

**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE  
INSTITUTO DE ACUICULTURA  
ESCUELA DE INGENIERIA EN ACUICULTURA**



**RESPUESTA DE LARVAS Y PRIMER JUVENIL DE  
*Lithodes santolla* (MOLINA 1782) A DISTINTAS CONCENTRACIONES DE  
OXIGENO.**

**Tesis para optar al título de Ingeniero en Acuicultura  
Profesor patrocinante: Dr. Kurt Paschke L.  
Instituto de Acuicultura.**

**Viviana Angélica Soto Ross.  
Puerto Montt, Chile  
2007**

## AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por haberme dado la oportunidad de vivir esta experiencia y darme la fuerza para poder finalizar este largo proceso que ha sido consumado con el presente manuscrito.

A mi maestro Dr. Kurt Paschke L. quien ha tenido la paciencia y el tiempo para soportar mi humor especial, disculpe todas las molestias que le he causado, espero que mi recuerdo no le sea tan amargo.

A todos los individuos con los que tuve contacto en LECOFIC, el extinto Hugo, el presente Juan Pablo, Mauricio, Jorge, Andrés; muchas gracias de corazón ya que ustedes siempre estuvieron dispuestos a darme un minutito de su tiempo cuando se los pedía, en especial a la Caro, amiga ... tu sabes desde cuando haz estado siempre presente en mí.

A mis Chinos, por su gran esfuerzo durante todos estos años y su incondicional apoyo para que logre esta tarea, gran parte de este trabajo es suyo. Por supuesto todo este esfuerzo es para mi nenita, quien a su corta edad ha entendido lo importante que es esto para mí; los quiero mucho a los tres.

A Cristian quien con su constante apoyo posibilitó el termino de este trabajo; muchas gracias, que Dios te devuelva el doble.

A mis amigos, Juan Pablo, Fabián, Ely y Mily a quienes me enorgullezco de llamar amigos, ojalá que yo pueda estar presente cuando alguno de ustedes pase por este proceso; han sido y seguirán siendo mi raíz y mis hojas.

Por último agradezco al proyecto “Desarrollo de la Tecnología de producción de juveniles para el cultivo intensivo de centolla (*Lithodes centolla*)”. FONDEF DO2I1163 que financió el trabajo práctico del cual se desprende el presente informe.

## 1. RESUMEN

Como consecuencia de su alto valor comercial, los crustáceos Lithodidos representan una importante pesquería en regiones subantárticas. En los últimos años ha disminuido considerablemente los stocks naturales. Intentos para desarrollar su cultivo han despertado la necesidad de investigar las condiciones necesarias en sus estadios tempranos. En este contexto, el presente trabajo evalúa la respuesta en tiempo de desarrollo, mortalidad, tasa de consumo de oxígeno y dosis letal 50 ( DL50 ) de larvas y primer juvenil de *L. santolla* bajo cuatro niveles de oxígeno (1.5, 3, 6 y 9 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>). Se incubaron 15 individuos de cada estadio (ZI, ZII, ZIII, megalopa y juvenil) en jeringas de 60 ml para cada uno de los tratamientos. Se midió diariamente el consumo de oxígeno a lo largo de todo el desarrollo de cada estadio, además de la supervivencia cuando ocurrió la muda. Los resultados muestran que todas las fases analizadas disminuyen el consumo de oxígeno en forma proporcional a la concentración del medio externo, que se hace cada vez más evidente a medida que estos individuos se desarrollan. Si bien el tiempo de desarrollo no muestra diferencias significativas (para 6 y 9 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) en las distintas etapas, la mortalidad observada indica que esta especie es bastante susceptible a las bajas concentraciones obteniéndose una DL<sub>50</sub> distinta en cada estadio pero con valores que oscilan entre 5,4 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> para ZII y 6,2 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> para ZI.

## 1.2 ABSTRACT

As a result of their high commercial value, the Lithodid crabs represent an important fishery target in natural subantarctic regions. In the last years it has considerably diminished natural stocks. Attempts to develop its culture they have waked up the necessity of investigation the necessary conditions in its early stages. Against this background, the present work evaluates the answer in time of development, mortality, rate of oxygen consumption and lethal dose 50 (LD<sub>50</sub>) of larvae and crab I of *L. santolla* at four oxygen level (1,5, 3, 6 and 9 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>). Fifteen individuals of each stage (ZI, ZII, ZIII, megalopa and crab I) were incubated in 60 ml syringes for each treatment. The oxygen consumption was measured daily throughout all the development of the stage, plus the mortality was measured at the end of the stage, when ecdysis occur. The results show that all the analyzed stages, they disminish the consumption of oxygen in proportional form to the concentration of external means, that is made evident more and more as these individuals are developed. Although the time of development does not show significant differences at 6 and 9 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> in the different stages, mortality clearly shows that this species is quite susceptible to the low oxygen concentrations, getting different DL<sub>50</sub> values in each stage but with values that oscillate between 5.4 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> for ZII and 6.2 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> for ZI.

## 2. INTRODUCCION

En la industria alimenticia prácticamente todas las especies de crustáceos Lithodidos son considerados productos de alta demanda lo que se traduce en grandes esfuerzos para la captura de dichos recursos hidrobiológicos. Tal como sucede en el Mar de Bering para extraer *Paralithodes camtschaticus* que habita en aguas profundas de climas subpolares en donde las crudas condiciones en alta mar ponen muchas veces en peligro la vida de los pescadores de buques altamente tecnificados que arrojan las trampas.

Actualmente, la actividad pesquera sigue siendo de importancia mundial, pero se observa un desgaste de los recursos presentes como una tendencia global. En Chile, los desembarques de crustáceos han decaído en 10 000 ton desde el año 1994 llegando a valores de 20 486 ton para el año 2004. De este total, un 15 % corresponde al desembarque de centolla *Lithodes santolla* (3 062 ton) la cual, pese a lo ya expresado, ha aumentado al doble su extracción en dicho período, probablemente por la incorporación de nuevas áreas de pesca (SERNAPESCA, 2004). Frente a esto la acuicultura se plantea como una actividad relevante en términos de control de volúmenes de producción, generación de empleos y diversificación de las exportaciones. En los últimos cuarenta años, la idea de cultivar crustáceos ha llegado a tener un atractivo poder inversor debido a los altos precios que pueden llegar a ofrecer estos productos (Lee y Wickins, 1997), lo que ha incentivado a una serie de investigaciones para encontrar los parámetros que permitan el cultivo intensivo de crustáceos marinos, en este caso en particular, el de centolla *Lithodes santolla*.

La sistemática de *L. santolla* según Vinuesa, 2005 es la siguiente:

Orden: Decápoda

Suborden: Pleocyemata

Infraorden: Anomura

Superfamilia: Paguroidea

Familia: Lithodidae

Género: Lithodes

Las hembras de centolla pueden ser fecundadas por varios machos y disponen, además, en sus receptáculos seminales de un mecanismo de almacenaje de esperma que les permite, incluso, fertilizar sucesivas puestas sin realizar nuevas cópulas (Iglesias *et al*, 2002) Si bien no ha sido comprobado para esta especie, probablemente la fecundación es externa y ocurre inmediatamente después de la oviposición, como se encuentra descrito para *Paralithodes camtschaticus* (Lovrich, 1997). Después de la ovipostura, el abdomen de las hembras, que está normalmente flexionado; se relaja considerablemente para permitir la incubación, sujetando la masa de huevos con la ayuda de los pleópodos (Rupert y Barnes, 1996).

Para la mayoría de los cultivos acuícolas incipientes, el principal obstáculo o “cuello de botella” para controlar el ciclo de vida y lograr una independencia de las condiciones del medio natural y una mejora genética de la producción (p.e. cultivo integral), suele ser después de la eclosión, cuando se terminan simultáneamente el vítelo y el desarrollo embrionario del aparato

digestivo, es decir, cuando las larvas deben aprender a capturar y engullir su alimento antes de morir de inanición (Coll, 1991).

En *L. santolla* luego de la eclosión, tienen lugar varios estadios larvarios que se desarrollan en tres fases de Zoea pelágico y una megalopa semibentónica (Anger, 1996) todas de muy gran tamaño, lo cuál es un desarrollo abreviado si se compara con la mayoría de los anomuros marinos que tienen al menos cuatro Zoeas (Campodónico y Guzmán, 1981)

Si bien, existen referencias de que la habilidad de atrapar presas puede disminuir si las larvas de *Paralithodes camtschaticus* no son alimentadas dentro de los primeros días (Paul y Paul, 1980), hace poco ha sido demostrada la total lecitotrofia de tales fases para *L. santolla* (Lovrich *et al*, 2003; Thatje *et al*, 2003; Calcagno *et al*, 2003; Calcagno *et al*, 2004). Estas dos características: el desarrollo abreviado y la lecitotrofia total, han sido explicadas como adaptaciones a la provisión de alimento extremadamente estacional y limitada de las regiones subpolares y en ellas reside la clave para el cultivo ya que evita el mencionado cuello de botella, optimizando el cultivo masivo hasta juveniles bien sea para fines de continuar con la fase de engorda o para futuros intentos de repoblación de los stocks naturales de *L. santolla* (Calcagno *et al*, 2004).

