figura 16. El crecimiento varió directamente proporcional a la temperatura, obteniéndose el incremento máximo de 28 mm en el tratamiento a 29 °C durante 42 días (.67 mm/día).

Con respecto a la supervivencia, en este experimento la supervivencia fue del 100 % en los tratamientos 16, 19 y 25 °C (Fig.17). Sin embargo, en el tratamiento 29 °C la supervivencia disminuyó al 85 % a los 21 días de iniciado el experimento, manteniéndose a este nivel hasta el final del mismo.

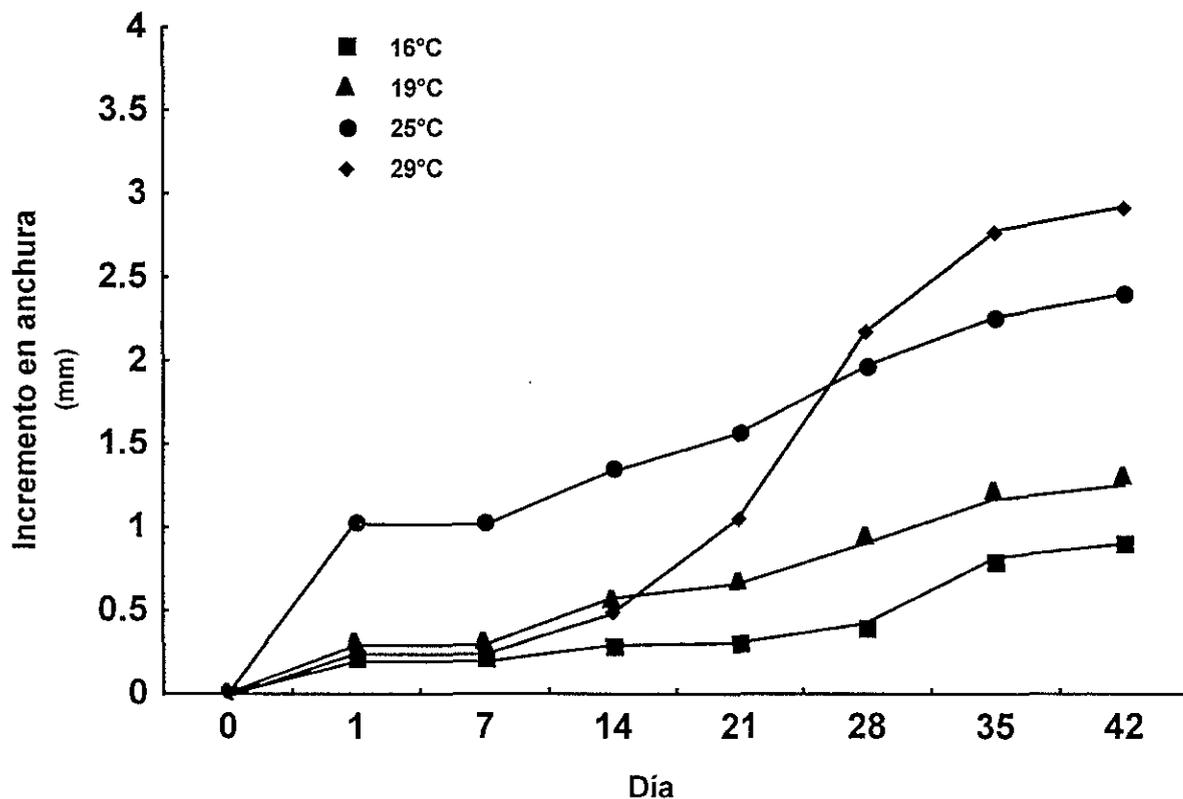


Figura 16. Efecto de la temperatura sobre el crecimiento de juveniles de callo de callode hacha (*Atrina maura*).

