

**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**INSTITUTO DE PATOLOGÍA ANIMAL**

**DETERMINACIÓN DE LA TOLERANCIA DEL ABALÓN ROJO (*Haliotis rufescens*)  
A LA EXPOSICIÓN AL AIRE, AGUA DE MAR CON BAJAS SALINIDADES Y  
AGUA DULCE**

Memoria de Título presentada como parte de  
los requisitos para optar al **TÍTULO DE  
MÉDICO VETERINARIO.**

**DANIEL FELIPE WOYWOOD WIJNANT**

**VALDIVIA - CHILE**

**2005**

**PROFESOR PATROCINANTE** : \_\_\_\_\_  
**Dr. Ricardo Enriquez S.**

**PROFESORES CALIFICADORES** : \_\_\_\_\_  
**Prof. Jose A. De La Vega M.**

: \_\_\_\_\_  
**Dr. Rafael Tamayo C.**

**FECHA DE APROBACIÓN** : **11 de marzo del 2005**

**A mis opas, padres y Karin**

## ÍNDICE

	<b>Pág.</b>
<b>1. RESUMEN</b> .....	<b>1</b>
<b>2. SUMMARY</b> .....	<b>2</b>
<b>3. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>3</b>
<b>4. MATERIAL Y MÉTODO</b> .....	<b>10</b>
<b>5. RESULTADOS</b> .....	<b>16</b>
<b>6. DISCUSIÓN</b> .....	<b>30</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>35</b>
<b>8. ANEXOS</b> .....	<b>38</b>
<b>9. AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>57</b>

## 1. RESUMEN

### DETERMINACIÓN DE LA TOLERANCIA DEL ABALÓN ROJO (*Haliotis rufescens*) A LA EXPOSICIÓN AL AIRE, AGUA DE MAR CON BAJAS SALINIDADES Y AGUA DULCE.

En el mundo la demanda de abalón se encuentra insatisfecha y las condiciones marítimas que tiene Chile son una oportunidad para producir la oferta que los países consumidores de este producto necesitan. El abalón rojo se cultiva desde el año 1988 en la X región de Chile, adquiriendo su cultivo un mayor crecimiento estos últimos años, lo que ha conllevado a la aparición de enfermedades de importancia económica, las cuales se está estudiando como controlar. Entre los tratamientos que se pudieran utilizar está la exposición del abalón rojo al aire, al agua de mar a bajas salinidades y agua dulce. Esta exposición podría hacer que algunos parásitos, como los que afectan a la concha del abalón, dejaran la concha o se murieran con este cambio de ambiente.

Por esto se decidió determinar la tolerancia del abalón a la exposición al aire, agua de mar a bajas salinidades (15‰ y 5‰) y agua dulce (salinidad de 0‰), para lo cual se desarrolló un método de evaluación del estado de vida y muerte del abalón, en el que se midieron cinco características: Concavidad del pie, resistencia a la tracción, reacción muscular, reacción de los tentáculos y reacción del pie. Mediante estas características se determinó si el abalón estaba vivo, agónico o muerto. Se realizó un análisis de supervivencia, en el cual se midió el tiempo transcurrido hasta la muerte del 50% de la población. Con estos datos se determinó la probabilidad de supervivencia a estos ambientes modificados, utilizando el método de Kaplan-Meier. También se determinó la significancia de los experimentos mediante los test Log-rank y Breslow.

Los grupos de experimentación constaban de 30 abalones rojos, recolectados al azar y con longitudes de entre 30 a 50 mm. En los experimentos de exposición al aire se trató de reproducir las condiciones ambientales a las cuales los abalones se pudieran ver expuestos en verano (16 °C), invierno (10 °C), en el transporte (4 °C) y a una humedad relativa del 80%. En los experimentos a bajas salinidades se determinaron concentraciones salinas de 15‰, 5‰ y 0‰, ya que pueden ser reproducibles en los centros de cultivo.

Finalmente se concluyó que para los tratamientos con bajas salinidades sólo es recomendable una salinidad de 15‰ y no salinidades de 5‰ y 0‰. También se concluyó que el tiempo de exposición para cada uno de los tratamientos, antes de presentar muerte de ejemplares es: en exposición al aire 43 horas a 4 °C, 40 horas a 10 °C y 19 horas a 16 °C; en exposición a agua de mar por 6 horas a una salinidad de 15‰ y 2 horas a una salinidad de 5‰ y en exposición a agua dulce por 25 minutos (salinidad de 0‰).

Palabras claves: Abalón rojo, tolerancia, aire, baja salinidad.

## 2. SUMMARY

### TOLERANCE OF THE RED ABALONE (*Haliotis rufescens*) TO THE EXPOSURE TO AIR, SEA WATER WITH LOW LEVELS OF SALINITY AND FRESH WATER.

On a global basis, demand for abalone is not yet satisfied, and Chile's sea conditions represent an opportunity to produce the offer that consumer countries need. Red abalone is cultivated in Chile since 1988, in this country X Region. In the last few years it has experienced a greater growth, which has led to the apparition of sickness of economic significance. How to control them is now under study. Among the treatments that could be used, there is the exposure of red abalone to air, sea water with low levels of salinity and fresh water. This exposure would make that some parasites, such as the ones that affect the abalone's shell, may leave the shell or die with these changes in the environment.

That is the main reason behind the decision to study the abalone's tolerance to the exposure to air, sea water at low level of salinity (15‰ and 5‰) and fresh water (salinity 0‰). To achieve this, an evaluation method of the abalones condition of life and death was developed, in which five characteristics were measured: foot concavity, traction resistance, muscular reaction, tentacles reaction and foot reaction. With these characteristics, it was possible to identify if the abalone was alive, agonizing or death. A survival analysis was made, in which the time until 50% of the population died was measured. With this data, the probability of survival in these modified environments was determined using the Kaplan-Meier method. The significance of the experiments was also measured with the Log-rank and Breslow tests.

The experimentation groups consisted on 30 red abalones each, picked up at random and with longitudes between 30 and 50 mm. In the air exposition experiments, the environmental conditions to which abalones may be exposed were reproduced during different situations: summer (16°C), winter (10°C), during transportation (4°C) and with a relative humidity of 80%. In low salinity experiments, saline concentrations of 15‰, 5‰ and 0‰ were determined, because they may be reproduced in the cultivation centers.

Finally, it was concluded that in case of water with lower salinity treatments, only 15‰ of salt treatment is recommended, not water with 5‰ or 0‰ of salt. It was also concluded that the time of exposition for each treatment, before any of the abalones died is: air exposition, 43 hours at 4 °C, 40 hours at 10 °C and 19 hours at 16°C; sea water with lower salinity, 6 hours at 15‰ of salt and 2 hours at 5‰ of salt and fresh water (0‰ of salt) 25 minutes.

Key words: Red abalone, tolerance, air, low salinity.

### 3. INTRODUCCION

#### 3.1. ANTECEDENTES GENERALES.

El mundo asiático, principal mercado para el abalón (*Haliotis sp.*), está al alcance de los productores chilenos y eso lo demuestra el último foro económico APEC (Foro de Cooperación Económica del Asia Pacífico) organizado en Chile. También se ha firmado el tratado de libre comercio (TLC) con Corea del sur, importante consumidor de abalones, futuros TLC con China y Japón, y las perspectivas de abrir un mercado de más de 2500 millones de personas.

El abalón es un molusco de gran importancia para la economía de muchos países como México, Australia, Japón, Nueva Zelanda y Sudáfrica. Sin embargo, la sobre explotación de este recurso, junto a su lento crecimiento y destrucción de su hábitat natural ha causado que el valor comercial de las diferentes especies se haya elevado lo suficiente como para catalogarlo como un recurso exótico. Lo anterior ha dado lugar a que el abalón sea una interesante alternativa para la exportación a los países asiáticos, generando divisas importantes para el país (Viana, 2001).

En oriente el abalón es considerado un afrodisíaco y con poderes medicinales, se vende en farmacias naturistas especializadas al lado de aleta de tiburón, cuerno de rinoceronte y garra de tigre y es considerado uno de los máximos regalos que alguien puede hacer. Se reserva para bodas u otras ceremonias muy especiales como un símbolo de poder y felicidad (Velásquez, 2002).

Al abalón se le han dado diferentes nombres comunes, dependiendo del lugar donde se encuentre. Es así como en Estados Unidos se le llama "Abalone", en Japón "Awabi", en México "Abulón", en Sudáfrica "Perlemoen", en Nueva Zelanda "Paua", en España "Senorinas", en Italia "Orecchiale", en Inglaterra "Venus ear" y en Portugal "Lapa burra" (Hahn, 1989).

La extracción del abalón se inició en el siglo XIX, cuando inmigrantes chinos, llevados a California a trabajar en las minas y en la construcción del ferrocarril, incursionaron en la extracción de este apreciado molusco, pero sólo hasta principios de los años setenta se inició el cultivo comercial de abalón en el mundo, siendo pionero en esta actividad Estados Unidos (Flores, 2002).

La producción mundial actual de abalón está estimada en 7.800 toneladas al año, provenientes principalmente de China (3.500 ton), Taiwán (2.400 ton) y Australia y Estados Unidos (cerca de 100 ton cada uno) (Viana, 2001). La producción de cultivo seguirá creciendo para llegar al año 2010 con unas 9.000 toneladas que sumadas a las capturas, deberían generar una oferta total del orden de las 16.000 ton. Aun así, por ser una especie muy cotizada en el

exterior, todavía habría una demanda insatisfecha con respecto a los volúmenes que se comercializaron en décadas pasadas. Esta proyección ofrece una importante oportunidad a la industria de cultivo, la que está creciendo rápidamente y representando desde 5% de la oferta en la última década, a un notable 40% actual (Flores, 2002).

### **3.1.1. El abalón en Chile.**

Por las razones antes dadas y a pesar de que el abalón no existe naturalmente en Sudamérica, fue introducido en Chile en el año 1978 mediante un proyecto desarrollado por Fundación Chile junto a la Universidad Católica del Norte. A ello le siguió la incorporación de semillas de abalón japonés durante la década de los 80 y ya en 1988 a través de Cultimar S.A. (filial de Fundación Chile en Tongoy) se presentó el primer estudio de impacto ambiental de la acuicultura, para cultivar abalón rojo en la X Región, cuyos favorables resultados permitieron autorizar el cultivo abierto de la especie al sur del canal de Chacao, específicamente en la zona comprendida entre las latitudes 41° 50' 00" S y 46° 00' 00" S, es decir entre el Seno de Reloncaví y la Península Skyring, en sistemas de circuito abierto o semicerrado (Guzmán, 2003).

El abalón es una de las dos especies marinas más nuevas que se cultivan en Chile (Estrada, 2002). En Chile se cultiva abalón rojo o californiano (*Haliotis rufescens*) y abalón verde o japonés (*Haliotis discus hannai*) (Acevedo y Campos, 2000).

Actualmente, en Chile la industria acuícola representa el segundo rubro productivo exportador más relevante (Guzmán, 2001) y aunque el aporte de los abalones a esta es aún incipiente (Guzmán, 2003), la producción nacional de abalón ha experimentado un aumento de exportaciones de 19 toneladas el año 1999 con retornos de US\$ 493 mil, al año 2002, con 83 toneladas exportadas y un retorno de US\$ 1,7 millones (Flores, 2002).

Entre los principales consumidores de abalón rojo chileno, se encuentran Estados Unidos, Singapur y China, mientras que el abalón japonés es solamente consumido en el país nipón (Guzmán, 2003)

### **3.1.2. Transporte y comercialización.**

El abalón japonés y el abalón rojo se comercializan de diferentes formas: fresco, congelado, enfriado, en conserva y deshidratado. De todas las formas de procesamiento, los mejores precios se alcanzan con el producto deshidratado y fresco (vivo). El producto se comercializa con concha, excepto la conserva y el deshidratado (Guzmán, 2003). La principal forma de presentación en Estados Unidos es el abalón rojo vivo, producto que se comercializa en cajas de poliestireno, en un ambiente frío y húmedo, con lo cual se obtiene una garantía de frescura, presentando mortalidades menores al 5%. El abalón rojo presenta un precio de US\$ 25 a US\$33/ kilo FOB. En el caso del congelado el precio baja en un 30% y en el deshidratado, la técnica de secado es muy compleja y es difícil obtener un producto con los mejores precios (Flores, 2002).

En el transporte de los abalones hay dos factores de importancia: peso y tipo de embalaje. El transporte de abalones en agua de mar tiene un alto costo, debido al elevado peso,



también se transportan en bolsas con agua de mar selladas, pero se presentan problemas de concentración de amonio y de dióxido de carbono. Generalmente los abalones se transportan en seco, con algún tipo de esponja que mantenga el ambiente húmedo. Apropiadamente embalados, los abalones en seco pueden sobrevivir a un transporte de 24 horas, lo que permite transportarlos a cualquier lugar del mundo (Fallu, 1991).

### **3.1.3. El abalón rojo (*Haliotis rufescens*).**

El abalón rojo se encuentra naturalmente por todas las costas del Oeste de Estados Unidos y México, donde la mayoría habita en la zona intermareal, encontrándose generalmente entre los 7 y los 20 metros bajo la superficie, aunque puede llegar hasta los 200 metros de profundidad (Estrada, 2002).

En Chile, el abalón rojo tiene un ciclo productivo de 3 a 4 años, llegando a una talla de 90 mm, tamaño adecuado para la comercialización. Su ritmo de crecimiento en la zona de Chiloé fluctúa entre 1,8 a 2,0 mm por mes. En la IV y V regiones del país, el crecimiento es un poco más rápido, debido a la mayor temperatura del agua (Guzmán, 2003).

## **3.2. BIOLOGIA DEL ABALÓN**

### **3.2.1. Descripción Taxonómica.**

El abalón es un gastrópodo marino herbívoro perteneciente al género *Haliotis*. En el reino animal pertenece al Phylum Mollusca, clase Gastrópoda, subclase Prosobranquia, Orden Zigobranquia, superfamilia Pleurotomariacea y familia Haliotidae. Los antiguos científicos lo llamaban “*Notohaliotis*”, “*Euhaliotis*” o “*Sanhaliotis*”. Aristóteles (347 a. C.) lo llamaba “*Agria lepas*” que significa concha salvaje y “*Thalattion us*” que quiere decir oreja marina. Linnaeus (1740) nombró el género como “*Haliotis*”, que significa “oreja de mar” (Hahn, 1989).

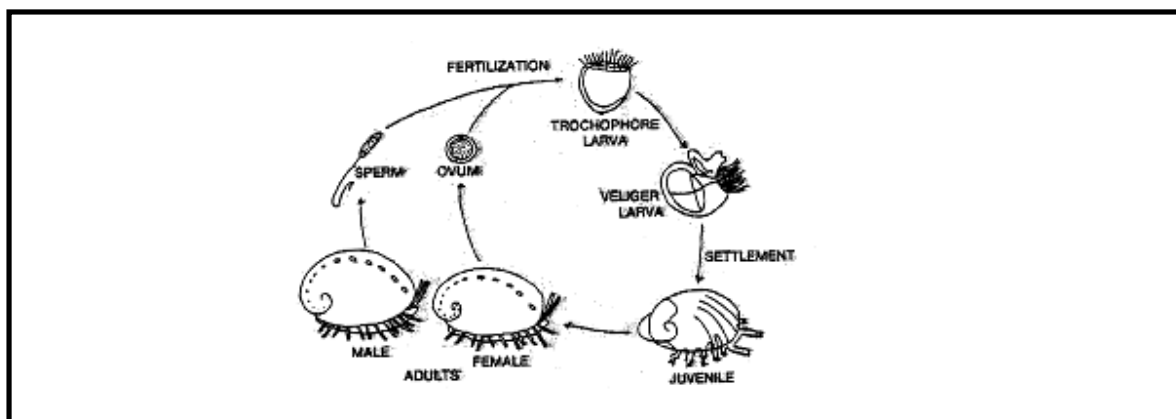
### **3.2.2. Descripción morfológica.**

Es de hábitos nocturnos y tiene adosada una concha oval, la cuál posee una corrida de orificios respiratorios (3 o 4 orificios abiertos) localizados a lo largo del margen izquierdo (Guzmán, 2003). Internamente la concha está cubierta de nácar lo cual le proporciona un atractivo especial y por ende un valor adicional al producto. El epipodium es una estructura sensitiva que se proyecta como extensión del pie sosteniendo los tentáculos, circunda el pie y se proyecta por debajo del borde de la concha en el abalón (Shephard y col., 1992).

### **3.2.3. Ciclo de vida.**

Los abalones alcanzan su madurez sexual a un tamaño pequeño. La fertilidad es alta y aumenta exponencialmente con el tamaño. Los sexos son separados y la fertilización es externa. Los huevos y esperma son lanzados en el agua a través de los poros con la corriente respiratoria. Un abalón de 1.5 pulgadas podría desovar 10.000 o más huevos al mismo tiempo; mientras que un abalón de 8 pulgadas podría llegar a desovar 11 o más millones de huevos. La época de desove varía según la especie. Los abalones negros (*Haliotis rubra*), verde (*Haliotis fulgens*) y rosados (*Haliotis corrugata*) desovan en la primavera y el otoño, mientras que el abalón pinto (*Haliotis kamtchatkana*) lo hace durante el verano. En cambio, el abalón rojo en

algunos lugares lo hace a través de todo el año. Los huevos fertilizados eclosionan para dar paso a una larva que se alimenta de plancton hasta que su concha comienza a crearse. Una vez que la concha se forma, el abalón juvenil se hunde y en el fondo se pega a las rocas y grietas con su poderoso y único pie. Las tasas de asentamiento parecen ser variables. Luego de establecerse, el abalón cambia su dieta y comienza a alimentarse de microalgas (Hahn, 1989) El ciclo de vida del abalón se muestra en la figura N°1.



**Figura N°1: Ciclo de vida de abalón rojo (*Haliotis rufescens*)** (Shephard y col., 1992).

### 3.2.4. Requerimientos ambientales.

Los abalones poseen requerimientos ambientales específicos, tales como la temperatura del agua, salinidad y niveles de oxígeno disuelto. Estos deben ser mantenidos cuidadosamente en un cultivo de ambiente controlado. Estos moluscos son muy sensibles a la calidad del agua y requieren tasas de intercambio de agua de un 100% cada hora (Flores y Miranda, 1990)

El abalón rojo prefiere un rango de temperatura entre los 7 y 16 °C, así como también las áreas protegidas de marejada, viento y corriente (Hahn, 1989).

