

Tesis Doctoral

Biología de los estadios juveniles tempranos de *Lithodes santolla* del Canal Beagle, Ushuaia, Tierra del Fuego

Sotelano, María Paula

2012

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Sotelano, María Paula. (2012). Biología de los estadios juveniles tempranos de *Lithodes santolla* del Canal Beagle, Ushuaia, Tierra del Fuego. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Sotelano, María Paula. "Biología de los estadios juveniles tempranos de *Lithodes santolla* del Canal Beagle, Ushuaia, Tierra del Fuego". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2012.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

**Biología de los estadios juveniles tempranos de *Lithodes santolla* del Canal
Beagle, Ushuaia, Tierra del Fuego.**

Tesis para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el Área CIENCIAS
BIOLÓGICAS

Lic. María Paula Sotelano

Director de Tesis: Dr. Gustavo Alejandro Lovrich

Director Asistente de Tesis: Dr. Federico Tapella

Consejera de Estudios: Dra. Laura López Greco

Lugar de trabajo: Centro Austral de Investigaciones Científicas (CADIC-CONICET), Ushuaia,
Tierra del Fuego.

Buenos Aires, 2012

CONTENIDOS

Resumen	6
Abstract	7
Agradecimientos	8
Dedicatoria	10
Capítulo 1 – Introducción general	11
Centolla, recurso de importancia mundial y regional.....	13
Pesquería de centolla en el mundo.....	14
Comienzos y estado actual de la pesquería de centolla en Argentina.....	15
Subsidio poblacional y acuicultura.....	17
<i>Objetivo general de la tesis</i>	20
Figuras y Tablas.....	22
Capítulo 2- Metodología general	25
Sistema de estudio: <i>Lithodes santolla</i>	26
Aspectos biológicos de <i>L. santolla</i> en el Canal Beagle.....	26
Obtención de hembras ovígeras.....	28
Acuario de experimentación.....	29
Obtención y cultivo de larvas hasta Cangrejo 1 (C1).....	30
Figuras y Tablas.....	32
Capítulo 3- Canibalismo durante intermuda	38
Introducción.....	39
Materiales y métodos.....	42

Resultados.....	47
Canibalismo intra-estadio.....	47
Canibalismo inter-estadio.....	48
Canibalismo según las proporciones predador-presa.....	50
Discusión.....	53
Figuras y Tablas.....	59
Capítulo 4- Canibalismo durante la muda.....	66
Introducción.....	67
Materiales y métodos.....	69
Resultados.....	73
Progresión de mudas.....	73
Efecto de la condición de muda y la densidad.....	73
Efecto del estadio y la densidad.....	75
Discusión.....	78
Figuras y Tablas.....	83
Capítulo 5- Canibalismo-mitigación por sustratos naturales y artificiales.....	90
Introducción.....	91
Materiales y métodos.....	94
Resultados.....	100
Sustratos naturales.....	100
Sustratos artificiales.....	103
Discusión.....	107
Figuras y Tablas.....	110
Capítulo 6- Efecto de la dieta en el crecimiento.....	126

Introducción.....	127
Materiales y métodos.....	130
Resultados.....	136
Supervivencia.....	136
Estadios.....	136
Talla.....	137
Período intermuda.....	139
Discusión.....	141
Figuras y Tablas.....	146
Capítulo 7- Efecto materno	167
Introducción.....	168
Materiales y métodos.....	171
Resultados.....	175
Tamaño de huevos.....	175
Contenido energético de huevos.....	175
Tamaño de larvas (ZoeasI).....	175
Tamaño de juveniles (C1 y C2).....	175
Momento de eclosión.....	176
Discusión.....	177
Figuras y Tablas.....	180
Capítulo 8- Consideraciones finales.....	189
Aspectos biológicos.....	185
Contexto y aplicación de la información generada.....	191
<i>Lithodes santolla</i> en cultivo.....	192

Subsidio poblacional en el Canal Beagle.....	194
Anexo 1: Cultivo de <i>Artemia</i> sp para alimentación de cangrejos.....	198
Anexo 2: Contenido energético por calorimetría.....	199
Bibliografía.....	201

Biología de los estadios juveniles tempranos de *Lithodes santolla* del Canal de Beagle, Ushuaia, Tierra del Fuego.

Resumen

La presente tesis profundiza en el conocimiento de la biología y comportamiento de los primeros estadios de juveniles de *L. santolla*, poniendo especial hincapié en el crecimiento y las relaciones intra-específicas (canibalismo) de los individuos de esta especie de alto valor comercial. Se observó que el canibalismo está presente en todos los estadios juveniles de la especie, incluso durante el período intermuda. El canibalismo puede alcanzar hasta el 75 o el 83% cuando coexisten estadios consecutivos o individuos de diferentes cohortes respectivamente. La condición de muda, densidad, disponibilidad de sustrato y/o refugio así como la dieta, influyen sobre el canibalismo y se propone su manipulación para la optimización de la supervivencia de juveniles de centolla en condiciones de cultivos masivos. La optimización de técnicas de cultivo de larvas y juveniles de centolla es altamente necesaria, ya sea para investigación, acuicultura o estrategias de repoblamiento. La información obtenida, conjuntamente con los conocimientos sobre el hábitat de reclutamiento, resultará útil para diagramar las condiciones de un futuro subsidio poblacional de *L. santolla*, cuya pesquería en el Canal Beagle se encuentra actualmente colapsada.

Palabras claves: centolla, larvas, juveniles, subsidio poblacional, pesquerías

**Biology of early juvenile stages of *Lithodes santolla* of the Beagle Channel,
Ushuaia, Tierra del Fuego.**

Summary

This thesis broadens the biological and behavioral knowledge of early juvenile stages of *Lithodes santolla*, emphasizing research on growth and intra-specific relationships (cannibalism) among individuals of this commercially valuable species. Cannibalism was present in all juvenile stages and even during the intermolt period. Cannibalism could cause up to 75 or 83% of animal damage, if consecutive stages or individuals of different cohorts coexisted, respectively. Molt condition, density, substrate and/or refuge availability and diet influenced cannibalism; therefore, its manipulation is proposed to optimize juvenile survival under massive culture conditions. Optimization of larval and juvenile culture techniques is extremely necessary for research, aquaculture or even wild stock enhancement strategies. The information acquired here, together with knowledge about habitats for recruitment, will be useful to design conditions for future *L. santolla* population stocking in the Beagle Channel, as this fishery is currently collapsed.

Key words: king crab, larvae, juveniles, stock enhancement, fishery

Agradecimientos

Al CONICET por darme la posibilidad de realizar esta tesis, financiando mi trabajo.

Al CADIC, que me alojó y me brindó los elementos necesarios para hacer mi doctorado.

Al Dr. Gustavo Lovrich, quien supo guiarme, exigir y no tanto en los momentos justos. Por las tormentas de ideas y las discusiones de trabajo. Por su calidad como investigador y como persona.

Al Dr. Federico Tapella, por trabajar codo a codo conmigo, por las infinitas horas en el galpón. Por las mil y una discusiones de trabajo. Por respetar mi criterio, cuando muchas veces fue distinto al suyo. Por compartir su oficina y por los mates hidratantes tan necesarios en el último año.

A la Dra. Carolina Romero, por ayudarme a resolver muchas dudas estadísticas y por prestarme la oreja en tantas oportunidades, por el día a día en la oficina.

Al Dr. Mariano Diez, compañero y amigo. Por las incontables consultas y charlas sobre trabajo.

A Olga Florentín, por su incansable y generosa ayuda en todas las etapas del trabajo y por cuidar de todos sus becarios.

A mis compañeros de laboratorio, Natasha, María, Clara y Ariel, por su ayuda en muchas ocasiones y por alentar en todo momento.

Al Dr. Daniel Fernandez, por cederme el uso de la lupa en todo momento y permitirme fotografiar cientos de caparazones de cangrejos.

A Ayelén por su ayuda y dedicación en las experiencias.

A Charango por su ayuda y a Jorge Eblin por aportar hembras ovígeras.

A Sonia por su energía positiva.

A Mauricio, por las numerosas idas a buscar centollas, por largas horas en el galpón y en la cámara fría.

A mis compañeros y amigos fueguinos Jimena, Nélica, Alejandro, Christopher, Rosina, Marcela, Luciana, Fernando, Santiago, Claudia, y Laura, por los momentos compartidos en el ámbito laboral y en el otro.

A mis vecinas, María, Lorena y Verónica, por la compañía y buena onda.

A mis concubinas, Lali y Nati. Por hacer todo más fácil, en el momento más difícil, por el aguante.

A Nati, Gabi, Mariano, Romi, y Guille, porque sin uds esta tesis no estaría hoy escrita.

A mis amigas del norte. Sandra, Leticia, Yanina, Inés, Daniela, Guadalupe, Laura y Gabriela. Por lo compartido, por estar, por los reencuentros.

A los Sotelano, por naturaleza o adopción. Por el aliento y la ayuda de cada uno desde su lugar.

A Mariano, por tu ayuda en esta última etapa de impresión y por este año en particular.

A Agustina y Esteban, por abrirme las puertas de su casa y lograr que saliera de la mía.

A mis papás, que fueron los primeros en alentarme para que hiciera aquello que me gusta y estudiara Biología. Por seguir alentándome en todos los ámbitos de la vida.

A Matías.

A mi familia

A mis amigos

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN GENERAL

Las centollas o cangrejos rey (“king crabs” en inglés) se incluyen entre los artrópodos más grandes del mundo. Agrupadas en la familia Lithodidae, las centollas se distribuyen en aguas templado-frías de todo el mundo desde el intermareal hasta los 4.152 m de profundidad.

A continuación, las características biológicas y ecológicas más sobresalientes de la familia Lithodidae, serán presentadas de acuerdo a la revisión que realizara Zacklan (2002):

La familia Lithodidae, está dividida en dos subfamilias (Hapalogastrinae y Lithodinae Ortmann, 1901), que en conjunto incluyen 15 o 16 géneros y aproximadamente 105 especies. Las características morfológicas principales de los litódidos incluyen un exoesqueleto, un quinto par de patas caminadoras rudimentario, ausencia de urópodos y placas tergales abdominales asimétricas. De las dos subfamilias, se sugiere que Hapalogastrinae podría ser el linaje basal dentro de la familia Lithodidae, debido a que todos los miembros de la primera pasan por 4 estadios zoeas y uno glaucotoe, mientras que en la subfamilia Lithodinae los estadios larvales pueden estar abreviados.

Los miembros de la subfamilia Lithodinae (96 especies), están distribuidos globalmente aunque concentrados en las aguas bentónicas del Pacífico norte. Las especies de esta subfamilia realizan movimientos estacionales, patrones reproductivos estacionales o no estacionales y hábitos alimenticios de tipo omnívoro-oportunistas. Los miembros esta subfamilia se caracterizan por mostrar una distribución geográfica más abisal, por ser mayores en tamaño, portar mayor número de huevos, poseer menos estadios zoeas en su desarrollo larval, y vivir en grupos sociales numerosos, siempre en en relación a la subfamilia Hapalogastrinae. El patrón migratorio de los Lithodinae es uno de los rasgos que

los distingue. Este patrón está ligado al apareamiento así como a factores abióticos estacionales. Las centollas son capaces de trasladarse grandes distancias, moviéndose en grupos discretos y segregados generalmente por tamaño o sexo. La mayoría de los lithodinae estudiados, tienen un patrón de historia de vida anual y distintivo, asociado con su ciclo reproductivo. Generalmente las hembras mudan bajo la protección de un macho más grande y seguidamente ocurre el apareamiento. Los huevos son portados aproximadamente un año y, si las larvas zoeas son planctívoras, su eclosión ocurre coincidentemente con el pico de abundancia algal en primavera. Los estadios zoeas presentan movimientos verticales en la columna de agua mientras que los adultos realizan movimientos horizontales en los géneros como *Lithodes*, *Paralithodes* y *Paralomis*. Los juveniles de estos cangrejos, son solitarios y crípticos, y utilizan ambientes complejos como refugios. Cuando crecen en tamaño, se encuentran usualmente en grietas o entre los brazos de estrellas de mar del género *Evasterias* y *Asterias* sp., entre otras. Los juveniles dejan esos lugares de protección pasado el atardecer, en busca de alimento. Sin embargo, el comportamiento más llamativo que presentan los litodidos es el “podding” o agregaciones de cientos, miles o incluso millones de individuos de tamaño similar comúnmente observado en juveniles y adultos de *P. camtschaticus*.

Centolla, recurso de importancia mundial y regional

Debido a su tamaño (los machos pueden alcanzar hasta 190 mm de longitud de caparazón y 8 kg de peso), abundancia y demanda gastronómica/alimentaria, las centollas o cangrejos litódidos constituyen recursos naturales de alto valor comercial tanto en el

hemisferio norte como en el sur. Tres son las especies de centolla explotadas desde principios de siglo en el Pacífico Norte: la centolla roja “red king crab” *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius 1815), la centolla azul “blue king crab” (*Paralithodes platypus* (Brandt 1850)) y la centolla dorada “golden king crab” (*Lithodes aequispina* Benedict 1895 (FAO, 1994)). En particular, la centolla roja de Alaska ha constituido una de las pesquerías mundiales más importante de centolla, cuyos máximos desembarques se registraron en la década del 1960 alcanzando valores de hasta 42.800 toneladas métricas (Bechtol y Kruse, 2009). En el Pacífico y Atlántico sur en cambio, son dos las especies de litódidos explotados a nivel comercial: la centolla (*Lithodes santolla* (Molina 1782)) y el centollón (*Paralomis granulosa* (Jacquinot 1852)).

Pesquerías de centollas en el mundo

Históricamente, la pesquería de centollas en Alaska ha sido una de las más importantes económicamente. Desde 1950 a 2009, los datos de la FAO muestran que prácticamente todos los desembarques de litódidos provinieron de dos áreas FAO del Pacífico Norte (Fig. 1.1). Prácticamente el 99% de los desembarques totales de cangrejos en el extremo este del mar de Bering entre 1953 y 1983 estuvo sostenido por 3 stocks: Bahía Bristol (*P. camtschaticus*), Islas Pribilof (*P. platypus*) e Isla St. Matthew (*P. platypus*) (Otto, 1986). Esta pesquería sufrió cambios radicales a fines de la década de 1970 y principios de la de 1980. En sólo unos pocos años (entre 1978 y 1988), los desembarques de centolla roja en la región este del mar de Bering e Islas Aleutianas, pasaron de representar del 92% al 44% del total de desembarques, pasando a ser la centolla azul la especie dominante en las capturas con el 50%, (Otto, 1989). Varias fueron las hipótesis

propuestas para explicar la falta de recuperación de los stocks de *P. camtschaticus*, incluyendo la depredación de huevos (Kuris, et al., 1991), enfermedades, sobrepesca (Orenzanz, et al., 1998), captura incidental (Dew y McConnaughey, 2005) y las condiciones climáticas (Loher y Armstrong, 2005).

Comienzos y estado actual de la pesquería de centolla en Argentina

Lithodes santolla se distribuye en aguas del Océano Pacífico sudoriental y Atlántico sudoccidental: al norte, la especie alcanza Talcahuano en Chile (36°41'S) (Hernandez, 1985), está presente en el Estrecho de Magallanes, la costa este de Tierra del Fuego, el Canal Beagle y se distribuye hacia el norte hasta los 34°S sobre las costas uruguayas (Vinuesa, et al., 1996). La profundidad a la cual se encuentran los individuos de la especie varía entre el intermareal y los 700 m (Boschi, et al., 1984), aunque las mayores concentraciones de ejemplares se encuentran generalmente entre los 10 y 50 m de profundidad (Macpherson, 1988). En Argentina, dos son los puntos principales que soportan las pesquerías de centolla: las aguas del Canal Beagle - aledañas a la ciudad de Ushuaia (54°47'S 68°13'O)- y del Golfo San Jorge – cercanas a Comodoro Rivadavia- (45°52'S 67°29'O). En esta última localidad la explotación comenzó en la última década, luego de los bajos rendimientos obtenidos en el Canal Beagle, área donde se originó la actividad (Lovrich y Tapella, 2013). Los principales puertos de desembarque en Chile son: Punta Arenas (53°10'S 70°56'O), Puerto Natales (51°44'S 72°30'O) y Puerto Montt (41°27'S 72°57'O) (Lovrich y Tapella, 2013).

La pesca de centolla en el Canal Beagle se inició en aguas chilenas y argentinas en las décadas de 1920 y 50 respectivamente (Vinuesa, 1991). La captura incluía al centollón aunque era considerado un subproducto de descarte, por su bajo valor económico. Sin embargo, la captura del centollón como especie blanco comenzó en nuestro país hacia fines de la década de 1970 como consecuencia de la disminución en las capturas de centolla. Actualmente, tanto en Argentina como en Chile, centolla y centollón conforman lo que se conoce como “pesquería mixta” dado que ambas especies son capturadas frecuentemente juntas por la misma trampa o en trampas distintas pero dispuestas en sitios cercanos entre sí (Lovrich, 1997).

Históricamente, y luego de alcanzar un máximo que sobrepasó las 300 toneladas de centolla desembarcada en el año 1974 en el Canal Beagle, las capturas de *L. santolla* mostraron una marcada disminución a lo largo del tiempo (Fig. 1.2). Esta tendencia aunque con fluctuaciones, promovió en 1994, mediante sanción de la Ley Provincial de pesca 114/93, el cierre permanente de la pesquería de centolla en el sector del Canal Beagle comprendido entre el límite occidental con Chile y Punta Segunda (Fig. 1.3). La reglamentación vigente también contempla además de esta veda espacial, vedas de tipo temporal, de talla y sexo de los individuos, con el objeto de preservar la producción de nuevos individuos. Así, actualmente la ley prohíbe:

a) la extracción de centolla dentro del Canal Beagle durante los meses de noviembre y diciembre – periodo que se corresponden con el apareamiento y muda de las hembras;

b) el desembarque de hembras de cualquier tamaño y

c) la captura de machos cuyas tallas sean menores a los 11 cm de longitud de caparazón.

A pesar de las normas de manejo impuestas 18 años atrás, las poblaciones de centolla no han dado signos claros de recuperación (Iorio, et al., 2008). En la actualidad, los desembarques de centolla de talla sublegal existen y en gran medida continúan ocurriendo debido a la falta de control por parte de organismos gubernamentales. De este modo, los bajos rendimientos del recurso y las características intrínsecas de la especie como su crecimiento lento, hacen de la población de centolla del Canal Beagle una potencial especie ya sea para la implementación de estrategias de recuperación como el subsidio poblacional o de cultivo a través de técnicas de acuicultura.

Subsidio poblacional y acuicultura

Cualquiera sea la causa de la disminución de las poblaciones de cangrejos en el mundo, se espera que esta tendencia continúe en el futuro cercano. Hasta el momento, la aplicación de normas de manejo convencionales no ha logrado que los stocks de centollas afectados se recuperen. De este modo, el interés de los investigadores se ha concentrado en el cultivo y mejoramiento (subsidio) de las poblaciones de cangrejos de interés (Stevens, 2006). Japón fue pionero en dirigir esfuerzos en el cultivo de centolla roja en la década de 1960 dado su alto valor económico. Más tarde, otros países como Noruega, Argentina, Chile, Rusia y Alaska también han comenzado sus investigaciones en pos de generar conocimiento en este ámbito (Stevens, 2006).

Actualmente se reconoce que la recuperación natural de una pesquería implica el mejoramiento de la calidad del hábitat de soporte de las especies objetivo como así también la reducción del esfuerzo pesquero sobre ellas. Sin embargo, las tecnologías de cultivo desarrolladas recientemente podrían aumentar la productividad de ciertas especies a través de la liberación de juveniles al ambiente natural (Bell, et al., 2005). La liberación de juveniles cultivados con el objeto de aumentar los números poblacionales y optimizar las capturas de una pesquería sobreponiéndose a la limitación del reclutamiento se conoce como *subsidio poblacional* o “*stock enhancement*” en inglés (Bell, et al., 2008). Este procedimiento así como también la reconstrucción del stock y el engorde marino (“*stocking*” y “*sea ranching*”, respectivamente) constituyen las principales intervenciones de manejo a pesquerías, que proponen responder a la demanda creciente de peces y crustáceos en el mundo.

Idealmente, en un programa de subsidio poblacional dirigido a poblaciones cuyo reclutamiento es limitado, los individuos se cultivan en instalaciones de acuicultura hasta que superan la fase de alta mortalidad durante las primeras etapas de su vida y son finalmente liberados en el ambiente natural. De este modo, los individuos liberados contribuyen al desove con un impacto sobre el tamaño poblacional en subsecuentes generaciones (Davis, et al., 2005a). A grandes rasgos, la implementación de un programa de subsidio poblacional podría dividirse en 3 etapas:

- 1.- Producción de grandes cantidades de individuos (generalmente juveniles). En esta etapa se requiere información sobre el ciclo de vida de la especie, requerimientos nutricionales, relaciones intra-específicas (Moir y Weissburg, 2009), efectos de condiciones

de mantenimiento como densidad (Johnston, et al., 2006; Daly, et al., 2009) y temperatura entre otros.

2.- Liberación de animales a la población natural. Implica el conocimiento del hábitat natural de la especie (Tapella y Lovrich, 2006; Tapella, et al., 2009a; Tapella, et al., 2012), relaciones inter-específicas (Long, et al., 2012), comportamiento en la naturaleza de animales cultivados (Davis, et al., 2004b; Davis, et al., 2005b).

3.- Evaluación de la efectividad del subsidio. Un tema clave para la etapa de seguimiento de los animales aportados a la población es su marcación para su seguimiento en su ambiente natural (Linnanea y Mercer, 1998; Davis et al., 2004a). Esto es especialmente complejo en crustáceos dado que la ecdisis ocurre periódicamente y por tanto el uso de marcadores físicos externos comúnmente utilizados se pierden con el proceso de muda.

Hasta el momento de esta tesis, no se han realizado tareas de repoblamiento con juveniles de centolla en el Canal Beagle. La iniciativa de implementación del subsidio poblacional dirigido a las poblaciones de centolla de este sector, surge para contrarrestar la caída en los rendimientos de *L. santolla* ocurrido en las últimas décadas. Sin embargo, la decisión de su implementación debe estar acompañada y fundamentada con información tanto de la biología de *L. santolla* como aspectos básicos de su entorno. Como puntapié inicial, la independencia del alimento (lecitotrofia) que presentan las larvas de centolla (Lovrich, et al., 2003) constituye una ventaja importante para mantenimiento masivo. Sin embargo, es necesario incrementar la información disponible sobre el crecimiento y

comportamiento en cultivo de los individuos de *L. santolla* en vistas a un futuro subsidio poblacional.

Objetivo general

La presente tesis forma parte de una línea de investigación que tiene por objeto final la recuperación del stock comercial de la centolla (*Lithodes santolla*) en el Canal Beagle, mediante el subsidio de estadios juveniles a la población natural. El cultivo de juveniles constituye el paso previo a ese subsidio, por lo que las experiencias que aquí se presentan buscan profundizar en el conocimiento de la biología de los primeros estadios de juveniles de *L. santolla*. Así, se aborda con especial énfasis el crecimiento y las relaciones intra-específicas (canibalismo) entre los individuos de la especie, como aspectos útiles en la cría sus juveniles. La información obtenida, conjuntamente con los conocimientos sobre el hábitat de reclutamiento, entre otros, será de utilidad en el futuro para el manejo del recurso y para diagramar las condiciones de cultivo masivo como paso previo al subsidio poblacional.

La presente tesis consta de 8 capítulos incluyendo una Introducción y una Metodología General de trabajo, cinco capítulos de resultados y un capítulo final integrador. Cada capítulo de resultados intenta responder uno o varios interrogantes planteados en los objetivos y se presenta con una metodología propia así como una sección de resultados y discusión. Finalmente, el último capítulo denominado Consideraciones

finally will relate the most relevant results of this research in a joint and will present the next steps to follow in terms of the optimization of the cultivation of centolla with a view to the population subsidy.

Figuras y Tablas

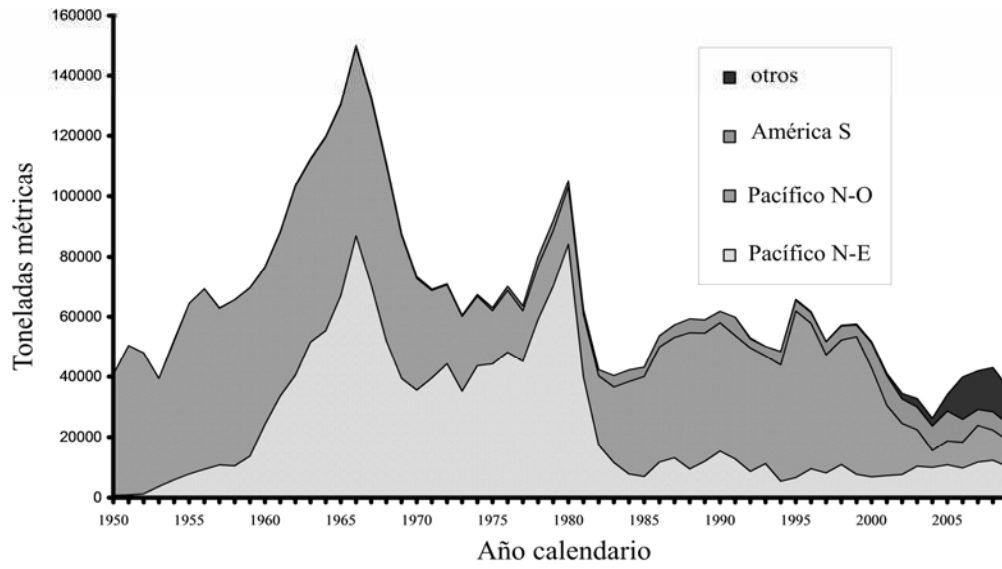


Figura 1.1- Desembarques mundiales de cangrejos litódidos según datos de la FAO correspondientes al período 1950-2009. Extraído de Otto (2013).