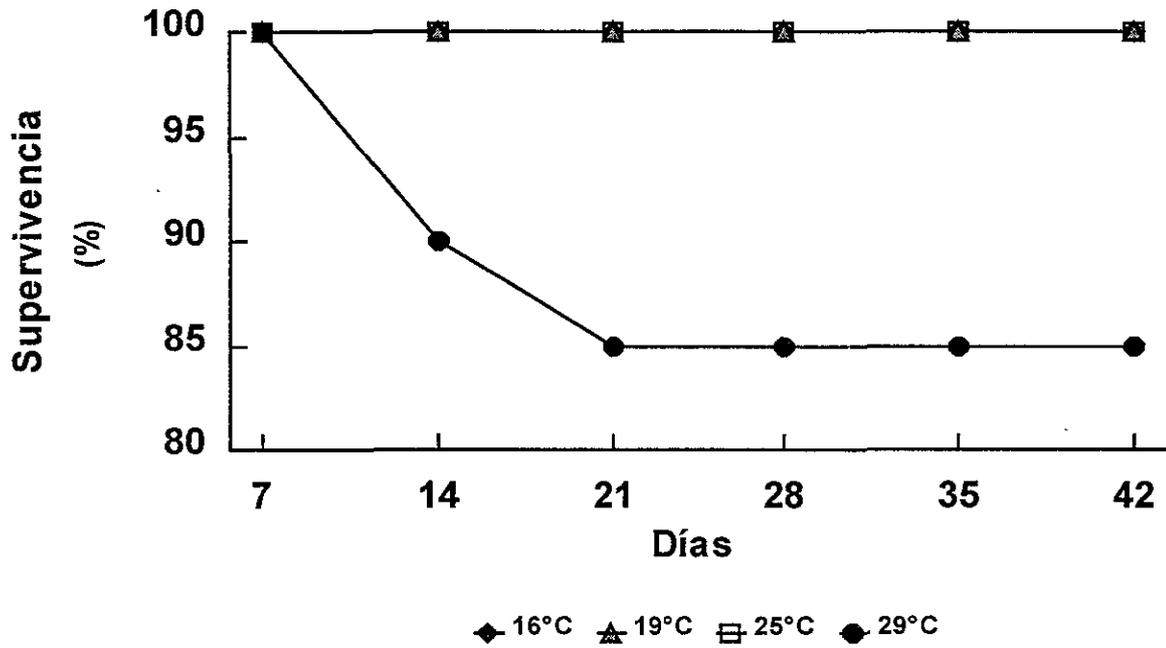


Figura 17. Supervivencia de juveniles de callo de hacha (*Atrina maura*), aclimatados a diferentes temperaturas experimentales.

DISCUSIÓN

Los estudios de temperatura letal media (TLM_{96}) (Rand y Petrocelli, 1985), han ayudado a conocer la influencia de la temperatura en la distribución de los moluscos bivalvos e incluso han permitido aplicar los resultados para inferir sus respuestas fisiológicas en el medio ambiente donde son cultivados (Wells y Gray, 1960; Read y Cumming, 1967; Ansell *et al.*, 1994).

En este estudio, la TLM_{96} de juveniles de callo de hacha fue 33.2°C. Este valor es superior a la temperatura máxima (31.5°C) registrada en Topolobampo Sinaloa, México de 1982 a 1998 en los meses más cálidos del año (Junio - Septiembre) (IRI-IGOSS, 1998) de donde proceden los progenitores de los juveniles empleados en este trabajo. Esto indica que la especie no presenta ningún riesgo de ser afectada aún en aquellos años cuando ocurran eventos cálidos como los que se producen durante el fenómeno de "El Niño". La amplia termotolerancia del callo de hacha le confiere una cualidad adicional a las mencionadas en la introducción de este trabajo, ya que es factible su cultivo en los cuerpos de agua con características tropicales de México y de América Latina, desde el Golfo de California hasta Perú de donde es nativa (Keen, 1971).