### 3.2.5. Alimentación de los abalones.

En la fase larval los abalones consumen microalgas plantónicas como: *Monochrysis sp.*, *Isochrysis sp.* y *Chaetoceros sp.*, pero obtener algas marinas puede ser problemático en alta producción y la alternativa han sido los alimentos artificiales especialmente formulados para abalones (Fallu, 1991).

Los abalones adultos utilizan su rádula para raspar pedazos de algas o algún otro material vegetal desde la superficie de las rocas, o de partes de algas que se encuentran en el flujo de agua. Los abalones prefieren algas largas y café. El color de sus conchas es producto de los distintos tipos de algas que consumen (Viana, 2001).

Usualmente los abalones adultos se alimentan de *Macrocystis sp.* y de *Nerocystis sp.*, pero consumirán en su vida mayoritariamente macroalgas pardas (Hahn, 1989).

En el norte del país, los abalones se alimentan con *Lessonia sp.*, *Macrocystis integrifolia* y reducidas dosis de *Ulva sp.* y *Gracilaria sp.*, mientras que en el sur lo hacen con *Macrocystis pyrifera* y *Gracilaria chilensis*. La forma de alimentarlos bajo condiciones de cultivo es a través de la incorporación a los estanques de alga fresca; así como en el mar, hay empresas que han incorporado sistemas semiautomáticos de alimentación (Guzmán, 2003).

### 3.2.6. Enfermedades.

El abalón rojo es el principal abalón que se cultiva en Chile y a medida que se ha incrementado la intensidad de su cultivo, se han detectado diversas enfermedades en el país, que han requerido del estudio y desarrollo de medidas sanitarias para evitar la propagación de las mismas. Los principales causantes de las enfermedades que se han detectado son agentes bacterianos y parasitarios (Godoy, 2003).

Dentro de las enfermedades infecciosas, se encuentran las causadas por bacterias como: *Vibrio sp.* que produce la Vibriosis, esta enfermedad puede causar hasta un 80% de mortalidad. *Candidatus Xenohalotis californensis* que es denominada también como Procarionte semejante a Rickettsia, esta bacteria da origen al Whithering Syndrome y puede causar entre un 1-10% de mortalidad. Además de las bacterias se encuentran hongos como el *Haliphthoros milfordensis* (Viana, 2001).

Los parásitos de importancia para la industria del abalón son los poliquetos, que probablemente son los metazoarios marinos más comunes y abundantes en los ambientes bentónicos. Para Chile continental se han citado más de 50 familias de poliquetos, compuestas por 214 géneros y más de 450 especies. Entre los poliquetos más frecuentes, se describe a los Sabélidos, los cuales afectan la concha del abalón produciendo estriaciones oscuras en el nácar, calcificaciones defectuosas (concha porosa y pérdida de poros respiratorios) y en casos muy agudos deformación de la concha (Cáceres, 2003).

También se han descrito los poliquetos *Polydora sp.*, *Dipolydora sp.* y *Boccardia sp.*, los cuales dañan sólo la capa externa de la concha, generando deformación de ésta y mayor susceptibilidad al deterioro o al ataque de depredadores (Cáceres, 2003).

El control de los gusanos perforadores se ha intentado desde el inicio del cultivo de moluscos a escala comercial en el mundo. Generalmente, el productor, quien es el más interesado en el control de estos animales, tiende inicialmente a menospreciar el problema. Posteriormente, cuando el problema aumenta se piensa que existe un tratamiento práctico y sencillo para erradicarlo; sin embargo, esto no siempre se cumple (Cáceres, 2003).

Se han desarrollado varios tratamientos para controlar y erradicar a los gusanos perforadores de los cultivos comerciales de moluscos, lamentablemente ninguno de ellos ha sido 100% efectivo (Cáceres, 2003).

Para tener un cultivo libre de gusanos perforadores, se recomiendan los cultivos suspendidos o en rocas alejados del fondo. En la zona intermareal se obtendrá un proceso

natural de limpieza de epibiontes (incluyendo a los gusanos perforadores) por el efecto de la desecación al estar expuestos al aire (Cáceres, 2003).

Cáceres (2003) determinó que la exposición al aire de *Haliotis sp.* a 15 – 20 °C por 2 a 4 h. reduce el número de gusanos, como *Polydora hoplura* y *Broccardia knoxi*, hasta en un 90% o más. Por otra parte, Leonart y col. (2003) experimentaron con abalones negros (*Haliotis rubra*) infestados con spionidos, exponiéndolos al aire durante 2 – 4 horas a un 64% de humedad; lo que redujo significativamente la infestación de 2 especies de spionidos poliquetos: *Boccardia knoxi* y *Polydora hoplura*. Este tratamiento no causó la muerte de ningún abalón. También se registró 100% de supervivencia en abalones negros de 40 mm, expuestos al aire por 11h a 16 °C y 64% de humedad.

Cabe hacer notar, que los tratamientos químicos usados en baños fueron ineficientes para las infestaciones de spionidos, por lo que Leonart y col. (2003) encontraron la exposición al aire, como una alternativa promisoriosa para el control de los parásitos perforadores.

Por otro lado, según Edwards (2003) el rango de tolerancia al cambio en la salinidad para el abalón verde (*Haliotis laevigata*) y el abalón negro (*Haliotis rubra*) es entre 25 - 40‰. Un margen de 2‰ de salinidad fuera de estos rangos causaría mortalidad.

La mayoría de los moluscos exhiben una respuesta negativa al cambio de salinidad, que se refleja en una combinación de la restauración del balance de los iones inorgánicos y de los iones orgánicos. Al reducir la salinidad se elevan varias sustancias hidrógeno positivas, la mayoría aminoácidos libres (Shumway y col., 1977), también según Drew y col. (2000) la alta y baja salinidad representa un estrés metabólico para el abalón, el cuál se observa en forma más evidente al producirse un “shock” calórico en las proteínas.

La reducción de la salinidad produce en el abalón una disminución de la frecuencia cardíaca, con lo que se espera una menor perfusión del tejido y por consiguiente una menor cantidad de oxígeno en éste y produciéndose por último una reducción de actividad (Nakanishi, 1978).

La hemocianina es una macromolécula metalo proteínica que tiene incorporada el cobre, el cuál funciona como sitio activo transportador de oxígeno y por lo tanto es la encargada del transporte del oxígeno en la linfa de moluscos y artrópodos. La hemocianina se ha usado como un indicador fisiológico en animales expuestos a diferentes condiciones ambientales, como altas concentraciones de amonio y nitrito, hipoxia y alta y baja salinidad (Pascual y col., 2003).

Finalmente, bajo condiciones de cultivo, las causas de enfermedades no infecciosas más comunes son: Desplazamiento de los abalones fuera de los estanques, agregación en las esquinas de los estanques, dietas inadecuadas, deficiencias hormonales, problemas en la calidad del agua y sobrepoblación de los abalones en los estanques. La manipulación del ambiente tiene gran importancia para reducir el estrés y así la vulnerabilidad a enfermedades. Para disminuir los patógenos en el agua se pueden utilizar filtros, ozono o cloro. El problema

de estos manejos es que el abalón se cultiva en contenedores y por lo tanto al ser un sistema semicerrado es muy propenso a sufrir desajustes (Viana, 2001).

### **3.3. HIPÓTESIS**

Los abalones rojos (*Haliotis rufescens*) toleran al menos 24 horas de exposición al aire y no toleran mas de 30 minutos de exposición al agua de mar con salinidades de 15‰ y 5‰ y al agua dulce (salinidad de 0‰) sin presentar mortalidad.

### **3.4. OBJETIVOS**

El presente estudio tiene como objetivo general determinar la tolerancia del abalón rojo a la exposición al aire, agua de mar con bajas salinidades y al agua dulce.

Los objetivos específicos son:

a) Definir un método de evaluación del estado del abalón rojo, determinando características que indiquen si esta vivo, agónico o muerto.

b) Determinar la tolerancia del abalón rojo a la exposición al aire a 4 °C, 10 °C y 16 °C, en una humedad relativa constante del 80%.

c) Medir la tolerancia del abalón rojo a agua de mar con salinidad de 15‰ y 5‰ y al agua dulce (salinidad de 0‰).

## 4. MATERIAL Y MÉTODO

### 4.1. MATERIAL

El material se ha dividido en material biológico, que corresponde a los abalones; y material de laboratorio, que corresponde a los equipos e instrumentos utilizados.

#### 4.1.1. Material biológico.

Los abalones fueron muestreados en un centro artesanal de cultivo de abalones y choritos, ubicado en la localidad de Rilán, 40 km al este de Castro, en la isla grande de Chiloé. Se utilizaron en los experimentos 240 abalones rojos (*Haliotis rufescens*), con longitudes entre 30 a 50 mm. No se realizó diferenciación de sexo.

#### 4.1.2. Material de laboratorio.

##### 4.1.2.1. Material de la sala de estanques:

- a. 8 Estanques de fibra de vidrio de 300 litros.
- b. 9 bombas de aire Atinan AT – 702.
- c. 5 filtros de agua Resun SP – 1200L.
- d. 4 filtros de agua Atinan AT – F102.
- e. Malla rachel.
- f. 2 bateas de 40 litros.
- g. 1 bandeja.
- h. 1 acuario de 150 litros.
- i. Termómetros.

##### 4.1.2.2. Material del laboratorio:

- a. Pesa electrónica OHAUS – E400D.
- b. Aerómetro Baume.
- c. Placas petri.
- d. Probeta de 1L.
- e. Medidor de concentraciones de cloro HACH 43000 – 00.
- f. Pie de metro.
- g. Pinza anatómica.
- h. Pinza dientes de ratón.

##### 4.1.2.3. Material de la sala de ambiente controlado:

- a. Higrómetro.
- b. Termómetro.

## 4.2. MÉTODO

La investigación tuvo 4 etapas generales:

- Muestreo y transporte.
- Aclimatación de los abalones.
- Experimento y evaluaciones.
- Análisis estadístico.

### 4.2.1. Muestreo y transporte de las muestras.

Los abalones se muestrearon al azar, la única condición fue que midieran entre 30 a 50 mm. Tras ser muestreados en el sector de cultivo, fueron transportados a la Sala de Estanques del Laboratorio de Ictiopatología de la Universidad Austral de Chile en contenedores isotérmicos.

### 4.2.2. Aclimatación de los abalones.

Los abalones se distribuyeron al azar en 8 grupos de 30 individuos. Cada grupo se mantuvo en un estanque con 150 litros de agua de mar a una salinidad de 33 ‰. El agua de mar fue recolectada en el Laboratorio Costero de Calfuco perteneciente a la Universidad Austral de Chile. Los estanques contaban con un filtro de carbón activo y perlón y dos difusores de oxígeno. Los filtros fueron limpiados una vez a la semana y el agua cambiada totalmente cada 2 semanas, realizándole una limpieza al estanque entre cada cambio de agua. Los abalones se alimentaron principalmente con Huiro (*Macrocystis pyrifera*), Cochayuyo (*Durvillea antarctica*) y Luche (*Ulva lactuca*) y tuvieron un mínimo de 2 semanas de aclimatación antes de ser sometidos a los experimentos.

### 4.2.3. Experimentos y evaluaciones.

Dada la dificultad de determinar la muerte del abalón, se eligieron 5 características que reaccionaban frente a la exposición al aire y a cambios de salinidad en el agua, las que eran fácilmente observables y medibles a simple vista. Estas características se seleccionaron luego de observar las reacciones de los abalones en estos ambientes modificados y según recomendación del profesor J. Navarro<sup>1</sup>. Las características determinadas fueron:

- 1- Resistencia a la tracción.
- 2- Concavidad del pie.
- 3- Reacción muscular.
- 4- Reacción de los tentáculos.
- 5- Reacción del pie.

Para las características de resistencia a la tracción y concavidad del pie se establecieron grados desde 0 hasta 3, siendo 0 la ausencia de reacción y 3 el máximo de expresión de la

---





<sup>1</sup> Comunicación Personal: Jorge Navarro, Biólogo Marino, Instituto Biología Marina UACH, 2004.

característica. Para las características de reacción muscular, reacción de los tentáculos y reacción del pie se estableció 2 categorías: positivo o negativo (1 o 0 respectivamente).

Cuando todos los valores de cada característica fueron cero, se consideró que el abalón estaba muerto. Además, se determinó la condición de “agónico” cuando la resistencia a la tracción o concavidad del pie estaban en cero y por lo menos 2 de las características de reacción también. Estas características se dispusieron en una planilla, según se muestra en el Anexo A. Para realizar una determinación homogénea de las características a observar, se elaboró un protocolo, el cual se muestra en la figura N°2.

<b>1. Resistencia a la tracción a 3 Newton (fuerza):</b>	
<b>Grado</b>	
0	0 segundos.
1	1 segundo.
2	2 – 6 segundos.
3	7 segundos o más. (no se realiza extracción del abalón)

**2. Concavidad del pie:**

Grado 0	Grado 1	Grado 2	Grado 3
			

**3. Reacción muscular: Positivo / Negativo**

**4. Reacción de tentáculos: Positivo / Negativo**

**5. Reacción del pie: Positivo / Negativo**

**6. Estado: Vivo / Agónico / Muerto**

**Vivo:** Abalón con grado mayor a 0 en resistencia a la tracción y/o concavidad del pie y dos o mas reacciones positivas .

**Agónico:** Abalón con grado 0 en resistencia a la tracción y/o concavidad del pie y dos reacciones negativas.

**Muerto:** Abalón con grado en 0 en resistencia a la tracción y concavidad del pie y todas las reacciones negativas.

**Figura N°2 :** Protocolo de evaluación de los estados de supervivencia de abalones.



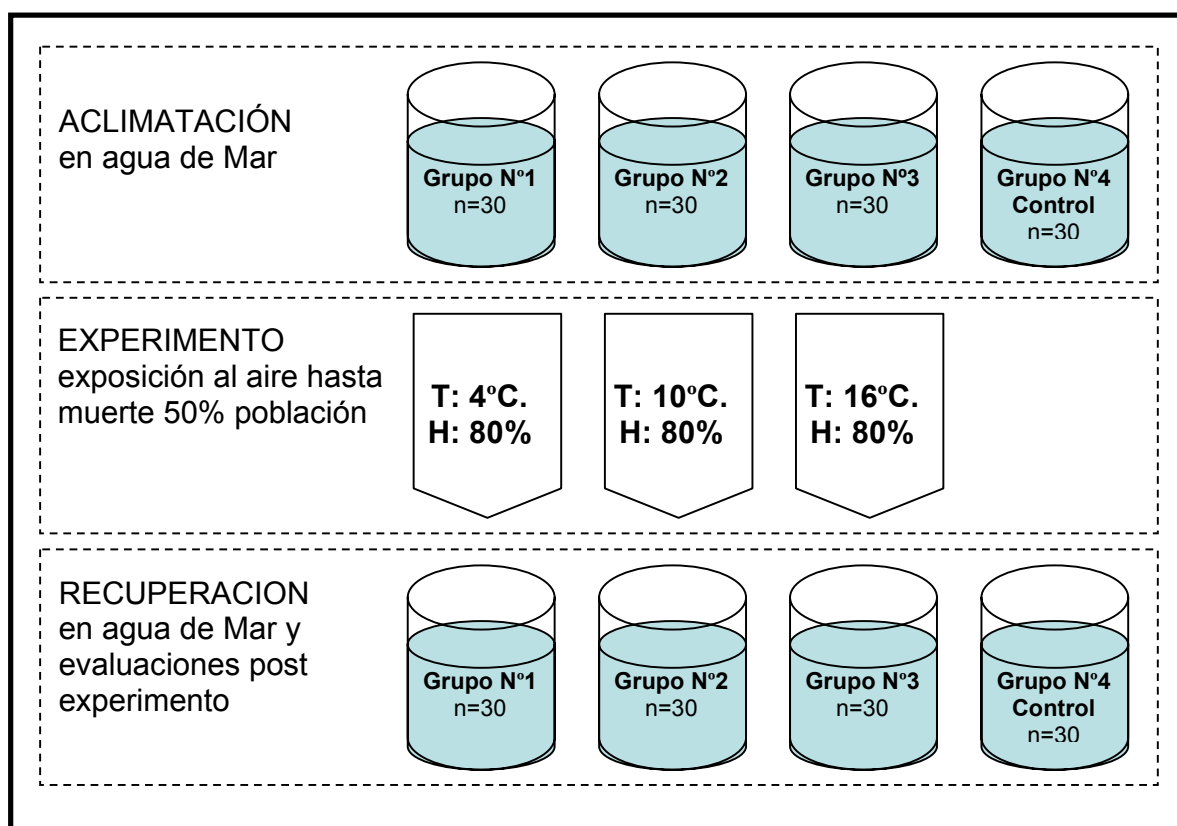
A cada grupo de 30 abalones se le asignó un número, de esta manera los grupos 1, 2, 3 y 4 fueron usados para observar la tolerancia al aire libre, quedando el número 4 como grupo control. Los grupos 5, 6, 7 y 8 fueron utilizados para observar la tolerancia de los abalones al agua de mar a bajas salinidades y al agua dulce, el grupo 8 fue el control. Los grupo controles 4 y 8 se mantuvieron a lo largo del tiempo de los experimentos en agua de mar a una salinidad de 33‰.

#### 4.2.3.1 Experimento N° 1: Tolerancia a la exposición al aire.

Se experimentó la tolerancia de los abalones a la exposición al aire bajo 3 temperaturas: 4 °C, 10 °C y 16 °C. Para llevar a cabo este experimento fue necesario contar con una sala de ambiente controlado, con el fin de mantener estable la humedad ambiental y la temperatura. La humedad se mantuvo constante en un 80 % durante la evaluación de los 3 tratamientos, chequeándola periódicamente con ayuda de un higrómetro. La temperatura determinada para cada uno de los grupos se mantuvo constante gracias a que la sala cuenta con un termostato conectado a un enfriador y un calefactor.