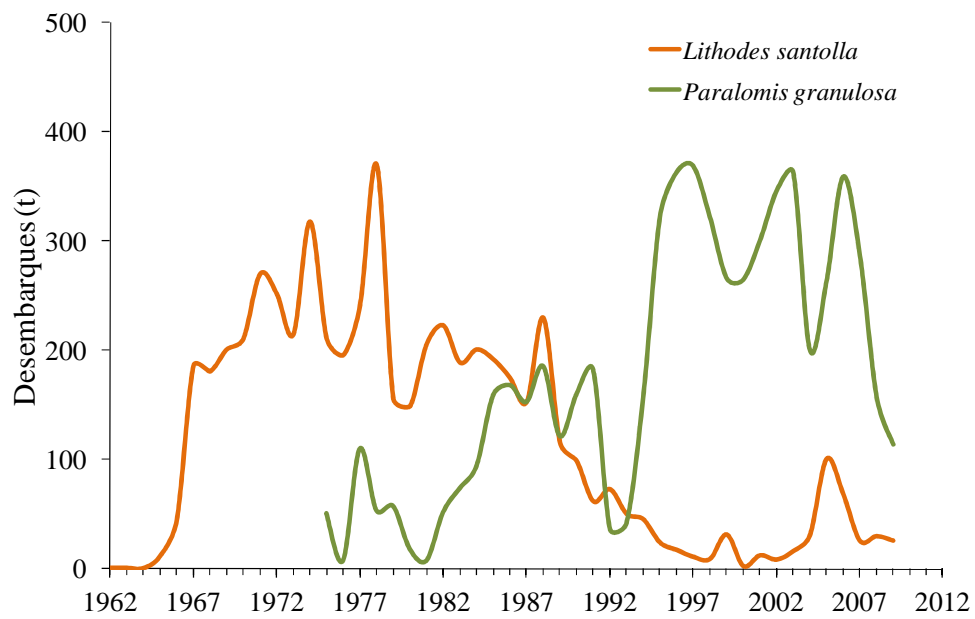


Fig.1.2.- Desembarques históricos de centolla (*L. santolla*) y centollón (*P. granulosa*) en el Canal Beagle. Extraído de Lovrich y Tapella, 2013.

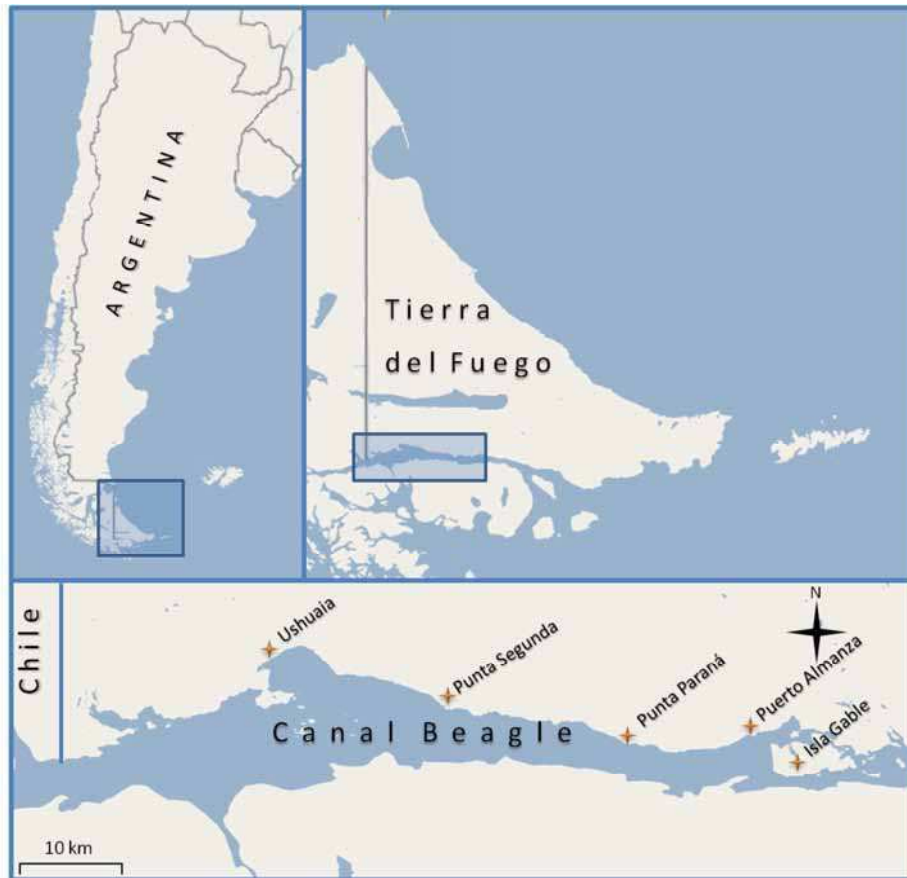


Figura 1.3.- Ubicación geográfica de la zona vedada a la pesca de centolla (*L. santolla*): límite occidental con Chile hasta Punta Segunda. Mapa cedido por Gowland Sainz.

METODOLOGÍA GENERAL

Sistema de estudio: *Lithodes santolla*

Ubicación taxonómica de la centolla *L. santolla* (Fig. 2.1) según Martin and Davis (2001):

Phylum	Arthropoda
Subphylum	Crustacea Brünnich, 1772
Clase	Malacostraca Latreille, 1802
Subclase	Eumalacostraca Grobben, 1892
Superorden	Eucarida Calman, 1904
Orden	Decapoda Latreille, 1802
Suborden	Pleocyemata Burkenroad, 1963
Infraorden	Anomura Mac Leay, 1838
Superfamilia	Paguroidea Latreille, 1802
Familia	Lithodidae Samouelle, 1819
Subfamilia	Lithodinae Samouelle, 1819
Género	<i>Lithodes</i>
Especie	<i>Lithodes santolla</i> (Molina, 1782)

Aspectos biológicos de *L. santolla* en el Canal Beagle

Morfología y tamaño

L. santolla posee sexos separados y un marcado dimorfismo sexual. Los machos son de mayor tamaño que las hembras y el quelípodo derecho de los primeros presenta una alometría positiva en su longitud, altura y grosor (Campodonico, et al., 1974; Vinuesa, 1984). Externamente, también pueden diferenciarse ambos sexos por la morfología del

abdomen. Los machos presentan un abdomen triangular y simétrico y por el contrario, el de las hembras es semicircular y sus placas se presentan de forma asimétrica (Vinuesa, 1984). La presencia de pleópodos es exclusiva de las hembras, en los que se adhieren los huevos. El quinto par de patas (reducido en anomuros), es utilizado por las hembras para la limpieza y movimiento de la masa ovígera en el abdomen, en tanto que en los machos podría facilitar la transferencia espermática (Gowland Sainz, com pers).

A lo largo de esta tesis el tamaño de los animales será referido como *longitud de caparazón* (LC), y fue medido como la distancia en milímetros entre el margen posterior de la cavidad ocular del ojo derecho y el punto medio del margen posterior del caparazón, como indica la Figura 2.2.

Reproducción

El ciclo reproductivo de la centolla en el Canal Beagle es anual (Fig.2.3), y comienza con el apareamiento a fines de primavera (noviembre-diciembre). Luego de la fecundación de los oocitos, las hembras portan los huevos en la cámara incubatriz hasta su eclosión, 10 meses después (Vinuesa, 1984).

Larvas y primeros estadios bentónicos

La eclosión de los huevos en *L. santolla* ocurre durante los meses de octubre y noviembre (Boschi, et al., 1984; Vinuesa, 1984). El desarrollo larval completo incluye tres estadios *zoea* y un estadio *megalopa* con una duración de 4, 7, 11 y 47 días respectivamente a 6°C. Así, aproximadamente 70 días pasados la eclosión, el estadio megalopa metamorfosea al primer juvenil o *cangrejo 1* (C1) (Calcagno, et al., 2004) (Fig.2.3).

Crecimiento y muda

La frecuencia de muda de *L. santolla* disminuye con la edad. Durante el primer año de vida, los cangrejos de la especie mudan entre 6 y 7 veces, mientras que lo hacen entre 4 y 5, y 3 veces durante el segundo y tercer año respectivamente (Vinuesa, et al., 1990). A partir del cuarto año de vida, las hembras comienzan a mudar anualmente, ya que derivan energía hacia el desarrollo gonadal, mientras que los machos seguirían mudando dos veces al año hasta alcanzar la madurez morfométrica y luego de dos mudas la funcional (Boschi, et al., 1984; Vinuesa, et al., 1990; Lovrich, et al., 2002).

Alimentación

En aguas del Canal Beagle, los ítems alimentarios principales identificados para *L. santolla* son los moluscos gasterópodos, crustáceos como la langostilla *Munida gregaria*, briozoos (Comoglio y Amin 1996). Además, los cangrejos litódidos también pueden ser carroñeros.

Lithodes santolla puede soportar períodos de inanición relativamente prolongados, y recuperarse de ese stress nutricional. *L. santolla* priorizaría el uso de proteínas que se encuentran reservadas en el hepatopáncreas, frente a los lípidos como fuente de energía (Comoglio et al. 2005; Comoglio 2008).

Obtención y mantenimiento de hembras ovígeras

En agosto-septiembre de cada año (2008-2011), se colectaron hembras ovígeras de *Lithodes santolla* en las inmediaciones de la ciudad de Ushuaia, mediante trampas de tipo

cono truncado. Los ejemplares de centolla se trasladaron al acuario del CADIC (Centro Austral de Investigaciones Científicas), en donde fueron aclimatados en piletas y luego mantenidos en contenedores conectados a un sistema cerrado de circulación de agua.

Acuario de experimentación

Sistema de recirculación de agua

El sistema consiste en 4 tanques de reservorio de agua de mar de 1000 litros cada uno, con conexión a otro de 1000 litros que sirve como tanque de recuperación de agua. A partir de este último, una bomba eléctrica fuerza a que el agua de mar pase por un dispositivo de frío-calor para mantener su temperatura entre 6 y 8°C. El agua pasa también por un filtro mecánico de 50 µm que retiene partículas antes de volver al tanque de recuperación. Otra bomba eléctrica envía agua desde este tanque hacia otro tanque superior en el cual mallas plásticas permiten el asentamiento de bacterias aeróbicas que oxidan el amonio (NH_4^+), altamente tóxico para los invertebrados, en nitritos (NO_2^-) y nitratos (NO_3^-) de menor toxicidad, funcionando así como filtro biológico. El agua continúa su recorrido pasando por un filtro UV que esteriliza el agua eliminando bacterias, algas, o cualquier organismo que se encuentre en ella y a partir de allí mangueras plásticas dividen el flujo de agua logrando que cada contenedor/acuario reciba agua individualmente. Asimismo, los acuarios presentan un rebalse que permite mantener en cada uno de ellos el mismo nivel de agua quedando los adultos de centolla siempre sumergidos. El agua de rebalse de los contenedores es recolectada por un tubo y derivada hacia el tanque de recuperación en donde empieza el ciclo de circulación nuevamente.

Características del agua de mar

La calidad del agua de mar fue monitoreada cada 4-5 días con el objeto de mantener los niveles de pH, salinidad, nitritos, nitratos y amonio dentro de los valores aceptables para los animales:

pH	7-9
Salinidad	31-34
Nitritos (NO ₂ ⁻)	<0.8 mg/l
Nitratos (NO ₃ ⁻)	<12.5 mg/l
Amonio total (NH ₃ /NH ₄ ⁺)	<0.25 mg/l

Obtención y cultivo de larvas hasta C1

Las hembras ovígeras obtenidas del campo, luego de la aclimatación en piletas fueron colocadas individualmente en acuarios plásticos de 25 L (30x40x30 cm de ancho x largo x alto, respectivamente) conectados al sistema de recirculación como se mencionó anteriormente (Fig. 2.4 AyB). Dos veces a la semana se alimentó a las hembras con calamar (*Illex* sp o *Loligo* sp) y diariamente se recolectaron las heces y restos de alimento mediante sifón. Diariamente en los acuarios se verificó la eclosión de larvas y en caso de presencia fueron recolectadas en un filtro dispuesto a la salida del rebalse de cada contenedor (Fig. 2.4C). Adicionalmente y mediante succión se extrajeron las larvas que permanecían en la columna de agua del acuario.

Según la metodología particular del experimento que se detallará en cada capítulo, las zoeas I de una o más hembras se colocaron en lo que de ahora en más se denominará

“cambiadores” a razón de un máximo de 600 larvas por cambiador. El cambiador consistió en un aro de PVC de 15 cm de alto con base enmallada para el paso del agua y retención de larvas y primeros estadios de cangrejo. El cambiador permaneció sumergido en bateas de 38x25cm que al igual que los acuarios, poseían una entrada continua de agua y un rebalse que permitía mantener fijo el nivel de agua en su interior (Fig.2.5).

Las larvas de *Lithodes santolla* no recibieron alimento durante su desarrollo debido a su hábito lecitotrófico (Lovrich, et al., 2003), atravesando los tres estadios larvales y la megalopa sin alimentarse. Diariamente, se controlaron los acuarios identificando la presencia de exuvias o larvas muertas, las cuales fueron descartadas. Las larvas muertas permanecieron en el fondo del acuario y se tornaron de un color blanquecino lo cual facilitó su rápida identificación. Una vez alcanzado el estadio C1, los cangrejos fueron separados y colocados individualmente en recipientes de 50 ml para evitar agresiones entre individuos y lograr que permanecieran intactos (con todos sus apéndices) hasta ser usados en los experimentos correspondientes. Los C1 y estadios sucesivos fueron mantenidos a temperaturas de entre 7 y 8°C en cámara fría especialmente acondicionada para tal fin, y fueron alimentados con *Artemia salina* (salvo que se indique lo contrario en algún Capítulo de esta tesis) hasta ser utilizados en los experimentos correspondientes (Fig. 2.6). El protocolo general para el cultivo de *Artemia* puede consultarse en el Anexo 1.

Figuras y Tablas



Figura 2.1- *Lithodes santolla* (vista dorsal). La línea amarilla corresponde a 5cm. Foto: F. Tapella.

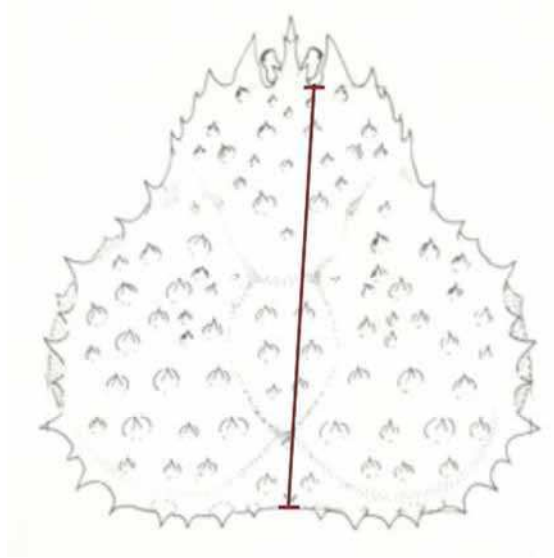


Figura 2.2.- Detalle del caparazón de *L. santolla*. La línea indica la medida de la longitud de caparazón (LC).

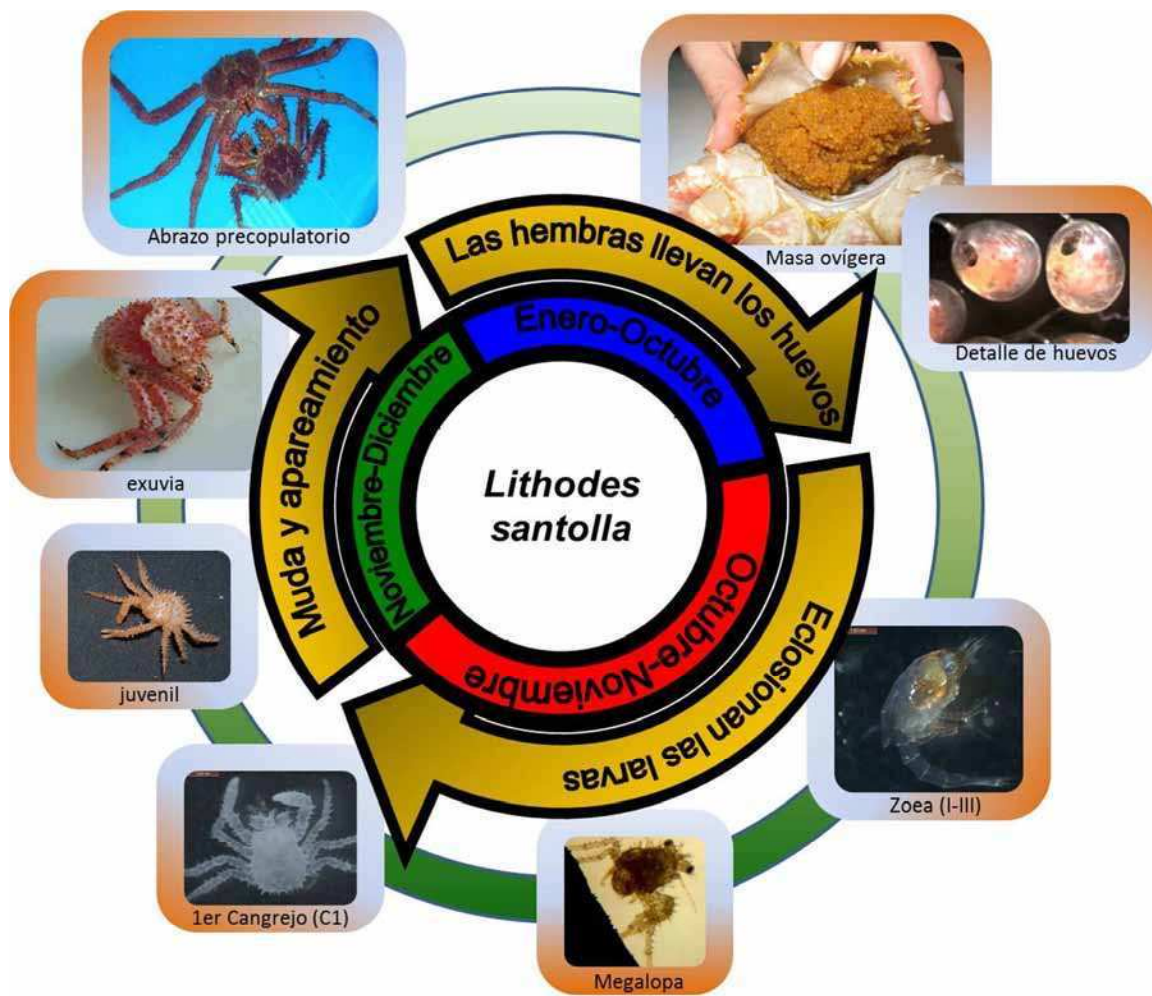


Figura 2.3.- Esquema que resume los principales eventos en el ciclo vital de *L. santolla*.



Figura 2.4.- A) Contenedores plásticos dispuestos en el sistema de recirculación de agua salada. B) Detalle del interior de un contenedor en cuyo interior se observa una hembra de *L. santolla*. C) Filtro colector de larvas en el cual desemboca el rebalse de cada contenedor.

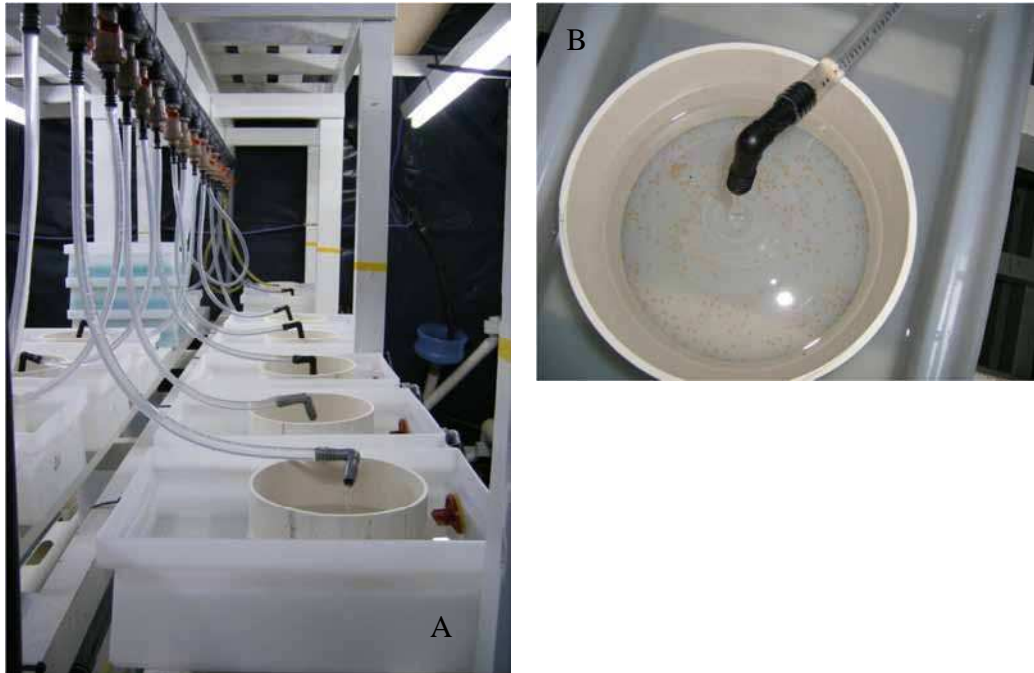


Figura 2.5.- A) Vista general de los cambiadores en bateas y dispuestos en el sistema de recirculación de agua. B) Detalle de un cambiador con zoeas para cultivo.



Figura 2.6.-A) Vista interna de la cámara fría para mantenimiento de animales. B) Detalle de los recipientes en donde se mantuvieron individualmente los cangrejos 1 y sucesivos estadios para experimentación.

CANIBALISMO DURANTE INTERMUDA

Influencia del estadio y la proporción predador-presa

Los resultados de este capítulo se encuentran publicados en:

M. Paula Sotelano, Gustavo A. Lovrich, M. Carolina Romero, Federico Tapella. 2012. Cannibalism during intermolt period in early stages of the Southern King Crab *Lithodes santolla* (Molina 1872): Effect of stage and predator-prey proportions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 411: 52-58.

Introducción

Los crustáceos poseen el cuerpo cubierto por una cutícula rígida, el exoesqueleto, compuesta de quitina, proteína y material mineral calcificado. Esta cubierta protectora, blanda y fina entre las uniones de los metámeros, si bien supone ventajas locomotoras y de soporte, impone una limitación para el crecimiento de los animales. La solución evolutiva ha sido el desprendimiento periódico del exoesqueleto, proceso denominado como *muda* o *ecdisis*. Las etapas de crecimiento entre mudas se conocen como estadios, y su duración aumenta a medida que el animal envejece (Ruppert y Barnes, 1996). Así, durante la vida del animal, se alternan fases de relativo reposo externo o “intermuda” con otras de intensa actividad o “muda”. En cada muda el viejo exoesqueleto se elimina y ocurre un súbito incremento de tamaño como resultado de la presión interna que ejerce la absorción de agua, que ocurre antes de que el nuevo tegumento se endurezca. Luego de ello, las dimensiones del animal permanecen aproximadamente constantes hasta la próxima muda (Hartnoll, 1985; Petriella y Boschi, 1997).

El canibalismo, es una de las principales causas del fracaso en el desarrollo de métodos de cultivo en numerosas especies de cangrejos; especialmente en la fase megalopa y en estadios juveniles (Zmora, et al., 2005; Ventura, et al., 2008). La mortalidad de los animales en los sistemas de cultivo es frecuentemente asociada a la depredación por canibalismo sobre animales recientemente mudados (Crear, et al., 2000; Paul y Paul, 2001; Johnston, et al., 2006; Borisov, et al., 2007; Daly, et al., 2009). Esto estaría relacionado con su condición de “caparazón blando” o “soft shell”, en inglés, y cierto comportamiento de inmovilidad que se observa en los momentos previos a la muda, en los cuales algunos animales dejan de alimentarse y buscan refugio (Ruppert

y Barnes, 1996). Sin embargo, el canibalismo durante el período de intermuda donde los individuos poseen el exoesqueleto duro o “hard shell”, también fue identificado en algunas especies de decápodos como *Portunus pelagicus* (Marshall, et al., 2005), *Neohelice granulata*, *Cyrtograpsus angulatus* (Luppi, et al., 2001), *Callinectes sapidus* y *Paralithodes camtschaticus* (Daly, et al., 2009), entre otros.

En vistas al cultivo de juveniles, la coexistencia de animales se hace necesaria, ante el esfuerzo que implica mantener un alto número de animales de forma individual. De este modo, el conocimiento del comportamiento caníbal ya sea entre individuos del mismo (intra-cohorte) o de distintos estadios (inter-cohorte) es fundamental. Más aún, el mantenimiento en conjunto de animales de distintos estadios, implica la presencia de animales de tallas diferentes y en distintas proporciones, como principal consecuencia de la asincronía en la muda de los animales en el tiempo (Daly, et al., 2009). Estos factores podrían influir considerablemente en la relación caníbal predador-presa (Dutil, 1997; Lovrich y Saint-Marie, 1997, Claessen et al.,2002; Claessen et al.,2004).

Objetivo general

Cuantificar el canibalismo de estadios tempranos de *L. santolla* en intermuda tanto entre individuos de un mismo estadio como de estadios diferentes en condiciones experimentales.

Objetivos particulares

a.- Evaluar el canibalismo intra-estadio en Megalopa, C1 y C2.

b.- Evaluar el canibalismo inter-estadio, incluyendo estadios subsecuentes como C1-M, C2-C1 y posibles combinaciones entre camadas de distintos años como $C_{1\text{año}}\text{-Z1}$, $C_{1\text{año}}\text{-M}$, $C_{1\text{año}}\text{-C1}$.

c.- Evaluar el efecto de las proporciones de predadores y presas sobre el canibalismo.

Materiales y métodos

Las larvas y cangrejos utilizados en las experiencias fueron obtenidos durante el período de eclosión 2008. También se utilizaron cangrejos de un año de edad (C_{1año}) obtenidos a partir de larvas del período 2007 (mantenidos en cautividad durante el 2008) y siguiendo el procedimiento general para el cultivo de cangrejos de experimentación (ver Metodología general).

Diseño experimental

Se diseñaron tres experimentos para describir la dinámica del canibalismo en los primeros estadios de *L. santolla* (Tabla 3.1).

- *Experimento 1 (canibalismo intra-estadio)*: Se evaluó el canibalismo intra-estadio en M, C1 y C2.
- *Experimento 2 (canibalismo inter-estadio)*: Se evaluó el canibalismo en 5 combinaciones de estadios de predador-presa (P-p): C1año-Z1, C1año-M, C1año-C1, C1-M, C2-C1. Cada combinación consistió en 1 depredador y 5 presas (= proporción 1-5)
- *Experimento 3 (canibalismo según proporciones P-p)*: El canibalismo se evaluó en tres proporciones de predador-presa (P-p): 1-5 (datos provenientes del experimento 2), 2-4 y 3-3. Cada proporción fue evaluada tanto en las combinaciones de estadio C1-M como en C2-C1.