La salinidad al igual que la temperatura es un factor que influye en la distribución de las especies (Kinne, 1967, 1971; Davenport, 1979; Widdows, 1885). En el presente trabajo, el resultado de SLM_{96} inferior fue de 16.5‰ y no fue posible determinar la SLM_{96} superior a la máxima salinidad experimental (50‰). Sin embargo, en ese tratamiento se obtuvo el tiempo letal medio (168 h), lo que indica que *A. maura* posee un amplio intervalo de tolerancia a las variaciones de salinidad. Esto explica su presencia en las bocas de los esteros de Sinaloa y Nayarit México, donde la salinidad disminuye considerablemente durante la época de lluvias. Sin embargo es importante mencionar que la especie posiblemente es más susceptible a condiciones hipohalinas que las hipersalinas, al comparar la mortalidad en relación al tiempo de exposición en 15 y 50‰.

En los juveniles de *A. maura* la TRA fue dependiente de la temperatura, lo cual era de esperarse considerando que dentro de ciertos límites los incrementos de temperatura aceleran la mayor parte de los procesos fisiológicos, tales como el consumo de oxígeno y por ende hay mayor consumo de energía. Esta tendencia ha sido observada en otras especies de moluscos, tanto para la TRA como para la TRE. Por ejemplo, en *Mytilus edulis* (Bayne 1976), en *Chlamys varia* (Shafee, 1982) y en *Argopecten ventricosus* (Sicard-González, 1999). Sin embargo, en *A. maura* a diferencia de las especies mencionadas anteriormente, la TRE no varió con el incremento de temperatura. Esto se ha considerado como una adaptación en los animales litorales, los cuales se encuentran sujetos a situaciones de estrés ambiental como por ejemplo, amplios y rápidos cambios de temperatura, inanición, exposición al aire por la marea baja, entre otros (Widdows, 1973; Bayne, 1976). Además, se sabe que algunas especies de bivalvos intermareales tienen capacidad de compensación térmica, dando como resultado que algunas de sus tasas fisiológicas se mantengan relativamente constantes en determinados rangos de temperatura, rangos variables según la especie o población (Bayne *et al.*, 1983).

El marco de actividad (MA) es un concepto muy útil en la determinación de la temperatura óptima de las especies, en la cual el organismo dispone de mayor energía para el crecimiento, la reproducción, el movimiento, etc (Fry, 1947). La precisión del método empleado en este estudio ha sido comprobado por Sicard-González (1999), quien determinó el MA óptimo de la almeja catarina *Argopecten ventricosus*. En esa especie, el MA se incrementa gradualmente hasta alcanzar su máximo entre 19 y 22°C para posteriormente disminuir a temperaturas superiores. En el presente trabajo se logró observar el incremento del marco de actividad en relación a la temperatura. Sin embargo, no fue posible confirmar que la temperatura de 29°C sea la óptima para los juveniles de callo de hacha (*Atrina maura*) debido a que en este caso no se experimentó a temperaturas superiores que permitieran observar el decremento del marco de actividad. De manera similar al trabajo de Sicard-González (1999), las otras variables estudiadas (por ejemplo, tasas de ingestión y aclaramiento, y crecimiento),

se comportaron de la misma forma que el marco de actividad, lo que permite concluir que cualquiera de estas variables se pueden emplear como indicadores para determinar la temperatura óptima de los organismos. Es necesario sin embargo, incluir en los ensayos las temperaturas extremas que indique el estudio de TLM_{50} , para tener el intervalo requerido donde se detecte la temperatura óptima de los organismos.

CONCLUSIONES

1. Los juveniles de callo de hacha *Atrina maura* pueden desarrollarse en un amplio intervalo de temperaturas y salinidades.
2. La temperatura letal media superior para estos organismos fue 33.2°C.
3. La salinidad letal media inferior fue 16.25‰ y el tiempo letal medio al exponerlos a 50‰ fue de 168 h.
4. La temperatura óptima para los juveniles posiblemente sea de 29° C o mayor de acuerdo a los resultados de marco de actividad, tasa de ingestión y tasa de aclaramiento, crecimiento y supervivencia.
5. El crecimiento fue mayor a 29°C, con un incremento en anchura de la concha de 0.67 mm/día.