Para cada experimento, se ingresaron los abalones a la sala climatizada, se colocaron en una batea y se registró la hora de inicio del tratamiento. Luego, se hicieron observaciones cada 3 horas aproximadamente, donde se evaluó cada uno de los parámetros físicos descritos anteriormente. Para facilitar la evaluación de los parámetros de concavidad y de reacción del pie se tomaron fotos representativas para cada grado. Para el parámetro de resistencia a la tracción, se determinó el tiempo necesario para despegar un abalón, a una fuerza determinada de 3 newton, medida con un dinamómetro (según se ve en la anexo B). Se establecieron 4 grados de resistencia a la tracción (Figura N°2).

Las observaciones se registraron en la planilla de anotaciones mostrada en el anexo A, hasta la hora en que el 50 % de la población se determinó como muerta. Luego, el 100% de los individuos se reingresó al agua de mar (Figura N°3). Una vez regresados a su ambiente natural, se realizaron evaluaciones postratamiento, se observaron las mismas características nuevamente y se verificó el estado de los abalones. Esta evaluación se realizó diariamente durante los 10 primeros días y luego cada tres días hasta completar un mes.



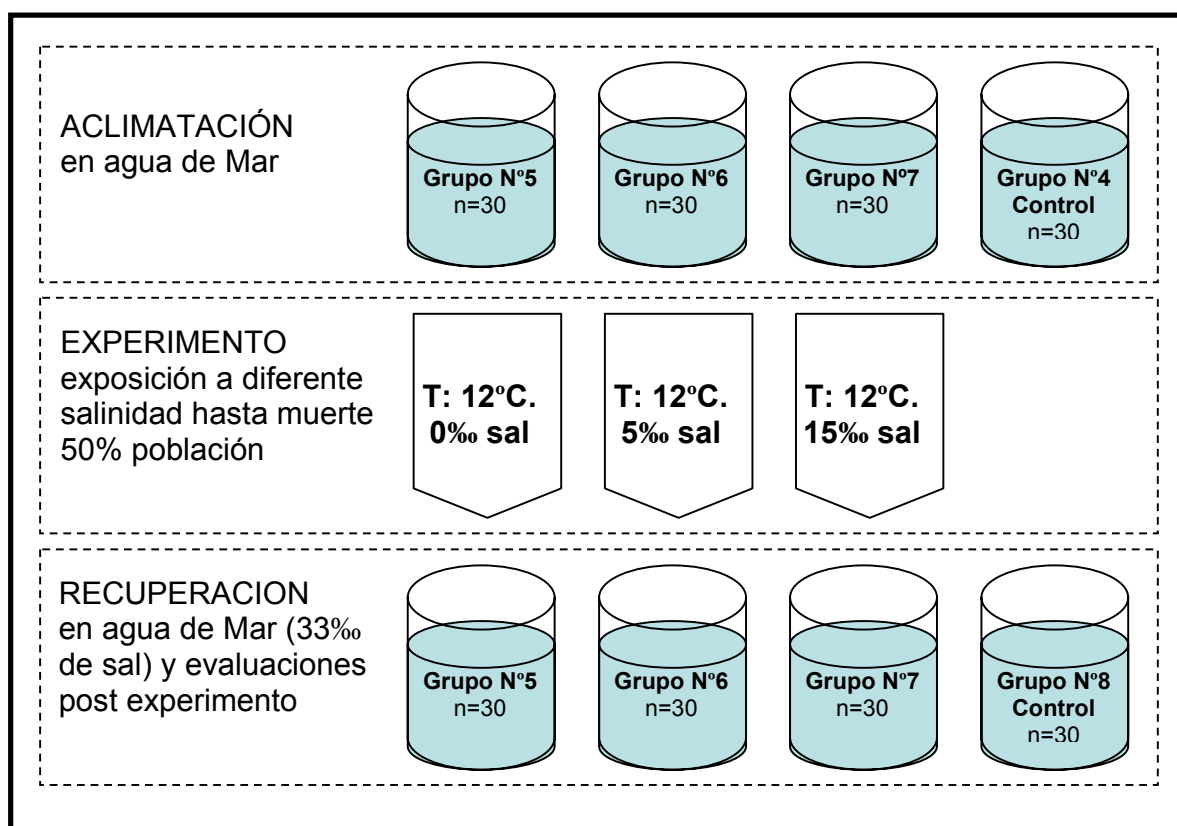
**Figura N°3:** Diagrama del experimento N°1.

4.2.3.2. Experimento N°2: Tolerancia a la exposición a agua de mar a bajas salinidades y agua dulce.

En este experimento se expuso a los grupos de abalones a 3 distintas salinidades: 15‰ y 5‰ de sal en agua de mar y 0‰ de sal en agua dulce. Estas concentraciones se escogieron debido a que pueden ser fácilmente reproducibles en condiciones de manejo reales. Salinidades de 20‰ o más se descartaron, ya que existe información verbal que afirma que algunos gastrópodos marinos resisten perfectamente estas concentraciones según la profesora G. Urrutia<sup>2</sup>.

Para este experimento se utilizó la misma metodología de observación seguida en el experimento N°1 de exposición al aire, excepto para el parámetro de concavidad del pie, donde se descartó el grado 0, porque sólo se registraron concavidades desde 1 a 3 grados. Adicionalmente se determinó la presencia de hemocianina visualmente. El experimento de exposición a distintas salinidades se muestra en la figura N°4.

<sup>2</sup> Comunicación personal: Geysi Urrutia, Biólogo Marino, Instituto de Biología Marina UACH, 2004.



**Figura N°4:** Diagrama del experimento N°2.

#### 4.2.4. Análisis estadístico:

Se realizó un análisis de supervivencia, el cuál consistió en tomar el tiempo transcurrido hasta la muerte del 50% de los abalones. Una vez muerta la mitad de la población en estudio, los abalones fueron devueltos a su ambiente natural en agua de mar. Una vez en recuperación se registró nuevamente la cantidad de muertos. Los datos obtenidos de cada grupo del experimento se analizaron según el método de Kaplan-Meier. De esta manera se analizaron individualmente y además se compararon los grupos de exposición al aire (Grupos 1, 2 y 3) y por otra parte, se hizo lo mismo con los grupos expuestos a agua de mar con baja salinidad y agua dulce (Grupos 5, 6 y 7).

Finalmente, se aplicaron los test estadísticos LOG-RANK (también conocido como el test de Mantel-Haenszel) y BRESLOW (también llamado Test de Wilcoxon). Ambos test indican el valor p (significancia) de los grupos.

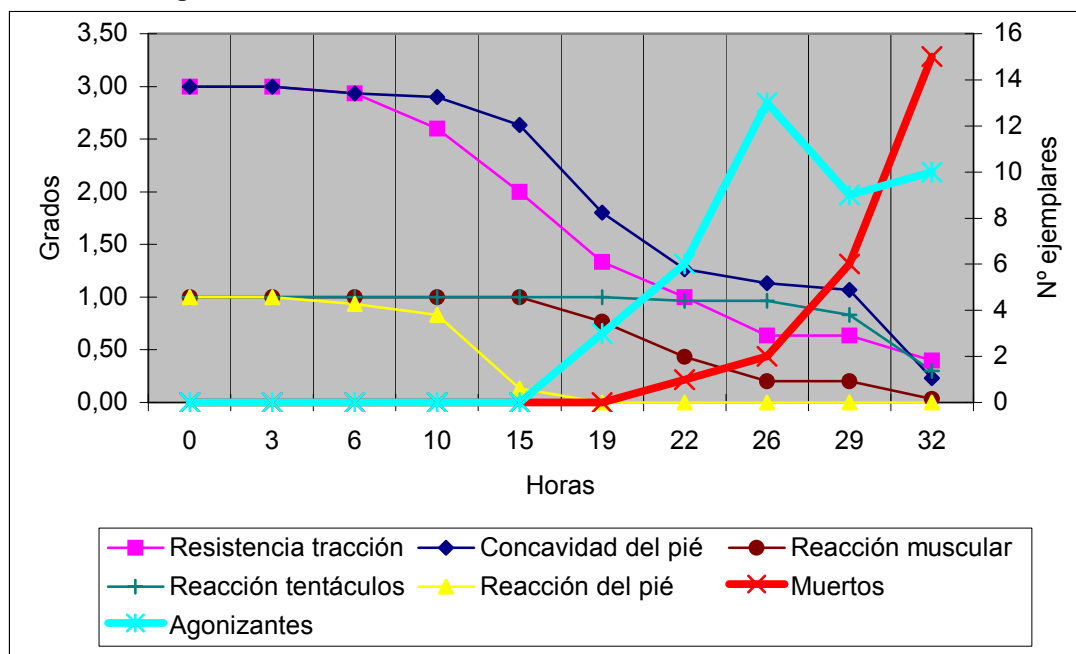
## 5. RESULTADOS

Los resultados de los parámetros de supervivencia reflejan el comportamiento promedio del grupo, mientras que en el caso de muertos y agonizantes, el gráfico refleja el número de ejemplares que presentan esta condición. Las tablas con la información de cada gráfico se pueden observar en el anexo C.

Las curvas de resistencia a la tracción y concavidad del pie se expresan en grados, mientras que las curvas de reacción muscular, reacción de tentáculos y reacción del pie se expresan como 1 o 0 (positiva o negativa respectivamente). Estas curvas están trazadas en el eje principal de valores (Y). Las curvas de los abalones agónicos y muertos se reflejan en número de ejemplares y están trazadas en el segundo eje de valores (Y). Finalmente el eje de categorías (X) expresa el tiempo transcurrido en los experimentos.

### 5.1. TOLERANCIA DEL ABALON ROJO (*Haliotis rufescens*) A LA EXPOSICIÓN AL AIRE:

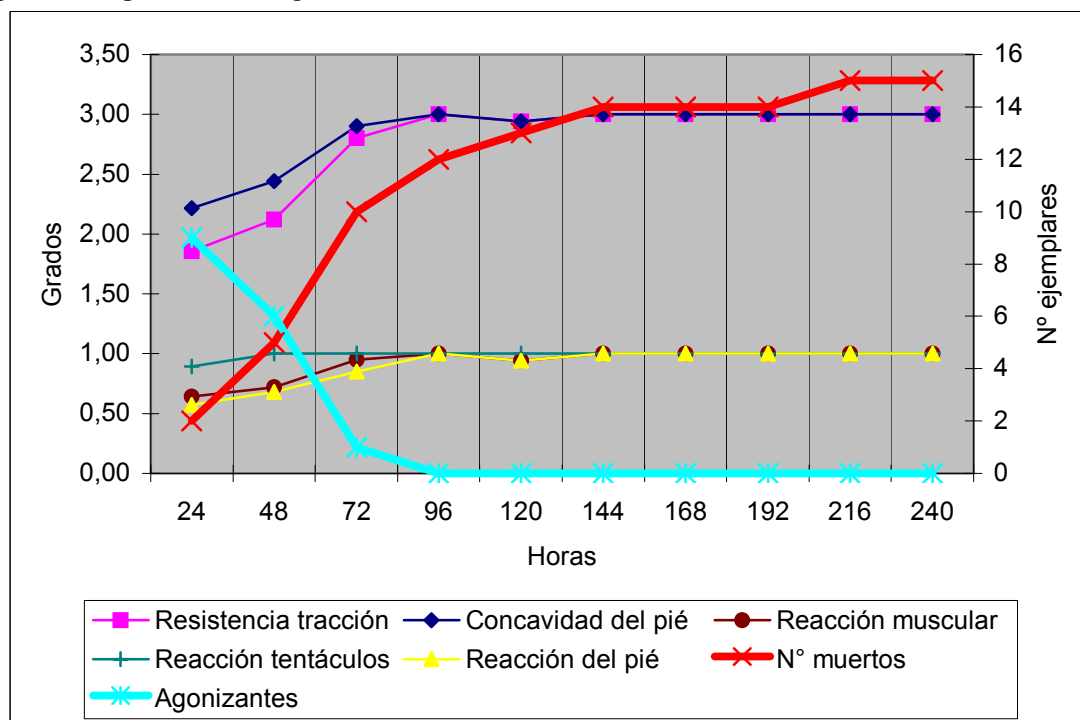
**5.1.1. Grupo N°1:** Este grupo fue expuesto a 16 °C de temperatura y 80% de humedad relativa. En la figura N°5 se presenta el comportamiento de los parámetros evaluados en los abalones al ser expuestos al aire.



**Figura N°5:** Parámetros de supervivencia y nº de muertos y agonizantes de 30 abalones rojos (*Haliotis rufescens*) con tamaños entre 30 a 50 mm expuestos al aire a 16°C y 80% de humedad relativa.

A partir de la figura N°5 se puede observar que las respuestas de resistencia a la tracción, concavidad del pie y reacción del pie comienzan a disminuir de forma notoria a la hora 10 de exposición. Más adelante a la hora 19 de exposición, la reacción del pie es nula para todo el grupo y al mismo tiempo comienzan a aparecer los primeros abalones agónicos. Luego a la hora 22 se presentan los primeros ejemplares muertos.

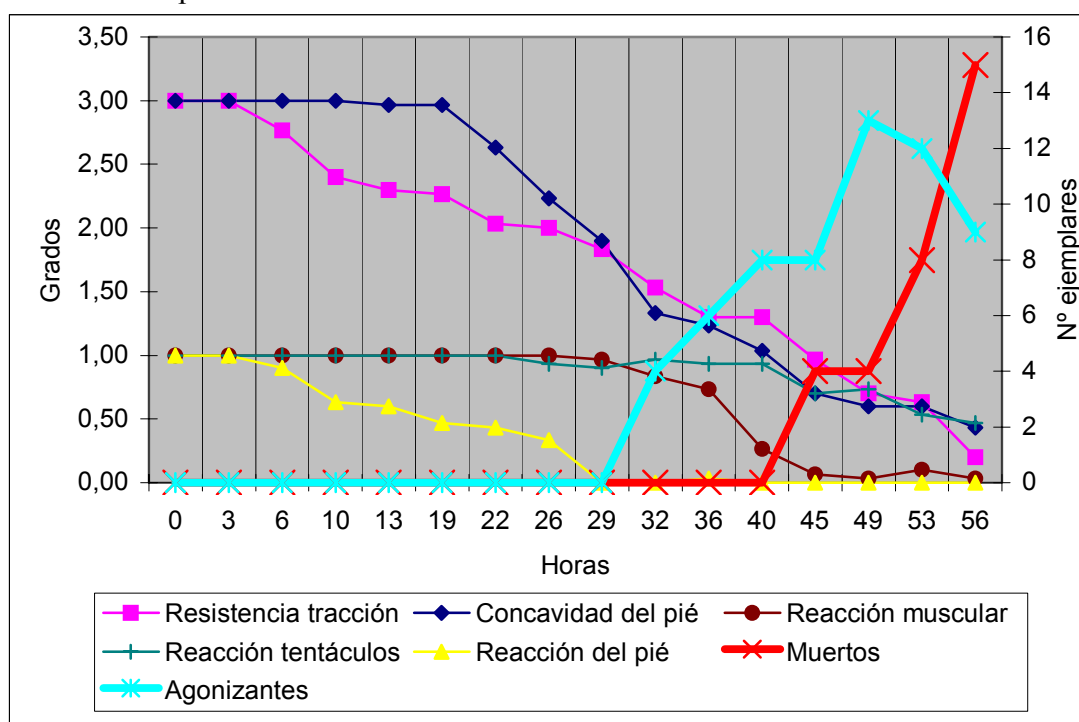
En el gráfico siguiente se presentan los parámetros evaluados en los abalones en la etapa de recuperación en agua de mar:



**Figura N°6: Parámetros de supervivencia y n° de muertos y agonizantes de 30 abalones rojos (*Haliotis rufescens*) con tamaños entre 30 a 50 mm en recuperación en agua de mar (salinidad de 33‰) luego de haber sido expuestos al aire libre a 16°C y 80% humedad relativa.**

Al pasar los abalones a la etapa de recuperación en agua de mar, los ejemplares que finalizaron la etapa de exposición al aire como agónicos, se definen rápidamente como sobrevivientes o muertos, estos últimos van aumentando progresivamente. También se advierte un rápido reestablecimiento de los parámetros de supervivencia, observándose características normales y estables al sexto día (144 horas postexposición al aire).

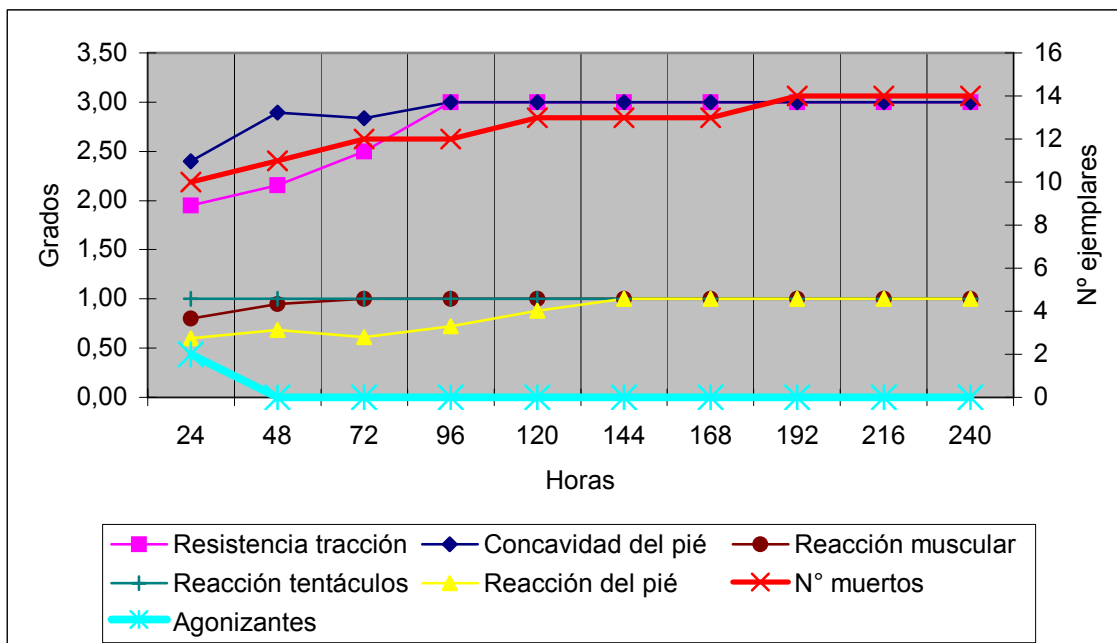
**5.1.2. Grupo N°2:** Este grupo fue expuesto a 10 °C de temperatura y 80% de humedad relativa. En la figura N°7 se presenta el comportamiento de los parámetros evaluados en los abalones al ser expuestos al aire.