Los animales fueron clasificados en las categorías “predador” y “presa” sólo teniendo en cuenta el estadio de desarrollo. Así, en cada caso, se referirá como predadores, a los animales de mayor edad (mayor talla) y como presas a aquellos más jóvenes (menor talla).

Dado que las interacciones entre conespecíficos pueden ser bidireccionales (de predadores a presas o de presas a predadores) el canibalismo fue estimado sobre el total de los animales en cada réplica. El tamaño de caparazón (LC) promedio de los animales utilizados en estos experimentos fueron: $2,0 \pm 0,05$, $2,4 \pm 0,08$ y $6,5 \pm 0,61$ mm para los C1, C2 y C_{1año} respectivamente.

Los experimentos se realizaron en tubos cilíndricos de PVC (9 cm diámetro, 11 cm altura) con base enmallada (1 mm, polietileno) y cuya superficie total de fondo fue de 64 cm^2 y soportes inferiores de 1 cm para que la malla no estuviera en contacto con el fondo recipiente. Cada tubo fue inmerso en un recipiente de 1,5 L, conteniendo 1 L de agua salada esterilizada con UV. La malla del tubo permitió a los cangrejos sujetarse y moverse libremente en el fondo del tubo (Fig. 3.1). Asimismo, el tubo de PVC permitió minimizar los disturbios ocasionados a los animales durante el cambio de agua, dado que los animales no fueron manipulados directamente. Los recipientes con el tubo enmallado en su interior fueron colocados al azar en una cámara fría a $7,5 \pm 0,1^\circ\text{C}$ y bajo un régimen de luz de 12:12 hs (0.5 lx) luz-oscuridad respectivamente. Durante el transcurso de los experimentos, el agua de los recipientes fue renovada tres veces por semana. Inmediatamente después de cada cambio de agua, los animales fueron alimentados *ad libitum* con nauplios de *Artemia salina*, para minimizar el efecto del ayuno sobre el comportamiento caníbal (Luppi, et al., 2001).

Los experimentos comenzaron una vez colocados en cada recipiente 6 individuos de *L. santolla* (réplica) de acuerdo a las proporciones P-p y estadios en cada tratamiento (Tabla 3.1). Se utilizaron 10 réplicas por tratamiento. La duración del experimento se estableció en 25 días dado que si bien la duración promedio del estadio megalopa es de 48 días (Calcagno, et al., 2004), se necesitaron entre 10 y 15 días para acopiar el alto número de individuos que requirió el experimento. Por este motivo al inicio del experimento, la edad de los cangrejos utilizados varió entre 0 y 15 días. De esta manera, se contempló un máximo de 25 días para asegurar que los tratamientos se lleven a cabo durante el período de intermuda. Se utilizaron animales intactos (sin daños aparentes e.g. pérdida de patas), de tamaños similares (ya que pertenecían al mismo estadio) y dentro de las 72-96 h después de mudados.

Diariamente, en cada réplica se contabilizó el número de cangrejos heridos, muertos y el número acumulado de apéndices perdidos por individuo, discriminando si el apéndice faltante correspondía a apéndices caminadores o quelas. Si bien los animales no fueron individualizados, y en uno o más de ellos pudieron registrarse las mismas pérdidas, el primer apéndice perdido en cada uno de los 6 individuos (en caso de existir) fue registrado inequívocamente, dado que cada animal estaba intacto (con todos sus apéndices) al inicio del experimento. Fueron considerados como heridos y muertos aquellos animales con al menos un apéndice faltante con y sin vida respectivamente. Los individuos desaparecidos fueron considerados como muertos (y consumidos) por conespecíficos (canibalismo). Por el contrario, los animales muertos con el total de los apéndices presentes fueron considerados como muertes naturales. Los muertos por canibalismo fueron extraídos del recipiente y aquellos considerados como muertes naturales fueron reemplazados por cangrejos del mismo estadio durante la duración de la experiencia.

El canibalismo fue evaluado en términos de heridos y muertos. La suma de ambos componentes (heridos y muertos) será referida entonces como canibalismo y cada uno de ellos fue evaluado por separado para conocer su relevancia o aporte en el canibalismo total. La proporción acumulada diaria de canibalismo, heridos y muertos se calculó sobre el total de los individuos (6). Adicionalmente, se cuantificó el número de patas perdidas por presa al finalizar los experimentos así como el tipo de apéndice que perdió primero cada individuo (apéndice caminador o quela).

Procedimientos estadísticos

Los datos de canibalismo, heridos y muertos así como el número de apéndices perdidos por presa se presentan como porcentajes medios acumulados \pm error estándar al día 25. Los datos fueron transformados con la función arcoseno según:

$$F(x) = \text{Arcoseno} \sqrt{x} \frac{180}{\pi}$$

donde x es la proporción de canibalizados, heridos o muertos según corresponda.

La normalidad y homogeneidad de los datos fueron probadas con test de Kolmogorov-Smirnov y Levene respectivamente (Sokal y Rohlf, 1995). Las diferencias entre tratamientos al finalizar los experimentos se analizaron con test no paramétricos debido a la falta de normalidad en los datos.

Las diferencias en el canibalismo, heridos, muertos y el número de apéndices perdidos por presa entre M, C1 y C2 se analizaron con test de Kruskal-Wallis (Experimento 1) así como el efecto de las proporciones sobre las cuatro variables mencionadas, tanto en C2-C1 como C1-M

(Experimento 3). En particular, se aplicó un test Mann-Whitney sobre la variable apéndices perdidos en la combinación C2-C1 debido a que no se registraron presas heridas vivas en la proporción 3P-3p.

También se utilizaron tests de Mann-Whitney para evaluar el efecto de la combinación de estadíos en el canibalismo, heridos, muertos y el número de apéndices perdidos por presa (Experimento 2). En este caso, los tratamientos que incluyeran C1 año se excluyeron del análisis debido a que todas las presas fueron consumidas dentro de los primeros 5 días de experiencia, por lo que no pudo estimarse el desvío estándar al día 25. Las diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$) se contrastaron usando comparaciones múltiples (test post-hoc) (Sokal y Rohlf, 1995).

Resultados

Ningún cangrejo mudó durante el transcurso de los experimentos y se registraron evidencias de interacciones caníbales entre conespecíficos en los tres experimentos y en cada una de las réplicas. La mortalidad natural fue baja, alcanzando menos del 2% del total de los animales utilizados (n=840). Los estómagos de todos los animales se observaron por transparencia oscuras, sugiriendo que los nauplios de *Artemia salina* proporcionados como alimento fueron consumidos. De este modo, el ayuno no pudo ser la causa del canibalismo en las experiencias.

- *Canibalismo intra-estadio - Experimento 1*

El canibalismo, los heridos, muertos y el número de apéndices perdidos por presa fue bajo y similar entre estadios. Los animales canibalizados al finalizar el experimento (d=25) alcanzaron en promedio el 15%±3.8; 15% ±5.8 y 15% ±4.6 en M, C1 y C2 respectivamente (Kruskal-Wallis; H=0,07; p>0,05, Fig.3.2). Los heridos y muertos también fueron similares entre estadios (Kruskal-Wallis; H=0,03; p>0,05 y H=0,19, p<0,05). La mortalidad alcanzó el 5%±2,55 en M y C1 y 6,67% ±2,72 en C2. Los heridos representaron un 10%±3,68 en M y C1 y 8,33% ±3,73 en C2 (Fig.3.2). La condición final de las presas al terminar la experiencia fue similar en los 3 estadios, perdiendo en promedio 0,8 ±0,36; 0,6±0,22 y 0,5 ±1,05 apéndices en M, C1 y C2 respectivamente (Kruskal-Wallis, H=0,2, p>0,05).

El patrón de canibalismo entre tratamiento fue diferente en el tiempo. En todos los estadios, las interacciones comenzaron en cuanto los animales fueron liberados en los recipientes de experimentación, i.e. en las primeras 24 h. Sin embargo, durante los primeros 5-6 días de experimentación, los animales heridos aumentaron más rápidamente en C2, que en C1 y M (Fig.3.2).

- *Canibalismo inter-estadio - Experimento 2*

Canibalismo

Durante este experimento, ningún predador fue herido y/o muerto a consecuencia de la interacción con sus conespecíficos.

De acuerdo a la combinación de estadios de los P-p, el canibalismo mostró 3 patrones diferentes (Fig.3.3). En aquellas combinaciones en las cuales los predadores fueron C_{1año}, el canibalismo comenzó en el momento en que los animales fueron colocados en los recipientes de experimentación e independientemente de que las presas fueran Z1, M o C1, todas ellas fueron completamente consumidas dentro de los primeros 5 días de coexistencia (Fig.3.3A). En estos tratamientos se alcanzó la proporción máxima de canibalismo (83,3%) dado que en ninguna réplica se observó al depredador herido o muerto. Así, los patrones observados de canibalismo y mortalidad resultaron idénticos (Figs. 3.3A y 3.3B) dado que no hubo heridos durante el transcurso de las experiencias sino presas desaparecidas, lo que fue considerado como muertes por canibalismo. Se consideraron finalizados los tratamientos con el consumo total de las presas al día 5, momento en el cual se chequearon los predadores, que continuaban intactos y sin

heridas. En estos tratamientos con $C_{1\text{año}}$ como predadores, los datos sugieren que las megalopas serían más vulnerables que las Z1 o C1 dado que todas ellas fueron consumidas dentro de las primeras 24 h de experimentación.

Las interacciones caníbales entre C2-C1 también comenzaron tan pronto se pusieron en contacto ambos estadios, incrementándose gradualmente con el tiempo hasta el día 16, cuando dicho aumento se estabilizó alcanzando un máximo de $75\% \pm 3,7$ que se mantuvo constante hasta el fin del experimento al día 25 (Fig. 3.3A). Por el contrario, en la combinación C1-M, las interacciones comenzaron 9 días después del inicio del experimento, día a partir del cual los valores de canibalismo se incrementaron gradualmente hasta alcanzar un máximo del $60\% \pm 5,7$ al día 22. Así, el canibalismo observado en C2-C1 fue mayor que en C1-M, a los 25 días de coexistencia (Mann-Whitney, $Z=2,00$, $p<0,05$).

Muertos

Se registraron animales muertos por canibalismo en todos los tratamientos, mostrando distintos patrones en cada uno de ellos (Fig. 3.3B). Como se explicitó anteriormente, los tratamientos que involucran a $C_{1\text{año}}$, presentaron los máximos valores de mortalidad al día 5 cuando todas las presas habían sido consumidas. A pesar de las diferencias en el patrón de mortalidad en las combinaciones C2-C1 y C1-M donde los muertos aparecen a partir del día 1 y 9 respectivamente, la proporción de muertos al día 25 fue similar en ambas combinaciones de estadios, alcanzando el $48,3\% \pm 6,3$ y el $41,7\% \pm 6,2$ respectivamente (Mann-Whitney, $Z=0,62$, $p>0,05$, Fig. 3.3B).

Heridos

La proporción de animales heridos alcanzó máximos a los días 10 y 20 en C2-C1 y C1-M respectivamente (Fig. 3.3C), aunque no se encontraron diferencias al finalizar el experimento (Mann-Whitney, $Z=0,98$, $p>0,05$). Los heridos al día 25 fueron del $26,67\% \pm 5,66$ en la combinación C2-C1 y $18,33\% \pm 5,8$ en C1-M.

Canibalismo según las proporciones de predador- presa - Experimento 3:

Canibalismo

Independientemente de la combinación de estadios P-p estudiada (C2-C1 o C1-M) los resultados muestran que el canibalismo es más intenso, cuanto más desigual es la proporción de los P-p (Fig. 3.4). Se registraron diferencias entre proporciones tanto en C1-M como en C2-C1 (Kruskal-Wallis, $H=7,28$, $p<0,05$ y $H=17,04$, $p<0,01$, respectivamente). El canibalismo alcanzó en las proporciones 1-5, 2-4 y 3-3 valores del $60\% \pm 5,7$, $43,3\% \pm 6,2$ y $31,1\% \pm 6,3$ en C1-M y $75\% \pm 3,8$, $58,3\% \pm 5,1$ y $48,3\% \pm 1,7$ en C2-C1 (Fig.3.4). En ambas combinaciones de estadios de P-p, se registraron diferencias en el canibalismo, entre las proporciones extremas, 1-5 y 3-3 (Comparaciones múltiples, $p<0,01$ y $p<0,05$ respectivamente, Fig.3.4).

La coexistencia de más de un predador en la combinación C1-M, resulta en la aparición de predadores heridos, aunque nunca muertos. Además, los predadores presentaron heridas desde el comienzo del experimento, que aumentaron en número hasta el día 9, y a partir de allí se mantuvieron constantes. Durante esos primeros 9 días de experimentación, ninguna megalopa

(presa) fue registrada con signos de canibalismo (heridas o muertas). A partir del día 9, el canibalismo en las presas aumentó con el tiempo hasta el final del experimento (Fig.3.4).

Muertos

En las combinaciones C1-M y C2-C1, la mortalidad presentó patrones diferentes: en C1-M los muertos se incrementaron a mayor desigualdad en la proporción de P-p (1-5>2-4>3-3, Kruskal-Wallis, $H=8.92$, $p<0.05$), existiendo diferencias entre las proporciones extremas donde se alcanzaron valores del 41% y 15% (Comparaciones múltiples, $p<0.05$). En C2-C1 la mortalidad fue similar entre proporciones (Kruskal-Wallis, $H=1.41$, $p>0.05$, Fig.3.4).

Heridos

Los heridos entre proporciones de P-p fueron diferentes en C2-C1 (Kruskal-Wallis, $H=15.46$, $p<0.01$) pero no en C1-M (Kruskal-Wallis, $H=0.34$, $p>0.05$). En C2-C1, los cangrejos heridos en la proporción 1-5 ($26\% \pm 5.66$) fue mayor que en la proporción 3-3, en la cual ninguna presa viva alcanzó el final del experimento (Comparaciones múltiples, $p<0.01$). Sin embargo, el número de apéndices perdidos por presa herida (Tabla 3.2) no se vio afectado por las proporciones de P-p en C1-M (Kruskal-Wallis, $H=1.53$, $p>0.05$) ni en C2-C1 (Mann-Whitney, $Z=1.2$, $p>0.05$).

Apéndices perdidos

Existió una pérdida diferencial de apéndices en los juveniles de *L. santolla*. Los cangrejos perdieron más frecuentemente los apéndices caminadores durante las interacciones intraespecíficas. Aunque los animales no fueron individualizados en cada réplica, el primer apéndice perdido por cada animal y su tipo (apéndice caminador o quela) fue registrado sin posibilidad de error. Así, contabilizando todos los primeros ataques exitosos, los apéndices caminadores fueron los primeros apéndices perdidos en más del 84% y 55% de los casos en C1-M y C2-C1 respectivamente (Fig.3.5). Cabe notar que la pérdida de los apéndices siempre fue completa, encontrándose secciones de apéndices en menos del 1% del total de las pérdidas.

Discusión

Los resultados de este capítulo sugieren que en cautividad el comportamiento caníbal en juveniles de centolla es común y ocurre intensamente durante el período de intermuda. Los datos revelan que el canibalismo intra y especialmente inter-estadio resulta en una alta proporción de juveniles de *L. santolla* heridos y muertos, incluso en condiciones de intermuda cuando su exoesqueleto está endurecido y son menos vulnerables. Los niveles de canibalismo aquí presentados pueden considerarse como los máximos esperados ya que el diseño de los experimentos no consideró ninguna clase de protección para los animales, como el refugio que podría ofrecer por ejemplo un sustrato complejo.

El canibalismo intra-estadio resultó similar tanto en M, como en C1 y C2, y bajo en comparación con el canibalismo inter-estadio. Particularmente el hallazgo de canibalismo entre las megalopas fue inesperado dado que *L. santolla* alcanza el primer estadio juvenil (C1) independientemente del alimento (Kattner, et al., 2003; Lovrich, et al., 2003). Evidencias como la carencia de endopeptidasas para la digestión de alimento externo en larvas de *L. santolla* (Saborowski, et al., 2006), la presencia de reservas energéticas iniciales mayores a los de la especie simpátrica *Paralomis granulosa* (Kattner, et al., 2003) y la baja supervivencia en presencia de alimento (Paschke, et al., 2006) permitirían hipotetizar que la pérdida de pereiópodos en las experiencias con megalopas resultaría de un comportamiento agonístico y no de lecitotrofia facultativa. Es importante notar que en el estadio megalopa, el canibalismo intra-estadio aumenta luego del día 7 (Fig.3.2A), coincidiendo con el momento en que las megalopas comienzan a tener un comportamiento más sedentario. Además, una vez que las megalopas

seleccionan activamente el sustrato de reclutamiento (Tapella, et al., 2009a; Tapella, et al., 2012) y permanecen en el fondo mayor cantidad de tiempo, son proclives a interactuar con otros conespecíficos en busca de espacio (Tapella, et al., 2012), y por lo tanto comienzan a perder apéndices debido a estas interacciones (Fig.3.2). La capacidad de natación en las megalopas resulta un factor clave que permite evitar predadores, especialmente si ellos están restringidos al sustrato (o al fondo como en estas experiencias) y facilita la dispersión de las megalopas para seleccionar hábitats adecuados en la naturaleza. La habilidad de las megalopas de litódidos para seleccionar hábitats complejos ha sido reconocida como una respuesta adaptativa a la presión de depredación (Stevens y Kittaka, 1998; Tapella, et al., 2009a; Tapella, et al., 2012).

Los experimentos realizados permitieron identificar como principal causa de canibalismo a la diferencia en el tamaño de los conespecíficos. Las diferencias encontradas entre el canibalismo intra e inter-estadio, refuerzan el concepto que establece que animales más pequeños son más susceptibles a ser depredados que aquellos más grandes (Polis, 1981). Mientras el canibalismo entre animales del mismo estadio (y en consecuencia similares en tamaño) alcanzó el 15% luego de 25 días (Experimento 1), las interacciones intraespecíficas provocaron al menos un 58% de daño en los animales cuando éstos pertenecieron a estadios diferentes (Experimento 2). Una diferencia del 18% en la talla de los cangrejos fue suficiente para generar altos niveles de canibalismo. En las relaciones caníbales, los roles de predadores y presas están generalmente determinados por los tamaños relativos de los individuos que interactúan (Fox 1975, Polis 1981). Esto sugeriría que las presas estuvieron dentro del rango de tamaño que el predador de una determinada talla puede manejar; o, lo que es lo mismo, que dichas presas están incluidas dentro de su “ventana de predación” (Claessen et al., 2002). Asimismo, la coexistencia de animales

pertenecientes a cohortes diferentes (C1año + Z, M o C1) resultó en el máximo canibalismo y los predadores generaron la mortalidad total de las presas en sólo 5 días.

La direccionalidad de los ataques entre cangrejos indica con claridad que los animales más grandes provocan en los más pequeños heridas subletales y letales, pero esto no ocurre a la inversa. Cuando un único predador fue colocado con 5 presas (de menor tamaño), el cangrejo más grande siempre finalizó el experimento vivo e intacto, sugiriendo que las megalopas no pueden herir a los C1, los C1 no pueden provocar daño alguno a los C2 y que ni las ZI, M o C1 pueden herir a los C1año (Experimento 2). Este hecho confirma el rol de predadores y presas a aquellos animales grandes y pequeños respectivamente, aportando evidencia adicional para sostener que el canibalismo es un comportamiento tamaño-dependiente (Claessen, et al., 2004). Por el contrario, en los tratamientos con más de un predador (Experimento 3), éstos resultaron heridos sólo en la combinación C1-M, probablemente como consecuencia de la depredación intra-estadio cuando las presas están fuera del alcance de los predadores (en este caso por la permanencia de las megalopas en la columna de agua). Este hecho se refuerza con la ausencia de heridas en el único predador en coexistencia con 5 presas (proporción 1-5). El cambio en el comportamiento de las megalopas durante su desarrollo, de esencialmente natatorio a sedentario (Gonor y Gonor, 1973; Stevens y Swiney, 2005), haría que las interacciones entre los C1 sean también más frecuentes al comienzo de la experiencia. Las megalopas logran escapar de sus potenciales depredadores nadando activamente en la columna de agua y permaneciendo así fuera de su alcance. Luego, cuando el comportamiento sedentario prevalece, se hacen accesibles a los C1 en el fondo del recipiente y consecuentemente susceptibles de depredación.

Los resultados obtenidos sugieren que los juveniles de *L. santolla*, en contraposición a los adultos, autotomizan sus apéndices como estrategia de escape ante sus depredadores. Los adultos de la especie no son proclives a perder apéndices en cautividad como sí ocurre en otros litódidos como *Paralithodes camtschaticus* (Juanes y Smith, 1995; Dvoretzky y Dvoretzky, 2009) ni tampoco durante operaciones de pesca (Lovrich, obs. pers.). Los ataques de los predadores se evidenciaron en la pérdida de apéndices completos. Raramente se observó una pérdida parcial (faltante de algún mero). La capacidad de eliminar apéndices ante una situación agonística tiene la ventaja inmediata de la evasión del depredador. Sin embargo, los costos asociados a la autotomía varían significativamente dependiendo del tipo de apéndice que se pierde, la función del apéndice y la importancia relativa de, clase de la edad, sexo y/o la condición del animal (Maginnis, 2006). La autotomía de los apéndices caminadores en *L. santolla* no afectaría el forrajeo, aunque podría afectar su crecimiento disminuyendo su incremento por muda, y en el largo plazo un individuo más pequeño sería más susceptible a ser depredado por conespecíficos. Así mismo los individuos con autotomías podrían ser más susceptibles a depredadores debido a que podrían tener su movilidad afectada y disminuir su capacidad de escape frente al conespecífico.

El canibalismo en juveniles de centolla podría causar diferencias considerables en el tamaño de los juveniles de una misma cohorte a largo plazo. Aunque los intentos de cultivos masivos comienzan generalmente con un pool de animales de un estadio o edad determinados, con el tiempo, la muda se torna asincrónica, causando finalmente variabilidad en la talla de los individuos (Daly, et al., 2009). Pasados 8-9 meses de mantenimiento en grandes cantidades, aquellos individuos que permanecieron sin heridas (intactos) duplicaron en tamaño a otros

conespecíficos heridos que coexistían con ellos (observación personal). Así, la tasa de crecimiento en animales caníbales sería mayor dado que se logra extraer energía extra de las presas (Moller, et al., 2008), mientras los heridos reducirían el incremento en tamaño por muda ya que priorizarían el destino de la energía hacia la regeneración de los apéndices perdidos (Barría y González, 2008).

Una alta presión de depredación también se ha observado en otras especies de decápodos. Un juvenil del braquiuro *Neohelice granulata* consume 6 nuevos individuos recién asentados dentro de las primeras 48 hs. (Luppi, et al., 2001), mientras que en *P. camtschaticus* dos juveniles de 1 año de edad consumen 20 megalopas en 24 h (Stevens y Swiney, 2005). Estos valores son comparables con los obtenidos para *L. santolla* donde un único C_{1año} depreda al menos sobre 5 megalopas en 48-72 h (Fig.3.3). Las diferencias entre estos dos litódidos podría deberse a la condición de ayuno del predador de *P. camtschaticus*, antes y durante la experiencia de canibalismo. La similitud en el tamaño de predador y presa conlleva a una disminución en la tasa de mortalidad y canibalismo. Por ejemplo, en *P. camtschaticus* la mortalidad entre C1 y C2 (de entre 1.8 y 2.0 mm de ancho de caparazón) alcanzó un 27% en 25 días (Borisov, et al., 2007), poco más de la mitad del 48% alcanzado en *L. santolla*. Así, los primeros estadios de cangrejo de *P. camtschaticus* serían menos voraces que los mismos estadios de *L. santolla*, ya que estos últimos alcanzan tasas mayores de canibalismo a bajas densidades (950 ind·m⁻² en *L. santolla* vs 1111 ind·m⁻² en *P. camtschaticus*). Incluso a bajas densidades de cultivo de 100 ind m⁻², el canibalismo puede alcanzar el 50% como se reportó para *Portunus pelagicus* (Marshall, et al., 2005). Sin embargo, aunque el canibalismo es alto, el progreso en el cultivo y mantenimiento de

Callinectes sapidus permite obtener un 10,5% de supervivencia de individuos hasta cangrejos de estadio 6 (Zmora, et al., 2005).

Bajo condiciones naturales, se esperaría que el canibalismo durante los primeros estadios sea considerablemente menos intenso que el encontrado en el presente estudio, ya que las densidades experimentales utilizadas fueron más altas ($\sim 950 \text{ ind}\cdot\text{m}^{-2}$) que en el ambiente natural. Las larvas de *L. santolla* no aparecen en las muestras de plancton (Lovrich, 1999). Los estadios juveniles tempranos parecen tener un comportamiento solitario y críptico (Lovrich y Vinuesa, 1995; Loher y Armstrong, 2000). En este sentido, en vistas a un potencial subsidio poblacional con juveniles de centolla, se esperaría que el comportamiento de canibalismo en su ambiente natural no alcance los niveles encontrados en nuestros experimentos, dado que estarían mayormente dados por las características implícitas del cultivo masivo.

A partir de la información de este capítulo, que describe el comportamiento caníbal de *L. santolla* en cautividad, es importante conocer cómo la intensidad de este comportamiento varía de acuerdo a ciertas características como densidad de individuos, condición de muda, presencia de sustratos, etc. Estos posibles factores de variabilidad se abordarán en los capítulos que siguen con vistas en la optimización de las condiciones de cría de los juveniles de la especie.

Figuras y Tablas



Figura 3.1.- Recipiente de experimentación.
Vista superior del tubo de pvc enmallado, inmerso en recipiente contenedor con agua de mar.