Dado que la alimentación larvaria no representa un problema, se debe enfocar la atención en establecer los rangos de algunos factores abióticos que no vayan en desmedro del cultivo larvario. Entre tales factores, el nivel de oxígeno del medio de cultivo circundante emerge como uno de los más críticos, siendo el principal factor limitante para la respiración.

Esto es de importancia mayor en sistemas acuáticos, dado que la disponibilidad de oxígeno es solo un 3% que la presente en el aire (Anger, 2001). Escaso es el material existente al respecto, enfocado al cultivo masivo de larvas en *L. santolla*, sin embargo, existen registros de individuos postmetamórficos de esta especie en la naturaleza, en sectores donde las concentraciones presentes en el bentos alcanzan valores tan bajos como  $4,2 \text{ ml O}_2 \text{ L}^{-1}$  (Silva y Calvete, 1995). Dado que el geotáctismo positivo es una característica común a todos los estadios larvarios de *L. santolla* (Escobar, 2003), estos podrían estar sometidos a dichos niveles de oxígeno.

En el primer estado de zoea la posición de las artrobranqueas es indicada por un tejido en la base de los quelípedos y en las patas ambulatorias, estas artrobranqueas van aumentando en tamaño y complejidad a medida que avanzamos en el desarrollo larval (McLaughlin *et al*, 2001) por lo que el conocimiento cabal del comportamiento de la larva frente las fluctuantes concentraciones de oxígeno circundante, sin duda, es uno de los factores abióticos importantes a evaluar dentro de la información básica necesaria como punto de partida para el cultivo de esta especie.

De acuerdo a esto, se realiza una experiencia práctica en el Laboratorio de Ecofisiología de Crustáceos (LECOFIC) de la Universidad Austral de Chile Campus Puerto Montt, para evaluar el desempeño de los distintos estados larvales (ZI, ZII, ZIII y Megalopa) y el primer juvenil de *L. santolla* frente a distintas concentraciones de oxígeno. Esta información puede ayudar para optimizar el cultivo y entender mejor el comportamiento de las poblaciones de *L. santolla* de aguas australes.



## 2.1 **Objetivo general**

Evaluar el efecto de la concentración de oxígeno sobre la supervivencia, tiempo de desarrollo y consumo de oxígeno en el desarrollo larval de centolla *Lithodes santolla*.

## 2.2 **Objetivos específicos**

Evaluar el consumo de oxígeno de los distintos estados larvales, hasta primer juvenil de *L. santolla* bajo los distintos niveles de este.

Determinar los tiempos de desarrollo de los distintos estados larvales, hasta primer juvenil de *L. santolla* bajo los distintos niveles de oxígeno.

Determinar supervivencia de los distintos estados larvales, hasta primer juvenil de *L. santolla* cultivados a distintos niveles de oxígeno.

### 3. MATERIAL Y METODOS

#### 3.1 Diseño experimental

El diseño del experimento fue factorial de una vía. Tal factor corresponde a la concentración de oxígeno, los niveles escogidos fueron cuatro: 1.5, 3, 6 y 9 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. El monitoreo en tales condiciones fue llevado a cabo para todo el desarrollo larval y primer juvenil de *L. santolla*. Todas las posibles combinaciones de niveles del factor y estadios larvales, resulta en un total de 20 tratamientos con 15 réplicas por tratamiento.

#### 3.2 Suministro de agua

El agua utilizada pasaba por una serie de filtros antes de ser acumuladas en frascos de 3 L que se disponían dentro de la cámara de frío para lograr la temperatura del cultivo (12 °C). La serie de filtros comenzaba con un filtro Jacuzzi con una abertura de poro de 400 µm, dos filtros de anillo o sea filtrada primero a 100 µm y luego a 20 µm; de aquí pasaba por filtros de cartucho de 5 y 1 µm para después ser esterilizada mediante UV (Fig. 1). Antes de ser acumulada en los frascos se tomaba esta agua haciéndola pasar por un sistema de microfiltrado con bomba de vacío (marca Welch Rietschie Thomas, modelo 2522c-02) logrando así una filtración final a 0,45 µm la cual era usada como medio de cultivo para cada tratamiento.



Figura 1: Sistema de filtros de 5 y 1  $\mu\text{m}$  y lámpara UV dentro de la cámara de cultivo.

Para lograr las distintas concentraciones de oxígeno se burbujeó Nitrógeno gas ( $\text{N}_2$ ) directamente en los frascos (Fig. 2) monitoreando continuamente los valores; cuando estos bajaban demasiado se ajustaban con una bomba de aire (marca Atman, modelo AT-701). Una vez que se lograban las concentraciones de oxígeno deseadas, se procedía a efectuar el cambio de agua correspondiente.



Figura 2: Disposición del burbujeo de nitrógeno gas dentro de los frascos de acumulación y aclimatación del medio de cultivo.

### 3.3 Animales experimentales

Los individuos ZI fueron obtenidos directamente de los canastillos de recolección de larvas (Fig. 3); los individuos de los siguientes estadios fueron tomados de los cultivos masivos llevados a cabo en el laboratorio de ecología y fisiología de crustáceos.



Figura 3: Hembras en desove junto con el sistema de recolección de larvas.

### 3.4 Sistema de cultivo

Se utilizaron jeringas de 60 ml para cultivar individualmente cada uno de los distintos replicados; la aguja de las mismas fue modificada cumpliendo las funciones de tapón para evitar un posible intercambio gaseoso con el medio. Las unidades de cultivo fueron dispuestas en cajas de plumavit separando los distintos tratamientos. Estas cajas se encontraban en repisas dentro de una cámara refrigerada que mantenía la temperatura en 12 °C (Fig. 4).



Figura 4: Cajas de plumavit con la disposición de las unidades de cultivo dentro la cámara de frío.

### 3.5 Consumo de oxígeno

Para determinar el consumo de oxígeno de los distintos tratamientos, se midió el oxígeno entregado para cada jeringa, luego se media el oxígeno al siguiente día tomando en cuenta el tiempo pasado entre el inicio y el final de cada día de cultivo (Fig. 5). Los días de cultivo variaban dependiendo del tratamiento y el estadio utilizado ya que los individuos se cultivaban solo hasta que mudaban (si se presenciaba la muda, los individuos eran devueltos al sistema de cultivo masivo) o no sobrevivían bajo las condiciones dadas.

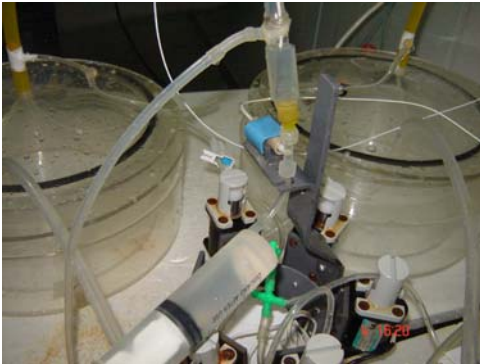


Figura 5: Sistema de soporte de jeringa al sensor de flujo continuo.

La cuantificación del oxígeno presente en el agua se hacía en forma directa ya que el equipo entrega valores en miligramos por litro. Para este fin se utilizó un microsensor óptico de oxígeno de flujo FTCH-TF conectado a un equipo Presens modelo Microx TX-3 (Fig. 6). La concentración se monitoreó cada 5 segundos hasta que el sensor entregaba una señal estable, alrededor de los 3 minutos por cada muestra.



Figura 6: Equipo Presens al cual se conecta el sensor de flujo continuo.

Debido a que no pudieron ser utilizados los pesos secos para obtener las pérdidas de energía asociadas al consumo de oxígeno, se multiplicaron los valores del  $VO_2$  por un coeficiente oxicalórico entregado por Bayne (1985) en donde  $20.33 \text{ J/mlO}_2 = 4.86 \text{ cal /O}_2$ .