**Figura N°7:** Parámetros de supervivencia y n° de muertos y agonizantes de 30 abalones rojos (*Haliotis rufescens*) con tamaños entre 30 a 50 mm expuestos al aire a 10°C y 80% de humedad relativa.

En la figura N°7 se aprecia que la reacción del pie es nula a la hora 29 del experimento para todo el grupo. A la hora 32 de exposición, la reacción muscular y de tentáculos ya ha comenzado a disminuir y se presentan los 4 primeros abalones agónicos. Los ejemplares muertos aumentan rápidamente desde la hora 45 hacia delante.

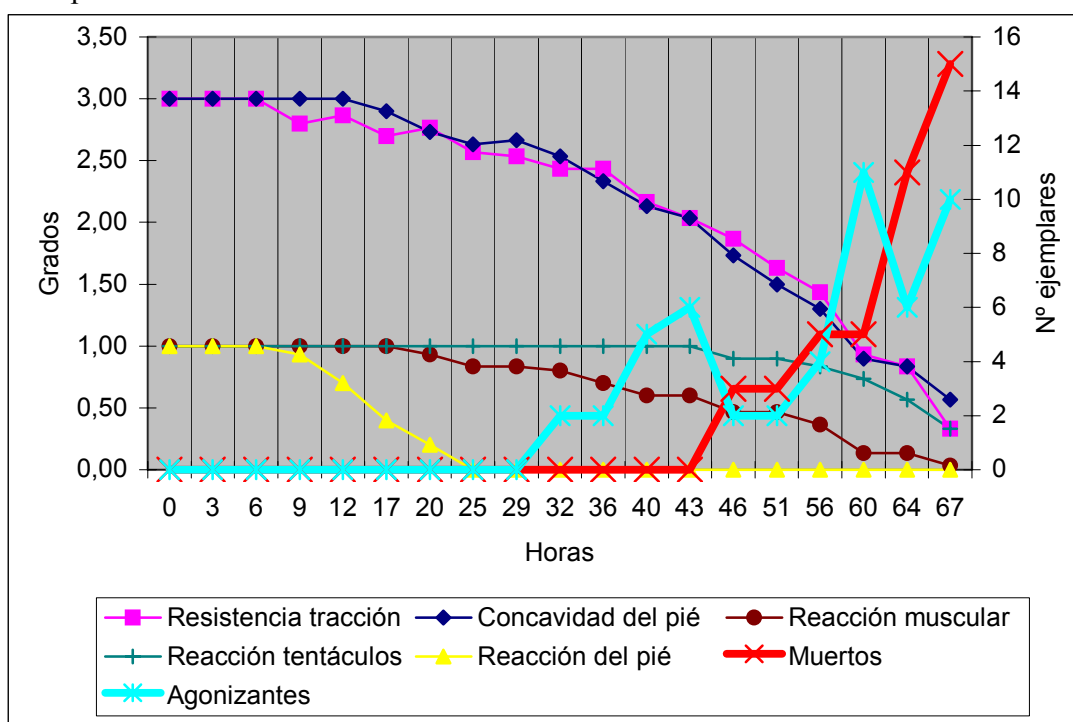
En el gráfico siguiente se presentan los parámetros evaluados en los abalones en la etapa de recuperación en agua de mar:



**Figura N°8: Parámetros de supervivencia y n° de muertos y agonizantes de 30 abalones rojos (*Haliotis rufescens*) con tamaños entre 30 a 50 mm en recuperación en agua de mar (salinidad de 33‰) luego de haber sido expuestos al aire libre a 10°C y 80% humedad relativa.**

En la figura N°8 se observa que los parámetros de supervivencia se van estabilizando rápidamente hasta el día 6 (144 horas), desde ese día en adelante se mantienen normalizados. Por otra parte, los abalones agónicos se definen como muertos o sobrevivientes al segundo día, encontrándose 14 ejemplares muertos al octavo día de recuperación sin presentarse aumento de estos posteriormente.

**5.1.3. Grupo N°3:** Este grupo fue expuesto a 4 °C de temperatura y 80% de humedad relativa. En la figura N°9 se presenta el comportamiento de los parámetros evaluados en los abalones al ser expuestos al aire.

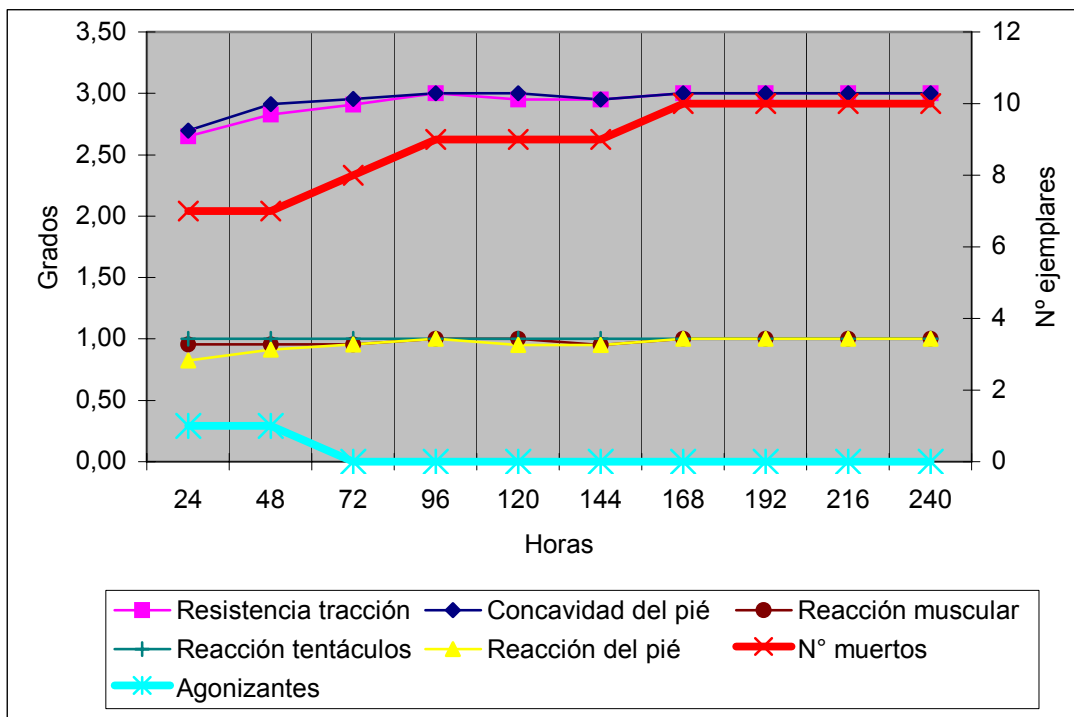


**Figura N°9:** Parámetros de supervivencia y nº de muertos y agonizantes de 30 abalones rojos (*Haliotis rufescens*) con tamaños entre 30 a 50 mm expuestos al aire a 4°C y 80% de humedad relativa.

A las 9 horas de haber transcurrido el experimento se comienza a observar una disminución de la resistencia a la tracción y de la reacción del pie, además esta última característica es nula para todo el grupo a la hora 25. Se presentan ejemplares agónicos desde la hora 32 en adelante, mientras que los primeros 3 abalones muertos se pesquistan a la hora 46, para luego ir en aumento rápidamente hasta completarse 15 abalones muertos a la hora 67.



En el gráfico siguiente se presentan los parámetros evaluados en los abalones en la etapa de recuperación en agua de mar:



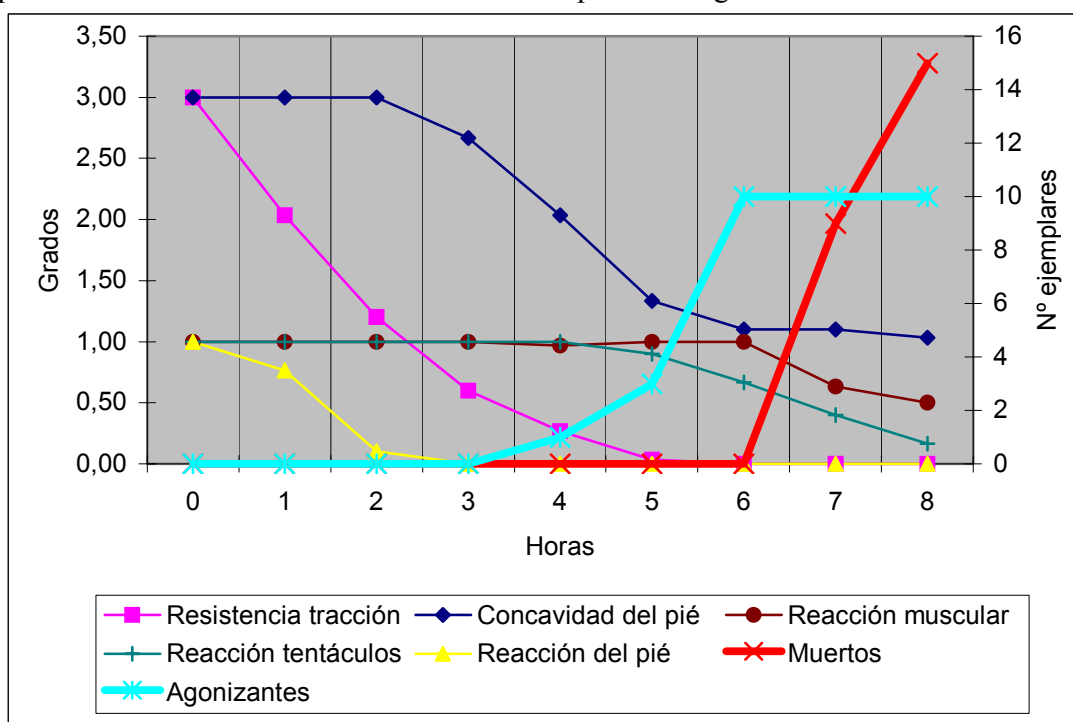
**Figura N°10: Parámetros de supervivencia y n° de muertos y agonizantes de 30 abalones rojos (*Haliotis rufescens*) con tamaños entre 30 a 50 mm en recuperación en agua de mar (salinidad de 33‰) luego de haber sido expuestos al aire libre a 4°C y 80% humedad relativa.**

Se observa que al haber transcurrido 7 días (168 horas) de recuperación en agua de mar, los parámetros de supervivencia se estabilizan, terminando con 10 abalones muertos ese día.

**5.1.4. Grupo N°4:** El grupo control se mantuvo estable y sin ningún cambio aparente durante todo el tiempo del experimento y en la etapa de recuperación.

## 5.2. TOLERANCIA DEL ABALON ROJO (*Haliotis rufescens*) A LA EXPOSICIÓN A AGUA DE MAR CON BAJA SALINIDAD Y A AGUA DULCE:

**5.2.1. Grupo N°5:** Este grupo fue expuesto a agua de mar con una salinidad de 15‰ y una temperatura promedio de 12°C. En la figura N°11 se presenta el comportamiento de los parámetros evaluados en los abalones al ser expuestos a agua de mar con salinidad de 15‰.

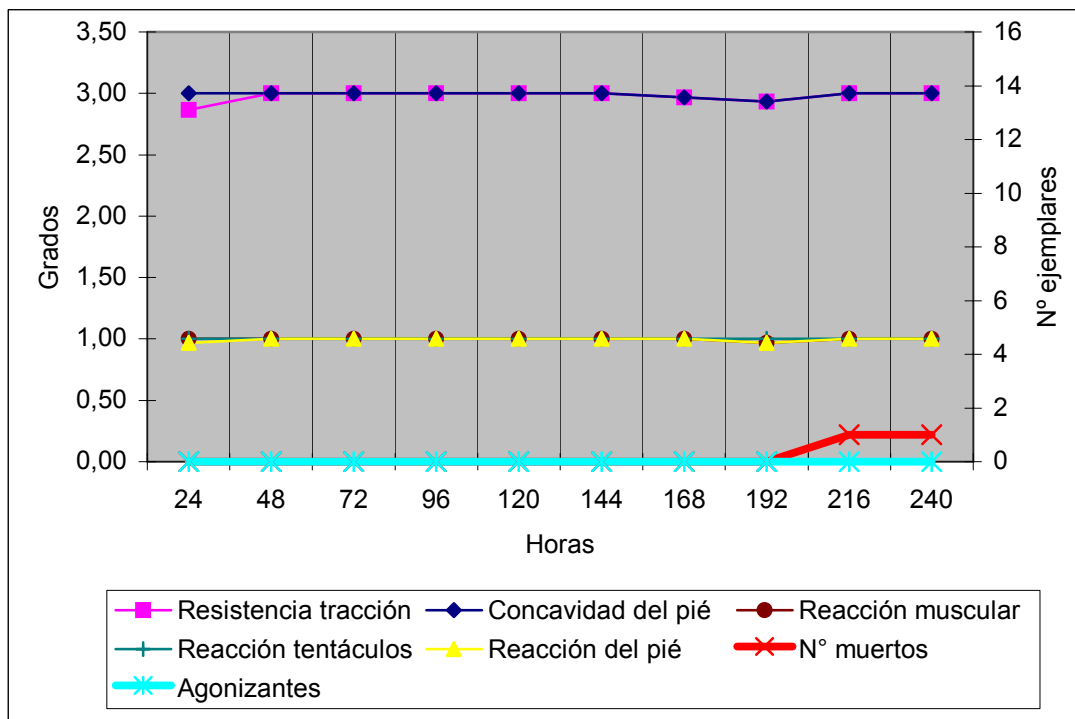


**Figura N°11:** Parámetros de supervivencia y n° de muertos y agonizantes de 30 abalones rojos (*Haliotis rufescens*) con tamaños entre 30 a 50 mm en exposición a agua de mar con una salinidad de 15‰ y a una temperatura promedio de 12°C.

En la figura N°11 se observa que la resistencia a la tracción y la reacción del pie disminuyeron rápidamente. La concavidad del pie a partir de la hora 2 disminuyó paulatinamente hasta mantenerse en grado 1 para todo el grupo, hasta el final de la exposición. Los ejemplares agónicos se presentaron desde la hora 3 del experimento y los abalones muertos aumentaron en las dos últimas horas de 0 a 15.

A la hora de haber comenzado el experimento, se observó falta de movilidad de los ejemplares, también hubo liberación de hemocianina (ver anexo D), produciéndose espuma en la superficie del acuario (ver anexo E). Además cabe destacar que a la hora 4 de exposición se comenzaron a ver abalones con la rádula (boca) constantemente abierta (ver anexo F), sin capacidad de poder cerrarla al estimularla con pinza anatómica. Otro signo observado fue la presencia de bloat en todos los ejemplares (ver anexo H).

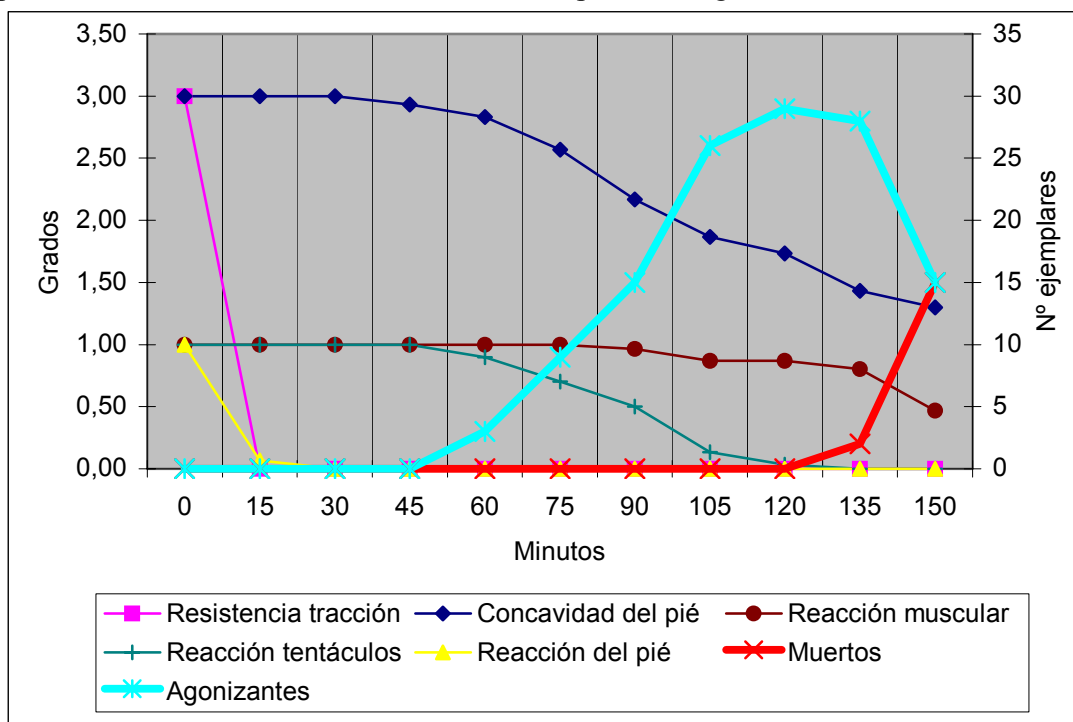
En el gráfico siguiente se presentan los parámetros evaluados en los abalones en la etapa de recuperación en agua de mar con salinidad de 33‰:



**Figura N°12: Parámetros de supervivencia y n° de muertos y agonizantes de 30 abalones rojos (*Haliotis rufescens*) con tamaños entre 30 a 50 mm en recuperación en agua de mar (salinidad de 33‰) luego de haber sido expuestos a agua de mar con una salinidad de 15‰ y a una temperatura promedio de 12°C.**

La figura N°12 muestra que todos los parámetros evaluados en el experimento, a las 48 horas se encontraron normales. El día 9 se pesquisó la muerte de 1 abalón.

**5.2.2. Grupo N°6:** Este grupo fue expuesto a agua de mar con salinidad de 5‰ y una temperatura promedio de 12°C. En la figura N°13 se presenta el comportamiento de los parámetros evaluados en los abalones al ser expuestos a agua de mar con salinidad de 5‰.