RECOMENDACIONES

Las respuestas fisiológicas obtenidas en este trabajo, muestran claramente que las temperaturas cercanas a 30 °C aceleran el crecimiento de los juveniles de callo de hacha. Se recomienda que al elegir el o los sitios de cultivo se consideren aquellos que mantengan un intervalo de temperatura cercano a los 30 °C durante los meses más cálidos y que la salinidad del agua de mar se mantenga cercana a 38 ‰. Debido a que

en este trabajo no fue posible determinar si 29 °C es la temperatura óptima para el desarrollo de los juveniles de callo de hacha *Atrina maura*, sería conveniente realizar experimentos a temperaturas superiores. Los estudios de tasa de ingestión y tasa de aclaramiento fueron buenos indicadores del estado fisiológico de los juveniles. Sin embargo, se desconoce la concentración de microalgas en la que estos organismos asimilan mejor el alimento en condiciones de temperatura óptimas. Estudios en este sentido pueden ser de utilidad para la producción de juveniles, teniendo en cuenta el ahorro que se puede derivar si se sabe la cantidad de alimento que se necesita producir y proporcionar a los organismos cuando son mantenidos en laboratorio.

ANEXO

Para determinar la normalidad real de $\text{Na}_2\text{SO}_2\text{O}_3$

$$N = \frac{K \times R}{T}$$

N = Normalidad real de $\text{Na}_2\text{SO}_2\text{O}_3$

K = Volumen adicionado de KIO_3

T = Volumen de $\text{Na}_2\text{SO}_2\text{O}_3$ gastado

R = Normalidad de KIO_3

Para conocer el volumen real de botellas y tubos experimentales

$$WT = \frac{WLL - WV}{C}$$

WT = Peso total del recipiente (botella ó tubo)

WLL = Peso del recipiente lleno de agua destilada

WV = Peso del recipiente seco

C = Valor de la constante de calibración a la temperatura de trabajo, considerando la expansión o contracción del vidrio (Swinehart, D.F., 1980).

Determinación del consumo de O_2

$$VO_2 = \frac{T \times N \times 5587.82}{W - 200 \mu l}$$

VO_2 = ml/L de Oxígeno al final de la incubación

T = Volumen de $\text{Na}_2\text{SO}_2\text{O}_3$ gastado

N = Normalidad real de $\text{Na}_2\text{SO}_2\text{O}_3$

W = Volumen real del tubo

Para determinar la Tasa de ingestión

$$TI = \frac{VI \times CA}{O}$$

TI = Número de moléculas ingeridas por unidad de tiempo

VI = Volumen de inyección de alimento de reposición

CA = Concentración del alimento de reposición

O = Número de organismos incubados

Para determinar la Tasa de aclaramiento

$$TA = \frac{TI \times 1}{CI}$$

TA = Agua liberada de partículas por unidad de tiempo (L/g/h)

TI = Tasa de ingestión

CI = Concentración de microalgas en el medio de incubación

REFERENCIAS

Aguilar, I. F., 1964. Contribución al estudio de las gónadas de *Atrina maura* (Sowerby, 1835) Mollusca;Pinnidae. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. I.P.N. 35pp.

Aldana, A. D., 1987. Situación actual de los moluscos en el Golfo de México. Perspectivas para el desarrollo de su maricultura. Memorias de Segundo Congreso de la AMAC 87, La Paz B.C.S. México. En: De la Lanza-Espino, G. y Arredondo-Figueroa, J. L. (Eds.). 1991. La acuicultura en México: De los conceptos a la producción. Instituto de Biología. UNAM México.

Alvarez, J. P., 1995. Crecimiento, reproducción y energética fisiológica de la almeja *Tapes phillippinarum*. Tesis de Doctorado. Universidad del país Vasco. 40-65pp.

Ansell, A. D., Barnett, P. R. O., Bodoy, A. y Masse, H. 1981. Upper temperature tolerances of some European molluscs *Cardium glaucum*, *C. Tuberculatum* and *C. edule*. Mar. Biol. 65 (2), 177-183 pp.