### **3.6 Tiempo de desarrollo**

Se contabilizaron el número de mudas para cada concentración de oxígeno y el número de días que les llevó completar cada estadio bajo las distintas concentraciones. Con estos datos se evaluaron los tiempos de desarrollo de los individuos que lograron completar el desarrollo, es decir, que alcanzaron el proceso de ecdisis.

### **3.7 Supervivencia**

La supervivencia fue expresada como porcentaje de individuos que lograron completar la fase de desarrollo en su totalidad, para cada concentración de oxígeno en experimentación.

### **3.8 Análisis estadístico**

Los set de datos fueron analizados probando la normalidad por medio de la prueba de Shapiro-Wilk's. La homogeneidad de varianza de estos datos se verificó mediante la prueba de Brown-Forsythe, eventuales diferencias en la supervivencia y tiempo de desarrollo frente las distintas concentraciones de oxígeno en cada estadio del estudio fueron evaluadas mediante un análisis de varianza a una vía (ANOVA). Las diferencias se consideraron significativas a un valor de  $p < 0.05$ . La prueba de Tukey se utilizó para identificar los grupos entre cuales se encontraban las diferencias (Zar, 1984)

El efecto de la concentración de oxígeno sobre el consumo de este ( $VO_2$ ) fue analizado por medio de regresiones lineales. Eventuales diferencias en el comportamiento del  $VO_2$ , como respuesta a la concentración de oxígeno entre los diferentes estadios de desarrollo, se evaluaron por medio de análisis de covarianza con el  $VO_2$  como variable dependiente, la concentración de oxígeno como variable independiente y el estado de desarrollo como covariable. Cuando las pendientes resultaron iguales se compararon los interceptos con un error aceptable del 5%.

Si los sets de datos no eran normales se analizaban mediante la prueba no-paramétrica de Kruskal-Wallis (ANOVA por rangos). Todas estas pruebas se realizaron mediante el software estadístico Statistica, Statsoft. Inc 1999.



## 4. RESULTADOS

### 4.1 Consumo de oxígeno (VO<sub>2</sub>)

#### 4.1.1 Zoea I

Las únicas diferencias estadísticamente significativas se detectaron entre las larvas que se encontraban a una concentración de 1,5 y 3 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> respecto a aquellas que estaban a 9 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (ANOVA, F = 10,23; p < 0,05).

La variabilidad del VO<sub>2</sub> en las Zoeas I a las distintas concentraciones de oxígeno en el medio circundante (Fig. 7) se encuentra bien explicada mediante la regresión lineal desarrollada ( $R^2 = 0,85$ ; p < 0,05).

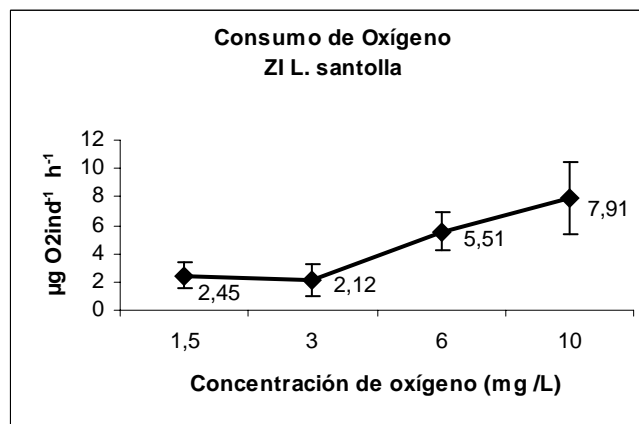


Figura 7: Consumo de oxígeno de los individuos ZI a las distintas concentraciones ensayadas.

#### 4.1.2 Zoea II

No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en circunstancias donde el oxígeno del medio de cultivo se encuentra bajo los  $6 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ , lo que se considera como hipoxia, mientras las larvas cuyo medio de cultivo contenía una concentración de  $9 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$  siempre obtuvieron mayor tasa metabólica que aquellas a  $1,5$  y  $3 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$  (Kruskal-Wallis,  $H = 14,92$ ;  $p < 0,05$ ) como se muestra en la figura 8.

El análisis de las regresiones efectuado nos muestra que se mantiene la relación positiva observada ( $R^2 = 0,77$ ;  $p < 0,05$ )

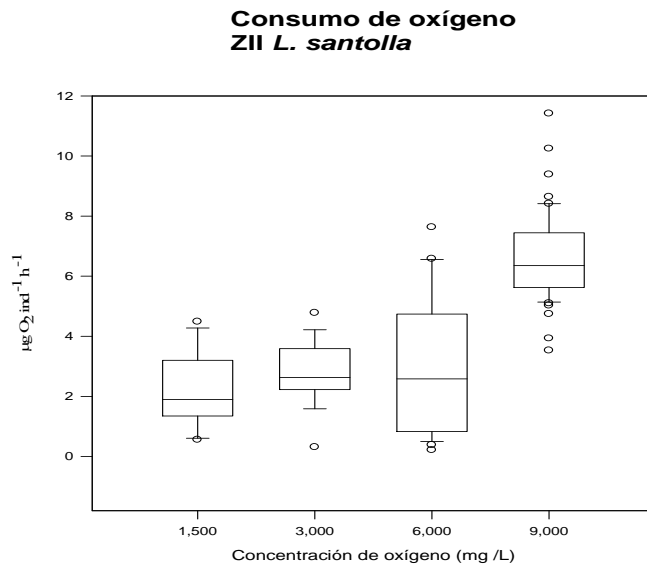


Figura 8: Consumo de oxígeno de los individuos ZII a las distintas concentraciones ensayadas.

### 4.1.3 Zoea III

Debe hacerse notar que las únicas diferencias estadísticas estuvieron dadas por los bajos valores de  $VO_2$  obtenido por las larvas mantenidas a  $3 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ , del orden de  $2,81 \pm 0,72 \mu\text{g O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ; respecto los tratamientos con 6 y  $9 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$  con  $6,97 \pm 1,56$  y  $9,05 \pm 1,98 \mu\text{g O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ; respectivamente (ANOVA,  $F = 13,48$ ;  $p > 0,05$ ), aunque estos valores son similares a los encontrados bajo estas condiciones para los individuos del estadio ZI.

Se observa la misma relación positiva entre  $VO_2$  de las Zoeas III y las distintas concentraciones de oxígeno en el medio circundante ( $R^2 = 0,60$ ;  $p < 0,05$ ) (Fig. 9).

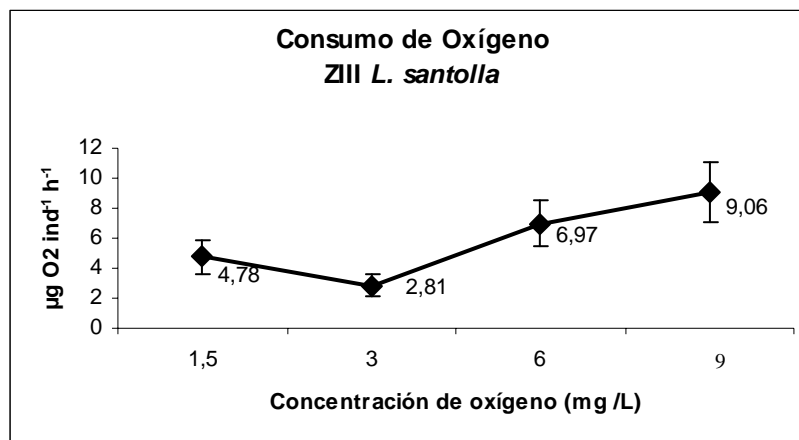


Figura 9: Consumo de oxígeno de los individuos ZIII a las distintas concentraciones ensayadas.

#### 4.1.4 Megalopa

En esta fase del desarrollo se hacen más evidentes las similitudes del  $VO_2$  a cualquiera de los dos niveles más bajos de oxígeno en el medio ( $1,5$  y  $3 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ ) y las diferencias entre estos y los valores de  $VO_2$  logrados por las larvas acondicionadas en los dos niveles superiores:  $6$  y  $9 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$  (Fig. 10). Entre estos últimos también presentan diferencias significativas (ANOVA,  $F = 24,9$ ;  $p < 0,05$ ), dados los valores de tasa metabólica alcanzados, del orden de:  $5,79 \pm 1,41$  y  $7,22 \pm 2,02 \mu\text{g O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ; respectivamente.

Sigue siendo evidente la relación positiva entre las concentraciones de oxígeno y el  $VO_2$  antes mencionada ( $R^2 = 0,66$ ;  $p < 0,05$ ).