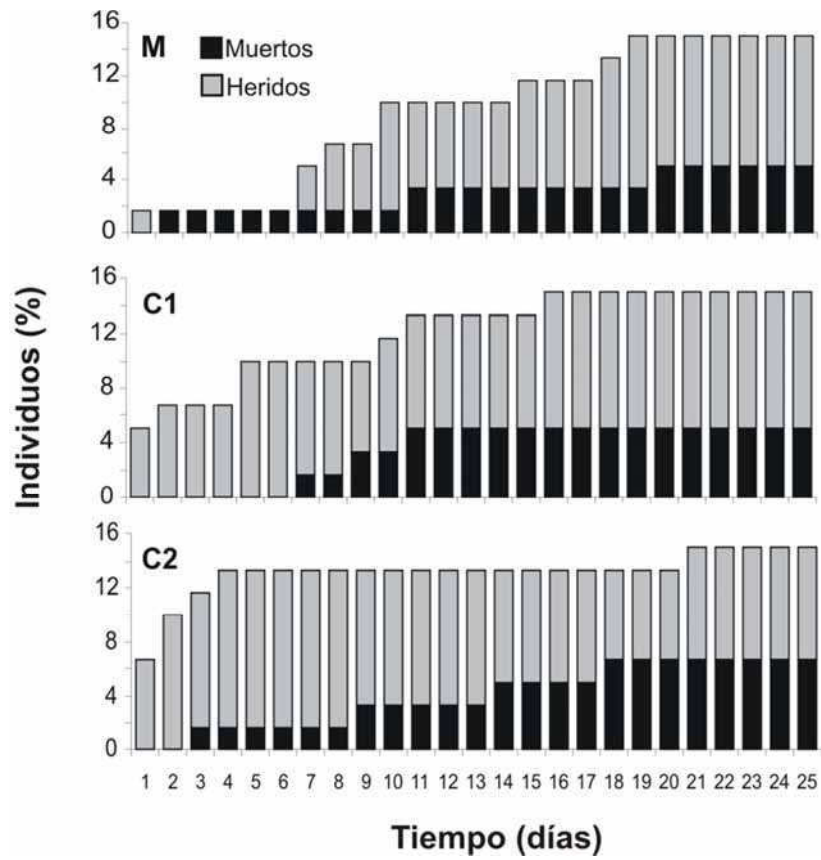


Figura 3.2.- Interacciones intra-estadio en Megalopa (M), cangrejo 1 (C1) y cangrejo 2 (C2). Se presenta la proporción acumulada promedio de individuos muertos (negro) y heridos (gris).

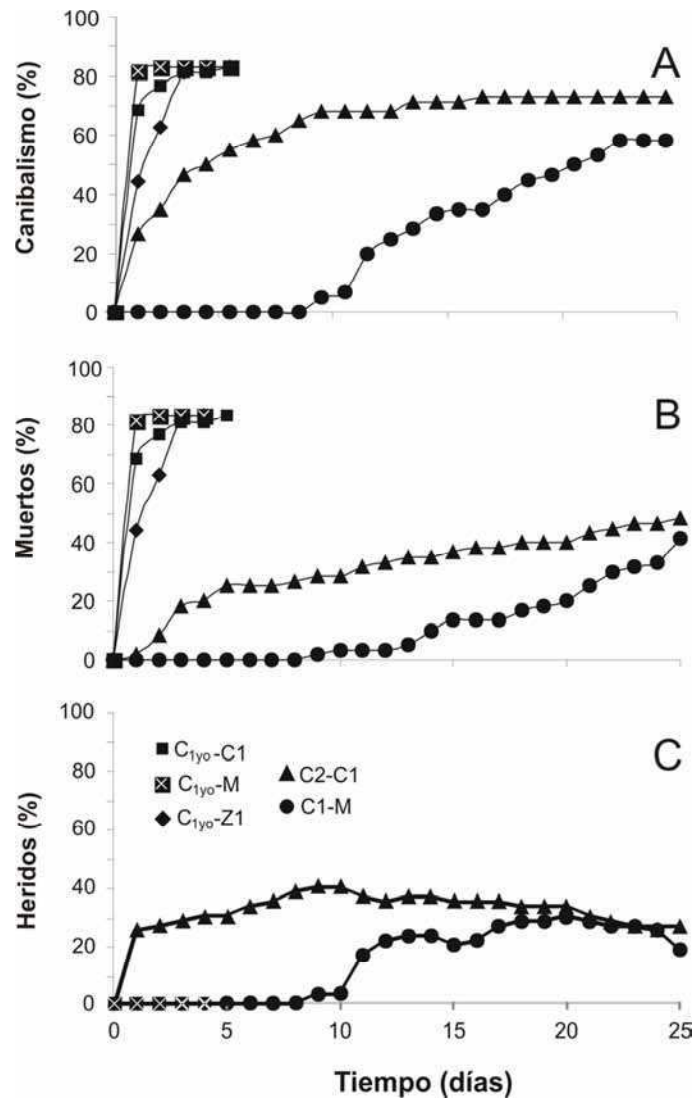


Figura 3.3.- Interacciones inter-estadio bajo diferentes combinaciones de predador-presa. A) proporción acumulada promedio de canibalismo (heridos + muertos), B) proporción acumulada promedio de muertos y C) proporción acumulada de animales heridos. Cada punto representa la media de 10 réplicas compuestas por 1 predador y 5 presas. Referencias: C_{1año} = cangrejo de un año de edad, C1 y C2 = cangrejos estadio 1 y 2 respectivamente; M = megalopa; Z1 = zoea estadio 1.

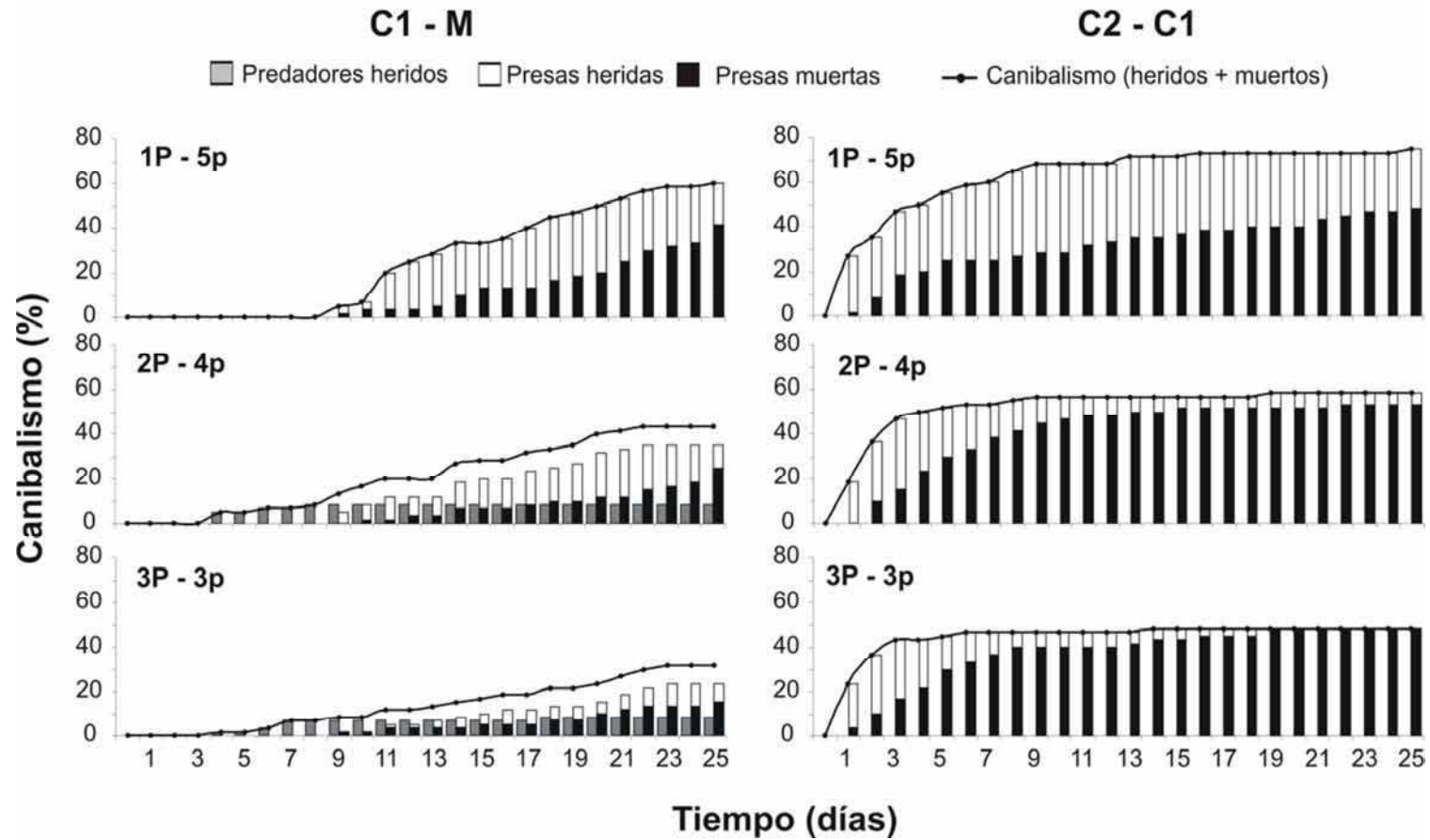


Figura 3.4.- Interacciones inter-estadio de estadios tempranos de *L. santolla* bajo diferentes proporciones de predadores (P) y presas (p): 1P-5p, 2P-4p y 3P-3p y combinaciones de estadios: C1-M y C2-C1. Se muestra la proporción acumulada promedio de presas heridas (barras blancas) y muertas (barras negras) así como los predadores heridos (barras grises). La proporción acumulada promedio de canibalismo (heridos + muertos) está representada por una línea negra continua. Los valores son medias de 10 réplicas. C1, C2 = cangrejos estadios 1 y 2 respectivamente; M = megalopa.

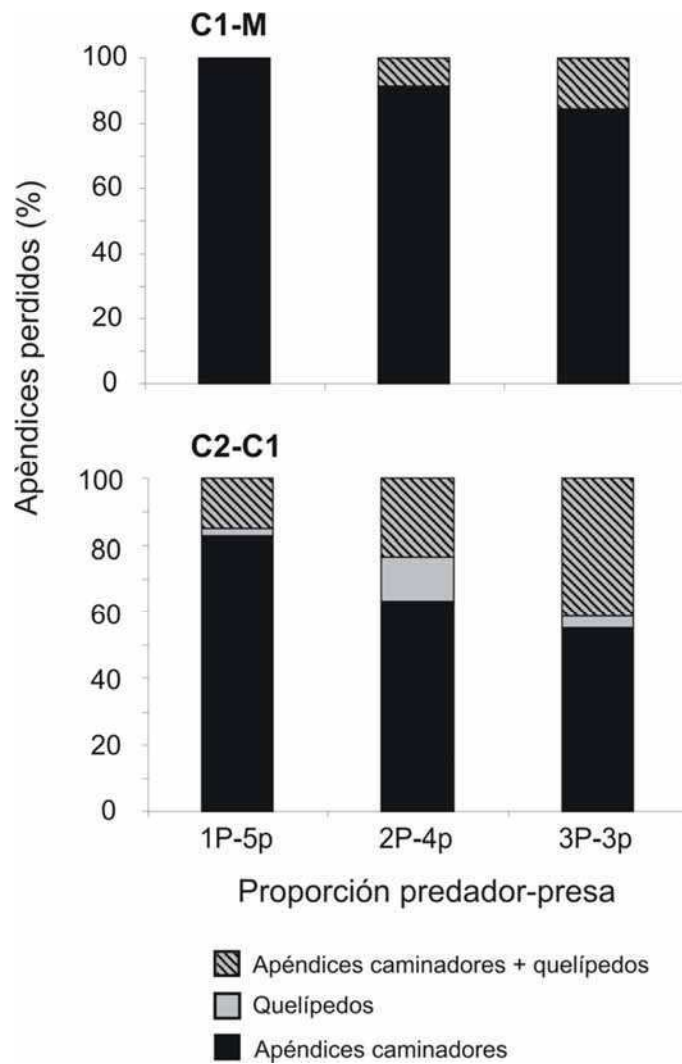


Figura 3.5.- Proporción de presas heridas discriminadas de acuerdo al tipo de apéndices que cada cangrejo perdió primero (apéndices caminadores, quelípedos o ambos) (N= 50, 40 o 30 para 1P-5p, 2P-4p y 3P-3p respectivamente). C1, C2 = cangrejos estadios 1 y 2 respectivamente; M = megalopa.

Tabla 3.1. Experimentos de canibalismo con estadios tempranos de *L. santolla*. Se muestra el número y estadio de predador (P) y presa (p) en cada tratamiento. Referencias: Z1 = zoea 1; M = megalopa; C1 y C1 = cangrejos estadio 1 y 2 respectivamente; y C_{1año} = cangrejo de un año de edad.

Experimentos	Estadio P	Estadio p	Proporción P-p	
			Número de P	Número de p
1 "intra-estadio"		M		
		C1		6
		C2		
2 "inter-estadio"	C _{1año}	Z1		
	C _{1año}	M		
	C _{1año}	C1	1	5
	C2	C1		
	C1	M		
3 "Proporción P-p"			1	5
	C2	C1	2	4
			3	3
			1	5
	C1	M	2	4
			3	3

Tabla 3.2.- Número promedio de apéndices perdidos por presa herida \pm error estándar al día 25 de experiencia. Los datos se presentan de acuerdo a la proporción de predadores (P) y presas (p): 1P-5p, 2P-4p, 3P-3p y combinación de estadios (C1-M, C2-C1). C1, C2 = cangrejos estadios 1 y 2 respectivamente; M = megalopa. N es el número de réplicas con cangrejos heridos al día 25.

		Proporción P-p		
		1P-5p	2P-4p	3P-3p
Combinación	C1-M	1.9 \pm 0.4	1.8 \pm 0.4	1.2 \pm 0.2
	n	7	6	3
estadio P-p	C2-C1	2.7 \pm 0.5	1.7 \pm 0.7	---
	n	9	3	0

CANIBALISMO DURANTE LA MUDA

Influencia de la densidad y el estadio

Introducción

Los crustáceos mudan numerosas veces durante su vida, siendo un proceso obligatorio para su crecimiento. El evento de eliminación del exoesqueleto es crítico principalmente porque factores físicos inadecuados podrían evitar que la muda se completara, con la consecuente muerte del animal (Conan, 1985). Además y aún si la muda ocurriera exitosamente, los animales recientemente mudados serían especialmente vulnerables a los depredadores hasta el endurecimiento de su caparazón (Polis, 1981; Ryer, et al., 1997; Marshall, et al., 2005; Daly, et al., 2009).

En los crustáceos en general, los juveniles mudan más frecuentemente que los adultos (Mauchline, 1976). Por tanto el cultivo masivo de estadios tempranos implica lidiar con interacciones intraespecíficas continuas a lo largo del periodo en cautividad. A pesar de la presencia de signos de daño físico (e.g.. pérdida de apéndices) en los animales de cultivo, sólo unos pocos estudios han sido capaces de discriminar entre la vulnerabilidad de los animales en intermuda y la de aquellos recientemente mudados (Marshall, et al., 2005) debido a la dificultad de cuantificar heridas en un conjunto de animales mantenidos grupalmente.

El canibalismo, es una de las principales causas del fracaso en el desarrollo de métodos de cultivo en numerosas especies de cangrejos; especialmente en la fase megalopa y en estadios juveniles (Zmora, et al., 2005; Ventura, et al., 2008). Si bien existe canibalismo en *L. santolla* durante el período de intermuda, (ver Capítulo 3), la mortalidad de cangrejos en los sistemas de cultivo está frecuentemente asociada a la depredación sobre animales recientemente mudados

(Crear, et al., 2000; Paul y Paul, 2001; Johnston, et al., 2006; Borisov, et al., 2007; Daly, et al., 2009).

Tanto la densidad como la condición de muda y el estadio (que contempla diferencia de tamaño) jugarían un papel importante en el crecimiento y supervivencia de *L. santolla* en cultivo, dado que la alta densidad se combina generalmente con espacios limitados. Estas condiciones, así como la coexistencia de diferentes estadios por asincronía en la muda, incrementan el comportamiento agonístico de los animales (Marshall, et al., 2005; Arnold, et al., 2006a; Johnston, et al., 2006; Amaral, et al., 2009; Daly, et al., 2009).

Objetivo general

Evaluar el canibalismo entre juveniles de *L. santolla* bajo distintas condiciones de muda, estadio y densidad.

Materiales y Métodos

Los cangrejos utilizados en los experimentos fueron obtenidos durante el período de eclosión 2010, siguiendo el procedimiento general para el cultivo de cangrejos hasta C1 (ver Metodología general).

Diseño experimental

Se diseñaron tres experimentos para describir la dinámica del canibalismo de acuerdo a la condición de muda, el estadio y la densidad de cangrejos. En cada experimento, se contó con 5 réplicas por tratamiento.

- *Experimento 1 (C1 intermuda)*: Se evaluó el canibalismo en C1 en condición de intermuda a tres densidades: 6, 12 y 18 individuos por recipiente. Estas densidades serán referidas de aquí en adelante como d6, d12 y d18 respectivamente.
- *Experimento 2 (C1 muda)*: Se evaluó el canibalismo en C1 durante la muda al siguiente estadio (C2) a tres densidades: 6, 12 y 18 individuos por recipiente.
- *Experimento 3 (C2 intermuda)*: El canibalismo se evaluó en C2 en condiciones de intermuda y a tres densidades: 6, 12 y 18 individuos por recipiente.

La cantidad de individuos por recipiente utilizadas corresponden a densidades de 938, 1875 y 2813 animales por metro cuadrado.

Se controló la condición de muda y el estadio de los cangrejos como se indica a continuación. Obtenidos los C1 como se indica en Metodología general, los animales se utilizaron para el *Experimento 1* al menos 72 h luego de la muda (de megalopa a C1), para asegurar el endurecimiento del exoesqueleto. El resto de los C1 que no fueron utilizados se mantuvieron individualmente en recipientes plásticos de 100 ml para evitar posibles heridas entre conoespecíficos. Durante este período fueron alimentados con *Artemia* sp 3 veces a la semana. Luego de aproximadamente 1 mes, los C1 comenzaron a mudar a C2. Este hecho permitió conocer la proximidad de la muda para los que todavía no habían mudado en el conjunto. Al alcanzarse el 20% de animales mudados en el pool se dio comienzo al *Experimento 2*, con los restantes C1 próximos a mudar, dado que el objetivo fue que los C1 muden a C2 durante el experimento. Finalmente, aquellos cangrejos que no se utilizaron fueron mantenidos hasta que la cantidad necesaria alcanzara el estadio C2. Éstos se mantuvieron por 72 h para nuevamente asegurar la condición intermuda de los cangrejos. Con estos animales se realizó el *Experimento 3*.

Los experimentos se realizaron en tubos cilíndricos de PVC (9 cm diámetro, 11 cm altura) con base enmallada (1 mm, polietileno) y con una superficie total de fondo de 64 cm². Cada tubo fue inmerso en un recipiente de 1,5 L, conteniendo 1 L de agua de mar esterilizada por UV. La malla de la base del tubo permitió a los cangrejos sujetarse y moverse libremente en el fondo del tubo (Fig. 4.1). Asimismo, el tubo de PVC permitió minimizar los disturbios ocasionados a los animales durante el cambio de agua, dado que los animales no fueron manipulados directamente. Los recipientes con el tubo enmallado en su interior fueron colocados al azar en una cámara fría a $7,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ y bajo un régimen de luz de 12:12 h (0.5 lx) luz-oscuridad respectivamente. Durante

el transcurso de los experimentos, el agua de los recipientes fue renovada tres veces por semana. Inmediatamente después de cada cambio de agua, los animales fueron alimentados *ad libitum* con nauplios de *Artemia* sp, para minimizar el efecto del ayuno sobre el comportamiento caníbal (Luppi, et al., 2001). Los experimentos comenzaron una vez colocados los cangrejos en cada recipiente de acuerdo a la densidad, estadio y condición de muda de cada tratamiento.

En los experimentos se utilizaron sólo cangrejos de apariencia saludable, capaces de desplazarse sin inconvenientes y con todos sus apéndices. Diariamente, en cada réplica se contabilizaron tanto muertos como heridos con signos de canibalismo (e.g. apéndices perdidos), así como el tipo del primer apéndice perdido en aquellos que fueron heridos (apéndices caminadores, quelas o ambos). En caso de aparición de exuvias, éstas se contabilizaron para determinar la finalización del experimento en el caso de los tratamientos diseñados para condiciones de intermuda o como indicador de la ocurrencia de muda de los animales en el tratamiento CI_{muda} . Los cangrejos desaparecidos en el contenedor fueron considerados como muertos por canibalismo, mientras que aquellos encontrados muertos e intactos (con todos sus apéndices) fueron considerados muertes naturales. Cada día, los cangrejos muertos con signos de canibalismo fueron extraídos de los recipientes y aquellos contabilizados como muertes naturales fueron reemplazados por cangrejos vivos e intactos del mismo estadio de desarrollo.

El canibalismo fue evaluado en términos de cangrejos muertos y heridos (al igual que en el Capítulo 3). La suma de ambos componentes (muertos y heridos) será referida como cangrejos

canibalizados. La proporción diaria acumulada de heridos y muertos fue calculada sobre el total de individuos en cada tratamiento (6, 12 o 18).

Procedimientos estadísticos

Los datos de canibalismo, heridos y muertos se presentan como porcentajes medios acumulados \pm error estándar al día 16. Los datos fueron transformados con la función arcoseno según:

$$F(x) = \text{Arcoseno} \sqrt{x} \frac{180}{\pi}$$

donde x es la proporción de canibalizados, heridos o muertos según corresponda.

La normalidad y homogeneidad de los datos fueron testeadas con test de Kolmogorov-Smirnov y Levene respectivamente (Sokal y Rohlf, 1995).

El porcentaje de animales mudados de acuerdo a las densidades de cultivo fue testado al día 16, con un ANOVA de 1 factor. A demás, se utilizaron ANOVAs de dos factores para evaluar posibles diferencias en el canibalismo, heridos y muertos, de acuerdo a la condición de muda y la densidad de cultivo y de acuerdo al estadio y la densidad de los juveniles de centolla respectivamente. En caso de hallarse diferencias significativas entre tratamientos ($\alpha < 0,05$) se llevaron a cabo comparaciones post-hoc (Test de Tukey).

Resultados

Progresión de mudas

El porcentaje de cangrejos mudados de C1 a C2 en el tratamiento C1_{muda} aumentó progresivamente en el tiempo y mostró mayores valores a densidades más altas hasta el día 11, momento a partir del cual el porcentaje de mudas en la d6 superó la observada en las dos densidades restantes (Fig. 4.1).

En los experimentos de intermuda, la primera exuvia se registró al día 18. Sin embargo, las comparaciones estadísticas entre tratamientos se realizaron al día 16 para evaluar el canibalismo durante el mayor tiempo posible y que la proporción de animales mudados fuera similar (ANOVA, $F=261,86$, $p>0,05$) (Fig. 4.1). Así, las diferencias encontradas en el canibalismo, heridos o muertos entre densidades no pueden ser atribuidas al porcentaje de animales mudados en cada tratamiento sino a los factores en evaluación: estadio, condición de muda o densidad.

a- Efecto de la condición de muda y densidad sobre el canibalismo

Canibalismo

Se observaron cangrejos canibalizados en todas las densidades y en ambas condiciones de muda. El daño entre conespecíficos comenzó tan pronto se iniciaron las experiencias (día 1) (Fig.

4.2). Al día 16 de la experiencia el porcentaje de cangrejos canibalizados dependió de ambos factores, condición de muda y densidad (Tabla 4.1). Así, *L. santolla* depreda más intensamente sobre sus conespecíficos durante la muda ($33,9 \pm 4,5\%$) que en intermuda ($21,7 \pm 3,9\%$) (Tabla 4.1), incluso cuando el porcentaje de animales mudados es bajo y sólo alcanzó el 36% (Fig.4.1). Los cangrejos canibalizados aumentaron con la densidad alcanzando el $18,3\% \pm 7,2$, $26,7\% \pm 3,2$ y $38,3\% \pm 3,3$ en d6, d12 y d18 respectivamente, aunque sólo se observaron diferencias significativas entre las densidades extremas (Tabla 4.2).

Muertos

Los muertos ocurren antes cuanto más alta la densidad de cultivo: los cangrejos muertos no aparecen sino hasta el día 7 (densidad 6) en $C1_{intermuda}$, pero aparecen inmediatamente después de comenzada la experiencia de $C1_{intermuda}$ tanto en las densidades 12 como 18. En el tratamiento $C1_{muda}$, los muertos fueron registrados al día 1, 3 y 6 en las densidades 18, 12 y 6, respectivamente (Fig.4.2).

Al día 16 del experimento, la mortalidad fue afectada solamente por la densidad (Tabla 4.1). La proporción de muertos fue mayor tanto en la densidad 18 ($23,9 \pm 4,3\%$) como en 12 ($15,0 \pm 3,9\%$) con respecto a la densidad 6 ($5,0 \pm 2,5\%$). La cantidad de muertos observada tanto en condiciones de muda como de intermuda fue similar alcanzando el $16,8 \pm 4,1\%$ y $12,4 \pm 2,9\%$ en $C1_{intermuda}$ y $C1_{muda}$ respectivamente (Tabla 4.1).

Heridos

Los cangrejos heridos fueron afectados por la condición de muda, dado que una mayor proporción de heridos fue encontrada en $C1_{muda}$ que en $C1_{intermuda}$ (Tabla 4.1). Los heridos se incrementaron hasta un $21,5 \pm 4,2\%$ en condiciones de muda, mientras que en intermuda los heridos sólo alcanzaron el $5,9 \pm 1,5 \%$.

El número de apéndices faltantes por herido se vio afectado sólo por la densidad experimental, registrándose diferencias entre las densidades extremas (Tabla 4.3 y 4.4). Los cangrejos heridos perdieron en promedio $0,67 \pm 0,24$, $0,93 \pm 0,11$ y $1,43 \pm 0,16$ extremidades/pereiópodos en d6, d12 y d18 respectivamente. Teniendo en cuenta la condición de muda, en ambos tratamientos se alcanzaron valores similares, de $0,94 \pm 0,17$ y $1,08 \pm 0,16$ apéndices faltantes por herido bajo condición de intermuda y muda respectivamente.

b- Efecto del estadio y la densidad en el canibalismo

Canibalismo

Se observó canibalismo en los dos estadios analizados (C1 y C2) y en todas las densidades desde el día 1 (Fig.4.2). Los cangrejos canibalizados fueron afectados sólo por la densidad, independientemente del estadio (Tabla 4.3). El canibalismo fue significativamente mayor en d18 ($26,1 \pm 3,3\%$) que en d6 ($10,0 \pm 3,7\%$) (Tabla 4.4).