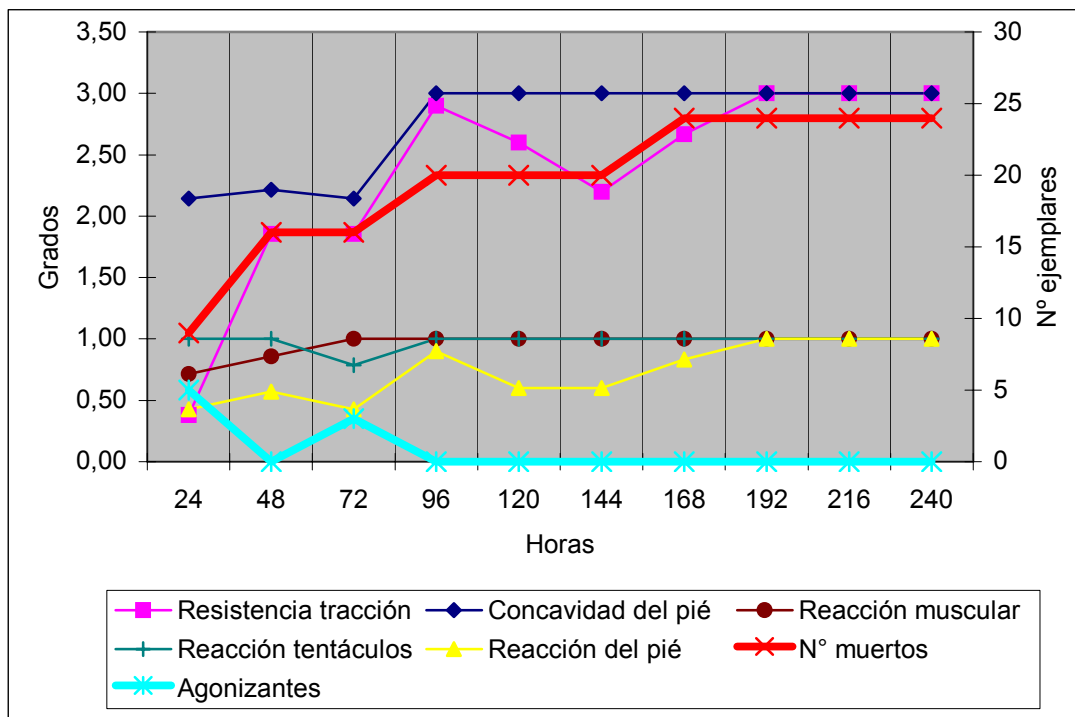


**Figura N°13: Parámetros de supervivencia y n° de muertos y agonizantes de 30 abalones rojos (*Haliotis rufescens*) con tamaños entre 30 a 50 mm en exposición a agua de mar con salinidad de 5‰ y a una temperatura promedio de 12°C.**

Se observa en la figura N°13 que la resistencia a la tracción y la reacción del pie disminuyeron rápidamente, llegando a ser nulas a los 15 minutos de haber transcurrido el experimento. La concavidad del pie llegó en el minuto 150 cercana al grado 1, mientras que la reacción muscular y de tentáculos disminuyeron gradualmente a través del tiempo. Los abalones agónicos comenzaron a aparecer desde el minuto 60 hasta llegar a casi un 100% del grupo en el minuto 120. Los ejemplares muertos se presentaron desde el minuto 135.

Se observó a los 15 minutos de haber comenzado el experimento, liberación de hemocianina, comportamientos atáxicos y contracciones repentinas. A los 45 minutos se presentaron los primeros ejemplares con su rádula permanentemente abierta. Además de los signos antes mencionados se produjo una palidez de los tentáculos (ver anexo G).

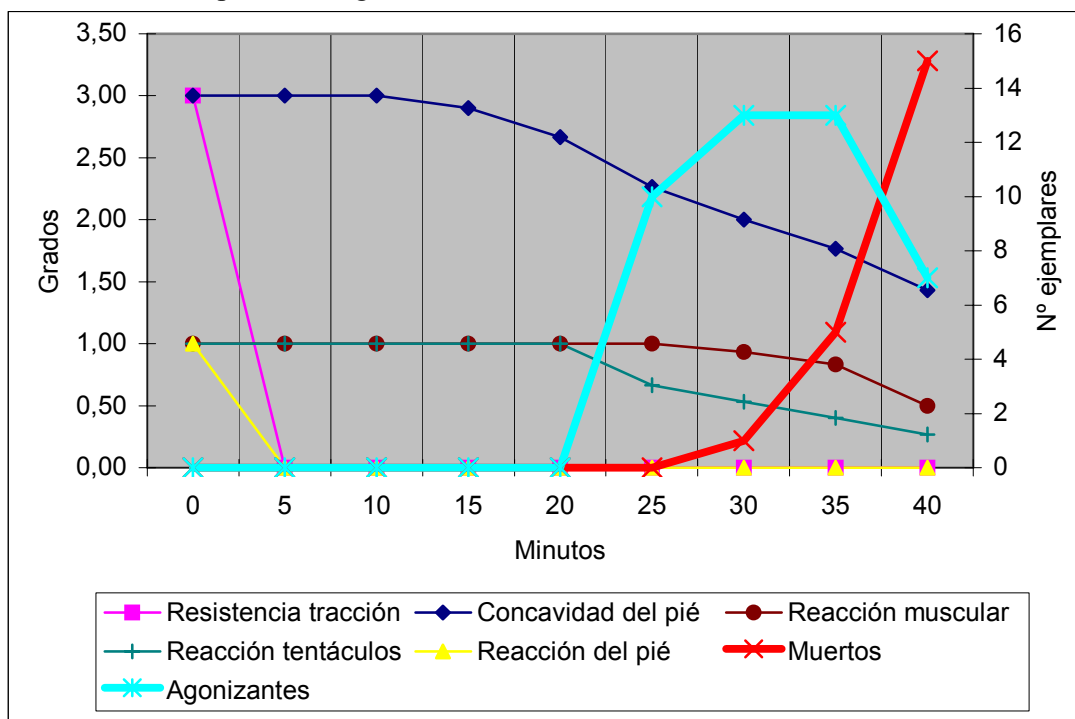
En el gráfico siguiente se presentan los parámetros evaluados en los abalones en la etapa de recuperación en agua de mar con salinidad de 33‰:



**Figura N°14: Parámetros de supervivencia y n° de muertos y agonizantes de 30 abalones rojos (*Haliotis rufescens*) con tamaños entre 30 a 50 mm en recuperación en agua de mar (salinidad de 33‰) luego de haber sido expuestos a agua mar con una salinidad de 5‰ y a una temperatura promedio de 12°C.**

En la figura N°14 los parámetros de supervivencia volvieron a la normalidad en los sobrevivientes al octavo día de haber estado en recuperación en agua de mar. Los ejemplares agónicos se definieron rápidamente en muertos o sobrevivientes antes del cuarto día, en tanto que los abalones muertos aumentaron progresivamente hasta llegar a 24. También se observaron algunos ejemplares con las puntas de sus tentáculos cortadas (ver anexo G).

**5.2.3. Grupo N°7:** Este grupo fue expuesto a agua dulce a una temperatura promedio de 12°C. En la figura N°15 se presenta el comportamiento de los parámetros evaluados en los abalones al ser expuestos a agua dulce.

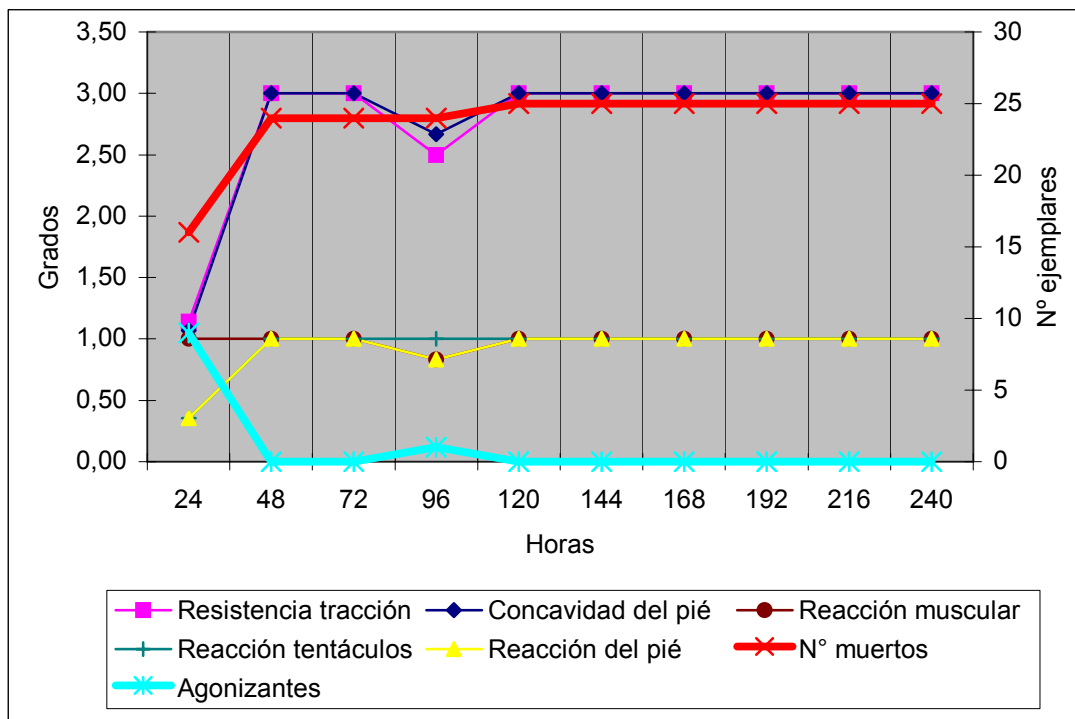


**Figura N°15: Parámetros de supervivencia y nº de muertos y agonizantes de 30 abalones rojos (*Haliotis rufescens*) con tamaños entre 30 a 50 mm en exposición a agua dulce a una temperatura promedio de 12°C.**

En la figura N°15 se aprecia que la resistencia a la tracción y la reacción del pie disminuyeron rápidamente llegando a 0 grado para todo el grupo a los 5 minutos de haber transcurrido el experimento. Los abalones agónicos comenzaron a presentarse desde el minuto 25, mientras que los ejemplares muertos lo hicieron desde el minuto 30.

Al igual que en los grupos anteriores se observó liberación de hemocianina a los 5 minutos y a los 20 minutos ya había ejemplares con su rádula permanentemente abierta. A los 15 minutos de haber comenzado el experimento, se produjo una palidez de los tentáculos.

En el gráfico siguiente se presentan los parámetros evaluados en los abalones en la etapa de recuperación en agua de mar con salinidad de 33‰:



**Figura N°16: Parámetros de supervivencia y n° de muertos y agonizantes de 30 abalones rojos (*Haliotis rufescens*) con tamaños entre 30 a 50 mm en recuperación en agua de mar (salinidad de 33‰) luego de haber sido expuestos a agua dulce a una temperatura promedio de 12°C.**

En la figura N°16 los parámetros de supervivencia se estabilizaron rápidamente, en tanto que los ejemplares agónicos se definieron pronto como muertos o sobrevivientes. Los abalones muertos aumentaron velozmente desde las 24 horas de recuperación en agua de mar. Además de los parámetros analizados, se observó pérdida de parte de los tentáculos.

#### 5.2.4. Grupo N°8:

El grupo control se mantuvo estable y sin ningún cambio aparente durante todo el tiempo del experimento y la etapa de recuperación.

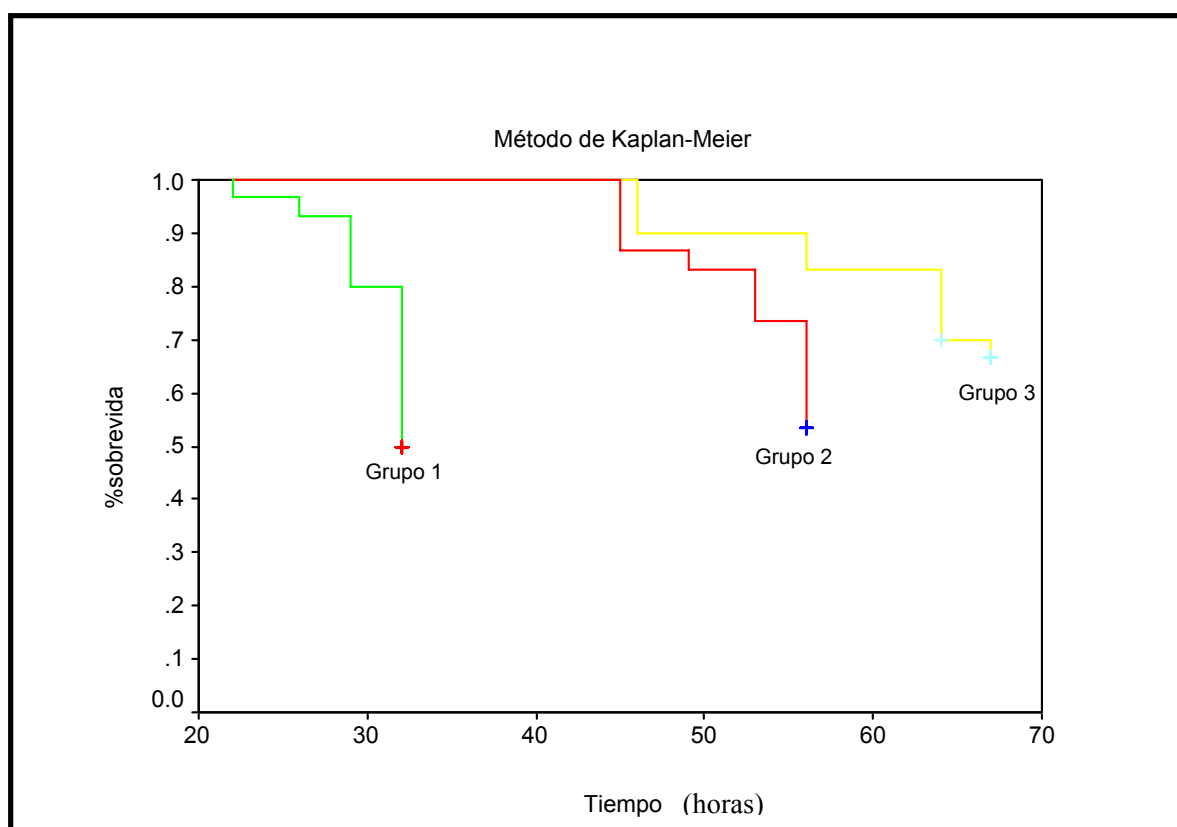
### 5.3. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA

Se realizaron 2 comparaciones: La comparación-1, que comprende a los grupos 1, 2, y 3 expuestos al aire y la comparación-2 que comprende a los grupos 5, 6, y 7 expuestos a agua de mar a bajas salinidades y a agua dulce. El análisis de supervivencia se muestra en el anexo I.

En el análisis de supervivencia, el primer resultado que se muestra (supervivencia acumulada) es la probabilidad estimada de supervivencia en cada tiempo, en forma separada por grupo. Por ejemplo, en la comparación-1, en el grupo = 1 se observó que la probabilidad de que un abalón sobreviva más allá del tiempo 22 es 0.9667 o también se puede interpretar como la probabilidad de que el abalón muera antes del tiempo 22 es  $1 - 0.9667 = 0.0333$ .

Para la comparación-1 y comparación-2 los test estadísticos Log-rank y Breslow arrojan un valor  $p < 0.0001$ .

Finalmente, después de las probabilidades estimadas y los test estadísticos, se muestran los gráficos de las curvas de supervivencia para los grupos expuestos al aire comparados y para los grupos expuestos a agua de mar a bajas salinidades y agua dulce comparados.



**Figura N°17: Curvas de supervivencia del grupo 1, 2 y 3 compuestos cada uno por 30 abalones rojos (*Haliotis rufescens*) con tamaños entre 30 a 50 mm expuestos al aire a una temperatura de 16°C, 10°C y 4°C respectivamente y a una humedad relativa del 80%.**



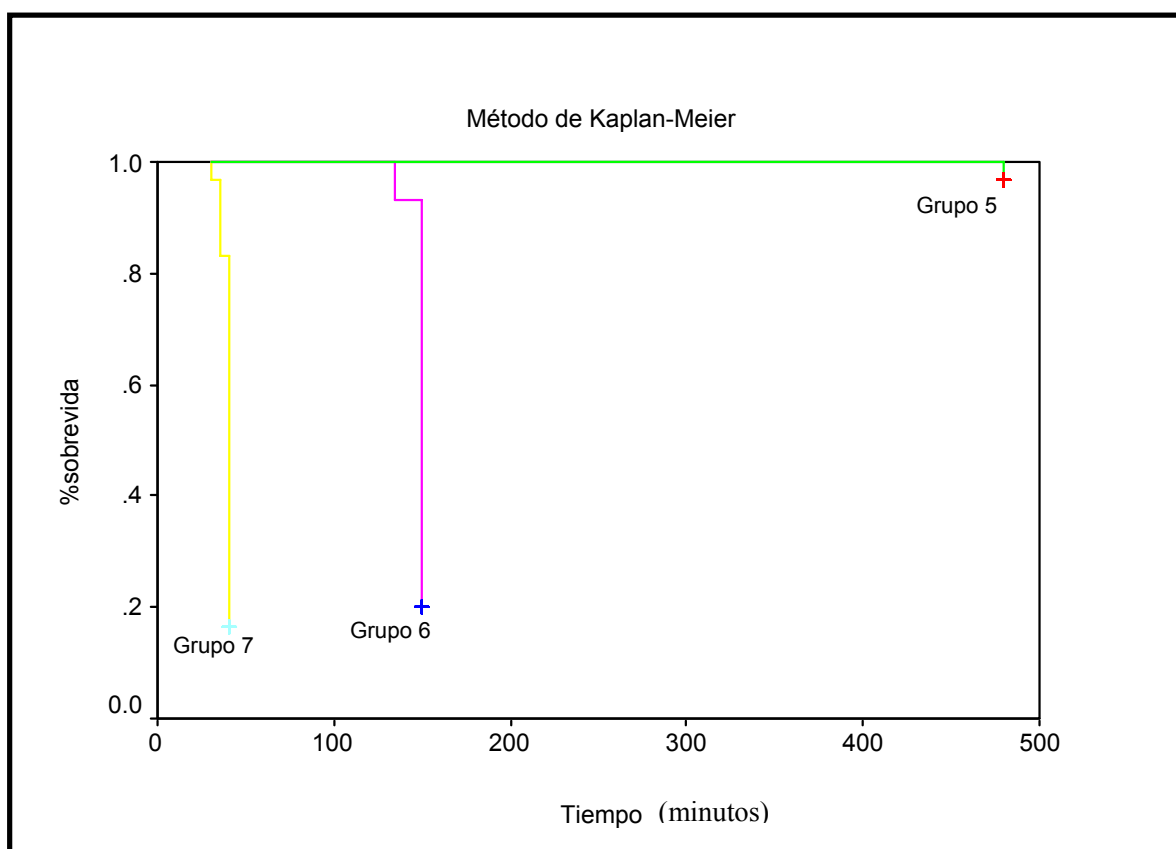


Figura N°18: Curvas de supervivencia del grupo 5, 6 y 7 compuestos cada uno por 30 abalones rojos (*Haliotis rufescens*) con tamaños entre 30 a 50 mm expuestos a agua de mar con salinidad de 15‰, 5‰ y agua dulce (salinidad de 0‰) respectivamente y a una temperatura promedio de 12°C.