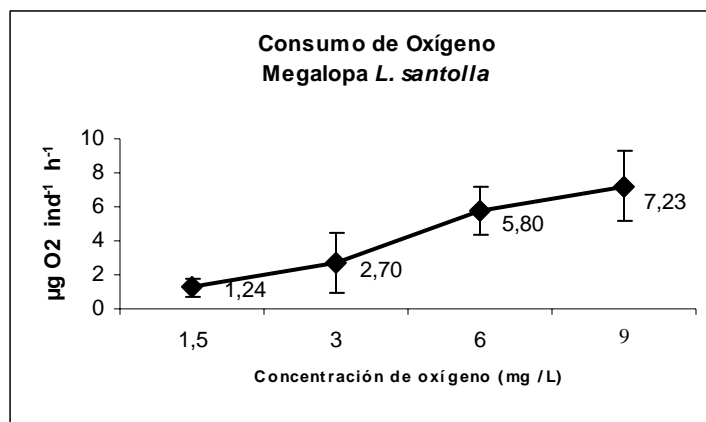


Figura 10: Consumo de oxígeno de los individuos *Megalopa* a las distintas concentraciones ensayadas.

#### 4.1.5 Juvenil

El ANOVA por rangos efectuado muestra diferencias significativas en la tasa metabólica de los juveniles entre los cuatro niveles de oxígeno analizados (Kruskal-Wallis,  $H = 50,64$ ;  $p < 0,05$ ). (Fig. 11)

La relación positiva entre nivel de oxígeno presente en el medio y el  $VO_2$ , que se puso de manifiesto para todos los anteriores estadios larvarios, se evidencia incluso al llegar a juvenil ( $R^2 = 0,82$ ;  $p < 0,05$ ).

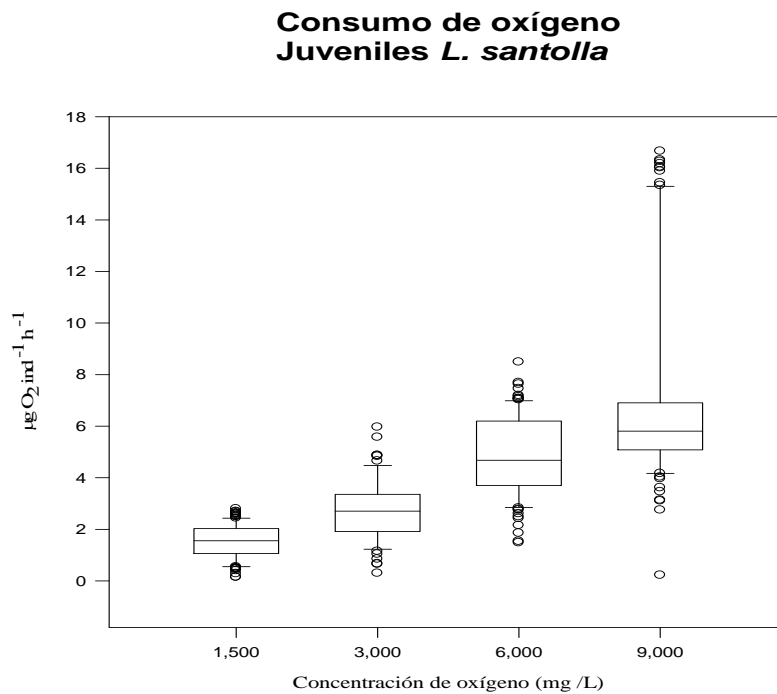


Figura 11: Consumo de oxígeno de los individuos Juvenil a las distintas concentraciones ensayadas.

Gracias a los valores encontrados mediante el coeficiente oxicalorífico podemos observar que en las dos concentraciones más bajas ensayadas las pérdidas de energía por respiración son similares siendo en promedio  $34.8 \pm 13.3 \text{ J ind}^{-1} \text{ día}^{-1}$ , mientras que para las demás concentraciones, los valores van cambiando a medida de que se avanza en el desarrollo; observándose la tendencia de las mayores pérdidas de energía en ZIII para concentraciones de oxígeno en el medio de  $9 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$  seguida por aquellas cultivadas a  $6 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ .

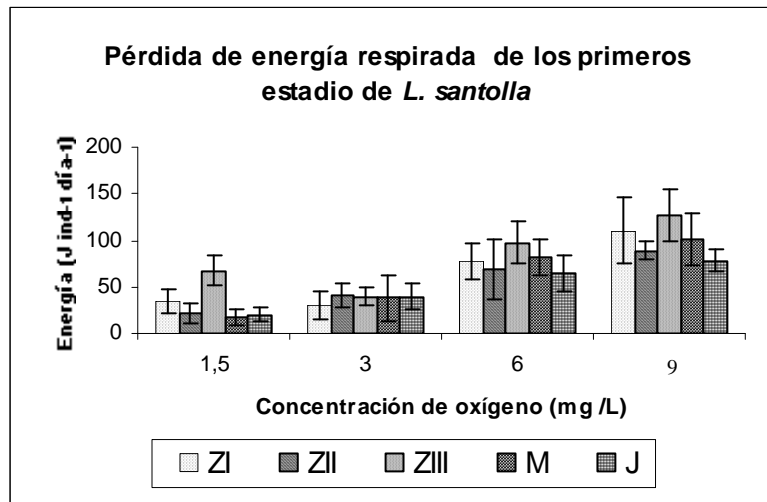


Figura 12: Pérdidas de energía de larvas y primer juvenil de *L. santolla* sometida a diferentes concentraciones de oxígeno disponible.

Para determinar el efecto que tuvo la concentración de oxígeno sobre el  $VO_2$  se compararon las pendientes obtenidas para cada estadio. La tabla 1 muestra las ecuaciones lineales encontradas, las mayores pendientes se determinaron en los estadios marcados con la letra a y estos fueron significativamente menores a aquellos marcados con la letra b, así, el estadio Megalopa tuvo la menor pendiente y esta fue semejante solo con ZII.

En aquellas ecuaciones donde las pendientes eran semejantes se compararon los interceptos, para saber si hablamos de las mismas ecuaciones y poder así definir si los consumos entre estadios se comportan de manera similar. Como resultado de esto, se obtuvo que todos los interceptos evaluados eran estadísticamente diferentes.

Estadio	Ecuación lineal
ZI	$Y=0.674X + 1.11$ a
ZII	$Y=0.574X + 0.62$ ab
ZIII	$Y=0.624X + 2.80$ a
M	$Y=0.507X + 1.84$ b
J	$Y=0.633X + 0.95$ a

Tabla 1: Ecuaciones lineales para concentración de oxígeno versus el  $VO_2$  para cada estadio en estudio.

## 4.2 Tiempo de desarrollo

Se entiende por tiempo de desarrollo, el número promedio de días necesarios para que los individuos de un estadio logren mudar (ecdisis), con lo cual se considera que han iniciado la siguiente fase del ciclo vital.

La fase de juvenil no registró mudas en ninguno de los niveles de saturación de oxígeno.

En los tratamientos con  $1,5 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ , ningún estadio de desarrollo desde Zoea I a Juvenil alcanzó la muda.

A una concentración de  $3 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ , solo los estadios Zoea I y Zoea II presentaron mudas, no obstante, el intervalo de tiempo necesario para mudar no fue distinto a los requeridos en condiciones con mayor saturación de oxígeno ( $6$  y  $9 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ ) para estas mismas larvas. Al resto de los estadios, esta concentración de oxígeno no les permitió sobrevivir lo necesario para mudar.



En los tratamientos con 6 y 9 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, dentro de cada estadio, se registró un tiempo de desarrollo similar. (Fig. 13).

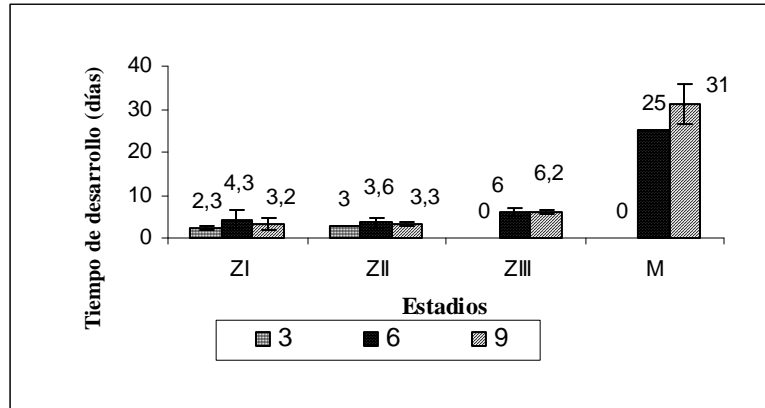


Figura 13: Tiempo de desarrollo estimado para los distintos estadios sometidos a los niveles de oxígeno experimentados.