Muertos

Se encontraron cangrejos predados en ambos estadios --C1 y C2-- y en las 3 densidades testeadas, y los animales canibalizados se registraron más temprano cuanto mayor fue la densidad experimental. Mientras que en C1 la aparición de muertos ocurrió el día 6 en d6 y 1 en d12 y d18, en C2 se registraron muertos a partir del día 9, 7 y 2 en las respectivas densidades (Fig.4.2). Los datos indican que tanto estadio como densidad son factores que impactan sobre la cantidad de muertos (Tabla 4.3). La mortalidad entre los cangrejos C2 triplicó la de los C1, alcanzando valores de $16,8 \pm 4,1\%$ y $5,9 \pm 1,5\%$ respectivamente (Fig. 4.2). Se encontraron también diferencias en la mortalidad entre las densidades extremas (Tabla 4.4): mientras que los muertos alcanzaron $5,0 \pm 2,5\%$ en d6, la mortalidad se incrementó hasta el $18,3 \pm 4,4\%$ en d18.

Heridos

Se registró la presencia de heridos en C1 y C2, y en las tres densidades experimentales. Sin embargo, el porcentaje de heridos fue similar entre estadios y entre densidades (Tabla 4.3). Aunque estadísticamente no significativos, la proporción de heridos siguió el mismo patrón que los animales depredados: alcanzaron el $4,81 \pm 1,37\%$ y $9,26 \pm 1,93\%$ en C1 y C2 respectivamente. Se registró un $5 \pm 2,5\%$, $8,33 \pm 2,15\%$ y $7,77 \pm 1,70\%$ de heridos en cada una de las densidades d6, d12 y d18.

Tipos de apéndice perdidos

Existió una pérdida diferencial de apéndices en los juveniles de *L. santolla*. Los cangrejos perdieron más frecuentemente los apéndices caminadores durante las interacciones entre conespecíficos (al igual que se observó en el Capítulo 4, durante la intermuda). Contabilizando todos los primeros ataques exitosos, los apéndices caminadores fueron los primeros apéndices perdidos en más del 80%, 88% y 63% de los casos en $C1_{intermuda}$, $C1_{muda}$ y $C2_{intermuda}$ respectivamente (Fig.4.3). También se observó que cuanto mayor era la densidad de cultivo de los cangrejos, la proporción de quelas o apéndices caminadores + quelas perdidas fue mayor. Cabe notar que la pérdida de los apéndices siempre fue completa, i.e. no se encontraron secciones de apéndices.

Discusión

Los experimentos presentados demuestran que la vulnerabilidad de los juveniles de centolla, *L. santolla*, está influenciada tanto por la condición de muda y el estadio de los cangrejos, como por la densidad de cultivo. Estos factores impactan en el canibalismo (o en alguno de sus componentes) y consecuentemente en la supervivencia de los juveniles de centolla en condiciones de cultivo masivo. En vistas al cultivo de juveniles de centolla a largo plazo, sería esperable encontrar valores de canibalismo más altos que los aquí presentados, que superen el 33,9% alcanzado en los presentes experimentos, ya que no todos los individuos alcanzaron a mudar durante el período de estudio (menos del 40%).

Condición de muda

La vulnerabilidad de cangrejos y langostas recientemente mudados comparada con la de aquellos en intermuda ha sido referida extensamente en la bibliografía (Polis, 1981; Crear, et al., 2000; Paul y Paul, 2001; Marshall, et al., 2005; Johnston, et al., 2006; Borisov, et al., 2007; Daly, et al., 2009) y se observó también en nuestros experimentos. Si bien el canibalismo fue mayor durante la muda, la depredación entre conoespecíficos durante el período intermuda también fue relevante en *L. santolla* (ver Capítulo 3).

La mortalidad por depredación en juveniles tempranos estuvo asociada a los eventos de ecdisis en algunas especies de litódidos estrechamente emparentadas a *L. santolla*, como las centollas dorada *Paralithodes aequispinus* (Paul y Paul, 2001) y roja, *P. camtschaticus* (Borisov,

et al., 2007; Daly, et al., 2009). Sin embargo, nuestros datos revelan que la condición de muda de los juveniles de *L. santolla*, afecta esencialmente la cantidad de heridos y no de muertos (Tabla 4.1). Durante la muda los heridos alcanzan el ~21% mientras que durante la intermuda solo se registra un ~5% de heridos.

Marshall y colaboradores (2005) observaron hasta un 70% de mortalidad en juveniles de *Portunus pelagicus* en postmuda y entre 10-40% en intermuda. Esta información sugeriría que durante la muda los juveniles son especialmente susceptibles a la depredación intraespecífica. Sin embargo, además de las diferencias en la condición de muda, los porcentajes de mortalidad obtenidos por estos autores podrían responder en parte a la asimetría en el tamaño entre los cangrejos utilizados en su estudio, como ocurre en *L. santolla*. La disparidad de tamaño entre conespecíficos de *L. santolla* causó hasta un 75% y 60% de canibalismo cuando coexistieron estadios sucesivos como C2-C1 o C1-M, incluso durante la intermuda (ver Capítulo 3).

El canibalismo durante el período de muda está probablemente subestimado en este trabajo considerando que sólo el 36% del total de los cangrejos mudaron en el tratamiento correspondiente. Si bien los experimentos no comenzaron hasta que el 20% de los animales del pool original mudaron, 16 días no fueron suficientes para que todos los individuos de cada réplica mudaran durante las experiencias. Aunque la pérdida de apéndices haya sido considerada un factor acelerador de la muda en varias especies como *Palaemonetes kadiakensis* o *Gecarcinus lateralis*, este fenómeno se detectó con la pérdida de cuatro o más apéndices por individuo (Mykles, 2001). Dado que el número promedio de apéndices perdidos por individuo herido en el presente estudio fue bajo ($1,31 \pm 0,10$), no se esperaría una variación del período intermuda por esta causa. Sin embargo, el retraso o postergación de la muda por presencia de conespecíficos se

ha probado en cangrejos como *Callinectes sapidus* (Welch, et al., 1997; Diaz, et al., 1999) y *Chionoecetes opilio* (Sainte-Marie y Lafrance, 2002) y en langostas de *Homarus americanus* (Cobb y Tamm, 1974). Aunque sería necesaria más información, la progresión de mudas extendida en el tiempo podría sugerir que este último caso, podría corresponderse con lo que sucede en *L. santolla*.

Estadio

El canibalismo encontrado en C1 y C2 (en intermuda) fue similar, en coincidencia con lo presentado en el Capítulo 4, a pesar que podría haberse predicho un mayor canibalismo en C2 debido al aumento de tamaño de los animales con la consecuente mayor necesidad de alimento conforme avanzan los estadios. Sin embargo, la similitud en el canibalismo en los dos estadios analizados podría deberse principalmente a dos razones: primero, es sabido que *L. santolla* alcanza el estadio C1, el primer estadio que se alimenta, con bajos niveles de reserva energética dado que las reservas lipídicas iniciales son consumidas progresivamente durante los ~60 días de desarrollo larval lecitotrófico (Lovrich, et al., 2003). Como resultado, una ingesta “voraz” de cualquier ítem alimentario incluyendo sus conespecíficos, podría considerarse estratégico en pos de revertir las deficiencias en la condición nutricional con las que los individuos alcanzan el primer estadio juvenil. Segundo, los nauplios de *Artemia salina*, al ser presas vivas y nadadoras resultarían menos “disponibles” para los C1, en comparación con sus conespecíficos que se encuentran próximos espacialmente y restringidos en el fondo del recipiente. Si bien los nauplios de *Artemia salina* permitieron el desarrollo de juveniles individuales hasta C6 (Ver Capítulo 6),

las diferencias en las condiciones de experimentación aplicadas (cultivo masivo vs individual; recipientes de experimentación más grandes vs más pequeños; presencia de competidores conespecíficos vs individuales) podrían hacer suponer cierta diferencia en la disponibilidad de dicho ítem alimentario.

Densidad

El efecto de hacinamiento ha sido objeto de investigación en muchas especies de crustáceos, dado que es una condición particularmente importante y frecuente en proyectos estrictamente de acuicultura o para aquellos con vistas al subsidio poblacional (Arnold, et al., 2006a; b; Johnston, et al., 2006; Mann, et al., 2007). La densidad, entonces, se erige como un factor crucial en cultivos masivos donde gran cantidad de individuos en mantenimiento se combina con limitaciones de espacio, tendiendo a promover el comportamiento agonístico entre individuos dado que las posibilidades de encuentro entre animales también aumentan. El espacio reducido, impide la segregación espacial entre individuos, comportamiento que expresan algunos grupos para reducir el riesgo de depredación en condiciones naturales (Ryer, et al., 1997). Una vez alcanzado el estadio megalopa o los primeros estadios juveniles en *L. santolla*, se observa que los individuos guardan una distribución equidistante en los acuarios de cultivo (observación personal). Este comportamiento podría estar relacionado con el mantenimiento del denominado “territorio inter-individual” mencionado por Polis (1981). Así, el aumento del canibalismo con la densidad, observada en estos experimentos, podría ser el resultado de la violación de una distancia inter-individual mínima por debajo de la cual las interacciones entre conespecíficos

aumentan y se traducen en el aumento del canibalismo. Si bien no está confirmado para *L. santolla*, existe evidencia para su especie emparentada *P. camtschaticus* de aislamiento de los cangrejos menores a un año de edad en el ambiente natural, que podría indicar que estas centollas evitarían el contacto con sus conespecíficos durante el primer año de vida, hasta que expresan su comportamiento de “podding” (cangrejos mayores a 20 cm) y permanecen en agregaciones de altos número de individuos (Dew, 1990; Cárdenas, et al., 2007).

Figuras y Tablas

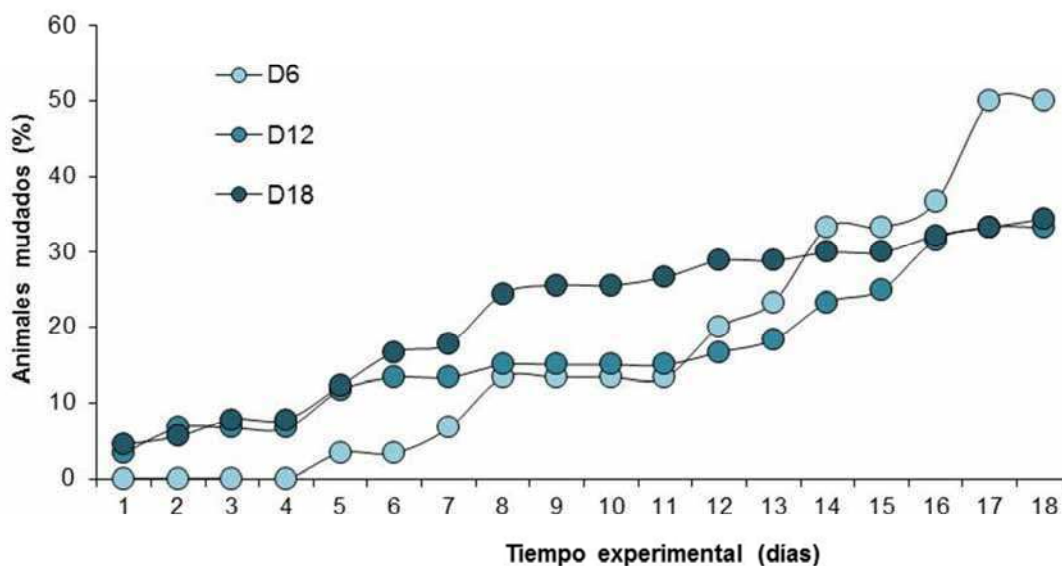


Figura 4.1- Progresión de mudas (expresado en %) de juveniles C1 de *L. santolla*, correspondientes al experimento 2 (C1 muda). El día 1 en la figura corresponde al primer día de experimentación y no a la edad de los cangrejos. Cada punto en la figura representa el promedio de animales mudados en las 5 réplicas, de acuerdo a la densidad: 6, 12 o 18 animales por recipiente (D6, D12 y D18, respectivamente). Para una mejor representación gráfica, no se incluyen los valores de DS, ES o cualquier otra medida de variabilidad.

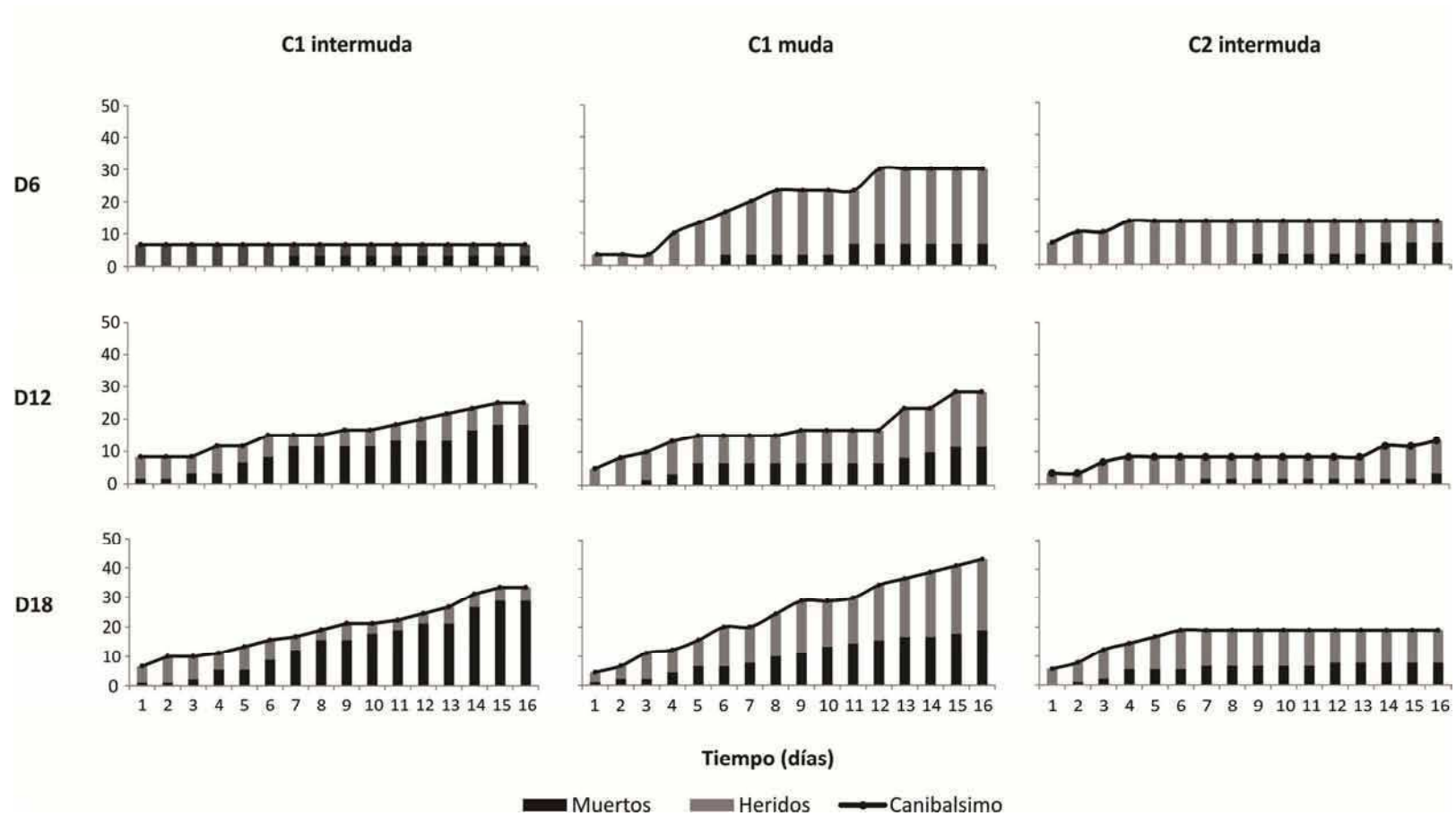


Figura 4.2.- Canibalismo (línea continua) en *L. santolla* bajo distintas condiciones de estadio, muda y densidad. Se muestran el porcentaje acumulado de muertos (columna negra) y heridos (columna gris oscuro) en cada tratamiento.

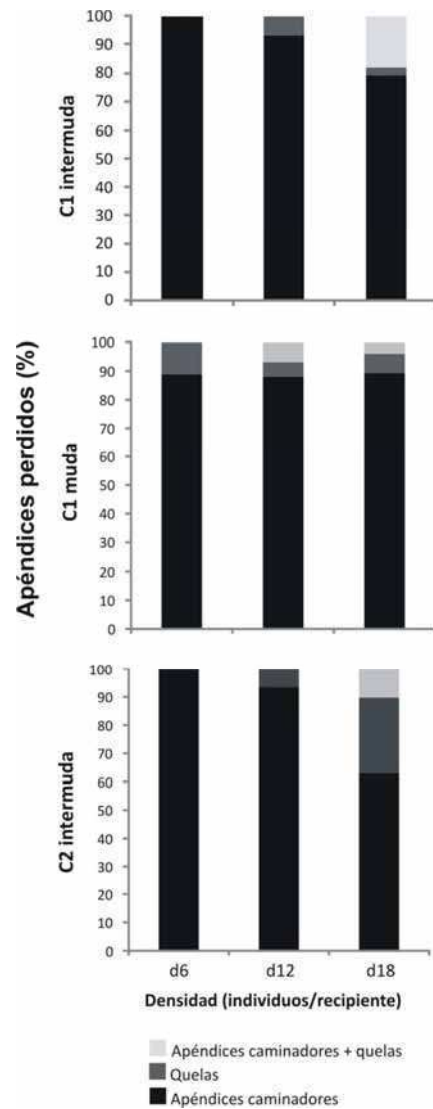


Figura 4.3- Proporción de presas heridas discriminadas de acuerdo al tipo de apéndices que cada cangrejo perdió primero (apéndices caminadores, quelípedos o ambos), bajo diferentes densidades. El 100% es el total de presas heridas en cada tratamiento. Se muestran los datos en los tratamientos de intermuda (C1 y C2) y muda (C1), bajo tres densidades: 6, 12 y 18 individuos por recipiente.

Tabla 4.1- ANOVAs de dos vías evaluando el canibalismo, muertos, heridos y número de apéndices perdidos por individuo herido, de acuerdo a la condición de muda (Muda, Intermuda) y la densidad de cangrejos juveniles de *L.santolla* (6, 12, 18·recipiente⁻¹). Referencias: GL = grados de libertad; CM = cuadrados medios; F = estadístico.

CONDICIÓN DE MUDA VS DENSIDAD					
	Fuente de variación	GL	CM	F	p
Canibalismo	Condición de muda	1	682,42	5,09	0,03
	Densidad	2	864,74	6,46	0,01
	Condición de muda*Densidad	2	209,73	1,57	0,23
	Error	24	133,96		
Muertos	Condición de muda	1	64,48	0,43	0,52
	Densidad	2	1043,85	6,93	0,00
	Condición de muda*Densidad	2	127,11	0,84	0,44
	Error	24	150,66		
Heridos	Condición de muda	1	1166,43	7,88	0,01
	Densidad	2	10,13	0,07	0,93
	Condición de muda*Densidad	2	53,85	0,36	0,70
	Error	24	147,99		

Tabla 4.2- Tests de Tukey realizados para testear diferencias entre densidades sobre: Canibalismo, Muertos y Apéndices perdidos por herido. No se realizaron los Test de Tukey en los casos en que el ANOVA registró diferencias entre dos niveles de un factor, ya que se utiliza la probabilidad asociada de ese análisis.

Canibalismo	d(6)	d(12)	d(18)
d(6)			
d(12)	0,11		
d(18)	<0,01	0,34	

Muertos	d(6)	d(12)	d(18)
d(6)			
d(12)	0,07		
d(18)	<0,01	0,38	

Apéndices perdidos	d(6)	d(12)	d(18)
d(6)			
d(12)	0,61		
d(18)	0,02	0,18	

Tabla 4.3- ANOVAs de dos vías evaluando el canibalismo, muertos, heridos y número de apéndices perdidos por herido de acuerdo al estadio y la densidad de cangrejos juveniles de *L.santolla*. Referencias: GL = grados de libertad; CM = cuadrados medios; F = estadístico.

ESTADIO VS DENSIDAD					
	Fuente de variación	GL	CM	F	p
Canibalismo	Estadio	1	145,88	1,20	0,28
	Densidad	2	751,52	6,20	0,01
	Estadio*Densidad	2	247,12	2,04	0,15
	Error	24	121,31		
Muertos	Estadio	1	596,22	5,27	0,03
	Densidad	2	707,62	6,26	0,01
	Estadio*Densidad	2	353,92	3,13	0,06
	Error	24	113,11		
Heridos	Estadio	1	152,27	2,61	0,12
	Densidad	2	37,45	0,64	0,53
	Estadio*Densidad	2	11,37	0,20	0,82
	Error	24	58,24		

Tabla 4.4- Tests de Tukey realizados para testear diferencias entre tratamientos de estadio vs densidad sobre: A-Canibalismo, B-Muertos y C-Apéndices perdidos por herido. No se realizaron los Test de Tukey en los casos en que el ANOVA registró diferencias entre dos niveles de un factor, ya que se utiliza la probabilidad asociada de ese análisis.

A	d(6)	d(12)	d(18)
d(6)			
d(12)	0,09		
d(18)	<0,01	0,41	

B	d(6)	d(12)	d(18)
d(6)			
d(12)	0,30		
d(18)	<0,01	0,13	

C	d(6)	d(12)	d(18)
d(6)			
d(12)	0,62		
d(18)	0,03	0,21	

CANIBALISMO – MITIGACIÓN POR SUSTRATOS NATURALES Y
ARTIFICIALES

Introducción

Los sustratos o hábitats naturales complejos proveen a los animales amparo y refugio ante depredadores hasta el momento en que el tamaño de las presas supera los espacios disponibles. Los micro-hábitats que se crean en este tipo de sustratos ayudan a disminuir la eficiencia de depredación y a “permitir” la coexistencia de predadores y presas (Crowder y Cooper, 1982). Esta observación en el ambiente natural ha llevado a numerosos investigadores a incorporar al sustrato y/o refugio como factor manipulable en el manejo de decápodos en cultivo. El agregado de refugio, reduce el canibalismo, aumentando la supervivencia de los individuos durante la fase de cría en langostas como *Panulirus ornatus* (Chau, et al., 2009) y *P. cygnus* (Johnston, et al., 2006). En otros casos como en el cangrejo nadador azul *Portunus pelagicus* la supervivencia aumenta proporcionalmente a la cantidad de “grietas” generadas en el sustrato de cultivo (Marshall, et al., 2005). En este contexto, Tapella et al. (2012) han comprobado la selección de sustratos complejos, incluyendo porciones de valvas y canto rodado, tanto de zoeas como de megalopas de *L. santolla* y sugirieron que estos ambientes que ofrecen refugio podrían reducir la mortalidad por depredación y/o canibalismo.

Las características morfológicas y sedimentológicas del Canal Beagle indican que la complejidad del fondo decrece a medida que se incrementa la profundidad. A profundidades mayores a 60-70 m, el fondo está dominado principalmente por fango o por una mezcla de fango y arena, mientras que la presencia de arena, rocas y grava ocurre a profundidades menores a 40 m (Brambatti, 1991; Collizza, 1991; Lomovasky, et al., 2002;

Pineda, et al., 2002). En la zona intermareal y submareal es común la presencia de bancos de mejillones (*Mytilus edulis platensis*) y almeja *Tawera gayi* (Duarte, et al., 2011). Se encuentran además importantes acumulaciones de valvas vacías de la almeja rayada *Eurhomalea exalbida*, que normalmente vive dentro de fondos arenosos (Lomovasky, et al., 2002).

Dada la presencia de hembras ovígeras en aguas poco profundas en períodos de eclosión de larvas, y la selección de sustratos complejos por parte de las larvas de centolla (Tapella, et al., 2012), la presencia de distintos tipos de sustratos tridimensionales circundantes (i.e. bancos de mejillones y cholgas o bien restos de conchillas) podrían disminuir las interacciones intraespecíficas entre larvas y juveniles de centolla. Así, el agregado de sustratos podría atenuar la intensidad del canibalismo en *L. santolla* en condiciones de cultivo masivo.

Objetivo general

Evaluar la influencia de sustratos naturales y artificiales en el canibalismo entre juveniles de centolla.

Objetivos particulares

a.- Evaluar la incidencia de la presencia de sustratos naturales como arena, conchillas y mejillones en el canibalismo, en la combinación C1-M o C2-C1 y a diferentes densidades.

b.- Evaluar la intensidad del canibalismo en diferentes sustratos artificiales, cuando coexisten los estadios C1-M y evaluar la eficiencia de alguno de ellos sobre la sobrevivencia de los animales, a distintas densidades.

Materiales y métodos

Las larvas de *L. santolla* fueron seleccionadas en diferentes momentos dentro del período anual de eclosión para ser criadas y obtener simultáneamente Megalopas y C1 o C1 y C2, según se indica en Metodología General. Obtenidos los C1, se mantuvieron individualmente, alimentándolos tres veces a la semana, hasta alcanzar el estadio C2 para ser utilizados en las experiencias.

a.- Sustratos naturales

El canibalismo fue evaluado de acuerdo al sustrato y la densidad de animales. Los sustratos en estudio fueron tres: arena, valvas de almeja (*Eurhomalea exalbida*)-referida como “conchilla” de aquí en adelante-, valvas de mejillón (*Mytilus edulis platensis*) y un control (sin sustrato). La selección de conchilla y mejillón se realizó en base a la diferencia de color de los bivalvos a pesar que estructuralmente ofrezcan una complejidad similar. Tanto la arena como las valvas fueron previamente lavadas y secadas en estufa a 60°C, para eliminar restos orgánicos que pudieran afectar la calidad del agua de experimentación. Los individuos coexistieron en estos sustratos a densidades de 6, 12 y 24 individuos por recipiente, que representan el equivalente a 938, 1875 y 3750 individuos·m⁻² respectivamente. Las pruebas se realizaron en dos combinaciones de Predadores-presa (P-p): C1-M y C2-C1, dado el elevado canibalismo observado en experimentos anteriores (Ver Capítulo 3). Se registró el canibalismo tanto a los 7 como a los 15 días de coexistencia. La

proporción de P-p dispuesta en todos los casos fue 1:2 y se utilizaron 5 réplicas por tratamiento.

Los experimentos se realizaron en tubos cilíndricos de PVC (9 cm diámetro, 11 cm altura) con base enmallada (1 mm, polietileno), con una superficie total de 64 cm² y soportes inferiores de 1 cm para que la malla no estuviera en contacto con el fondo recipiente. Cada tubo fue inmerso en un vaso de 1,5 L, conteniendo 1 L de agua salada esterilizada (Fig.5.1). La malla del tubo permitió a los cangrejos sujetarse en el caso del tratamiento control (sin sustrato, Fig.5.1 D) y sostener el sustrato correspondiente en el fondo del tubo (Fig. 5.1 B, C y D). Asimismo, el tubo de PVC permitió minimizar los disturbios ocasionados a los animales durante el cambio de agua, dado que los mismos no fueron manipulados directamente.