## 6. DISCUSIÓN

Es importante mencionar que no se encontró suficiente literatura procedente relacionada con la tolerancia del abalón rojo (*Haliotis rufescens*) a la exposición al aire, a agua de mar con baja salinidad y agua dulce. Gran parte de las investigaciones han sido llevadas a cabo por la empresa privada y los resultados no son de acceso público. Por lo tanto no se pudo contrastar las observaciones recogidas con las de otros autores, que pudieran haber sido un aporte a la discusión.

Los 5 parámetros evaluados en la tesis (resistencia a la tracción, concavidad del pie, reacción muscular, reacción de los tentáculos y reacción del pie), se evaluaron según un método elaborado especialmente para los experimentos, ya que en la literatura no se encontraron datos sobre como evaluar el estado de vida o muerte de un abalón.

Basándose en los resultados obtenidos sobre la exposición del abalón rojo al aire, se establecieron tres indicadores que determinan tres niveles de tolerancia a la exposición al aire. Estos indicadores son: la aparición del primer signo de estrés (desaparición de la reacción del pie), la aparición del primer abalón agónico (cuando la resistencia a la tracción y/o concavidad del pie estaba en cero y por lo menos 2 de las características de reacción también) y la aparición del primer abalón muerto (cuando todos los valores de cada característica fueron cero).

En los tres grupos, diferenciados por la temperatura a los cuales fueron sometidos los abalones, la reacción del pie fue siempre el primer parámetro que cambió, por lo que se determinó éste como el primer signo visible de estrés causado por este tipo de alteración del ambiente.

Según lo anterior, el tiempo de tratamiento a los cuales se podrían someter los abalones sin que se presente un estrés visible es de 3 horas, tanto a una temperatura ambiente de 16 °C como de 10 °C y de 6 horas a 4 °C. La mayor tolerancia de exposición al aire del abalón rojo a 4 °C podría explicarse debido a que los gastrópodos según Cancino y col. (2000), son organismos poiquiloterms y la disminución de la temperatura ambiental provocaría una disminución de su metabolismo, con lo que se haría más lenta la aparición de los parámetros evaluados. Por lo tanto, pudiera estar relacionado el tiempo transcurrido hasta la aparición de cada uno de estos eventos con la temperatura ambiente de cada experimento.

En este estudio se demostró que algunos de los ejemplares que terminaron el experimento en el estado de agónico sufrieron un estrés tal, que no lograron recuperarse al regresar a las condiciones normales de agua de mar. Por esta razón, cuando sea necesario exponer los abalones al aire sin correr riesgo de que ejemplares agónicos no se recuperen del tratamiento, se podrá utilizar los tiempos transcurridos hasta antes de la aparición del primer abalón agónico como duración máxima del tratamiento.

El tiempo de exposición definido por los resultados del experimento para no llegar a tener ejemplares agónicos es de 15 horas a 16°C y de 29 horas tanto a 10°C como a 4°C.

Finalmente, el tiempo de exposición al aire determinado para no tener abalones muertos es de 19 horas a 16°C, 40 horas a 10°C y 43 horas a 4°C. A pesar de que el tiempo transcurrido en el grupo N°2 y N°3 (10°C y 4°C, respectivamente) es similar, las muertes comenzaron a sucederse con mayor rapidez en el grupo sometido a una temperatura de 10°C. Además, es importante recordar que los abalones que no presenten hasta este momento la condición de agónicos, podrían morir en la etapa de recuperación en agua de mar.

Los tiempos antes sugeridos se pueden aplicar no sólo para el tratamiento de enfermedades, sino que también para una adecuada programación de los tiempos de transporte. Esto es importante, ya que los mejores precios se alcanzan con el producto vivo en el mercado de destino. También es posible que estos tiempos se prolonguen aún más si se aumenta la humedad ambiental sobre el 80%.

La humedad se fijó en 80% según la humedad promedio anual para Punta Corona, zona costera ubicada al norte de la Isla grande de Chiloé, donde actualmente se cultivan abalones. Las temperaturas se fijaron según las condiciones de manipulación a las que podrían estar expuestos los abalones en una zona de cultivo con el mismo ambiente de Punta Corona, donde 10°C sería la temperatura promedio de invierno, 16°C la temperatura promedio de verano (Ver antecedentes climatológicos de Punta Corona en anexo J) y 4°C corresponde a la temperatura promedio de transporte para la comercialización, según M. Godoy<sup>3</sup>.

Por otra parte, en los resultados obtenidos de la exposición del abalón rojo al agua de mar con baja salinidad y a agua dulce, al igual que en los experimentos de exposición al aire, es posible identificar tres indicadores de estados de tolerancia del abalón a un medio de menor salinidad que 33‰, que corresponde a la salinidad normal del mar en el sector de Calfuco, el cuál está próximo a un cultivo de abalones. Los indicadores determinados son la aparición del primer signo de estrés, aparición del primer ejemplar agónico y aparición del primer ejemplar muerto.

La primera señal de alteración de los abalones expuestos a bajas salinidades es la desaparición de la reacción del pie, así como también la disminución en la resistencia a la tracción. La resistencia a la tracción probablemente disminuyó por la incapacidad del pie de adherir toda su base a la superficie, debido a que la disminución en la salinidad del agua hace que las células del pie se hipertrofien (las células aumentan su tamaño porque se produce un ingreso de agua al equilibrar la presión osmótica). En los tres grupos, tanto la reacción del pie, como la resistencia a la tracción comenzaron a alterarse muy rápidamente, ya que al primer control todos los ejemplares estaban afectados. Por esto, se determinó que no es posible hacer tratamientos en medios con baja salinidad sin causar estrés en los abalones.

---

<sup>3</sup> Comunicación Personal: Marcos Godoy, Médico Veterinario, Fundación Chile, Puerto Montt, 2004.

También se determinó que para el parámetro de concavidad del pie, el grado mínimo observado fue 1, ya que al haber un aumento en el tamaño del pie (hipertrofia de las células del pie), este nunca estuvo totalmente plano, lo que hubiera correspondido al grado 0.

Así como ocurrió en los experimentos de exposición al aire, en la exposición al agua de mar con baja salinidad y agua dulce, algunos de los ejemplares que terminaron los experimentos en la condición de agónicos, no lograron recuperarse al ser regresados a las condiciones normales de salinidad (33‰).

El tiempo de tratamiento definido por los resultados del experimento para no llegar a tener ejemplares agónicos es de 3 horas a una salinidad de 15‰, 45 minutos a salinidad de 5‰ y 20 minutos en agua dulce.

Según los resultados obtenidos de los experimentos es posible realizar un tercer tipo de tratamiento, donde el tiempo transcurrido antes de que se presente el primer ejemplar muerto es de 6 horas a una salinidad de 15‰, 2 horas a una salinidad de 5‰ y 25 minutos en agua dulce (salinidad de 0‰). Según estos resultados se concuerda con Edwards (2003) quien afirma que un margen de 2‰ de salinidad fuera de un rango de 25 - 40‰, causaría mortalidad en los abalones.

Se debe agregar que el experimento a una salinidad de 15‰ finalizó al determinarse 15 ejemplares como muertos, de los cuales 14 se recuperaron al ser devueltos a las condiciones normales de salinidad en agua de mar. Esto posiblemente sea consecuencia a que el cambio en el medio los afectó de tal forma que perdieron la capacidad de reacción, por lo menos en los parámetros analizados. Por esto, en un próximo estudio se deberá determinar otros parámetros más precisos en la definición del estado del abalón. Por otra parte, en los grupos a una salinidad de 5‰ y agua dulce, se obtuvieron 24 y 25 ejemplares muertos respectivamente (a pesar que los abalones fueron devueltos a condiciones normales cuando se registraron 15 ejemplares muertos). Esto ocurrió porque al ser devueltos al medio con salinidad normal, sufrieron un estrés adicional causado por un nuevo cambio súbito en la salinidad del agua (desde una salinidad de 5‰ y 0‰ a una de 33‰). Este nuevo estrés sumado al debilitamiento provocado por el cambio anterior, hizo que varios de ellos no pudieran tolerarlo y murieran.

La hemocianina liberada en los grupos 5, 6 y 7 expuestos a agua de mar a salinidad de 15‰ y 5‰ y a agua dulce (0‰) respectivamente, se explica con lo mencionado por Pascual y col. (2003), quien afirma que la hemocianina es un indicador fisiológico, el cual puede ser utilizado en animales expuestos a diferentes condiciones ambientales como la alta y baja salinidad. Por lo tanto esta liberación de hemocianina al medio sería en respuesta al estrés generado por el cambio de ambiente.

El “bloat” (abultamiento de la glándula digestiva) observado en los abalones rojos expuestos a agua de mar a salinidad de 15‰ (ver anexo H) se debió probablemente al ingreso de líquido a la glándula digestiva al equilibrarse la presión osmótica del medio externo con el interno. Según Vandeppeer (2002), este abultamiento de la glándula digestiva se ha visto también relacionado con el gas producido por algunas bacterias digestivas, al consumir el

abalón, alimento rico en carbohidratos y conjuntamente al registrarse elevadas temperaturas en el agua de los centros de cultivo.

La palidez de los tentáculos y posterior pérdida de parte de ellos en los grupos 6 y 7 (salinidad de 5‰ y agua dulce respectivamente) se debió a una inadecuada perfusión de estos órganos. Esto concuerda con Nakanishi (1978) quién afirma que la reducción de la salinidad produce en el abalón una menor perfusión de los tejidos y por consiguiente una menor cantidad de oxígeno en éstos. Esta falta de irrigación del tejido produjo finalmente la necrosis y posterior pérdida de los extremos de los tentáculos (ver anexo G).

Un tratamiento a una salinidad de 15‰ sería el más adecuado, ya que produce un estrés menor al volver los ejemplares a su ambiente salino, en comparación con las otras dos salinidades antes mencionadas. Por lo tanto los tratamientos a salinidad de 5‰ y agua dulce no se recomendarían ya que el estrés de los ejemplares al volver a su estado natural es muy fuerte y además se produce corte de los extremos de los tentáculos. Una solución podría ser realizar aclimataciones, para que el abalón se acostumbre paulatinamente y no tenga un estrés metabólico tan acentuado.

En relación con el párrafo anterior, Chung (1982, 1990) confirmó que la tolerancia a la salinidad de organismos acuáticos como: peces, crustáceos y moluscos es significativamente afectada por la salinidad de aclimatación. Así mismo Chung (2000) establece que el tipo de aclimatación, gradual o brusco, es un factor importante para la tolerancia a la salinidad, siendo la gradual mejor. En este contexto Sánchez (2002) aconseja cambiar la salinidad a una velocidad de 3‰ por hora, pudiéndolo medir con un refractómetro.

La rápida disminución de la reacción del pie y de la resistencia a la tracción en abalones rojos expuestos a agua dulce y agua de mar con salinidad de 5‰, se podría utilizar en la cosecha de los ejemplares y así evitar el uso de espátula o anestésicos.

Los test estadísticos Log-rank y Breslow muestran un valor de  $p < 0.0001$  tanto para los grupos de exposición al aire como para los grupos expuestos a agua de mar con baja salinidad y agua dulce. Por lo tanto al ser el valor  $p$  inferior a 0.05, indica que hay diferencias significativas entre las curvas de supervivencia de los grupos en estudio.

Se calcularon las eficiencias del método de evaluación de la muerte del abalón rojo, resultando los siguientes porcentajes: Un 86% de éxito y un 14% de error en las evaluaciones de la tolerancia del abalón rojo a la exposición al aire y un 69% de éxito y un 31% de error en las evaluaciones de la tolerancia del abalón rojo a la exposición a agua de mar con bajas salinidades y agua dulce. Los datos se grafican en el anexo K.

Dentro del porcentaje de éxito se encontraba los abalones agónicos que sobrevivían o morían y los abalones muertos que continuaban muertos en la recuperación en agua de mar. El porcentaje de error son los ejemplares que se encontraban vivos y posteriormente en la etapa de recuperación en agua de mar murieron o que estaban evaluados como muertos al finalizar el tratamiento y reaccionaron en la recuperación en agua de mar. Ante los datos de

eficiencia nombrados en el párrafo anterior, sería recomendable evaluar el uso de un respirómetro para medir la actividad respiratoria de los abalones, y de este modo mejorar el método de evaluación del estado de vida o muerte del abalón, según lo realizado por Edwards (2003).

En conclusión se rechaza la hipótesis para los abalones expuestos al aire a una temperatura de 16°C, ya que en este grupo se presentaron mortalidades desde la hora 22 de exposición en adelante y para los abalones rojos expuestos a agua de mar con salinidad de 15‰ y 5‰, ya que en estos dos grupos las mortalidades comenzaron desde la hora 7 y a la hora 2:15 respectivamente. Por otro lado la hipótesis se acepta para los grupos de abalones rojos expuestos al aire a una temperatura de 10°C y 4°C, ya que estos grupos comenzaron a mostrar mortalidades desde la hora 45 y 46 respectivamente y para los abalones rojos expuestos a agua dulce (salinidad de 0‰) porque en este caso las mortalidades comenzaron a suceder desde los 30 minutos en adelante.

También se recomendaría realizar tratamientos a una salinidad de 15‰, ya que produce un estrés menor al volver los ejemplares a su ambiente salino, en comparación con las otras dos salinidades antes mencionadas. Por lo tanto los tratamientos a salinidad de 5‰ y agua dulce no se recomendarían ya que el estrés de los ejemplares al volver a su estado natural es muy fuerte y además se produce corte de tentáculos. Una solución podría ser realizar aclimataciones, para que el abalón se acostumbre paulatinamente y no tenga un estrés metabólico tan acentuado.

Finalmente, se plantea la posibilidad de utilizar la exposición al aire, agua de mar a bajas salinidades o agua dulce, como alternativa de manejo para el control de parásitos o patógenos, sin la utilización de productos químicos, pero es importante agregar que para el control y manejo de los parásitos de la concha del abalón rojo, deben realizarse nuevas pruebas para evaluar el efecto que estos tratamientos tendrían sobre los parásitos.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- ACEVEDO, M., M. CAMPOS. 2000.** Situación legal del abalón en Chile. En seminario: El cultivo del abalón en Chile, situación actual y perspectivas. Fundación Chile, Puerto Montt, Chile.
- CÁCERES, J. 2003.** Programa Nacional de Sanidad Acuícola y la Red de Diagnóstico. Baja California, México.
- CANCINO, J.M., O. HOFMANN, A. BRANTE. 2000.** Ecofisiología comparada del desarrollo intracapsular en 2 gastrópodos muricidos de la costa de Chile: *Concholepas concholepas* y *Chorus giganteus*. En: IX Reunión Anual Sociedad de Ecología de Chile. *Biol. Res.* 33: 37-54.
- CHUNG, K.S. 1982.** Salinity tolerance of tropical salt-marsh fish of Los Patos Lagoon, Venezuela. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 48: 873.
- CHUNG, K.S. 1990.** Adaptabilidad de una especie eurihalina *Oreochromis mossambicus* en aguas saladas de la zona nororiental de Venezuela. *Acta Cient. Venezolana.* 3: 21-30.
- CHUNG, K.S. 2000.** Adaptabilidad ecofisiológica de organismos acuáticos tropicales a cambios de salinidad. Universidad de Oriente, Venezuela.
- DREW, B., D. MILLER, T. TOOP, P. HANNA. 2000.** Identification of expressed HSPs in blacklip abalone (*Haliotis rubra*) during heat and salinity stress. *J. Shellfish Res.* 19: 509.
- EDWARDS, S. 2003.** Assessment of the physiological effect of altered salinity on greenlip (*Haliotis laevigata*) and blacklip (*Haliotis rubra*) abalone using respirometry. *Aquaculture Res.* 34: 1361-1365.
- ESTRADA, C. 2002.** El abalón generará más dólares y empleos. Diario regional Nuestro Mar N°228. Puerto Montt, Chile.
- FALLU, R. 1991.** Live storage and transport of abalones. In: Abalone Farming. Ed. Fishing News Books, Oxford, England.
- FLORES, H., C. MIRANDA. 1990.** Cultivo del abalón. En: Actualidad tecnológica, mercado e interacción social del cultivo del ostión, ostra y especies potenciales. Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile.

- FLORES, R. 2002.** Mercado del Abalón en Estados Unidos y México. *Aquanoticias internacional*. 88: 69 – 73.
- GODOY, M. 2003.** 5th International abalone Symposium. Quindao, China.
- GUZMÁN, C. 2001.** Acuicultura en Chile, promisoría diversificación de especies. *Aquanoticias internacional*. 136: 78 – 85.
- GUZMÁN, C. 2003.** Fotografía de una industria cautivante. *Aquanoticias internacional*. 112: 32–49.
- HAHN, K. 1989.** Handbook of culture of abalone and other marine gastropods. Ed. Crc press. London, England.
- LLEONART, M., J. HANDLINGER, M. POWELL. 2003.** Treatment of spionid mud worm infestation of cultured abalone. *Aquaculture Res.* 217: 1-10.
- NAKANISHI, T. 1978.** Studies on the effect of the environment on the heart rate of shellfishes II. Effect of temperature, low salinity and hypoxia on the heart rate of an Abalone (*Haliotis discus hannai*). Bulletin of the Hokkaido Region Fisheries Research Laboratories. 43: 59-68.
- PASCUAL, C., A. SÁNCHEZ, C. ROSAS. 2003.** Manual de métodos para la evaluación de componentes sanguíneos de camarones peneidos. Fac. de Ciencias UNAM. Ciudad Del Carmen, México.
- SÁNCHEZ, E. 2002.** Segundo manual de cría de camarones de aguas marinas. Sinaloa, México.
- SHEPHARD, S.A., M. J. TEGNER, S.A. GUZMAN DEL PROO. 1992.** Abalone of the world. Ed. Fishing News Books. Oxford, England.
- SHUMWAY, S.E., P. GABBOTT, A. YOUNGSON. 1977.** The effect of fluctuating salinity on the concentrations of free amino acids and ninhydrin-positive substances in the adductor muscles of eight species of bivalve molluscs. *J. Exp. Marine Biol. and Ecol.* 29: 131-150.
- VANDEPEER, M. 2002.** Preventing summer mortality of abalone in aquaculture systems by understanding interactions between nutrition and water temperature. In: Proceedings of the 9<sup>th</sup> Annual Abalone Aquaculture Subprogram Workshop. Australia.