### 4.3 Dosis letal 50 (DL<sub>50</sub>)

El análisis determinó que se presentan diferencias significativas entre los distintos estadios (ANOVA F = 6,75; p < 0,01) (Tabla2).

Estadio	DL <sub>50</sub>
ZI	6.24 ± 0.540 <sup>a</sup>
ZII	5.38 ± 0.200 <sup>c</sup>
ZIII	6.00 ± 0.001 <sup>ab</sup>
M	5.69 ± 0.003 <sup>bc</sup>

Tabla 2: Distintos valores de Dosis Letal 50. No se incluyen individuos juveniles debido a la nula supervivencia alcanzada. Los superíndices indican la magnitud de la respuesta en orden alfabético. Los estadios que no comparten letra presentan diferencias significativas.

En general el rango en que el 50% de los animales en experimentación mueren, va de 5,38 a 6,24 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (Fig. 14). Estos valores son de similar magnitud al tercer nivel utilizado en este experimento (6 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> ≈ 55 % saturación de oxígeno).

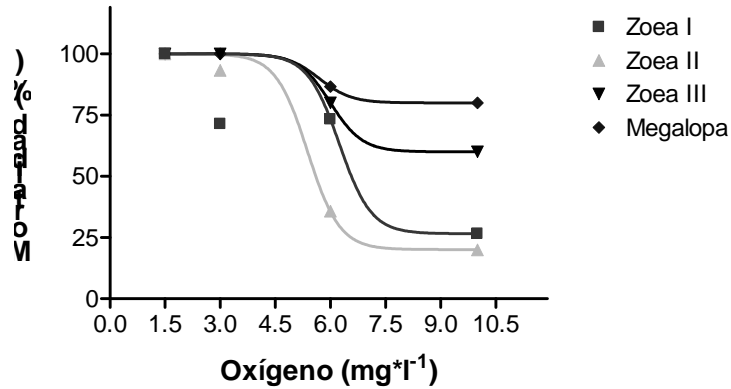


Figura 14: Curvas representativas de la Dosis Letal 50 para los distintos estadios.

#### 4.4 Supervivencia

Si bien ninguno de los individuos del estadio Juvenil sobrevivió bajo los distintos niveles de oxígeno experimentados, lograron continuar en el cultivo durante un tiempo considerable, llegando incluso a los 21 días de cultivo en aquellos mantenidos a 6 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (Fig. 15).

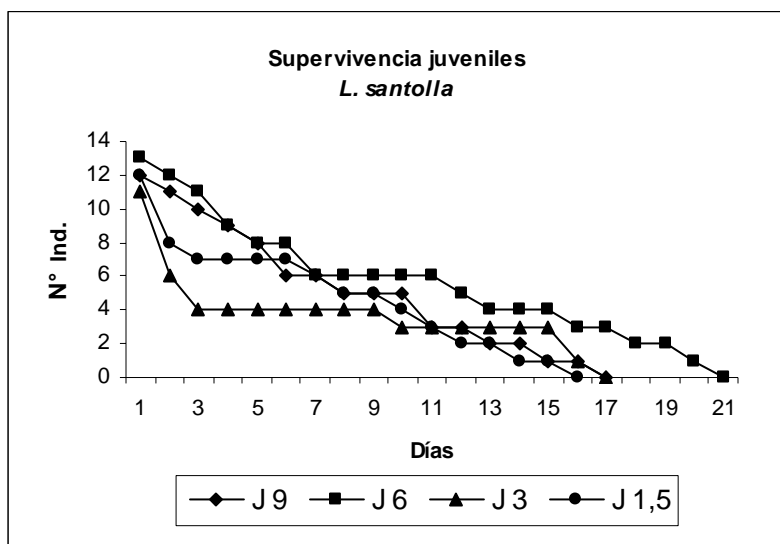


Figura 15: Días en que permanecieron en cultivo individuos juveniles a los distintos niveles de oxígeno. Los rótulos corresponden a J 9 = Juvenil a 9 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>; J 6 = Juvenil a 6 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>; J 3 = Juvenil a 3 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> y J 1,5 = Juvenil a 1,5 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>.

Las supervivencia puede ser clasificada o categorizada en dos grupos:  $S < 27$  (bajas) y  $S \geq 27$  (alta), donde  $S$  es el porcentaje de supervivencia.

(Tabla de contingencia,  $\chi^2 = 30,1$ ; g.l.  $S < 27 = 24,8$ ; g.l.  $S \geq 27 = 16,8$ )

En todos aquellos organismos sometidos a una concentración del medio de cultivo de 1,5 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> la supervivencia fue nula, independientemente de la etapa de desarrollo.

Como se muestra en la figura 16, el único estadio que logró altas supervivencias en todos los restantes niveles de saturación de oxígeno, fue ZI.

En cuanto a ZII, solo logró bajas supervivencias al nivel de  $3 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ , mientras que el nivel de alta supervivencia en ZIII solo fue observado en los individuos mantenidos a concentraciones de  $9 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ . (Tabla 13)

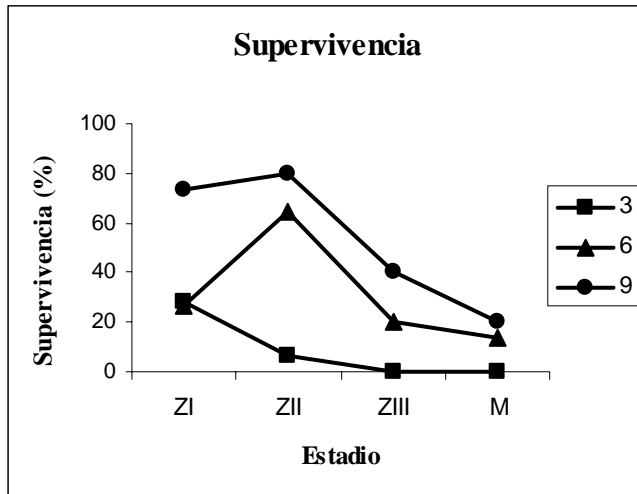


Figura 16: Supervivencias alcanzadas por los individuos de los distintos estadios en estudio.

## 5. DISCUSIÓN

Una manera típica en que las larvas de crustáceos decápodos responden a bajas concentraciones de oxígeno, es mediante un decrecimiento de su tasa respiratoria cuando decrece la presión parcial de este gas. Esto coincide con la definición de oxiconformismo, de acuerdo a Anger (2001). Tal respuesta ha sido demostrada para Cangrejo Rey *Paralithodes camtschaticus* (Nakanishi, 1987), Langosta Espinosa (*Panulirus interruptus*), y el Cangrejo braquiuro *Cancer productus* (Belman & Childress, 1973). Para la totalidad de los estadios larvarios y primer juvenil en *L. santolla* esto es ratificado, en esta experiencia, por las regresiones positivas obtenidas entre las concentraciones de oxígeno ensayadas y el  $VO_2$ . La confirmación se efectúa con el análisis de las pendientes en donde todos los estadios presentan conductas oxiconformistas de acuerdo a sus pendientes positivas. La única diferencia lo marca el estadio Megalopa quien posee una pendiente significativamente menor, solo comparable con ZII, indicando que este estadio presenta un grado de oxiconformismo menor debido que su variación en el consumo de  $O_2$  se ve menos alterada por la concentración de este en el medio circundante.

En las larvas nadadoras de *L. santolla*, desde Zoea I hasta Zoea III, sometidas a condiciones de saturación de oxígeno menor a  $6 \text{ mg } O_2 \text{ L}^{-1}$ , el consumo de oxígeno se mantiene constante dado que los animales habrían reducido su metabolismo a niveles basales. Lo anterior se deduce del comportamiento anormal en las zoeas de tales tratamientos: escasa actividad natatoria y muy poca motilidad frente estímulos como los recambios de agua del sistema.

En la fase de Megalopa, aparecen diferencias entre las tasas metabólicas de estas al ser expuestas a las dos mayores concentraciones de oxígeno ensayadas. Esto no sucedió en las fases de Zoea. Presumiblemente tal diferencia se deba a que en la fase de Megalopa hay cambios conductuales. Este descenso también es reportado por Anger (1996) para *L. maja*.

En el estadio Juvenil, sin embargo, es cuando el oxiconformismo se pone de manifiesto, pues las tasas respiratorias para todo nivel de oxígeno disponible ensayado son diferentes estadísticamente. El oxiconformismo de esta fase bentónica, se encuentra posiblemente asociado a las condiciones de este gas presentes en el propio bentos ya que después de la metamorfosis a juvenil pierden la capacidad natatoria que otorgaban los pleópodos a la Megalopa; reduciendo sus posibilidades de movimiento a solo desplazarse caminando con los períopodos por el fondo. Probablemente frente a esto los juveniles deban asumir cierta plasticidad a la dinámica del nivel de oxígeno, adoptando como estrategia el oxiconformismo.