Arizpe-Covarrubias, O. y Felix-Uraga, A., 1986. Crecimiento de *Pinna rugosa* (Sowerby, 1835) en la Bahía de La Paz, México. An. Inst. Cienc. Mar y Limnol. UNAM 13 (2), 167-172 pp.

Baqueiro, C. E., 1984. Status of molluscan aquaculture on the Pacific Coast of Mexico. Aquaculture, 39:83-93 pp.

Baqueiro, C. E., Massó, J. A. y Guajardo, H., 1982. Distribución y abundancia de moluscos de importancia comercial en Baja California Sur. Serie de Divulgación. Inst. Nal. de la Pesca SEPESCA. México 11:32 pp.

Bayne, B. L., 1976. Marine MUSSELS: Their ecology and physiology. By Nerc. Institute for Marine Enviromental Research Cambridge University Press. 121-159 pp.

Bayne, B. L. y Newell, R. C., 1983. Physiological energetics of marine molluscs. En: Saleuddin, A. S. M. y Wilbur, K. M. (Eds.). 1983. The Mollusca. Vol. 4 Physiology Part 1. Academic Press, New York. 407-515 pp.

Bishui Lin, Jinjin He, Xinming Wei, Zhang Cheng., 1987. Preliminary study on artificial spatting (spatting) of *Atrina pectinata* (Linnaeus) Source Journal Oceanographic. Taiwan; 6 (3) 260-268 pp.

Bojórquez-Verástica, G., 1986. Reclutamiento (Captación de semilla mediante colectores) de *Pinna rugosa* en la Bahía de La Paz B. C. S. Resumen. I Simposium Nacional de Acuicultura. México.

Brett, J. R., 1956. Some princeples in the thermal requeriments of fishes. Q. Rev. Biol. 31, 75-87 pp.

Bryan, J. R, Riley, J. P. y Williams, P. J., 1976. A Winkler procedure for making precise measurements of oxygen concentration for productivity and related studies. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 21:191-197

Cendejas, J., Carvallo, M. y Juaréz, L., 1985. Experimental spat collection and early growth of the pen shell, *Pinna rugosa* (Pelecypoda:Pinnidae), from the Gulf of California. Aquaculture, 48:331-336.

Coronel, J. S., 1981. Estudio gonadal de *Pinna rugosa* (Sowerby, 1835) Mollusca:Pinnidae, en el periodo comprendido entre Agosto de 1979 y Diciembre de 1980 en la Bahía de La Paz. Tesis de Licenciatura. U. A. B. C. S. 56 pp.

Cheong, S. C., Hue, J. S., Moon, Y. B., Lee, J. K., Song, C. H. y Kimm, K. K., 1986. Experimental study on the seeding production of the pen shell *Atrina pectinata*. Bulletin Fisheries Resources; 39:143-150 pp.

Davenport, J., 1979. Is *Mytilus edulis* a short term osmorregulator?. Comp Biochem. Physiol. 64A, 91-95 pp.

Espina, S. y Bückle-Ramírez, L. F., 1994. Scope for growth as function of temperature, salinity and body weight in *Tivela stultorum* (Mollusca, Lamellibranchia). J. Of Applied Aquac. 4 (4), 91-100 pp.

Foster-Smith, R. L., 1975. The effect of concentration of suspension on the filtration rates and pseudofaecal production for *Mytilus edulis* L., *Cerastoderma edule* (L.) and *Venerupis pulestra* (Montagu). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 17:1-22. En: Saleuddin, A. S. M. y Wilbur, K. M. (Eds.). 1983. The Mollusca. Vol. 4 Physiology Part 1. Academic Press, New York. 421 pp.

France-Aquaculture., 1985. Estudio de potencialidad en materia de acuicultura del Estado de Baja California Sur. Fodepesca/Secretaria de Pesca, México, 300 pp.

Fry, F. E., 1947. Effects of the environment on animal activity. University of Toronto Studies. Biological Series No. 55. 5-52 pp.