**VELÁSQUEZ, R. 2002.** Situación actual del cultivo del abalón en el sur. *Salmonicultura*. 58: 50-51.

**VIANA, M. 2001.** Higiene en los cultivos comerciales y como prevenir las enfermedades. En: Cultivo del Abalón (*Haliotis sp.*). Universidad Austral de Chile, Puerto Montt, Chile.



## ANEXO B

**Medición de la fuerza (newton) utilizada por el abalón rojo (*Haliotis rufescens*) al resistir la tracción.**



## ANEXO C

**Datos del grupo N°1 en exposición al aire a 16°C y 80% de humedad relativa y su recuperación en agua de mar**

<b>GRUPO N°1 EN EXPOSICIÓN AL AIRE A 16°C Y 80% HUMEDAD RELATIVA</b>							
Horas	Resistencia tracción	Concavidad del pie	Reacción muscular	Reacción tentáculos	Reacción del pie	Muertos	Agonizantes
0	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	0	0
3	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	0	0
6	2,93	2,93	1,00	1,00	0,93	0	0
10	2,60	2,90	1,00	1,00	0,83	0	0
15	2,00	2,63	1,00	1,00	0,13	0	0
19	1,33	1,80	0,77	1,00	0,00	0	3
22	1,00	1,27	0,43	0,97	0,00	1	6
26	0,63	1,13	0,20	0,97	0,00	2	13
29	0,63	1,07	0,20	0,83	0,00	6	9
32	0,40	0,23	0,03	0,30	0,00	15	10

<b>GRUPO N°1 EN RECUPERACIÓN EN AGUA DE MAR</b>							
Horas	Resistencia tracción	Concavidad del pie	Reacción muscular	Reacción tentáculos	Reacción del pie	N° muertos	Agonizantes
24	1,86	2,21	0,64	0,89	0,57	2	9
48	2,12	2,44	0,72	1,00	0,68	5	6
72	2,80	2,90	0,95	1,00	0,85	10	1
96	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	12	0
120	2,94	2,94	0,94	1,00	0,94	13	0
144	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	14	0
168	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	14	0
192	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	14	0
216	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	15	0
240	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	15	0

**Datos del grupo N°2 en exposición al aire a 10°C y 80% de humedad relativa y su recuperación en agua de mar**

<b>GRUPO N°2 EN EXPOSICIÓN AL AIRE A 10°C Y 80% HUMEDAD RELATIVA</b>							
Horas	Resistencia tracción	Concavidad del pie	Reacción muscular	Reacción tentáculos	Reacción del pie	Muertos	Agonizantes
0	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	0	0
3	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	0	0
6	2,77	3,00	1,00	1,00	0,90	0	0
10	2,40	3,00	1,00	1,00	0,63	0	0
13	2,30	2,97	1,00	1,00	0,60	0	0
19	2,27	2,97	1,00	1,00	0,47	0	0
22	2,03	2,63	1,00	1,00	0,43	0	0
26	2,00	2,23	1,00	0,93	0,33	0	0
29	1,83	1,90	0,97	0,90	0,00	0	0
32	1,53	1,33	0,83	0,97	0,00	0	4
36	1,30	1,23	0,73	0,93	0,03	0	6
40	1,30	1,03	0,27	0,93	0,00	0	8
45	0,97	0,70	0,07	0,70	0,00	4	8
49	0,70	0,60	0,03	0,73	0,00	4	13
53	0,63	0,60	0,10	0,53	0,00	8	12
56	0,20	0,43	0,03	0,47	0,00	15	9

<b>GRUPO N°2 EN RECUPERACIÓN EN AGUA DE MAR</b>							
Horas	Resistencia tracción	Concavidad del pie	Reacción muscular	Reacción tentáculos	Reacción del pie	N° muertos	Agonizantes
24	1,95	2,40	0,80	1,00	0,60	10	2
48	2,16	2,89	0,95	1,00	0,68	11	0
72	2,50	2,83	1,00	1,00	0,61	12	0
96	3,00	3,00	1,00	1,00	0,72	12	0
120	3,00	3,00	1,00	1,00	0,88	13	0
144	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	13	0
168	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	13	0
192	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	14	0
216	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	14	0
240	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	14	0

Datos del grupo N°3 en exposición al aire a 4°C y 80% de humedad relativa y su recuperación en agua de mar.

GRUPO N°3 EN EXPOSICIÓN AL AIRE A 4°C Y 80% DE HUMEDAD RELATIVA							
Horas	Resistencia tracción	Concavidad del pie	Reacción muscular	Reacción tentáculos	Reacción del pie	Muertos	Agonizantes
0	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	0	0
3	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	0	0
6	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	0	0
9	2,80	3,00	1,00	1,00	0,93	0	0
12	2,87	3,00	1,00	1,00	0,70	0	0
17	2,70	2,90	1,00	1,00	0,40	0	0
20	2,77	2,73	0,93	1,00	0,20	0	0
25	2,57	2,63	0,83	1,00	0,00	0	0
29	2,53	2,67	0,83	1,00	0,00	0	0
32	2,43	2,53	0,80	1,00	0,00	0	2
36	2,43	2,33	0,70	1,00	0,00	0	2
40	2,17	2,13	0,60	1,00	0,00	0	5
43	2,03	2,03	0,60	1,00	0,00	0	6
46	1,87	1,73	0,47	0,90	0,00	3	2
51	1,63	1,50	0,47	0,90	0,00	3	2
56	1,43	1,30	0,37	0,83	0,00	5	4
60	0,93	0,90	0,13	0,73	0,00	5	11
64	0,83	0,83	0,13	0,57	0,00	11	6
67	0,33	0,57	0,03	0,33	0,00	15	10

GRUPO N°3 EN RECUPERACIÓN EN AGUA DE MAR							
Horas	Resistencia tracción	Concavidad del pie	Reacción muscular	Reacción tentáculos	Reacción del pie	N° muertos	Agonizantes
24	2,65	2,70	0,96	1,00	0,83	7	1
48	2,83	2,91	0,96	1,00	0,91	7	1
72	2,91	2,95	0,95	1,00	0,95	8	0
96	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	9	0
120	2,95	3,00	1,00	1,00	0,95	9	0
144	2,95	2,95	0,95	1,00	0,95	9	0
168	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	10	0
192	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	10	0
216	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	10	0
240	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	10	0

Datos del grupo N°5 en exposición a agua de mar con salinidad de 15‰ y su recuperación en agua de mar con salinidad de 33‰.

GRUPO N°5 EN EXPOSICIÓN A AGUA DE MAR CON SALINIDAD DE 15‰							
Horas	Resistencia tracción	Concavidad del pie	Reacción muscular	Reacción tentáculos	Reacción del pie	Muertos	Agonizantes
0	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	0	0
1	2,03	3,00	1,00	1,00	0,77	0	0
2	1,20	3,00	1,00	1,00	0,10	0	0
3	0,60	2,67	1,00	1,00	0,00	0	0
4	0,27	2,03	0,97	1,00	0,00	0	1
5	0,03	1,33	1,00	0,90	0,00	0	3
6	0,00	1,10	1,00	0,67	0,00	0	10
7	0,00	1,10	0,63	0,40	0,00	9	10
8	0,00	1,03	0,50	0,17	0,00	15	10

GRUPO N°5 EN RECUPERACIÓN EN AGUA DE MAR							
Horas	Resistencia tracción	Concavidad del pie	Reacción muscular	Reacción tentáculos	Reacción del pie	N° muertos	Agonizantes
24	2,87	3,00	1,00	1,00	0,97	0	0
48	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	0	0
72	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	0	0
96	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	0	0
120	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	0	0
144	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	0	0
168	2,97	2,97	1,00	1,00	1,00	0	0
192	2,93	2,93	0,97	1,00	0,97	0	0
216	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	1	0
240	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	1	0

Datos del grupo N°6 en exposición a agua de mar con salinidad de 5‰ y su recuperación en agua de mar con salinidad de 33‰.

<b>GRUPO N°6 EXPUESTO A AGUA DE MAR CON UNA SALINIDAD DE 5‰</b>							
Minutos	Resistencia tracción	Concavidad del pie	Reacción muscular	Reacción tentáculos	Reacción del pie	Muertos	Agonizantes
0	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	0	0
15	0,00	3,00	1,00	1,00	0,07	0	0
30	0,00	3,00	1,00	1,00	0,00	0	0
45	0,00	2,93	1,00	1,00	0,00	0	0
60	0,00	2,83	1,00	0,90	0,00	0	3
75	0,00	2,57	1,00	0,70	0,00	0	9
90	0,00	2,17	0,97	0,50	0,00	0	15
105	0,00	1,87	0,87	0,13	0,00	0	26
120	0,00	1,73	0,87	0,03	0,00	0	29
135	0,00	1,43	0,80	0,00	0,00	2	28
150	0,00	1,30	0,47	0,00	0,00	15	15

<b>GRUPO N°6 EN RECUPERACIÓN EN AGUA DE MAR</b>							
Horas	Resistencia tracción	Concavidad del pie	Reacción muscular	Reacción tentáculos	Reacción del pie	N° muertos	Agonizantes
24	0,38	2,14	0,71	1,00	0,43	9	5
48	1,86	2,21	0,86	1,00	0,57	16	0
72	1,86	2,14	1,00	0,79	0,43	16	3
96	2,90	3,00	1,00	1,00	0,90	20	0
120	2,60	3,00	1,00	1,00	0,60	20	0
144	2,20	3,00	1,00	1,00	0,60	20	0
168	2,67	3,00	1,00	1,00	0,83	24	0
192	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	24	0
216	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	24	0
240	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	24	0



Datos del grupo N°7 en exposición a agua dulce (salinidad de 0‰) y su recuperación en agua de mar con salinidad de 33‰.

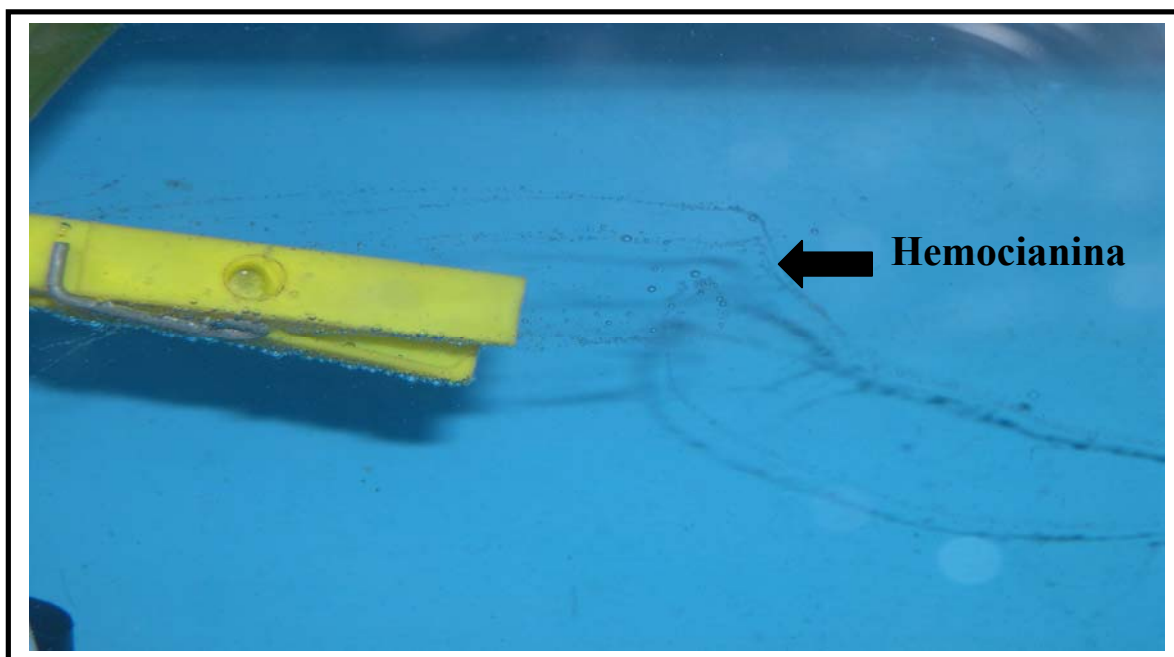
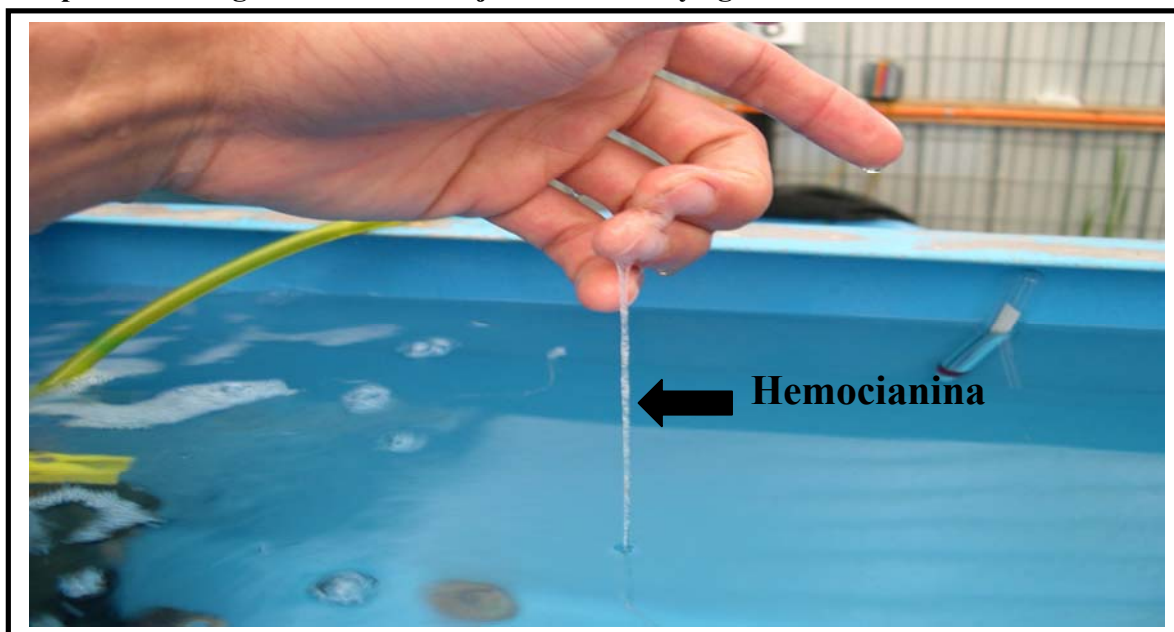
GRUPO N°7 EXPUESTO A AGUA DULCE							
Minutos	Resistencia tracción	Concavidad del pie	Reacción muscular	Reacción tentáculos	Reacción del pie	Muertos	Agonizantes
0	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	0	0
5	0,00	3,00	1,00	1,00	0,00	0	0
10	0,00	3,00	1,00	1,00	0,00	0	0
15	0,00	2,90	1,00	1,00	0,00	0	0
20	0,00	2,67	1,00	1,00	0,00	0	0
25	0,00	2,27	1,00	0,67	0,00	0	10
30	0,00	2,00	0,93	0,53	0,00	1	13
35	0,00	1,77	0,83	0,40	0,00	5	13
40	0,00	1,43	0,50	0,27	0,00	15	7

GRUPO N°7 EN RECUPERACIÓN EN AGUA DE MAR							
Horas	Resistencia tracción	Concavidad del pie	Reacción muscular	Reacción tentáculos	Reacción del pie	N° muertos	Agonizantes
24	1,14	1,07	1,00	0,36	0,36	16	9
48	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	24	0
72	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	24	0
96	2,50	2,67	0,83	1,00	0,83	24	1
120	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	25	0
144	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	25	0
168	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	25	0
192	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	25	0
216	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	25	0
240	3,00	3,00	1,00	1,00	1,00	25	0

## ANEXO D

**Hemocianina liberada por abalones rojos (*Haliotis rufescens*), en respuesta a la exposición de agua de mar con bajas salinidades y agua dulce.**



## ANEXO E

**Espuma producida debido a la liberación de hemocianina en la superficie del acuario en el experimento del grupo N°5, expuestos a 15‰ de sal y a 12°C de temperatura promedio.**