Al observar las pérdidas de energía asociadas a la respiración, en condiciones de oxígeno mayor o igual los 6 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, existe una tendencia creciente desde Zoea I hasta Zoea III para seguir con un descenso hasta Juvenil (forma campana). Esta tendencia ya ha sido reportada como una caída en el QO<sub>2</sub> en *Lithodes maja* (Anger, 1996) y en el VO<sub>2</sub> en *L. santolla* (Escobar, 2003) para la transición de ZIII a Megalopa (ambas lecitotróficas). Las zoeas de decápodos anomuros nadan exclusivamente con los exópodos de los maxilípedos, luego de la muda de Zoea III a Megalopa, los maxilípedos se transforman en piezas bucales (Anger, 2001) inactivas por la lecitotrofia. Este tipo de cambios morfológico – conductuales debidos al

cambio de estilo de vida del pélagos al bentos, resultan en una caída importante del metabolismo.

Especial mención merecen todos los estadios mantenidos en condiciones menores o iguales a  $3 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ , pues la mencionada campana no se mantiene. Las bajas pérdidas de energía registradas en estas condiciones extremas de suboxia permiten especular que estamos frente a valores cercanos al metabolismo basal, para todas las fases del desarrollo larvario estudiadas, sin embargo, es necesaria mayor investigación al respecto.

En lo concerniente a la supervivencia de los distintos estadios larvarios, vemos que dentro de los porcentajes más altos estuvieron los obtenidos por la primera fase: Zoea I. En el presente estudio, dicha larva es la única que posee supervivencias estadísticamente mayores en tres de las cuatro concentraciones de oxígeno ensayadas ( $3, 6$  y  $9 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ ). Esto difiere de lo descrito por Hoffman en *Paralithodes platypus* (1968) y en *Lithodes santolla* por Campodonico (1971) y Escobar (2003), dado que estos autores registraron las mayores mortalidades desde la eclosión a la metamorfosis en esta misma fase.

Los resultados de sobrevivencia obtenidos para el resto de los estadios larvarios pelágicos, son concomitantes con lo discutido previamente para  $\text{VO}_2$  y pérdidas de energía asociada a la respiración, a consecuencia de esto, los individuos de Zoea II tienen mayor metabolismo al ser comparados con los de Zoea I, es decir, mayores pérdidas energéticas por concepto de transformar, transportar y depositar el combustible de valor fisiológico o energía metabolizable, esto se evidencia en que Zoea II ya no presenta altas supervivencias a los

3 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> y más aún en Zoea III, donde las altas supervivencias solo se encontraron en aquellos individuos mantenidos en concentraciones de 9 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>.

Los restantes tratamientos de Zoea II y Megalopa mantenidas 3 y 6 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (incluso a 9 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> para esta última) obtuvieron bajas o nulas supervivencias.

En todos los tratamientos la fase Juvenil, si bien murieron de inanición al no ser provistos de alimentación exógena, aún así sobrevivieron desde 17 días a 3 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> hasta 22 días a 6 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, demostrando gran resistencia al ayuno y tolerancia a bajas concentraciones de oxígeno. Esto mantiene estrecha relación con que en los estadios larvarios de *Lithodes santolla*, la cantidad de carbono que inicialmente es de alrededor de la mitad del peso seco de Zoea I, decrece como una función exponencial del tiempo de desarrollo hasta Juvenil, en un 61%. El uso de proteína en el mismo período es de un 40%. Las larvas de esta especie utilizan principalmente como sustrato energético ácidos grasos vitelinos, la mayor parte triglicéridos y fosfolípidos. Los principales ácidos grasos son: el Oleico 18:1(n-9), EPA 20:5(n-3), Palmítico 16:0 y en menores proporciones 18:1(n-7), DHA 22:6(n-3), Palmitoleico 16:1(n-7) y Esteárico 18:0. Estos ácidos grasos disminuyeron en un 60% desde la eclosión a la Megalopa tardía (Kattner *et al*, 2003). Todo esto implica que luego de la metamorfosis a Juvenil, aunque el sistema digestivo está preparado para la primera alimentación; los individuos aún cuentan con remanentes importantes de reservas vitelinas. Según Calgano *et al* (2003) la eclosión de larvas en estas regiones se produce en invierno - primavera, la metamorfosis a juvenil se encontraría en el periodo cercano a verano, en donde la disponibilidad de alimento planctónico se presenta como pulsos por lo que los individuos



juveniles de esta especie mantendrían reservas vitelinas como adaptación a la variación en la productividad. (Anger, 1996).

El análisis de la Dosis Letal 50 (DL<sub>50</sub>), revela que la concentración de oxígeno del medio a la cual muere la mitad del cultivo de cualquier fase larvaria ensayada, se encuentra en un rango de valores de DL<sub>50</sub> va desde  $5.38 \pm 0.2 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$  a  $6.24 \pm 0.5 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ , los cuales son considerablemente mayores que los valores de oxígeno reportados para el Seno del Reloncaví (Silva, 1995), lugar de origen de la población de hembras ovígeras de las cuales se obtuvieron las larvas del presente estudio., sin embargo, no hay información del lugar donde ocurre el desarrollo larval en la naturaleza podría ocurrir al fondo, en aguas pobres de oxígeno.

Referente al tiempo de desarrollo, aún cuando las larvas vean disminuida en un 50% su población a dichas concentraciones de oxígeno y Zoea II tenga mayor metabolismo que Zoea I, como ya se discutió previamente, resulta interesante resaltar que ambas logran desarrollarse a  $3 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$  en un tiempo similar que a 6 o 9  $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ . Como posible explicación a la ecdisis alcanzada a  $3 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ , está la acción de la enzima LDH (Lactato dehidrogenasa) que actúa en la reducción de piruvato anaeróbicamente bajo condiciones de hipoxia. Según Yannicelli (2005) quien investigó la presencia de esta enzima en *Pleuroncodes monodon*, la acción de la LDH dura un tiempo limitado (quizás solo hasta ZII), sin embargo, permite obtener energía frente a bajas concentraciones de oxígeno. Lamentablemente en el trabajo de Yannicelli, las concentraciones de LDH no fueron expresadas por unidad de peso seco de animal, por lo que nos queda la duda, si los organismos mantenidos en condiciones de hipoxia generan mayores

cantidades de esta enzima. Resultaría interesante evaluar la presencia y actividad de esta enzima durante la fase larval de *L. santolla*.

En cuanto a Zoea III y Megalopa, las bajas supervivencias a concentraciones menores o iguales a 3 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, resultaron en nulos registros de desarrollo, mientras que a 6 y 9 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> no hubo diferencias en los tiempos necesarios para metamorfosear a la siguiente fase.

## 6. CONCLUSIONES

- ☞ La disminución en la tasa respiratoria a medida que disminuye la concentración de oxígeno indica que los estadios tempranos en el ciclo de vida de *L. santolla* desarrollan un oxiconformismo cada vez más evidente mientras que avanza en el desarrollo.
  
- ☞ La Dosis Letal 50 se encuentra en un rango de 5.38 - 6.24  $mg O_2 / L$ , bajo este valor las supervivencias son escasas o nulas.
  
- ☞ Los tiempos de desarrollo, no se ven afectados cuando se mantienen larvas por sobre la DL50.
  
- ☞ El oxígeno no influye en el tiempo de desarrollo pero si en la supervivencia. Las etapas larvales de *L. santolla* pueden desarrollarse en concentraciones de oxígeno que parten desde la dosis letal 50 ( $\approx 6 mg O_2 / L$ ), concentración que es encontrada en hábitat natural de estos individuos. Si aplicamos esto a un cultivo podríamos decir que se puede determinar el momento de la salida de un batch aún cuando la disponibilidad del oxígeno se acerque a valores peligrosos como es el caso de 6  $mg O_2 / L$ , en donde lo que se sacrifica es el número de individuos obtenidos por lo que debemos mantener un mayor stock larval.

Los efectos significativos se muestran en rojo.

Tabla 3: Resumen del análisis estadístico para el **Consumo de oxígeno** de ZI. (Los efectos significativos se muestran en rojo,  $p < 0.05$ )

Prueba de normalidad, test de Shapiro-Wilk.