Gallager, S. M. y Mann, R. 1980. An apparatus for measurement of grazing activity of filter feeder at constant food concentrations Marine Biology Letters, 1 (1980) 341-349 pp.

Herrera, M. A., 1995. Cultivo de callo de hacha (*Atrina maura*) en el noroeste de México. Rev. Alternativas:10 pp.

Holguín, O., 1975. Callo de hacha y su crecimiento. Boletines informativos. Estación de investigaciones pesqueras de La Paz, B. C. S. México. 26-28 pp.

Iglesias, J. I. P. y Navarro, E., 1991. Energetics of growth and reproduction in cockles (*Cerastoderma edule*): seasonal and age-dependent variations. Mar. Biol. 111, 395-368 pp.

IRI-IGOSS, 1998. Integrated Global Ocean Services System Products Bulletin. WWW Page (<http://ingrid.ldgo.columbia.edu/SOURCES/.IGOSS/.nmc/.monthly/.sst/>)

Keen, A. M., 1971. Sea shells of tropical west america. marine mollusks from Baja California to Peru. 2nd. Ed. Stanford Univ. Press. U. S. A. 74-75 pp.

Kinne, O., 1967. Physiology of estuarine organisms with special reference to salinity and temperature: general aspects. In: Lauff, G. H. (Ed.), Estuaries. American Association for the Advancement of Science. No. 83, Washington, D. C., 525-540 pp.

Kinne, O., 1971. Salinity-animal-invertebrates. In: Kinne (Ed.), Marine Biology, Vol 1. Wiley-Interscience, London, 821-995 pp.

Lauz-Sánchez, E., 1993. Producción de semilla de callo de hacha (*Atrina maura*) en el Instituto Tecnológico de Guaymas. Tesis de Licenciatura. 85 pp.

Lent, C. M., 1968. Air gaping by the ribbed mussel, *Modiolus demissus* (Dillwyn). Effects and adaptative significance. Biol. Bull. 134, 60-73 pp.

Liang, X. Y. y Morton, B., 1988. The pallial organ of *Atrina pectinata* (Bivalvia:Pinnidae): Its structure and function. Journal Zoology. 216 (3) 469-477 pp.

Maeda Martínez, A. N., 1985. Studies on the physiology of shell formation in mollusc larvae with especial reference to *Crepidula fornicata* Ph. D. Thesis University of Southomptom.

Maeda Martínez, A. N., 1987. Problemas y perspectivas del cultivo de moluscos en el Pacífico Mexicano. Memorias del Segundo Congreso de la AMAC 87, La Paz, B. C. S.

Maeda Martínez, A. N., Monsalvo-Spencer, P. y Reynoso-Granados, T., 1996. Acondicionamiento, inducción al desove y obtención de embriones de callo de hacha. (*Atrina maura*). Oceanología 4 (10) 167-170 pp.

Miranda-Baeza, A., y Balderas-Cortes, J., 1994. La pesquería del callo de hacha (*Atrina sp.*, *A. maura*) (Pelecypoda:Pinnidae) en la Bahía de Yabaros, Sonora, su inicio, estado actual y tendencia. Oceanología 1 (4) 89-98 pp.

Navarro, E., Iglesias, J. I. P., Perez-Camacho, A., Labarta, U. y Beiras, R., 1991. The physiological energetics of mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lmk) from different cultivation rafts in the Ria de Arosa (Galicia, N. W. Spain). Aquaculture, 94, 197-212 pp.

Newell, R. C., 1979. Biology of intertidal animals, 3rd ed., Marine Ecological Surveys Ltd., Faversham, Kent, 781 pp.

Nieves-Soto, M., 1988. Efecto de la temperatura y la alimentación en algunos procesos fisiológicos de *Atrina tuberculosa* Sowerby, 1835 (Mollusca;Bivalvia) bajo condiciones de laboratorio. Tesis de Maestría. CICESE B. C. México 95 pp.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Noguera, F. O., 1968. Histología gonadal y ciclo sexual de *Pinna rugosa* (Sowerby, 1835) (Lamellibranchia:Pinnidae) de La Paz B. C. S. México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM. 43 pp.