Los recipientes con el tubo enmallado en su interior fueron colocados en estanterías en posiciones determinadas al azar en una cámara fría a $7.5 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ y con un régimen de luz de 12:12 hs (0.5 lx) luz-oscuridad respectivamente (Fig.5.1). Durante el transcurso de los experimentos, el agua de los recipientes fue renovada tres veces por semana. Inmediatamente después de cada cambio de agua, los animales fueron alimentados *ad libitum* con nauplios de *Artemia salina*, para minimizar el efecto del ayuno sobre el comportamiento caníbal (Luppi, et al., 2001).

Los experimentos comenzaron una vez colocados en cada recipiente la cantidad de individuos de *L. santolla* de acuerdo al correspondiente tratamiento. Se utilizaron animales

intactos (sin daños aparentes ej. pérdida de patas), de tamaños similares (ya que pertenecían al mismo estadio) y dentro de las 72-96 hs después de haber mudado.

Se registró el canibalismo en un conjunto de recipientes (n=60) al día 7 y en el conjunto restante (n=60) al día 15, para no perturbar el sistema de estudio. En cada réplica se contabilizó el número de cangrejos heridos y muertos. La suma de ambos componentes se consideró como el canibalismo total. Fueron considerados como heridos y muertos aquellos animales vivos y muertos respectivamente con al menos un apéndice faltante. Los individuos desaparecidos fueron considerados como muertos por canibalismo. Por el contrario, los animales muertos con el total de los apéndices presentes fueron considerados como muertes naturales.

b.- Sustratos Artificiales

El canibalismo en sustratos artificiales fue evaluado a través de tres experimentos:

Experimento 1: se comparó el canibalismo entre los sustratos “Tubo”, “Alga”, “Felpudo” (que se detallarán a continuación), y un control (sin sustrato) en la combinación 8C1-16M.

Experimento 2: se evaluó el canibalismo dentro de un mismo estadio (C1) en el sustrato Tubo, variando la complejidad del mismo (baja y alta; Figs. 5.2 D y E) y a tres densidades: 12, 18 y 24 individuos por recipientes (de aquí en adelante d12, d18 y d24 respectivamente).

Experimento 3: Se evaluó el canibalismo en C1 en el sustrato Alga. La escasez de juveniles permitió evaluar solamente el canibalismo en dos densidades: 6 y 12 individuos por recipiente (de aquí en adelante d6 y d12 respectivamente).

Se denominó sustrato Tubo a la estructura tridimensional generada por tubos plásticos forrados interna y externamente con un tejido también plástico de 1 mm de abertura de malla, y dispuestos en forma de triángulo sobre una malla plástica negra de 1cm de abertura (Fig. 5.2 E). La variación de la complejidad de este sustrato, referida en el texto como baja y alta, fue dada a partir de la generación de 1 o 3 triángulos a partir de 3 o 9 tubos respectivamente (Fig.5.2 D y E). Cada tubo de “baja complejidad” fue de 6 cm de largo, mientras que cada tubo de “alta complejidad” fue de 2 cm de largo. El sustrato tipo Alga consistió en colocar una sección de sogá plástica de 10 cm de largo y de 5 mm de diámetro dispuesta verticalmente sobre la malla plástica negra (también usada como base para el tipo Tubo) y desflecada en el toda su extensión salvo el extremo fijado al fondo (Fig. 5.2 F). El último sustrato experimental fue el llamado Felpudo, y consistió en cortar una circunferencia de 10 cm de diámetro de un felpudo plástico comercial y colocarlo como base al final del tubo enmallado (Fig.5.2 C). El control consistió en testear la malla base en el tubo enmallado (Fig. 5.2 B).

Una vez confeccionados y previamente a su utilización en las experiencias, los sustratos fueron sumergidos 24 h en agua corriente y posteriormente lavados y enjuagados

con agua de mar. Cada sustrato se colocó en los tubos enmallados (anteriormente detallados) y en cámara fría cuya temperatura varió alrededor de $7,7 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$.

Los experimentos se realizaron en los mismos tubos cilíndricos de PVC descritos para las experiencias con sustratos naturales y los animales fueron alimentados de igual manera. Sin embargo, los tubos enmallados fueron colocados al azar en cajones plásticos de 30x40x30 cm (ancho, largo, alto) a razón de 5 tubos enmallados por cajón y éstos distribuidos en la cámara fría.

El canibalismo fue evaluado en términos de heridos y muertos, luego de 15 días de coexistencia entre individuos. La suma de ambos componentes (heridos y muertos) fue referida entonces como canibalismo y cada uno de ellos fue evaluado por separado para conocer su relevancia/aporte en el canibalismo total. La proporción acumulada de canibalismo, heridos y muertos se calculó sobre el total de los individuos al día 7 y al día 15 de experimentación.

Procedimientos estadísticos

Los datos de canibalismo, heridos y muertos se presentan como porcentajes medios acumulados \pm error estándar. Los datos fueron transformados con la función arcoseno según:

$$F(x) = \text{Arcoseno} \sqrt{x} \frac{180}{\pi}$$

donde x es la proporción de canibalizados, heridos o muertos según corresponda.

La normalidad y homogeneidad de los datos fueron probadas con test de Kolmogorov-Smirnov y Levene respectivamente (Sokal y Rohlf, 1995).

a.- Sustratos naturales

Se utilizaron ANOVAs de dos factores para testear la influencia del sustrato y la densidad en el canibalismo, los muertos y los heridos al día 7 y 15, tanto en la combinación C1-M como en C2-C1.

b.- Sustratos artificiales

Se aplicaron ANOVAs de un factor para identificar diferencias en el canibalismo, heridos y muertos entre los sustratos artificiales en C1-M y un ANOVA de 2 factores para evaluar el canibalismo en C1 de acuerdo a la complejidad del sustrato “Tubo” (alta o baja) y la densidad de conespecíficos.

La existencia de diferencias significativas entre tratamientos se contrastaron usando Tests de Tukey (Sokal y Rohlf, 1995) o, en casos donde hubo interacción entre los factores bajo análisis, se realizó un análisis de efectos simples.

Resultados

a.- Sustratos naturales

Pudieron observarse signos de daño entre centollas en todas las combinaciones de sustratos y densidades tanto al día 7 como al día 15 de experimentación excepto en la combinación arena y densidad más baja donde todos los animales se encontraban intactos al día 7 (Figs. 5.3 y 5.4).

Combinación Cangrejo 1-Megalopa

Canibalismo

El canibalismo en la combinación C1-M no mostró un patrón claro al día 7 (Fig.5.3). Contrariamente a lo esperado por la complejidad ofrecida, la arena fue el sustrato donde menos canibalismo se registró tanto a densidad 6 como a densidad 24 y se posicionó como el segundo sustrato con menor canibalismo a densidad 12. Asimismo, los valores más bajos de canibalismo se observaron en la densidad más alta.

Al finalizar la experiencia al día 15, el canibalismo fue afectado por el tipo de sustrato pero no por la densidad (Tabla 5.2A). Se observaron diferencias en el canibalismo entre la arena y el resto de los sustratos (Tabla 5.3A). En la arena el canibalismo fue del $4,4\pm 1,6\%$ mientras que en los sustratos restantes, el canibalismo alcanzó el $14,7\pm 3,1$, $17,8\pm 3,4$ y $18,1\pm 2,6\%$ en conchilla, mejillones y el control respectivamente. El canibalismo

en estos 3 sustratos en las distintas densidades fue similar y varió entre el $12,5\pm 3,2$ y $16,3\pm 2,5$ %.

Muertos

En la combinación C1-M no se encontró efecto de la densidad ni del sustrato en el porcentaje acumulado de muertos al día 15 de experimentación (Tabla 5.2A). Los muertos alcanzaron el $5,8\pm 2,2$, $5,0\pm 1,6$ y $6,5\pm 1,3$ % a densidades de 6, 12 y 24 individuos por recipiente, respectivamente. Se registró la siguiente mortalidad en los diferentes sustratos: arena $2,5\pm 1,3$ %, conchilla $6,1\pm 1,9$ %, mejillón $5,3\pm 1,8$ % y control $9,2\pm 2,5$ %.

Heridos

El porcentaje de heridos por canibalismo al día 15 fue influenciado por el sustrato y no por la densidad (Tabla 5.2A). Se encontró un menor porcentaje de heridos en el sustrato arena ($1,9\pm 0,9$) que en los restantes sustratos donde se registró entre el $8,0\pm 2,1$ y el $12,5\pm 2,1$ % de heridos (Tabla 5.3B). En las tres densidades testeadas, la cantidad de heridos fue similar y varió entre el $6,7\pm 1,9$ y $9,8\pm 1,9$ %.

Combinación Cangrejo 2-Cangrejo 1

Canibalismo

El canibalismo en C2-C1 al día 7 de experimentación presentó un patrón también inesperado obteniéndose menores valores de canibalismo menor en el tratamiento control que en la arena y los mejillones (Fig.5.4; Tabla 5.1 B y C).

La tendencia del patrón de canibalismo se modificó al día 15, cuando se encontró que el canibalismo es afectado por el sustrato y no por la densidad (Tabla 5.2B) e independientemente de la densidad, el canibalismo fue siempre menor en la arena ($11,9\% \pm 2,3$) que en el tratamiento control ($31,9\% \pm 3,7$) ($p < 0,01$; Tabla 5.4).

Muertos

En la combinación C2-C1 al día 15 de experiencia, se encontró interacción estadística entre las dos variables analizadas (densidad y sustrato) en el porcentaje de muertos por canibalismo (Tabla 5.2B), como resultado de un elevado valor de muertos en la densidad 6 del control, que duplica los valores observados en los restantes tratamientos.

Los efectos simples revelaron que en las densidades 6 y 12 el canibalismo fue mayor en el tratamiento control que en cada uno de los tres sustratos bajo estudio (Tabla 5.5). En la densidad 24 el porcentaje de canibalismo fue similar entre los cuatro tratamientos, y varió entre el $3,00 \pm 1,56$ y $10,00 \pm 2,82\%$. Existieron además, diferencias significativas en las muertes por canibalismo entre las tres densidades en el tratamiento control con valores de $23,3 \pm 4,1$, $8,3 \pm 2,6$ y $10 \pm 2,82\%$ en las d6, d12 y d24, respectivamente.

Heridos

El porcentaje de heridos por canibalismo en C2-C1 no se vio afectado por la densidad ni el sustrato (Fig. 5.4; Tabla 5.2B). En promedio, se observaron valores de $16,7 \pm 2,7$, $14,6 \pm 3,1$ y $8,8 \pm 1,3$ % de heridos en las densidades 6, 12 y 24 respectivamente y de $10,3 \pm 2,4$, $13,1 \pm 2,9$, $11,9 \pm 2,5$ y $18,1 \pm 3,6$ % en arena, conchilla, mejillón y control respectivamente.

Si bien tanto predadores como presas resultaron canibalizados tanto en C1-M y C2-C1, se observó una diferencia en el patrón de canibalismo entre ambas combinaciones. La depredación entre conespecíficos en los experimentos C1-M fue más equitativa entre predadores y presas cuando se las compara con C2-C1 donde la mayoría de los animales canibalizados fueron los que *a priori* se consideraron presas (Fig. 5.5 y 5.6). Este aspecto fue analizado en detalle en el Capítulo 4.

b.- Sustratos artificiales

Experiencia 1: Combinación Cangrejo 1-Megalopa en 4 sustratos diferentes

Debido a que en el sustrato Felpudo se registró un porcentaje elevado de mortalidad por causas naturales (animales muertos con todos sus apéndices, >38%), se decidió

eliminar este tratamiento en las comparaciones estadísticas aunque se muestran los valores de canibalismo en los gráficos a modo ilustrativo. Observaciones *in situ* indicaron falta de circulación de agua en los recipientes con este sustrato por lo cual se presume que la causa de la elevada mortalidad en este tratamiento se debió a la falta de oxígeno disuelto en el agua.

Canibalismo

Se observó una tendencia a la disminución del canibalismo en presencia de sustratos con respecto al control (Fig. 5.7), aunque las diferencias entre tratamientos no se reflejaron estadísticamente (Tabla 5.6A). El menor porcentaje de canibalismo fue observado en el sustrato Alga, alcanzando $14,17 \pm 6,77$ %, mientras que el canibalismo fue de $20,8 \pm 7,0$, y $28,3 \pm 5,3$ en Tubo y control respectivamente.

Muertos

La mortalidad registrada en los distintos sustratos fue similar ($p > 0,05$; Tabla 5.6A), alcanzando el $7,50 \pm 1,36$; $1,67 \pm 0,24$ y $0,83 \pm 0,20$ % en Tubo, Alga y Control respectivamente. Como ya se observó en el Capítulo 4, la depredación intraespecífica estuvo siempre orientada hacia las que *a priori* fueron consideradas presas (megalopas) (Fig. 5.8).

Heridos

El porcentaje de heridos encontrado tanto en el sustrato Alga como en Tubo alcanzó el $0,8\pm 0,2$ y 0 % respectivamente y fue significativamente menor que el observado en el control donde se registró un $5,0\pm 0,2$ % de animales dañados (Tabla 5.6 A y B).

Experiencia 2: Cangrejo 1- Sustrato “Tubo” a diferentes densidades

El canibalismo entre C1 en presencia del sustrato Tubo, disminuyó en más de un 70% con respecto al control (sin sustrato) en todas las densidades (Fig. 5.9). Si bien no se encontraron diferencias en el canibalismo entre los tratamientos de alta y baja complejidad en el sustrato Tubo, la sola presencia de este tipo de sustrato redujo significativamente el canibalismo entre los primeros juveniles de centolla con respecto al control (Tabla 5.7 A y B). En los controles de este experimento se observó una tendencia al aumento del canibalismo con un incremento de la densidad, como se observó y detalló en el Capítulo 4 de esta tesis.

Experiencia 3: Cangrejo 1- Sustrato “Alga” a diferentes densidades

Luego de 15 días de coexistencia de los C1, el canibalismo encontrado en el sustrato alga fue del 30 y 40 % en las densidades 6 y 12 respectivamente. Estos valores superan aquellos encontrados para el tratamiento control por lo cual se sospecha de algún error no

detectado durante la experiencia. Estos datos no serán tenidos en cuenta en la discusión dado que es necesario repetir la experiencia para corroborar estos resultados contradictorios.

Discusión

La presencia de sustrato, ya sea natural o artificial atenuó el canibalismo entre los conespecíficos de un mismo o de diferentes estadios de centolla incluso durante la intermuda. A corto plazo (7 días), el canibalismo en los distintos sustratos y densidades fue muy variable, no encontrándose una tendencia clara entre los tratamientos. Sin embargo, al cabo de 15 días de coexistencia entre individuos, se observó un patrón de disminución del canibalismo en los tratamientos con sustratos aunque, estadísticamente sólo pudo comprobarse menor canibalismo en la arena y en el sustrato Tubo.

La arena fue el sustrato natural en el cual se registró menor canibalismo tanto en la combinación C1-M como en C2-C1. Este resultado fue inesperado, porque se ofrecía como sustrato natural de la más baja complejidad. Por un lado, tanto zoeas como megalopas de centolla evitan la arena y eligen activamente otros sustratos con refugios en experiencias de selección de hábitat (Tapella et al 2012 y referencias en allí citadas). Por el otro, las hembras ovígeras al momento de eclosión de las larvas, estarían presentes en aguas poco profundas y por tanto en fondos complejos, rocosos con macroalgas, con disponibilidad de refugio como grietas, grampones de fijación o algas pequeñas (Tapella, et al., 2012). Estos hechos indicarían la presencia de larvas en ambientes con fondos complejos, estructurados, en lugar de otros más simples como el fango o la arena. Si bien entonces podría esperarse mayor canibalismo en la arena por su escasa estructura tridimensional, el mínimo daño sufrido por las larvas y juveniles en las experiencias, podría deberse a cierta capacidad de camuflaje de los animales en este sustrato o, más aún, a la limitación para las interacciones

agonísticas que impone la arena. En este sentido, se observó que los cangrejos no conseguían sujetarse al sustrato como sí lo hacían en mejillón o conchilla y especialmente en el control, donde la malla del fondo del recipiente de experimentación permitía a los cangrejos posicionarse sin dificultad y asirse con sus pereopodos. La falta de sujeción a un sustrato, reduciría notablemente la eficiencia de ataque de los animales y en consecuencia el daño provocado entre conespecíficos resultaría menor.

Si bien al final del experimento en el día 15 el canibalismo en la arena fue menor que en el resto de los sustratos naturales, se observó una tendencia a la disminución del canibalismo con respecto al control en todos los sustratos. Esta tendencia pudo no haberse reflejado estadísticamente debido a la baja complejidad generada tanto por el mejillón o la conchilla en el recipiente de experimentación. La adición de estructura al hábitat puede disminuir la tasa de encuentro entre depredadores y presas (Long, et al., 2012) y aumentar la supervivencia de los animales en presencia de macroalgas como *Gracilaria vermiculophyl*, como ocurre con *Callinectes sapidus* en la Bahía Chesapeake (Johnston y Lipcius, 2012). Sin embargo, en los dos sustratos aquí probados, la complejidad estructural probablemente fue baja dado que se trató de trozos de valvas de mejillón y almeja que sólo cubría las $\frac{3}{4}$ partes de la superficie del fondo enmallado y de no más de 5 mm de espesor. El color del sustrato no influiría en el canibalismo entre conespecíficos ya que no se observaron diferencias entre conchilla y mejillón (sustratos claros y oscuros respectivamente).

La puesta a prueba de 3 sustratos artificiales mostró en primera instancia que el felpudo no constituye una opción adecuada para el mantenimiento de individuos dado el

elevado porcentaje de muertes naturales registradas por la poca circulación de agua que se genera en el sistema diseñado para las experiencias. Sin embargo, se observó una tendencia general a la disminución del daño entre conespecíficos tanto en el sustrato tubo como en el alga aunque este último fue el más efectivo como atenuante al comportamiento caníbal entre individuos de diferente estadio (Fig. 5.7). El diseño de alga aquí testeado tiene cierta semejanza con los filamentos plásticos que, en el cultivo de *P. camtschaticus*, triplican la supervivencia de sus juveniles (Borisov, et al., 2007). Es probable que en nuestro experimento, el menor tiempo de coexistencia entre individuos con respecto a la experiencia realizada por Borisov y colaboradores (15 vs. 130 días) probablemente enmascaró la real importancia de la presencia del sustrato en los tratamientos. En el largo plazo, la ocurrencia de mudas y consecuente vulnerabilidad de los animales (Ver Capítulo 4), constituye una diferencia sustancial entre ambos experimentos.

Numerosos estudios han mostrado los beneficios que otorga la incorporación de refugios o sustratos artificiales ya sea mejorando el crecimiento y/o la supervivencia en langostas como *Panulirus ornatus*, *P. cygnus* o *Jasus edwardsii* (Chittleborough, 1974; Crear, et al., 2000; Williams, 2008). En líneas generales, se ha observado mayor eficiencia en la reducción del canibalismo mediante el uso de sustratos confeccionados con redes, mallas o filamentos sintéticos en contraposición a madera o coral perforado, ladrillos, etc. (Johnston, et al., 2006; Borisov, et al., 2007; Nguyen, et al., 2008; Daly, et al., 2009). Esto alienta a dirigir esfuerzos hacia la optimización del diseño del sustrato alga aquí testeado, comenzando por el aumento de la superficie en contacto con la malla base para permitir una mayor y/o más rápida colonización del sustrato por parte de los individuos en cultivo.

Figuras y Tablas



Figura 5.1. Recipientes de experimentación en cámara fría. A-D Detalle de los sustratos naturales utilizados en los experimentos: Arena, Mejillón, Conchilla y control.



Figura 5.2.- A-Diseño experimental utilizado para evaluar la influencia de sustratos artificiales en el canibalismo en juveniles de *L. santolla*. Detalle del contenedor dispuesto con la malla base o control (B) y sustratos felpudo (C), tubo en baja (D) y alta complejidad (E) y alga (F), respectivamente.

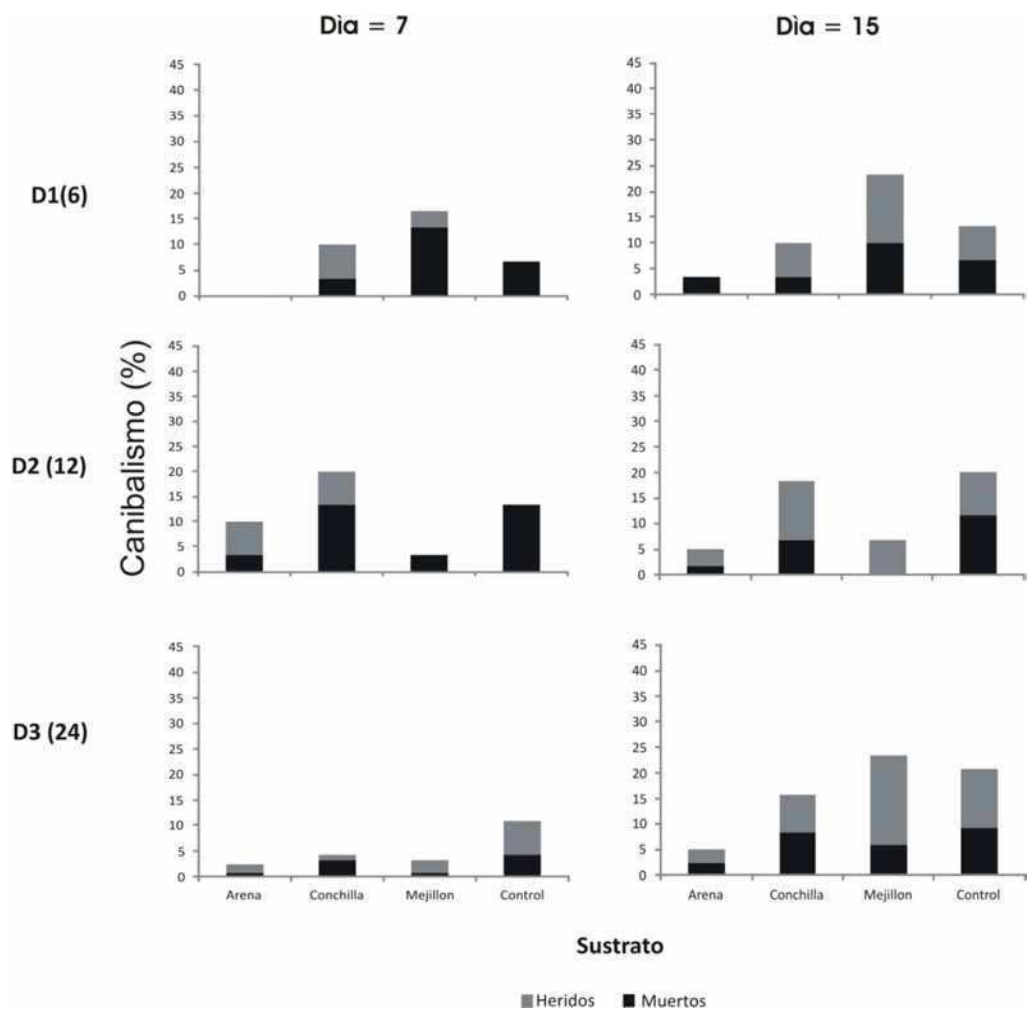


Figura 5.3.- Canibalismo observado en la combinación de estadios **Cangrejo 1-Megalopa** de *L. santolla* de acuerdo a sus componentes: muertos (negro) y heridos (gris). Los datos de canibalismo para cada sustrato se muestran al día 7 y 15 de experiencia y de acuerdo a la densidad de animales en cada tratamiento. (n=5 por tratamiento).

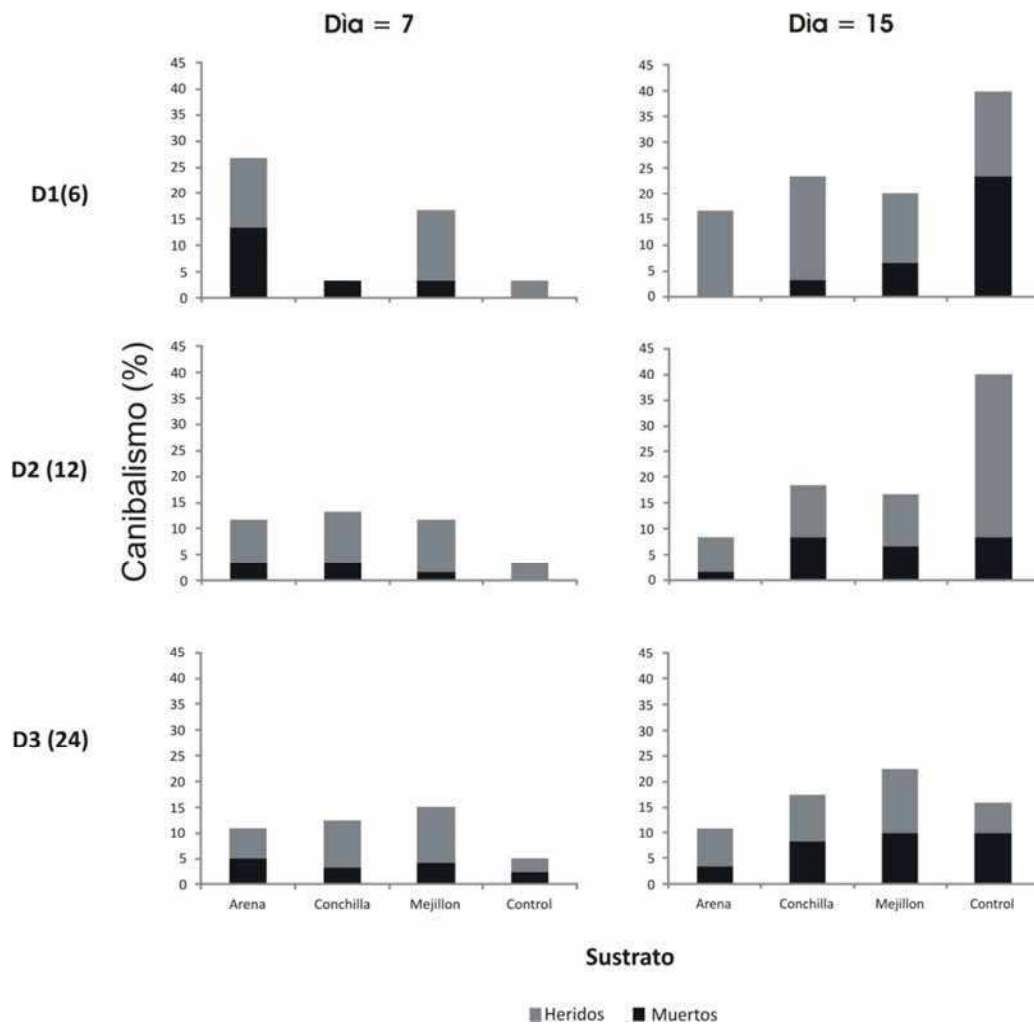


Figura 5.4.- Canibalismo observado en la combinación de estadios **Cangrejo 2-Cangrejo 1** de *L. santolla* de acuerdo a sus componentes: muertos (negro) y heridos (gris). Los datos de canibalismo en cada sustrato se muestran al día 7 y 15 de experiencia y de acuerdo a la densidad de animales en cada tratamiento. (n=5 por tratamiento).