	N	W	p
ZI	15	0,910639229	0,138500712

Test de homogeneidad de varianzas (Brown-Forsythe)

	SS	df	MS	SS	df	MS		
	Effect	Effect	Effect	Error	Error	Error	F	p
ZI	1,37196741	3	0,45732247	22,3679458	11	2,03344962	0,22489983	0,87711151

Análisis de varianza.

	SS	df	MS	SS	df	MS		
	Effect	Effect	Effect	Error	Error	Error	F	p
ZI	83,9298225	3	27,97660749	30,08540577	11	2,73503689	10,228969	0,00163402

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

	1,5	3	6	9
	M=2.4528	M=2.1225	M=5.5090	M=7.9097
1,5		0,99462	0,095913848	0,003390721
3	0,99461668		0,113569664	0,006126301
6	0,09591385	0,11357		0,227547969
9	0,00339072	0,00613	0,227547969	

Tabla 4: Resumen del análisis estadístico para el **Consumo de oxígeno** de ZII. (Los efectos significativos se muestran en rojo,  $p < 0.05$ )

**Análisis de varianza, Kruskal-Wallis.**

H ( 3, N= 23) = 14,9 p =,0019		Valid	Sum of
Code	N	Ranks	
Group 1	1	6	27
Group 2	3	4	36
Group 3	6	5	68
Group 4	10	8	145

**Prueba de comparaciones múltiples de Tukey.**

	1,5	3	6	9
M=1,5254		M=2,9733	M=4,8846	M=6,3412
1,5		0,3970756	0,0027662	0,00019003
3	0,3970756		0,18113125	0,00699123
6	0,0027662	0,18113125		0,29917668
9	0,00019003	0,00699123	0,29917668	

Tabla 5: Resumen del análisis estadístico para el **Consumo de oxígeno** de ZIII. (Los efectos significativos se muestran en rojo,  $p < 0.05$ )

Prueba de normalidad, test de Shapiro-Wilk.

	N	W	p
ZIII	17	0,97040297	0,82547242

Test de homogeneidad de varianzas (Brown-Forsythe)

	SS	df	MS	SS	df	MS		
	Effect	Effect	Effect	Error	Error	Error	F	p
ZIII	1,85251544	3	0,61750515	14,1937451	13	1,09182655	0,56557074	0,64730108

Análisis de varianza.

	SS	df	MS	SS	df	MS		
	Effect	Effect	Effect	Error	Error	Error	F	p
ZIII	100,732271	3	33,5774237	32,388127	13	2,49139438	13,4773619	0,00027617

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

	1,5	3	6	9
	M=4,7763	M=2,8126	M=6,9715	M=9,0595
1,5		0,61169334	0,52635187	0,07399692
3	0,61169334		0,01199651	0,00061827
6	0,52635187	0,01199651		0,20676006
9	0,07399692	0,00061827	0,20676006	

Tabla 6: Resumen del análisis estadístico para el **Consumo de oxígeno** de Megalopa.

(Los efectos significativos se muestran en rojo,  $p < 0.05$ )

Prueba de normalidad, test de Shapiro-Wilk.

	N	W	p
M	67	0,97113888	0,12110467

Test de homogeneidad de varianzas (Brown-Forsythe)

	SS	df	MS	SS	df	MS		
	Effect	Effect	Effect	Error	Error	Error	F	p
M	7,93886698	3	2,64628899	72,155795	63	1,14533008	2,31050335	0,084769979

Análisis de varianza.

	SS	df	MS	SS	df	MS		
	Effect	Effect	Effect	Error	Error	Error	F	p
M	228,482094	3	76,160698	192,662547	63	3,05813567	24,9042901	9,57187E-11

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

	1,5	3	6	9
	M=1,2421	M=2,6979	M=5,7965	M=7,2286
1,5		0,55623039	0,00076376	0,0001581
3	0,55623039		0,01639241	0,00031683
6	0,00076376	0,01639241		0,03552962
9	0,0001581	0,00031683	0,03552962	

Tabla 7: Resumen del análisis estadístico para el **Consumo de oxígeno** de Juvenil.

(Los efectos significativos se muestran en rojo,  $p < 0.05$ )

**Análisis de varianza, Kruskal-Wallis.**

H ( 3, N= 68) = 50,6 p =,0000		Valid	Sum of
	Code	N	Ranks
Group 1	1	19	221
Group 2	3	15	417
Group 3	6	19	874
Group 4	10	15	834

**Prueba de comparaciones múltiples de Tukey.**

	1,5	3	6	9
	M=1,4569	M=2,8293	M=4,6100	M=5,5628
1,5		0,00178351	0,00015342	0,00015342
3	0,00178351		0,00017933	0,00015342
6	0,00015342	0,00017933		0,04812561
9	0,00015342	0,00015342	0,04812561	



Tabla 8: Resumen del análisis estadístico del **Tiempo de desarrollo de ZI**.

ZI			
Normality Test:	Passed	(P = 0.0984)	
Equal Variance Test:	Passed	(P = 0.3140)	
Group	N	Missing	
9.00	11	0	
6.00	4	0	
3.00	4	0	
Group	Mean	Std Dev	SEM
9.00	3.18	1.401	0.423
6.00	4.25	2.062	1.031
3.00	2.25	0.500	0.250
Power of performed test with alpha = 0.0500: 0.1776			
The power of the performed test (0.1776) is below the desired power of 0.8000.			
Source of Variance	DF	SS	MS
Between Treatments	2	8.02	4.01
Residual	16	33.14	2.07
Total	18	41.16	
Source of Variance	F	P	
Between Treatments	1.94	0.1765	
Residual			
Total			
(P = 0.177).			

Tabla 9: Resumen del análisis estadístico del **Tiempo de desarrollo de ZII.**

ZII			
Normality Test:	Failed	(P = 0.0019)	
Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun			
Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks			
Group	N	Missing	
9.00	11	0	
6.00	9	0	
3.00	1	0	
Group	Median	25%	75%
9.00	3.00	3.00	4.00
6.00	4.00	3.50	4.00
3.00	3.00	3.00	3.00
H = 2.22 with 2 degrees of freedom. (P = 0.3296)			
(P = 0.330)			

Tabla 10: Resumen del análisis estadístico del **Tiempo de desarrollo** de ZIII.

ZIII			
Normality Test:	Failed	(P = 0.0330)	
Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun			
Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks			
Group	N	Missing	
9.00	6	0	
6.00	3	0	
Group	Median	25%	75%
9.00	6.00	6.00	6.00
6.00	6.00	5.25	6.75
H = 0.0952 with 1 degrees of freedom. P(est.)= 0.7576 P(exact)= 0.9048			
(P = 0.905)			

Tabla 11: Resumen del análisis estadístico del **Tiempo de desarrollo** de Megalopa.

Group	Mean	N	Missing
9.00	31.0	3	0
6.00	25.0	2	0

Group	Mean	Std Dev	SEM
9.00	31.0	4.58	2.65
6.00	25.0	0.00	0.00

Power of performed test with alpha = 0.0500: 0.1758

The power of the performed test (0.1758) is below the desired power of 0.8000.

Source of Variance	DF	SS	MS
Between Treatments	1	43.2	43.2
Residual	3	42.0	14.0
Total	4	85.2	

Source of Variance	F	P
Between Treatments	3.09	0.1772
Residual		
Total		

(P = 0.177).

Tabla 12: Resumen del análisis estadístico de **Dosis Letal 50 (DL50)**

One way Analysis of Variance			
Group	N	Missing	
Row 1	4	0	
Row 2	4	0	
Row 3	4	0	
Row 4	4	0	
Group	Mean	Std Dev	SEM
Row 1	6.24	0.540	0.2700
Row 2	5.38	0.200	0.1000
Row 3	6.00	0.001	0.0005
Row 4	5.69	0.003	0.0015
Power of performed test with alpha=0.05: 0.8577			
Source of Variance	DF	SS	MS
Between Treatments	3	1.680	0.5600
Residual	12	0.995	0.0829
Total	15	2.675	
Source of Variance	F	P	
Between Treatments	6.75	0.0064	
Residual			
Total			
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Student-Newman-Keuls Method):			
Comparison	Diff of Means	p	q
Row 1 vs Row 2	0.861		4 5.98
Row 1 vs Row 4	0.550		3 3.82
Row 1 vs Row 3	0.240		2 1.67
Row 3 vs Row 2	0.621		3 4.31
Row 3 vs Row 4	0.310		2 2.15
Row 4 vs Row 2	0.311		2 2.16
Comparison	p<0.05		
Row 1 vs Row 2	Yes		
Row 1 vs Row 4	Yes		
Row 1 vs Row 3	No		
Row 3 vs Row 2	Yes		
Row 3 vs Row 4	No		
Row 4 vs Row 2	No		