Noguera, O. M. y Gómez-Aguirre, S., 1972. Ciclo sexual de *Pinna rugosa* Sowerby, 1835 (Lamellibranchia:Pinnidae) de La Paz, B. C. S. 273-284. En: Carranza, F. J. (Ed). Memorias IV Congreso Nacional de Oceanografía. México.

Owen, G. y Mc Crae, J. M., 1976. Further studies on latero-frontal tracts of bivalves. Proc. R. Soc. Ser. B. 194, 527-544. En: Saleuddin, A. S. M. y Wilbur, K. M. (Eds.). 1983. The Mollusca. Vol. 4 Physiology Part 1. Academic Press, London U. K. 421 pp.

Quin, J. M., Steele, G. L., Hickey, C. W. y Vickers, M. L., 1994. Upper thermal tolerances of twelve New Zealand stream invertebrate species. J. Mar. Freshwat. Res. 28 (4), 391-397 pp.

Rand, G. M. y Petrocelli, S. R. (Eds), 1985. Fundamentals of aquatic toxicology, Methods and Applications, Hemisphere, New York. En: Greenberg, A. E., Clesceri, L. S. y Eaton, A. D. (Ed), Standar Methods. for the examination of water and wastewater By 18th. Edition 1992.

Rangel-Davalos, C., 1990. El cultivo de moluscos marinos en México. 107, 125-126. En: De la Lanza-Espino, G. y Arredondo-Figueroa, J. L. (Eds.). 1991. La Acuicultura en México: De los conceptos a la producción. Instituto de Biología. UNAM. México.

Read, K. R. H., 1962. Respiration of the Bivalve molluscs *Mytilus edulis* L. and *Brachiodontes demissus plicatulus* Lamark as function of size and temperature. Comp. Biochem. and Physiol. 89-101 pp.

Read, K. R. H. y Cumming, K. B., 1967. Thermal tolerance of the bivalve molluscs, *Modiolus modiolus* L. and *Brachiodontes demisus* Dillwyn. *Comp. Bioch. and Physiol.* 22, 149-155 pp.

Reynoso-Granados, T., Maeda-Martínez, A. N., Cardoza-Velasco, F., Monsalvo-Spencer, P., 1996. Cultivo de hacha. En: Casas-Valdes, M. y Ponce-Díaz, G. (Eds.). 1996. Estudio del potencial pesquero y acuicola de Baja California Sur. Vol.II.545-546 pp.

Rodríguez, M. A. e Izabal-Zazueta, G., 1982. Contribución al estudio biológico pesquero del recurso callo de hacha. Documento Interno. Depto. de Pesca, Deleg. Fed. de Pesca. Sinaloa. Los Mochis, Sin., México. 19 pp.

Ruíz-Velasco-Cruz, E., 1998. Valoración nutritiva de dietas monoalgales (*Tetraselmis suecica*, *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros gracilis*, *Chaetoceros calcitrans* y *Thalassiosira pseudonana*), para juveniles de los bivalvos callo de hacha (*Atrina maura*) y madre perla (*Pinctada mazatlánica*). Tesis de Licenciatura. UNAM Iztacala. México. 99 pp.

Shumway, S. E., 1977. The effects of fluctuating salinity on the tissue water content of eight species of bivalve molluscs. *J. Comp. Physiol.* 11, 269-285 pp.

Shumway, S. E., 1991. *Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture.* Elsevier. Amsterdam, The Netherlands, 1095 pp.

Sicard-González, Ma. T., 1999. Temperatura letal superior y temperatura óptima en una población de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*, Sowerby II, 1842). Tesis de Maestría. CICIMAR IPN La Paz, B. C. S. México 96 pp.