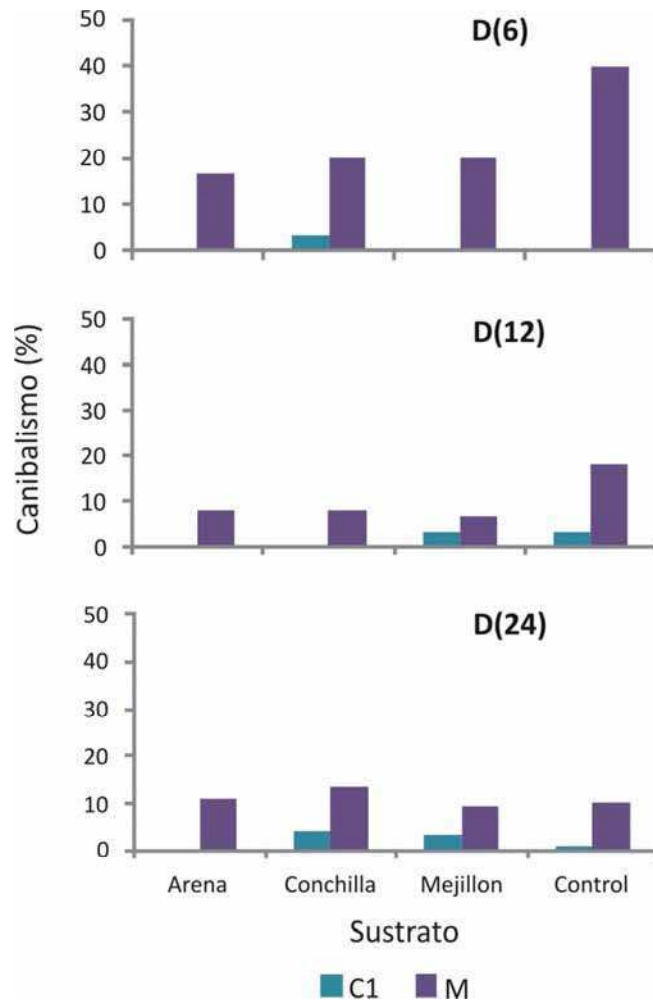


Figura 5.5.- Canibalismo en C1-M al día 15, discriminado como predadores (celeste) y presas (violeta) en *L. santolla* bajo tres densidades (6, 12 y 24 individuos por recipiente en proporción 1P-2p).

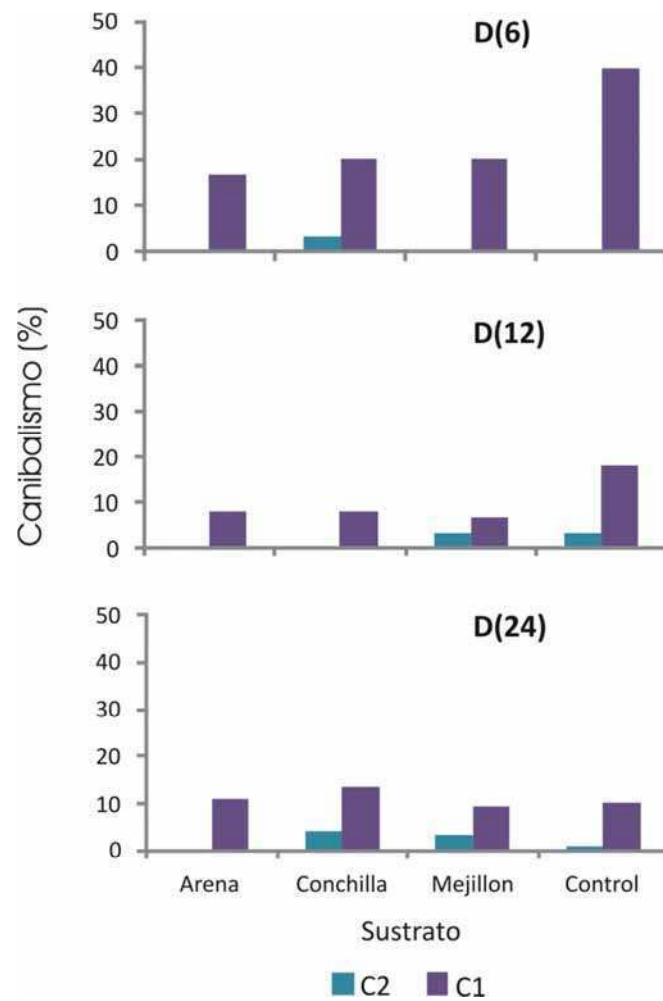


Figura 5.6.- Canibalismo en C2-C1 al día 15, discriminado como predadores (celeste) y presas (violeta) en *L. santolla* bajo tres densidades (6, 12 y 24 individuos por recipiente en proporción 1P-2p).

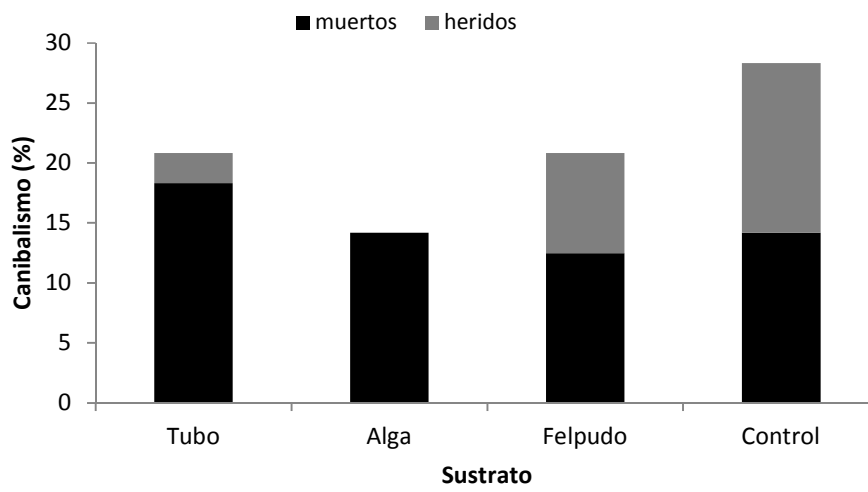


Figura 5.7.- Canibalismo acumulado al día 15 en la combinación 8C1-16M de *L. santolla* en distintos sustratos: Tubo, Alga, Felpudo y Control.

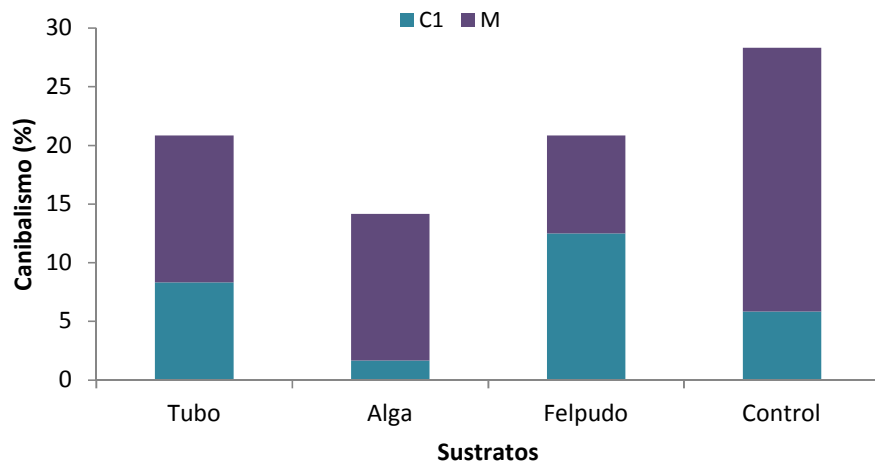


Figura 5.8.- Canibalismo acumulado al día 15 discriminado por Predador y presa en la combinación 8C1 y 16M de *L. santolla* y en distintos sustratos: Tubo, Alga, Felpudo y Control.

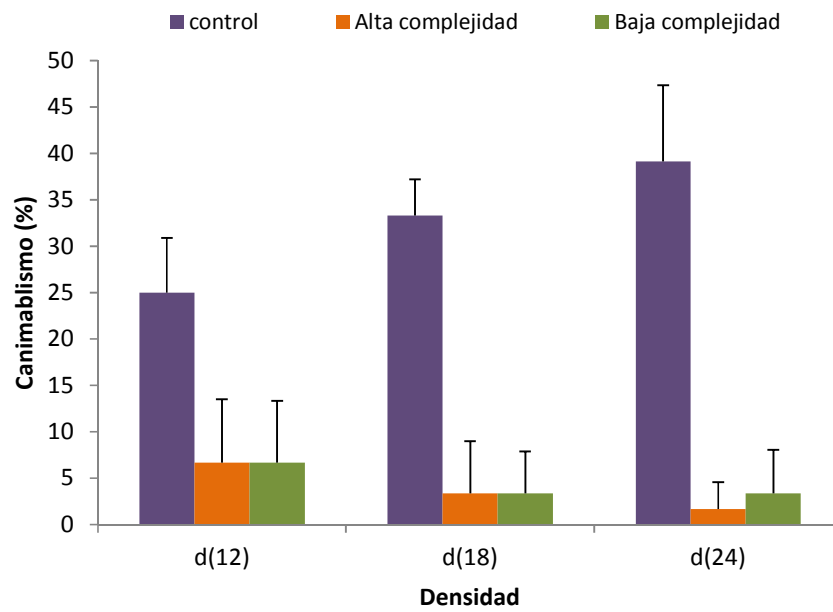


Figura 5.9.- Canibalismo (+ES) acumulado al día 15 de acuerdo a las densidades de C1 de *L. santolla* en sustrato Tubo de alta o baja complejidad y el control. N=5 en cada tratamiento.

Tabla 5.1. ANOVAs de dos factores utilizados para testear las diferencias en el porcentaje de canibalismo en *L. santolla* de acuerdo a distintos sustratos naturales y la densidad de animales al día 7. Se evaluaron las diferencias tanto en la combinación C1-M (A) como en C2-C1 (B) y se realizaron comparaciones a posteriori (C). Por cada tratamiento se utilizaron 5 réplicas. Resultados se indican los valores de p significativos.

(A) C1-M	GL	CM	F	p
Densidad	2	6,726	0,040	0,961
Sustrato	3	216,080	1,285	0,290
den*sust	6	284,703	1,693	0,143
Error	48	168,150		

(B) C2-C1	GL	CM	F	p
Densidad	2	155,171	1,004	0,374
Sustrato	3	802,784	5,197	0,003
den*sust	6	193,066	1,250	0,298
Error	48	154,485		

(C)	arena	conchilla	mejillon	control
arena				
conchilla	0,516			
mejillon	0,998	0,415		
control	0,009	0,229	0,006	

Tabla 5.2. ANOVAs de dos factores utilizados para testear las diferencias en el porcentaje de canibalismo, muertos y heridos de *L. santolla* de acuerdo a distintos sustratos naturales y la densidad de animales al día 15. Se evaluaron las diferencias tanto en la combinación C1-M (A) como en C2-C1 (B). Por cada tratamiento se utilizaron 5 réplicas. Resultados se indican los valores de p significativos.

(A) C1-M	Fuente variación	GL	CM	F	p
Canibalismo	Densidad	2	232,870	1,666	0,200
	Sustrato	3	748,356	5,352	0,003
	Densidad*Sustrato	6	302,747	2,165	0,063
	Error	48	139,820		
Muertos	Densidad	2	83,797	0,741	0,482
	Sustrato	3	222,780	1,969	0,131
	Densidad*Sustrato	6	186,498	1,648	0,155
	Error	48	113,147		
Heridos	Densidad	2	223,617	2,468	0,095
	Sustrato	3	583,713	6,443	0,001
	Densidad*Sustrato	6	149,039	1,645	0,155
	Error	48	90,595		

(B) C2-C1	Fuente variación	GL	CM	F	p
Canibalismo	Densidad	2	89,117	0,837	0,439
	Sustrato	3	657,015	6,169	0,001
	Densidad*Sustrato	6	161,991	1,521	0,192
	Error	48	106,510		
Muertos	Densidad	2	130,673	1,459	0,243
	Sustrato	3	1683,193	18,787	<0,001
	Densidad*Sustrato	6	241,529	2,696	0,025
	Error	48	89,594		
Heridos	Densidad	2	112,692	0,945	0,396
	Sustrato	3	141,275	1,185	0,325
	Densidad*Sustrato	6	232,161	1,948	0,092
	Error	48	119,189		

Tabla 5.3.- Prueba de Tukey para comparaciones “a posteriori” no planeadas, en A) canibalismo y B) heridos de *L. santolla* de acuerdo al sustrato en la combinación C1-M. Resaltados se indican los valores de p significativos.

(A)	arena	conchilla	mejillón	control
arena				
conchilla	0,025			
mejillón	0,005	0,938		
control	0,002	0,812	0,990	

(B)	arena	conchilla	mejillón	control
arena				
conchilla	0,029			
mejillón	0,001	0,626		
control	0,036	1,000	0,577	

Tabla 5.4.- Prueba de Tukey para comparaciones “a posteriori” no planeadas, en la variable canibalismo, de *L. santolla* de acuerdo al sustrato en la combinación C2-C1. Resultados se indican los valores de p significativos.

	arena	conchilla	Mejillón	control
arena				
conchilla	0,296			
mejillon	0,234	0,999		
control	0,001	0,073	0,099	

Tabla 5.5.- A) Análisis de efectos simples sobre la variable muertes por canibalismo según el sustrato en la combinación Cangrejo 2-Cangrejo 1 de *L. santolla*. B) Contrastes realizados en aquellos tratamientos donde se encontraron diferencias significativas. Resaltados se indican los valores de p significativos.

(A)	SC	GL	CM	F	p
d6	2346,335	3	782,112	9,546	0,001
Error	1310,833	16	81,927		
d12	3816,270	3	1272,090	10,541	<0,001
Error	1930,941	16	120,684		
d24	336,148	3	112,049	1,693	0,208
Error	1058,728	16	66,171		
arena	164,223	2	82,112	2,148	0,159
Error	458,811	12	38,234		
conchilla	177,013	2	88,506	0,539	0,597
Error	1971,806	12	164,317		
mejillon	234,590	2	117,295	0,951	0,414
Error	1479,500	12	123,292		
control	1134,696	2	567,348	17,440	<0,001
Error	390,385	12	32,532		

(B) d6	arena	conchilla	mejillón	control
arena				
conchilla	0,834			
mejillón	0,364	0,834		
control	0,001	0,004	0,021	
d12	arena	conchilla	mejillón	control
arena				
conchilla	0,710			
mejillón	0,803	0,998		
control	0,001	0,004	0,003	
control	d6	d12	d24	
d6				
d12	0,031			
d24	0,029	<0,001		

Tabla 5.6.-(A) ANOVAs de 1 factor, contrastando el canibalismo, los muertos y heridos acumulados al día 15 en los distintos sustratos artificiales (excluyendo el felpudo). (B) Test de Tukey sobre la variable Heridos. Resaltados se indican los valores de p significativos.

(A)	SC	GL	CM	F	p
canibalismo	4294,447	2	2147,224	3,612	0,059
Error	7133,979	12	594,498		
muertos	166,910	2	83,455	0,246	0,786
Error	4074,932	12	339,578		
heridos	5436,038	2	2718,019	46,900	<0,001
Error	695,438	12	57,953		

(B)	Tubo	Alga	Control
Tubo			
Alga	0,238		
Control	<0,01	<0,01	

Tabla 5.7.-(A) ANOVA de 2 factores, contrastando el canibalismo acumulados al día 15 en dos complejidades del sustrato rulero y el control. (B) Test de Tukey sobre la variable canibalismo. Resultados se indican los valores de p significativos.

(A)	SC	GL	CM	F	p
Densidad	321,971	2	160,986	1,070	0,354
Complejidad	2793,813	2	1396,906	9,284	0,001
den*comp	1454,149	4	363,537	2,416	0,067
Error	5416,820	36	150,467		

(B)	Tubo alta	Tubo baja	control
Tubo alta			
Tubo baja	0,816		
control	0,001	0,005	

EFECTO DE LA DIETA EN EL CRECIMIENTO

Influencia del canibalismo

Introducción

El crecimiento en tamaño en crustáceos es un proceso discontinuo que ocurre por una sucesión de mudas a lo largo del tiempo (Hartnoll, 1982). Debido a la falta de estructuras que registren este proceso (como los otolitos en peces) y al crecimiento discontinuo, la tasa de crecimiento en los crustáceos está determinada por dos componentes, el incremento en tamaño en cada muda (incremento por muda) y el intervalo entre mudas sucesivas (período intermuda). El proceso de ecdisis o muda en el que los crustáceos se desprenden de su antiguo exoesqueleto es uno de los momentos más críticos por su vulnerabilidad y ocurre repetidas veces a lo largo de su vida. La temperatura y la disponibilidad de alimento son dos de los factores externos más importantes que influyen en el crecimiento de estos animales (Hartnoll, 2001).

Hasta el momento, el desarrollo de dietas para crustáceos ha sido dirigido principalmente hacia camarones peneidos de interés comercial como *Litopenaeus vannamei*, *Penaeus monodon*, *Penaeus indicu*, *Penaeus aztecus*, entre otros (Kanazawa, 1984; Tacon, et al., 2002). Particularmente en litódidos (centollas), es escaso el conocimiento que se tiene sobre sus requerimientos nutricionales, aunque se reconoce su importancia especialmente para el mantenimiento de juveniles en cultivo. Sin embargo, se sabe que una dieta sub-óptima puede reducir el crecimiento de juveniles criados en laboratorio en relación a los animales salvajes y promover el canibalismo (Mortensen y Damsgard, 1995).

El canibalismo ha sido señalado como suplemento en la alimentación de juveniles de centolla cuando éstos están restringidos a una dieta de baja calidad (Brodersen, et al., 1989; Moller, et al., 2008). Este comportamiento es común en cultivos masivos de decápodos (Van Olst, et al., 1975; Dutil, et al., 1997; Fernandez, 1999; Borisov, et al., 2007; Daly, et al., 2009; Long, et al., 2012) y constituye un problema serio a la hora de producir grandes cantidades de juveniles en cautiverio ya sea para experimentación, liberación en el ambiente natural (replamamiento) o incluso para su mantenimiento a largo plazo y posterior comercialización.

Por tanto, en especies como la centolla *L. santolla* que puede ser objeto de un plan de replamamiento, resulta importante evaluar el efecto de dietas (incluyendo la ingestión de conespecíficos) en el desarrollo de juveniles para promover su crecimiento en cautividad y así lograr la talla óptima para el subsidio poblacional.

Objetivo general

Determinar la influencia de la dieta en el crecimiento de juveniles de *L. santolla*.

Objetivos particulares

Evaluar el efecto de las dietas Artemia, Zoea, Artemia+Zoea y Pellet en:

a.- la supervivencia de juveniles

b.- la progresión de estadios

c.- el tamaño de los juveniles según el estadio alcanzado

d.- el período intermuda

Materiales y métodos

Las larvas de centolla fueron recolectadas durante la eclosión del período 2009 y fueron criadas hasta C1 según la Metodología General (Capítulo 2) para ser sometidos a diversas dietas. Por razones logísticas de número y manejo de individuos, se evaluó el desarrollo de los juveniles alimentados con la dieta Artemia + Zoea al año siguiente, con larvas provenientes de la eclosión 2010.

Durante el período de eclosión de larvas, se reservaron Zoeas I en tubos plásticos de 2 ml, que se congelaron a -20°C para luego ser utilizadas en las experiencias como alimento de los C1, ya sea en la dieta Zoea o Artemia+Zoea.

Del pool de C1 en cultivo, se seleccionaron al azar un total de 360 ejemplares, que se mantuvieron individualmente en recipientes plásticos de 100 ml (Fig.6.1), cada uno de los cuales fue distribuido aleatoriamente en 4 tratamientos o dietas de 90 cangrejos por tratamiento:

- *Artemia* sp. (A): crustáceo anostraco de uso común como alimento de larvas y juveniles de peces y otros crustáceos. En particular, los nauplios de esta especie se han utilizado con éxito como alimento para el cultivo de *L. santolla*, hasta el estadio C7 (Calcagno, et al., 2005). Para su obtención se procedió según se indica en el Anexo 1. En cada ocasión se agregó al recipiente que contenía el juvenil 100 μl de una “solución” de *Artemia* a partir de 1gr de quistes de *Artemia salina* en 100 ml de agua de mar (~ 270 nauplios. $100 \mu\text{l}^{-1}$).

- *Zoeas I: (Z)*, larvas de *L. santolla* (previamente reservadas, ver arriba). Luego de descongeladas, se ofrecieron a razón de 2 zoeas por cangrejo, por día de alimentación. Se eligió este tipo de dieta porque se consideró como una forma controlada de dejar disponibles individuos conespecíficos y simular una dieta basada en canibalismo (ver Capítulo 3: juveniles depredando sobre zoeas).

- *Artemia + Zoeas (A+Z)*: se utilizó la combinación de las dos dietas anteriormente mencionadas. La ración de alimento consistió en 1 zoea + 100 µl de la “solución” de *Artemia* por día de alimentación.

- *Pellets (P)*: alimento formulado por TetraColor® para peces y cuya eficiencia fue también probada en juveniles y adultos de langostas de agua dulce (Lopez Greco, com. pers.) y langostillas *Munida gregaria* (Romero, 2003). Composición proximal: proteína 47,5%, grasas 6,5%, fibra 2%, fósforo 1,5%, ácido ascórbico 100 mg·kg⁻¹. Se ofreció a los animales de 2 a 3 gránulos de pellets por día de alimentación, asegurando la hidratación previa del pellet para que precipitara al fondo del recipiente y quedara disponible para el cangrejo.

Los cangrejos fueron alimentados dos veces a la semana (lunes y miércoles) y se realizó el cambio total del agua del recipiente tres veces a la semana (lunes y miércoles, previo a la alimentación, y el viernes). Diariamente se controlaron los individuos para registrar su muerte o muda. En cada caso, los animales o exuvias fueron reservados individualmente en tubos plásticos, utilizando una solución de etanol 70% con glicerina como fijador para su posterior medición.

La información obtenida a lo largo de los experimentos permitió estimar la supervivencia, la proporción de estadios en el tiempo, la talla promedio por estadio, el incremento por muda y el periodo intermuda de acuerdo a la dieta con la que fueron mantenidos los juveniles de *L. santolla* durante su etapa temprana. Estos parámetros se calcularon como se indica a continuación:

a) *Supervivencia (%)*

Se calculó diariamente como $(N \text{ cangrejos vivos} / N \text{ cangrejos inicial total}) \times 100$,

donde 90 fue el número inicial total en cada dieta.

b) *Estadios*

La progresión de estadios en el tiempo se calculó para cada dieta diariamente como

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ de cangrejos vivos en un determinado estadio}}{\text{N}^\circ \text{ de cangrejos vivos}} \times 100$$

El tiempo en que se alcanza el 50 % de animales mudados se calculó como el tiempo (en días) en que la cantidad de animales de un estadio es igual a la cantidad de animales en el estadio consecutivo.

c) *Tamaño*

El tamaño de los juveniles se estimó a través de la medición del LC (Metodología General). Para ello, los animales muertos y las exuvias (previamente fijados en etanol 70% y glicerina) fueron fotografiados con una lupa Leica M205C (Fig. 6.2) y las imágenes fueron procesadas mediante el programa Image-Pro Plus 6.0, obteniendo el tamaño como LC en mm de cada una de ellas. Para obtener la fotografía, se procedió a extraer el caparazón de cada animal (muerto o exuvia) y se colocó en una capsula de Petri buscando que la espina rostral y la región posterior del caparazón formen un plano horizontal. Esto permitió estandarizar la metodología para minimizar el error de medición entre las muestras. Sin embargo, dado el tamaño reducido y la fragilidad de los caparazones su manipulación bajo lupa generó la rotura de algunos de ellos, con lo cual el número de individuos (n) medidos fue variable.

Además se calcularon los siguientes parámetros:

-Incremento bruto por muda (IM): Aumento neto de tamaño de cada individuo en cada muda.

$$IM = LC_{\text{postmuda}} - LC_{\text{pre muda}}$$

-Incremento porcentual por muda (IM%): Proporción porcentual que aumenta cada individuo en cada muda,

$$IM(\%) = [(LC_{\text{postmuda}} - LC_{\text{pre muda}}) / LC_{\text{pre muda}}] \times 100$$

d) Período intermuda:

Lapso medido en días entre dos mudas.

La supervivencia, proporción y progresión de estadios se calcularon al día 257 de experimentación. Sin embargo, como el número de cangrejos en el estadio 6 en las dietas Zoea y Artemia + Zoea era escasa, se mantuvieron los individuos más allá del día 257 con la dieta correspondiente hasta obtener una muestra más grande y así obtener la talla en el último estadio con mayor precisión.

Procedimientos estadísticos

Los datos se presentan como promedios \pm error estándar. Se utilizaron funciones lineales para describir la relación entre el tamaño post y premuda (Función de Hiatt) en las diferentes dietas, así como la relación entre el tamaño y la edad de los cangrejos discriminados por estadio en cada dieta. En los casos en que las regresiones lineales fueron significativas, se realizó un análisis de paralelismo mediante un test de homogeneidad de pendientes (Sokal y Rohlf 1995), como paso previo a la aplicación de un ANCOVA para comparar las rectas. En aquellos casos en que no se encontró paralelismo entre rectas, el ANCOVA no se llevó a cabo.