Tabla 13: Resumen del análisis estadístico de la **Supervivencia** (Tabla de contingencia)

trat	sobrev	muerto	total	flnf	lnt	lnt	nlnt
ZI 1	0	15	15	728,4753828	1529,278114	790,3713579	1670,972452
ZI3	4	10	14				
ZI 6	4	11	15				
ZI 9	11	4	15				
ZII 1	0	15	15				
ZII 3	1	14	15				
ZII 6	9	5	14				
ZII 9	12	3	15				
ZIII 1	0	14	14				
ZIII 3	0	15	15				
ZIII 6	3	12	15				
ZIII 9	6	9	15				
M 1	0	14	14				
M 3	0	15	15				
M 6	2	13	15				
M 9	3	12	15				
J 1	0	15	15				
J 3	0	14	14				
J 6	0	15	15				
J 9	0	14	14				
				gh	159,5967248	X2(0,05;19)=30,1	
	55	239	294				

trat	sobrev	muerto	total	flnf	lnt	lnt	nln
ZI 1	0	15	15	529,4186005	1060,566156	553,9947406	1097,542491
ZII 1	0	15	15				
ZIII 1	0	14	14				
ZIII 3	0	15	15				
M 1	0	14	14				
M 3	0	15	15				
J 1	0	15	15				
J 3	0	14	14				
J 6	0	15	15				
J 9	0	14	14				
ZII 3	1	14	15				
M 6	2	13	15				
ZIII 6	3	12	15				
M 9	3	12	15		gh	24,80038979	
					al comparar	contra $x^2=30,1$	
	<b>9</b>	<b>197</b>	<b>206</b>			son iguales	

trat	sobrev	muerto	total	flnf	lnt	lnt	nln
ZI 6	4	11	15	183,8775847	333,0996282	236,3766173	394,0056397
ZI 3	4	10	14				
ZIII 9	6	9	15				
ZII 6	9	5	14				
ZI 9	11	4	15				
ZII 9	12	3	15	gh	16,81395774		
					al comparar contra $x^2=30,1$		
	<b>46</b>	<b>42</b>	<b>88</b>		son iguales		

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- ☞ Anger, K. 1996 b. Physiological and biochemical changes during lecithotrophic larval development and early juvenile growth in the northern stone crab, *Lithodes maja* (Decapoda: Anomura). Mar. Biol. 126: 283-296.
- ☞ Anger, K. 2001. The Biology of Decapod Crustacean larvae, (Crustacean Issues 14). CRC. Inglaterra. 300 p.
- ☞ Bayne, B.L., D.A. Brown, K. Burns, D.R. Dixon, A. Ivanovici, 1985. The effects of stress & pollution on marine animals. Praeger, U.S.A. 384 p.
- ☞ Belman, B.W. & J.J. Childress. 1973. Oxygen consumption of the larvae of the lobster *Panulirus interruptus* (Randall) and the crab *Cancer productus* (Randall). Comp. Biochem. Physiol. 44: 821-828.
- ☞ Calcagno, J.A., S. Thatje, K. Anger, G.A. Lovrich & A. Kaffenberger. 2003. Changes in biomass and chemical composition during lecithotrophic larval development of the Southern stone crabs, *Paralomis granulosa* (Jacquinot). Mar. Ecol. Prog. Ser. 257:189-196.
- ☞ Calcagno, J.A., K. Anger, G.A. Lovrich, S. Thatje & A. Kaffenberger. 2004. Larval development of the subantarctic king crabs *Lithodes santolla* and *Paralomis granulosa* reared in the laboratory. Helgol. Mar. Res. 58:11-14.
- ☞ Campodónico, G.I. 1971. Desarrollo larval de la centolla *Lithodes antarctica* Jacquinot en condiciones de laboratorio (Crustácea Decapoda, Anomura: Lithodidae). Anales Inst. Patagonia Punta Arenas 2: 181-190.
- ☞ Campodónico, I. y L. Guzmán .1981. Larval development of *Paralomis granulosa* (Jacquinot) Under laboratory conditions. (Decapoda, Anomura, Lithodidae). Crustaceana, 40:272-285.
- ☞ Coll, J. 1991. Acuicultura marina animal. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. 670 p.
- ☞ Escobar, H. 2003. Desarrollo de condiciones de cultivo larvario de la centolla *Lithodes santolla* (Molina, 1782) (Decapoda, Lithodidae): Efecto en la sobrevivencia, fisiología y comportamiento natatorio. Tesis, Inst. Acuicultura, Fac. Pesquerías y Oceanografía, Univ. Austral de Chile, 89 p.
- ☞ Hoffman, E.G. 1968. Description of laboratory-reared larvae of *Paralithodes platypus* (Decapoda, Anomura, Lithodidae), J. Fish Res. Board Can. 25:439-455.



- ☞ Iglesias, J., F. J. Sánchez, C. Moxica, L. Fuentes, J. J. Otero y J. L. Pérez. 2002. Datos preliminares sobre el cultivo de larvas y juveniles de centolla *Maja squinado* Herbst, 1788 en el Centro Oceanográfico de Vigo del Instituto Español de Oceanografía. Bol. Inst. Esp. Oceanogr. 18 (1-4): 25-30
- ☞ Kattner, G., M. Graeve, J.A. Calcagno, G.A. Lovrich, S. Thatje & K. Anger. 2003. Lipid, fatty acid and protein utilization during lecithotrophic larval development of *Lithodes santolla* (Molina) and *Paralomis granulosa* (Jacquinot). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 292: 61-74.
- ☞ Lee, D. & J. Wickins. 1997. Cultivo de crustáceos. Acribia, S.A. Zaragoza-España. 449 p.
- ☞ Lovrich, G. 1997. La pesquería mixta de las centollas *Lithodes santolla* y *Paralomis granulosa* (Anomura: Lithodidae) en Tierra del Fuego, Argentina Invest. Mar. 25: 41-57.
- ☞ McLaughlin P. A., K. Anger, A. Kaffenberger & G. Lovrich. 2001. Megalopal and early juvenile development in *Lithodes santolla* (Molina, 1782) (decapoda: Anomura: Paguroidea: Lithodidae), with notes on zonal variations. Invert. Reprod. Develop., 40: 53-67.
- ☞ Lovrich, G. A., S. Thatje, J. Calcagno, K. Anger & A. Kaffenberger. 2003. Changes in biomass and chemical composition during lecithotrophic larval development of the southern king crab, *Lithodes santolla* (Molina). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 288: 65-79.
- ☞ Nakanishi, T. 1987. Rearing condition of eggs, larvae and post-larvae of king crab. Bull. Jap. Sea Reg. Fish. Res. Lab. 37: 57-161.
- ☞ Paul, A.J., J.M. Paul. 1980. The effect of early starvation on later feeding success of king crab zoeae. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 44: 247-251.
- ☞ Ruppert, E. & R. Barnes. 1996. Zoología de los Invertebrados. 6ta. ed. McGraw-Hill Interamericana, España. 1120 p.
- ☞ SERNAPESCA. 1997. Régimen de acceso, veda biológica y tamaños mínimos que regulan la extracción de los principales recursos pesqueros del país. Ministerio de Economía y Reconstrucción. Chile.
- ☞ Silva, N., C. Calvete. 1995. Distribución de oxígeno disuelto, nutrientes, pH y alcalinidad total en las aguas de la zona de los canales entre Puerto Montt y laguna San Rafael y su asociación con la presencia de la constricción batimétrica de isla Meninea, en el canal Moraleda. Crucero Cimar-Fiordo 1. Informes preliminares. Cona 31-37.
- ☞ Thatje, S., J. Calcagno, G. A Lovrich, F. J. Sartoris & K. Anger. 2003. Extended hatching periods in the subantarctic lithodid crabs *Lithodes santolla* and *Paralomis granulosa* (Crustacea: Decapoda: Lithodidae).

Helgol. Mar. Res. 57:110-113.

- ☞ Vinuesa, J. H. 2005. Distribución de crustáceos decápodos y estomatópodos del golfo San Jorge, Argentina. *Rev. Biol. Mar. Oceanog.* 40(1): 7-21.
- ☞ Yannicelli, B. 2005. Distribución y transporte de larvas de crustáceos decápodos en la zona de surgencia costera de Chile: interacciones entre el comportamiento, tolerancias fisiológicas y períodos de liberación. Tesis, Esc de graduados, Univ. Concepción.
- ☞ Zar, J. H. 1984. *Biostatistical Analysis*. 2nd edition, Prentice Hall, New Jersey. U.S.A. 718 p.