Silva-Loera, A., 1986. Efecto del tamaño corporal, tensión de oxígeno y temperatura sobre la tasa de consumo de oxígeno de la escalopa *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) (Mollusca:Lamellibranchia). Tesis de Maestría. ITESM Guaymas. 93 pp.

Singh-Cabanillas, J., Vélez-Barajas, A., Fajardo-León, Ma. C., Massó-Rojas, A. y Michel-Guerrero, E., 1995. Aspectos biológicos del callo de hacha *Pinna rugosa* (Sowerby, 1835) en Bahía Concepción, Baja California Sur, México. Documento Interno. CRIP- La Paz. INP. SEMARNAP.

Smidth-Nielsen, K., 1979. Animal Physiology. 2nd. Edition. Cambridge University Press. U. S. A. 560 pp.

Soria-Palacios, M. E., 1989. Aspectos poblacionales y datos preliminares para la evaluación de callo de hacha *Atrina maura* (Sowerby, 1835) en la desembocadura del río Balsas de Lazaro Cardenas Michoacán, México. Tesis de Licenciatura. Escuela de Biología. U. M. S. N. II 75 pp.

Suzuki, T., 1988. Ultraestructure of the excretory organs and urinary component of the marine bivalve, *Atrina pectinata*. Comp. Biochem. Physiol. 90A, (1) 79-83 pp.

Urban, H. J., 1994. Upper temperature tolerance of ten bivalve species off Peru and Chile related to "El Niño". Mar. Ecol. 107 (1-2), 139-145 pp.

Swinehart, D. F., 1980. Calibration of volumetric glassware from weight of the contained water or mercury when in air with brass weights. En: Weast, C. R.(Ed.), Handbook of Chemistry and Physics. 61ST edition CRC Press Florida, U. S. A. D-144 pp.

Van Dam, L., 1954. On the respiration in scallops (Lamellibranchiata). Biol. Bull. 107, 192-202 pp.

Vélez-Barajas, J. A. y Fajardo-León, Ma. C., 1996. Pesquería de hacha. En: Casas -Valdez, M. y Ponce-Díaz, G. (Eds.). 1996. Estudio del Potencial Pesquero y Acuicola de Baja California Sur. Vol. I. 102-104 pp.

Villamar, A. 1965. Fauna malacológica de la Bahía de La Paz, B. C. S. Con notas ecológicas. An. Inst. Nal. Invest. Biol. Pesq. 1:115-152 pp.

Wells, H. W. y Gray, I. E., 1960. The seasonal occurrence of *Mytilus edulis* on the Carolina coast as a result of transport around Cape Hatteras. Biol. Bull. Mass., Vol. 119, 550-559 pp.

Widdows, J. 1985. The effects of fluctuating and abrupt changes in salinity on the performance of *Mytilus edulis*. In: Gray, J. S., Christiansen, M. E. (Eds.), Marine Biology of Polar Regions and Effects of Stress on Marines Organism. Wiley-Interscience, 555-566.

Winkler, L. W., 1888. The determination of dissolved oxygen in water. Berlin. Deut. Chem. Ges. 21, 2843 pp.

Winter, J. E., 1973. The filtration rate of *Mytilus edulis* and its dependence on algal concentration, measured by continuous automatic recording apparatus, Marine Biology, (22), 317-328 pp.

Yamamoto,-Ken'-Ichi; Adachi,-Sastoru; Tamura,-Ikuo; Aramizu,-Taki; Koube,-Hiroshi., 1996. Effects of hypoxia and water temperature on ciliary movement of gills in 5 Bivalvia, *Mytilus edulis*, *Atrina pectinata*, *Pinctata fucata martensi*, *Chlamys nobilis* and *Cassostrea gigas*. Journal Natl. Fish. Univ. 44 (3) 137-142 pp.

Zumaya-Chávez, V. J. 1996. Colecta de semilla de callo de hacha *Pinna rugosa* en la localidad de Bahía Falsa, B. C. S., México. Tesis de Licenciatura. Inst. Tecnol. del Mar, Guaymas, Son. Unidad La Paz, B. C. S. 38 pp.