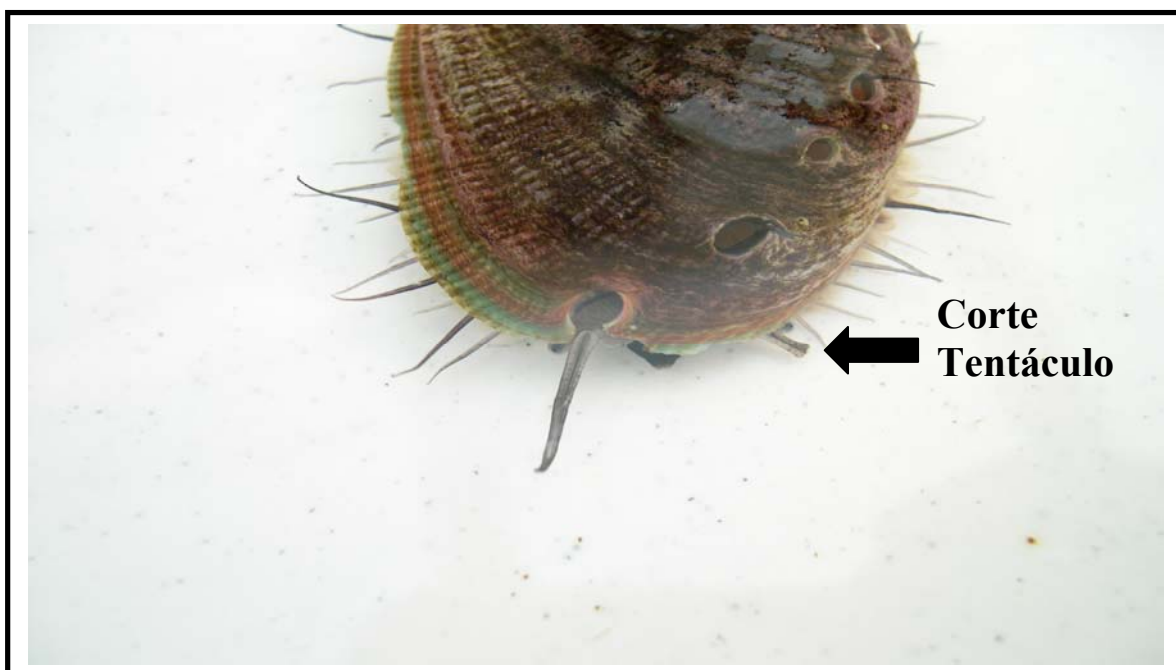
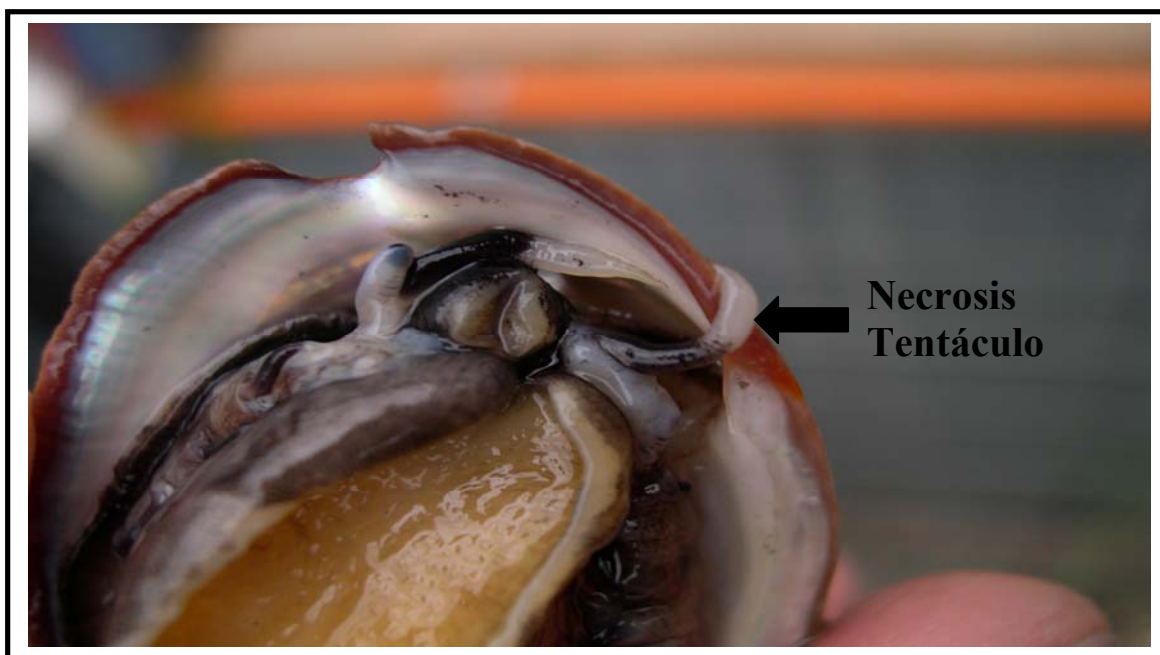
## ANEXO F

**Rádula permanentemente abierta observada en abalones rojos (*Haliotis rufescens*) expuestos a agua de mar a bajas salinidades y a agua dulce.**



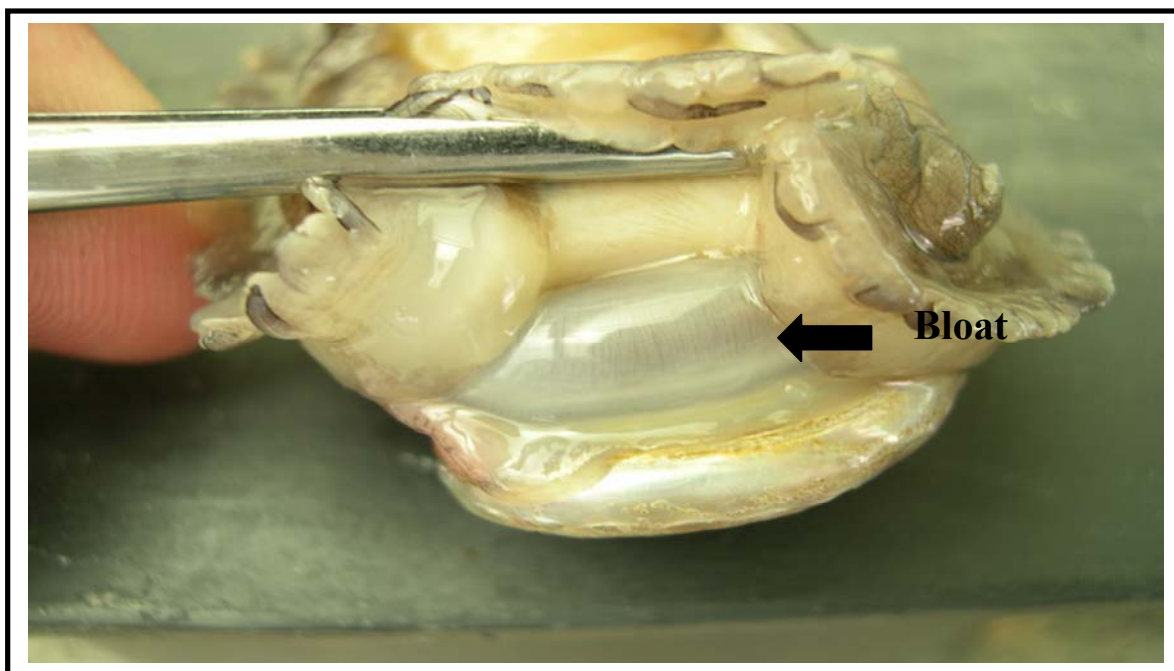
## ANEXO G

**Necrosis y corte de extremos de tentáculos de abalón rojo (*Haliotis rufescens*) de longitudes entre 30 a 50 mm en recuperación en agua de mar tras haber sido expuestos a agua de mar a bajas salinidades y a agua dulce.**



## ANEXO H

**Bloat observado en abalones rojos (*Haliotis rufescens*) de longitudes entre 30 a 50 mm en exposición a agua de mar con una salinidad de 15%.**



## ANEXO I

**Comparación-1: Análisis estadístico de la tolerancia del abalón rojo a la exposición al aire.**

a) Grupo N°1: Exposición al aire a 16°C y 80 % de humedad relativa.

b) Grupo N°2: Exposición al aire a 10°C y 80 % de humedad relativa.

c) Grupo N°3: Exposición al aire a 4°C y 80 % de humedad relativa.

Survival Analysis for TIEMPO					
Factor GRUPO = 1					
Time	Status	Cumulative Survival	Standard Error	Cumulative Events	Number Remaining
22	1	.9667	.0328	1	29
26	1	.9333	.0455	2	28
29	1			3	27
29	1			4	26
29	1			5	25
29	1	.8000	.0730	6	24
32	1			7	23
32	1			8	22
32	1			9	21
32	1			10	20
32	1			11	19
32	1			12	18
32	1			13	17
32	1			14	16
32	1	.5000	.0913	15	15
32	0			15	14
32	0			15	13
32	0			15	12
32	0			15	11
32	0			15	10
32	0			15	9
32	0			15	8
32	0			15	7
32	0			15	6
32	0			15	5
32	0			15	4
32	0			15	3
32	0			15	2
32	0			15	1
32	0			15	0
Factor GRUPO = 2					
Time	Status	Cumulative Survival	Standard Error	Cumulative Events	Number Remaining
45	1			1	29
45	1			2	28
45	1			3	27
45	1	.8667	.0621	4	26
49	1	.8333	.0680	5	25
53	1			6	24
53	1			7	23

53	1	.7333	.0807	8	22
56	1			9	21
56	1			10	20
56	1			11	19
56	1			12	18
56	1			13	17
56	1	.5333	.0911	14	16
56	0			14	15
56	0			14	14
56	0			14	13
56	0			14	12
56	0			14	11
56	0			14	10
56	0			14	9
56	0			14	8
56	0			14	7
56	0			14	6
56	0			14	5
56	0			14	4
56	0			14	3
56	0			14	2
56	0			14	1
56	0			14	0

**Factor GRUPO = 3**

Time	Status	Cumulative Survival	Standard Error	Cumulative Events	Number Remaining
46	1			1	29
46	1			2	28
46	1	.9000	.0548	3	27
56	1			4	26
56	1	.8333	.0680	5	25
64	1			6	24
64	1			7	23
64	1			8	22
64	1	.7000	.0837	9	21
64	0			9	20
67	1	.6650	.0865	10	19
67	0			10	18
67	0			10	17
67	0			10	16
67	0			10	15
67	0			10	14
67	0			10	13
67	0			10	12
67	0			10	11
67	0			10	10
67	0			10	9
67	0			10	8
67	0			10	7
67	0			10	6
67	0			10	5
67	0			10	4
67	0			10	3
67	0			10	2
67	0			10	1
67	0			10	0

**Test Statistics for Equality of Survival Distributions for GRUPO**

	Statistic	df	Significance
Log Rank	41.30	2	.0000
Breslow	39.62	2	.0000



**Comparación-2: Análisis estadístico de la tolerancia del abalón rojo a la exposición a agua de mar con baja salinidad y agua dulce.**

a) Grupo N°5: Exposición a agua de mar con una salinidad de 15%.

b) Grupo N°6: Exposición a agua de mar con una salinidad de 5%.

c) Grupo N°7: Exposición a agua dulce.

Survival Analysis for MINUTOS					
Factor GRUPO = 5					
Time	Status	Cumulative Survival	Standard Error	Cumulative Events	Number Remaining
480	1	.9667	.0328	1	29
480	0			1	28
480	0			1	27
480	0			1	26
480	0			1	25
480	0			1	24
480	0			1	23
480	0			1	22
480	0			1	21
480	0			1	20
480	0			1	19
480	0			1	18
480	0			1	17
480	0			1	16
480	0			1	15
480	0			1	14
480	0			1	13
480	0			1	12
480	0			1	11
480	0			1	10
480	0			1	9
480	0			1	8
480	0			1	7
480	0			1	6
480	0			1	5
480	0			1	4
480	0			1	3
480	0			1	2
480	0			1	1
480	0			1	0
Factor GRUPO = 6					
Time	Status	Cumulative Survival	Standard Error	Cumulative Events	Number Remaining
135	1			1	29
135	1	.9333	.0455	2	28
150	1			3	27
150	1			4	26
150	1			5	25
150	1			6	24
150	1			7	23
150	1			8	22
150	1			9	21
150	1			10	20
150	1			11	19
150	1			12	18
150	1			13	17
150	1			14	16
150	1			15	15
150	1			16	14

150	1			17	13
150	1			18	12
150	1			19	11
150	1			20	10
150	1			21	9
150	1			22	8
150	1			23	7
150	1	.2000	.0730	24	6
150	0			24	5
150	0			24	4
150	0			24	3
150	0			24	2
150	0			24	1
150	0			24	0

**Factor GRUPO = 7**

Time	Status	Cumulative Survival	Standard Error	Cumulative Events	Number Remaining
30	1	.9667	.0328	1	29
35	1			2	28
35	1			3	27
35	1			4	26
35	1	.8333	.0680	5	25
40	1			6	24
40	1			7	23
40	1			8	22
40	1			9	21
40	1			10	20
40	1			11	19
40	1			12	18
40	1			13	17
40	1			14	16
40	1			15	15
40	1			16	14
40	1			17	13
40	1			18	12
40	1			19	11
40	1			20	10
40	1			21	9
40	1			22	8
40	1			23	7
40	1	.1667	.0680	24	6
40	0			25	5
40	0			25	4
40	0			25	3
40	0			25	2
40	0			25	1
40	0			25	0

**Test Statistics for Equality of Survival Distributions for GRUPO**

	Statistic	df	Significance
Log Rank	91.74	2	.0000
Breslow	83.96	2	.0000

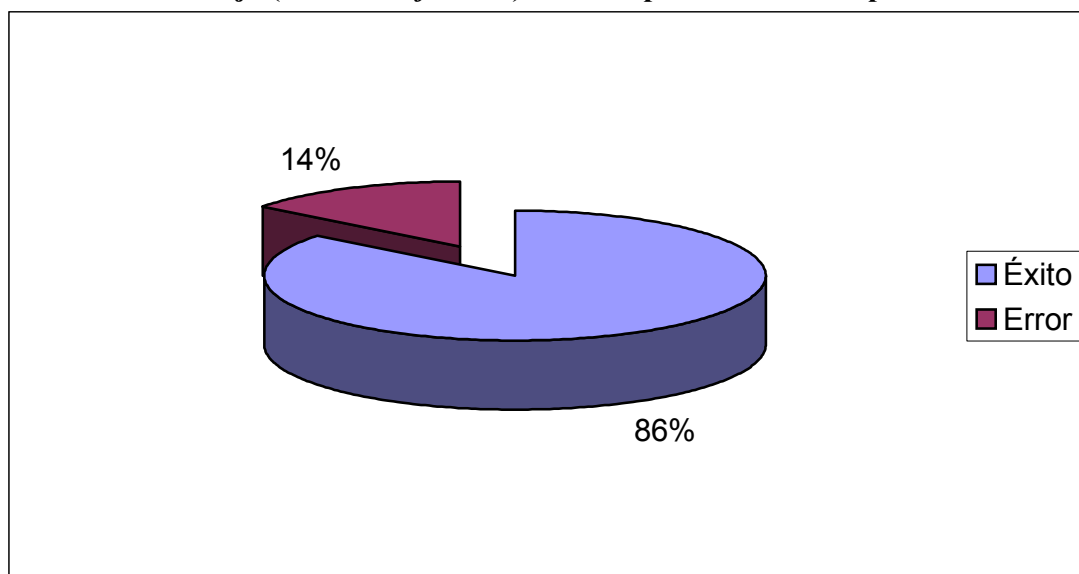
## ANEXO J

**Antecedentes climatológicos (Datos recolectados en el instituto de Geociencias, Universidad Austral de Chile)**

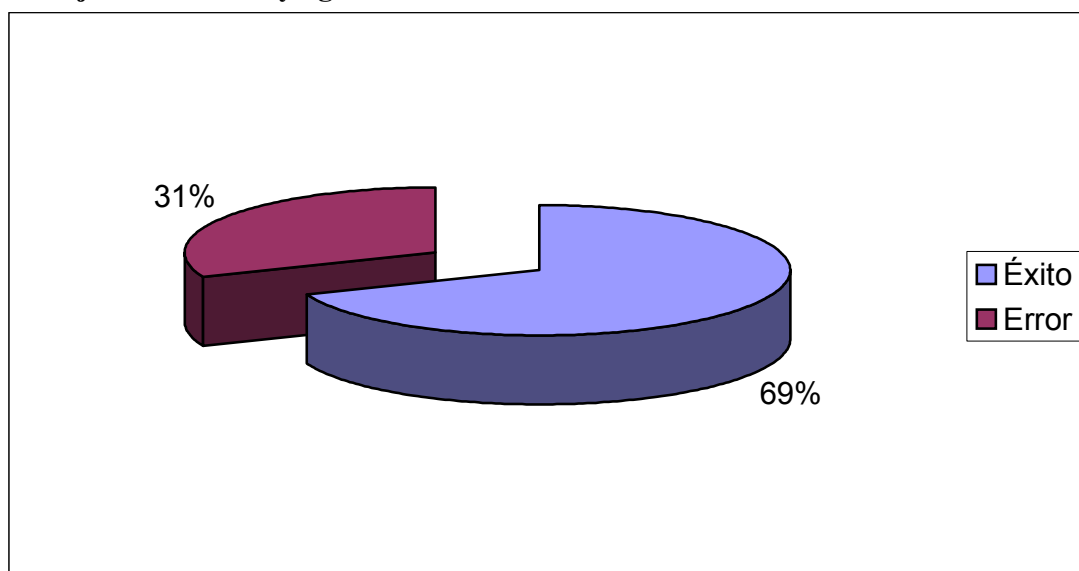
MES	TEMPERATURA MEDIA T(°C)	TEMPERATURA EXTREMA		HUMEDAD REL. %
ENE	17	29,7	4,3	79
FEB	16,9	25,5	5,3	81
MAR	15,7	25	5,4	81
ABR	13,8	20,8	2,9	85
MAY	11,9	18,6	2	85
JUN	10,7	17,3	1,3	85
JUL	10,2	17	0,2	85
AGO	10,3	16,7	-1,3	83
SEP	11,1	19	1,9	82
OCT	12,5	21	1,5	81
NOV	13,7	24,5	3,5	79
DIC	15,1	25,9	3,2	79
AÑO	13,2	29,7	-1,3	82

## ANEXO K

Porcentajes de éxito y error en el método de evaluación del estado de vida y muerte del abalón rojo (*Haliotis rufescens*) en los experimentos de exposición al aire.



Porcentajes de éxito y error en el método de la evaluación del estado de vida y muerte del abalón rojo (*Haliotis rufescens*) en los experimentos de exposición a agua de mar a bajas salinidades y agua dulce.



## 9. AGRADECIMIENTOS

Esta tesis fue realizada con fondos otorgados por el Fondo de Fomento al Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDEF) a través del proyecto D0111074.

A mis padres, por darme siempre su apoyo y porque siempre me estimulan a “echarle para delante”.

A Karin por ayudarme en la creatividad y las continuas correcciones de la tesis.

A Dr. Ricardo Enriquez por su paciencia y por la “buena onda” que siempre tuvo durante la realización de la tesis.

A Esteban, por su ayuda en todo el manejo y mantención de los abalones.

Y a la Sra. Mónica y a Vania del Laboratorio de Ictiopatología.