Para cada estadio se evaluó la igualdad en tamaño (LC en mm) y en el incremento porcentual por muda para las diferentes dietas mediante ANOVAs de un factor. Se realizaron tests de Tukey para detectar diferencias específicas entre las dietas. También para cada estadio, las diferencias en el período intermuda entre dietas se testaron mediante un Test de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples. Se utilizó un test no paramétrico dada la falta de normalidad y homoscedacia de los datos.

Resultados

a) Supervivencia

La supervivencia de los C1 mantenidos individualmente se vio afectada por las diferentes dietas con las cuales fueron mantenidos. Se observaron patrones diferentes en cada una de ellas durante los 257 días de experimentación (Fig.6.3), registrándose la mayor sobrevivencia (53,3%) con la dieta Zoea. En los animales alimentados con las dietas Artemia y Artemia+Zoea se obtuvo una sobrevivencia del 32,2 y 21,3 % respectivamente. Los cangrejos mantenidos con Pellet mostraron un patrón de supervivencia similar a las dietas restantes durante los primeros 74 días, momento a partir del cual la supervivencia disminuyó constantemente hasta alcanzar el 100% de mortalidad al día 184. En las dietas A, Z y A+Z se observó que la mortalidad de los individuos estuvo asociada al proceso de muda (Fig. 6.3; Tabla 6.1), mientras que en la dieta P en cambio, la supervivencia disminuyó constante y abruptamente a partir del día 74. En la Figura 6.4 se muestran fotografías de cangrejos que murieron durante el proceso de muda, no logrando desprenderse del exoesqueleto.

b) Estadios

Los cangrejos con dietas A, Z y A+Z alcanzaron como estadio más avanzado el C6 luego de 257 días. Por el contrario, aquellos mantenidos con dieta P, sólo alcanzaron el estadio C3 al día 184, momento en el cual se dio por finalizado este tratamiento, por mortalidad total de los individuos. En el tiempo que duró el experimento la progresión de

los estadios fue diferente entre dietas (Fig. 6.5). Dentro de cada estadio, el tiempo necesario para alcanzar el 50% de animales mudados también varió entre dietas (Tabla 6.1). La composición final de estadios al día 257 en relación al total de sobrevivientes para cada dieta se muestra en la Figura 6.6. Con la dieta A, el 55,2% de los sobrevivientes alcanzaron el estadio C6 al día 257, mientras que el porcentaje restante alcanzaron el estadio C5. Con la dieta Z sólo el 4% de cangrejos vivos alcanzaron el estadio C6 y más del 90% de los individuos permanecieron en C5. En tanto con la dieta A+Z los cangrejos mudaron en proporciones similares a los estadios C4, C5 o C6 (Fig.6.6).

c) Talla

El tamaño promedio de los juveniles de centolla se incrementó en cada muda y en todas las dietas (Figura 6.7). Se encontraron diferencias en el tamaño de los individuos entre dietas en todos los estadios. A pesar de haber sido asignados al azar a cada grupo, y que todo el desarrollo larval es endotrófico, los C1 de la dieta P resultaron más grandes que el resto. La diferencia en el tamaño a C1 entre individuos alimentados con dieta P y el resto no afectó los resultados del experimento dado que los individuos con esta dieta no lograron sobrevivir hasta el final del experimento. Entonces, las conclusiones se harán a partir de los datos obtenidos en los estadios de desarrollo más avanzados (C5 y C6). Precisamente en los C5 y C6 se afianza la tendencia que muestra que los individuos alimentados ya sea con A o A+Z alcanzaron tamaños mayores que aquellos con dieta Z (Tablas 6.2 y 6.3). El tamaño promedio alcanzado por los C6 fue de $4,403\pm 0,067$; $4,401\pm 0,120$ y $3,899\pm 0,076$ mm de LC

en las dietas A, A+Z y Z respectivamente (Tabla 6.4). El máximo tamaño alcanzado en un juvenil de centolla en estadio C6 fue de 5,071 mm de LC, correspondiente a la dieta A.

La relación entre el tamaño pre y post-muda (función de Hiatt) fue lineal y significativa en los individuos de *L. santolla* mantenidos con las diferentes dietas (Fig.6.8; Tabla 6.5). Al analizar el tamaño alcanzado por los juveniles de acuerdo a su edad, aquellos individuos que mudaron primero (o alcanzaron el siguiente estadio en un lapso menor) alcanzaron un tamaño mayor (Fig. 6.9). Esta tendencia se ajusta significativamente a una función lineal decreciente del tamaño en función de la edad al momento de la muda en la mayoría de los estadios y las dietas, con excepción de los estadios C2, C5 y C6 correspondiente a la dieta A + Z (Tabla 6.6). Asimismo, la variabilidad en las dos dimensiones: edad al momento de la muda y tamaño del estadio aumenta con la edad de los juveniles (Fig. 6.8)

Incremento por muda

En juveniles tempranos de *L. santolla* el incremento bruto de tamaño por muda varió entre dietas y aumentó progresivamente en cada estadio (Tabla 6.7). El incremento bruto máximo fue de $0,73\pm 0,06$ mm para la dieta A y el mínimo de $0,46\pm 0,05$ mm en la dieta Z, ambos correspondientes al estadio C6.

El incremento porcentual de tamaño varió también entre dietas en cada estadio analizado, exceptuando en la muda entre estadios C3-C4, en la cual tanto la dieta A, Z y

A+Z alcanzaron valores de incremento porcentual similares (Fig.6.10). El incremento porcentual en el último estadio (C6) resultó mayor en aquellos juveniles criados con la dieta Artemia que en las dos dietas restantes (Tabla 6.8 y 6.9).

Se observaron distintos patrones en la variación del incremento porcentual por muda con el avance de la edad/estadios (Fig.6.10). Con las dietas P y A, el incremento por muda disminuyó con la progresión de los estadios, con la excepción que en C5-C6 con la dieta A, (donde se registró un aumento de ~30% con respecto al incremento alcanzado en la muda anterior). Contrariamente, con la dieta A+Z se registró un aumento progresivo del incremento porcentual en los cangrejos hasta el C5, momento en el que se registró una disminución del incremento porcentual por muda correspondiente a un ~10% al alcanzar el estadio C6, también con respecto al estadio anterior.

d) Periodo intermuda

En las dietas Artemia, Zoea y Pellet el periodo intermuda (PI) se incrementó con el avance de los estadios. Sin embargo, en la combinación de A+Z se observó un aumento del PI hasta C3-C4 y una disminución en los estadios siguientes (Fig.6.11). La prolongación abrupta del PI con la dieta Pellet estuvo asociada a la mortalidad del 100% de los animales en el estadio C3.

Si bien existen diferencias en el periodo intermuda entre las dietas para cada estadio (Fig. 6.11, Tabla 6.10), a partir de C3-C4 y estadios sucesivos, los animales mantenidos

con la dieta Z mostraron PI más prolongados con respecto a los animales mantenidos con las dietas A y A+Z. Con la dieta A los valores de PI de los cangrejos fueron intermedios, en tanto que bajo la dieta A+Z los valores de PI fueron progresivamente menores a medida que los estadios avanzaron. Durante la última ecdisis estudiada (C5-C6), existieron diferencias en el periodo intermuda entre las tres dietas, alcanzando valores de $65,12 \pm 1,41$ días con Z; $53,54 \pm 1,06$ días con A y $44,43 \pm 0,81$ días con A+Z (Tabla 6.10 y 6.11).

Discusión

De acuerdo a los resultados obtenidos en este capítulo, la dieta influye sobre el crecimiento de los juveniles de *L. santolla* y el canibalismo sería beneficioso para el crecimiento, aunque como complemento de una dieta energéticamente adecuada como aquella basada en *Artemia*. El crecimiento con la dieta combinada de A+Z fue el único similar al de *Artemia*: los juveniles alcanzaron un tamaño semejante en el estadio C6 e igual incremento por muda. La alimentación con *Artemia* es considerada aquí como estándar dado su uso común en acuicultura (Figueiredo, et al., 2009). Además la dieta A+Z resultó en un período intermuda más corto durante los últimos estadios del experimento, sugiriendo que los animales alcanzan el Punto de Saturación de Reservas (PSR, *sensu* Anger 2001) más rápidamente y se encuentran en condiciones energéticas para mudar. Estos hechos alientan la utilización de una dieta combinada en el cultivo de juveniles de centolla y confirma que el canibalismo actúa como suplemento dietario. Si bien la supervivencia de los cangrejos alimentados con la dieta Z fue mayor que en el resto de las dietas, la ingestión exclusiva de conoespecíficos fue en detrimento de otros parámetros del crecimiento como la talla, el incremento por muda y el período intermuda.

En todas las dietas estudiadas se detectó la presencia de lo que denominamos “crecedores lentos” y “rápidos”. En todas las dietas y en cada estadio se observó que los primeros animales en mudar son aquellos que mayor tamaño alcanzan. Es probable que aquellos individuos que presenten un período de intermuda más corto, mantengan esta

condición en cada uno de los estadios subsiguientes. Aunque el experimentador y/o productor no pueda seleccionar estos “crecedores rápidos” para cultivarlos cuando son C1, sería capaz de identificar y seleccionar estos individuos a partir de los 6 meses, asegurándose, de esta manera, animales de mayor tamaño.

La dieta Pellet (Tetra Color®) utilizada en el presente estudio posibilitó el mantenimiento de los cangrejos pero sólo a corto plazo. Los cangrejos con esta dieta sobrevivieron 184 días, habiendo logrado sólo 2 mudas, llegando al estadio C3. Si bien el tamaño alcanzado por los C3 con la dieta P no difiere del tamaño alcanzado por los individuos en las dietas restantes (Fig. 6.7), el 100% de mortalidad observado a corto plazo sugiere que esta dieta debe ser descartada como potencial alimento de juveniles de centolla en cultivo. A pesar de los recaudos tomados al ofrecer los gránulos de pellet para que éstos se hidrataran lo suficiente, se hundieran y quedaran a disponibilidad de los cangrejos en el fondo del recipiente de mantenimiento, la muerte de todos los juveniles indicaría que la dieta P no cumple con las demandas nutricionales básicas de *L. santolla* o que la dieta sea la responsable de una degradación de la calidad del agua, provocando la mortalidad abrupta de los individuos. En este caso, la prolongación del periodo intermuda de los C3 es un indicador claro que los ejemplares no alcanzaron el PSR que imposibilitó la muda y produjo la mortalidad. Los Pellets, fueron previamente probados con éxito en otros crustáceos como la langosta de pinzas rojas *Cherax quadricarinatus* (Lopez Greco com. pers.) y la langostilla (*Munida gregaria* Romero 2003). Contrariamente, también se han utilizado como alimento en especies como *Jasus edwardsii* y *L. santolla* (experiencias hasta el juvenil C4, en Puerto Montt, Chile) en las que el crecimiento y la supervivencia se vieron

afectados negativamente (Kington, 1999; Loyola Rihbein, 2009). La disminución en la supervivencia y en la talla final alcanzada por los individuos, se atribuyó al proceso de lixiviación parcial de los nutrientes esenciales presentes en el pellet. Estos, al no poder ser sintetizados *de novo* por los organismos, y al no ser incorporados con la dieta, dejan de estar presentes en las rutas metabólicas que los requieran (Rosas y Carrillo 2006, *vide* Loyola Rihbein, 2009).

La ingestión de conespecíficos como complemento de la dieta mejoraría el crecimiento de *L. santolla* en cultivo. Si bien La ingestión exclusiva de larvas (dieta Z) en *L. santolla* mostró valores altos de supervivencia, no sólo resulta en cangrejos de menor tamaño producto de un menor crecimiento porcentual en cada muda sino que además prolonga el tiempo transcurrido entre mudas (periodo intermuda) con respecto a la dieta estándar (A). Al contrario, la dieta que combina Artemia y Zoea (A+Z), mejora el crecimiento logrado por la sola ingestión de Artemia, ya que disminuye el período intermuda en C5 y C6. El canibalismo en la dieta A+Z comenzaría a aportar al crecimiento de los individuos a partir de C3. Asimismo cangrejos más grandes podrían tener inconvenientes para manipular los nauplios de *Artemia* como ocurre con otras presas por ej. en *Chionoecetes opilio* (Lovrich y Sainte-Marie, 1997). Sin embargo, los cangrejos mantenidos con la dieta combinada A+Z tuvieron la supervivencia más baja al día 257. Este hecho podría estar relacionado con las diferentes cohortes de individuos utilizadas en la evaluación de las distintas dietas. Como se indicó en la metodología del presente capítulo, la logística del manejo cotidiano de un alto número de cangrejos mantenidos

individualmente para su estudio, permitió en 2009, evaluar el crecimiento en tres de las cuatro dietas que aquí se presentan: A, Z y P; completándose el estudio al año siguiente evaluando el crecimiento de juveniles con la dieta A+Z con individuos pertenecientes a la cohorte del año 2010. La variabilidad interanual probablemente existente entre cohortes, sumada a la disminución abrupta en la supervivencia durante los primeros días de mantenimiento de los animales (Fig. 6.3) podrían explicar la diferencia en la supervivencia final de individuos alimentados con A+Z.

El canibalismo como parte de la dieta, estaría brindando a los juveniles de centolla energía adicional a la otorgada por la dieta A y permitiendo a los cangrejos alcanzar antes el umbral energético necesario (PSR) para mudar al estadio siguiente (Anger, 2001). Los aportes del canibalismo fueron puestos en evidencia también en otras especies de decápodos como *P. camtschaticus* y *Portunus pelagicus* (Brodersen, et al., 1989; Moller, et al., 2008). Además, varios estudios concuerdan en que el canibalismo puede atenuarse a través del mejoramiento de la calidad del alimento, contrarrestando las deficiencias nutricionales existentes (Fox, 1975; Polis, 1981; Eldgar y Crespi, 1992). En los últimos años, el interés mundial por optimizar el alimento para el cultivo de especies comercialmente relevantes ha ido en aumento. Así, surgieron estudios acerca del enriquecimiento de *Artemia* con ácidos grasos o el agregado de triptofano, astaxantina y calcio a las dietas, entre otros (Southgate y Lou, 1995; Kovatcheva, et al., 2006; Stevens, et al., 2008; Laranja Jr, et al., 2010; Daly, et al., 2012). El triptófano, es un aminoácido esencial en crustáceos y precursor de la serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), neurotransmisor asociado a patrones comportamentales incluyendo la agresión (Winberg y

Nilsson, 1993), entre otros. El agregado de triptofano a la dieta del cangrejo del barro *Scylla serrata*, disminuye la agresividad entre conespecíficos y en consecuencia el daño entre individuos que coexisten a largo plazo es menor (Laranja Jr, et al., 2010). Otro compuesto como la astaxantina y el calcio también fueron propuestos como suplementos dietarios que logran aumentar la supervivencia y mejorar el color del caparazón en juveniles de *P. camtschaticus* (Daly, et al., 2012). En este sentido, la ingestión de la exuvia beneficiaría a los animales mudados, como recuperación del calcio perdido tras el proceso de ecdisis (Kovatcheva, et al., 2006).

Experiencias preliminares en las que se evaluaron algunas dietas naturales como algas, mejillones o la combinación de ambas en *L. santolla*, no lograron mejorar la performance de los individuos alimentados con *Artemia* (Fig. 6.12). Sin embargo, en vistas a la producción y mantenimiento masivo de juveniles de centolla, el desarrollo de una dieta balanceada es altamente necesario. Esta dieta debería principalmente: a) tener el tamaño adecuado para los juveniles más pequeños puedan manipularla y consumirla, cumpliendo con sus requerimientos nutricionales, b) tener flotabilidad negativa y c) permanecer estable en agua de mar al menos 12 hs sin alterar la calidad de la misma (Kovatcheva, et al., 2006). Por todo lo anteriormente mencionado, las investigaciones futuras en torno a la dieta de juveniles de *L. santolla* deberían estar basadas en la oferta de *Artemia* enriquecida con componentes que intenten atenuar el comportamiento caníbal entre individuos bajo cultivo y promuevan su crecimiento.

Figuras y Tablas



Figura 6.1.- A) Disposición de los experimentos de dietas, donde cada individuo permaneció en recipientes individuales para su identificación, B) vista superior de los recipientes con cangrejos, C) detalle de un juvenil de centolla. n=90 por tratamiento.

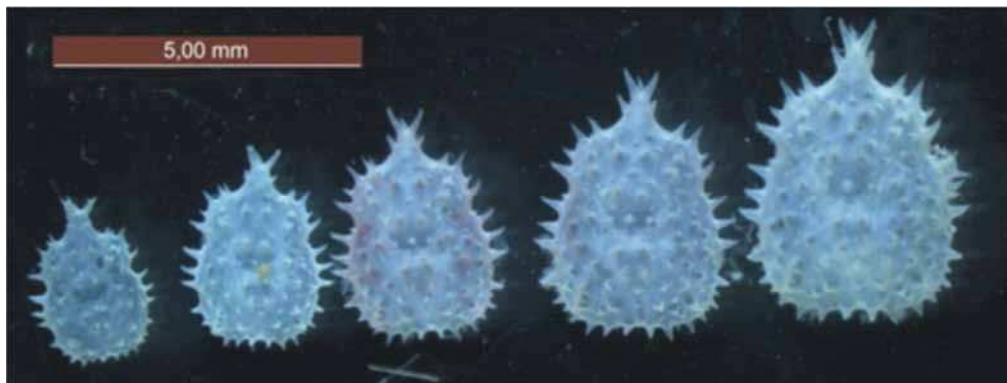


Figura 6.2.- Detalle de los caparazones (C1-C5) de un cangrejo juvenil de *L. santolla* alimentado con dieta de *Artemia*.

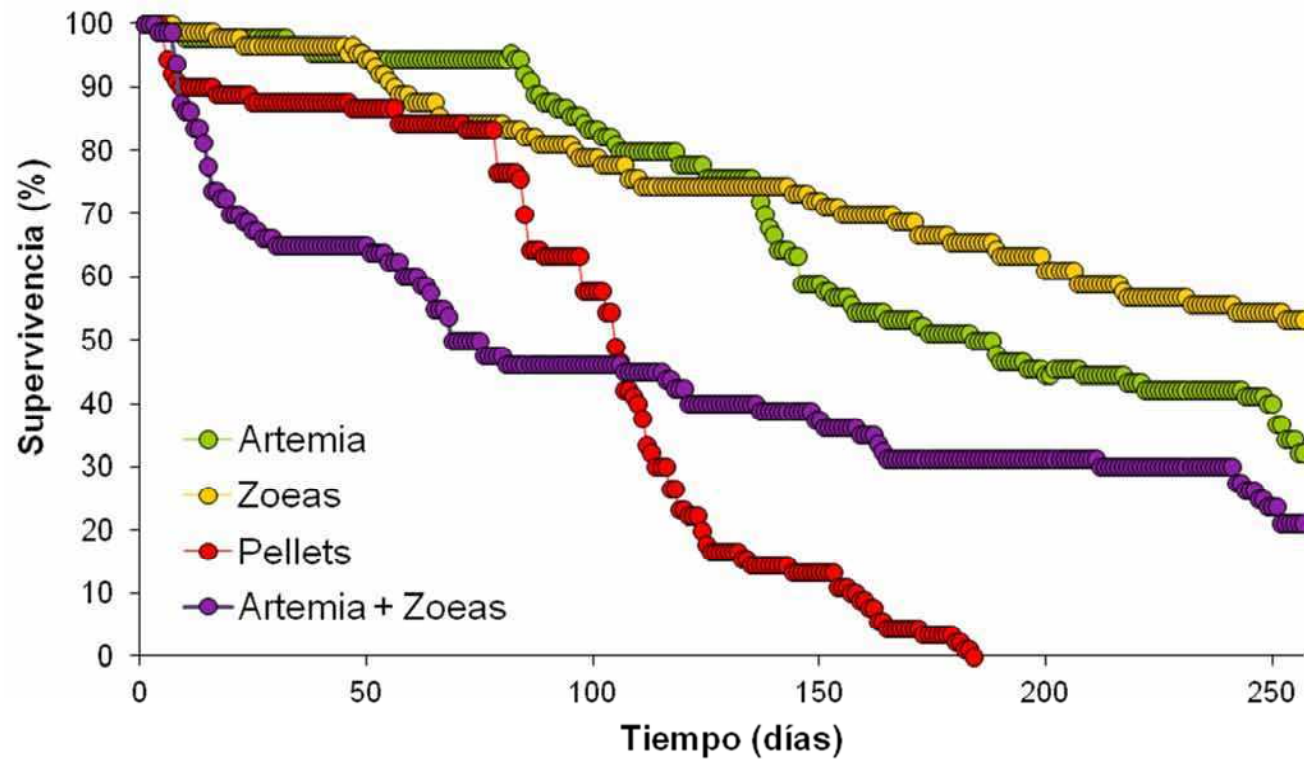


Figura 6.3. Supervivencia de juveniles de *L. santolla* al día 257. Cultivo individual de C1, discriminados de acuerdo a la dieta a la cual fueron mantenidos: n inicial = 90 C1 por dieta.



Figura 6.4.- Ejemplos de juveniles de centolla *L. santolla* que murieron durante o inmediatamente después de mudar.

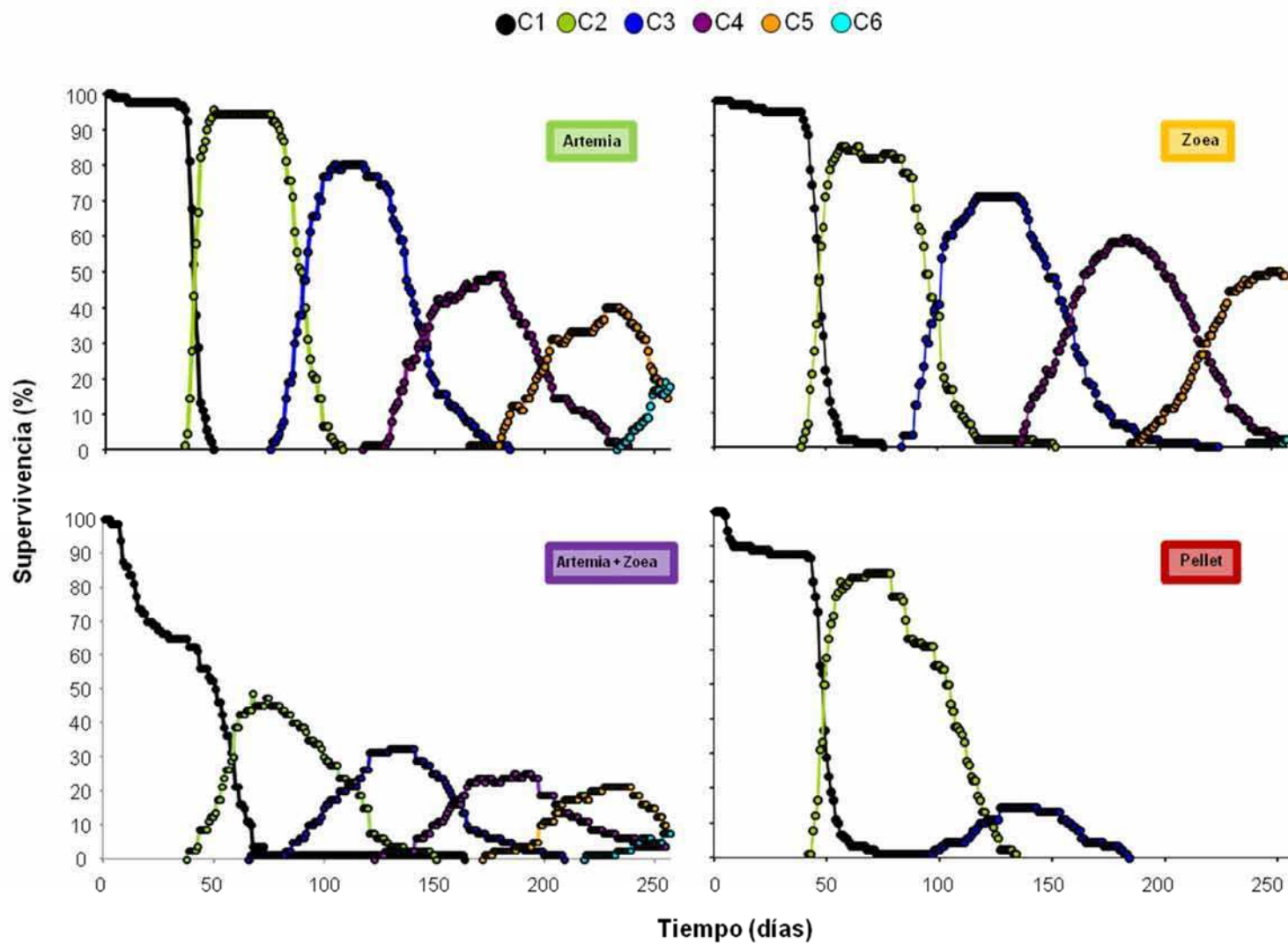


Figura 6.5.- Progresión de los estadios juveniles de *L. santolla* según el estadio alcanzado con las dietas: Artemia, Zoea, Artemia+Zoea y Pellet.

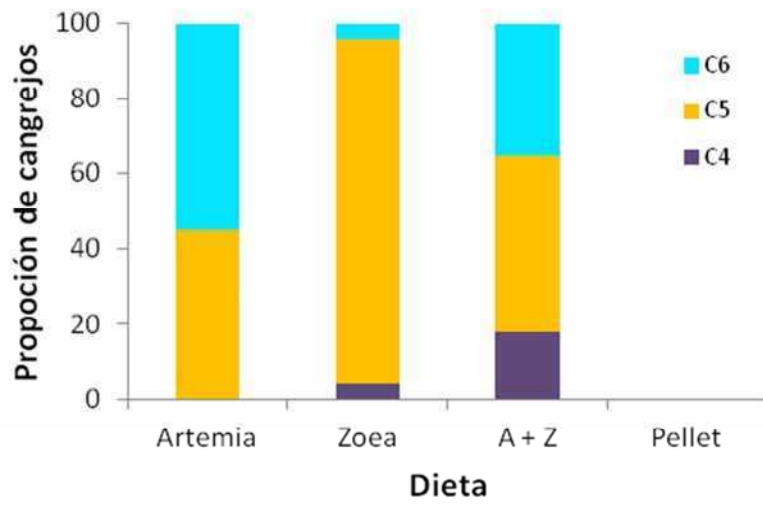


Figura 6.6. Proporción de estadios de *L. santolla* alcanzados al día 257 en las tres dietas estudiadas (Artemia, Zoeas, Artemia+Zoeas; Pellet sin datos por mortalidad total en el estadio C3).

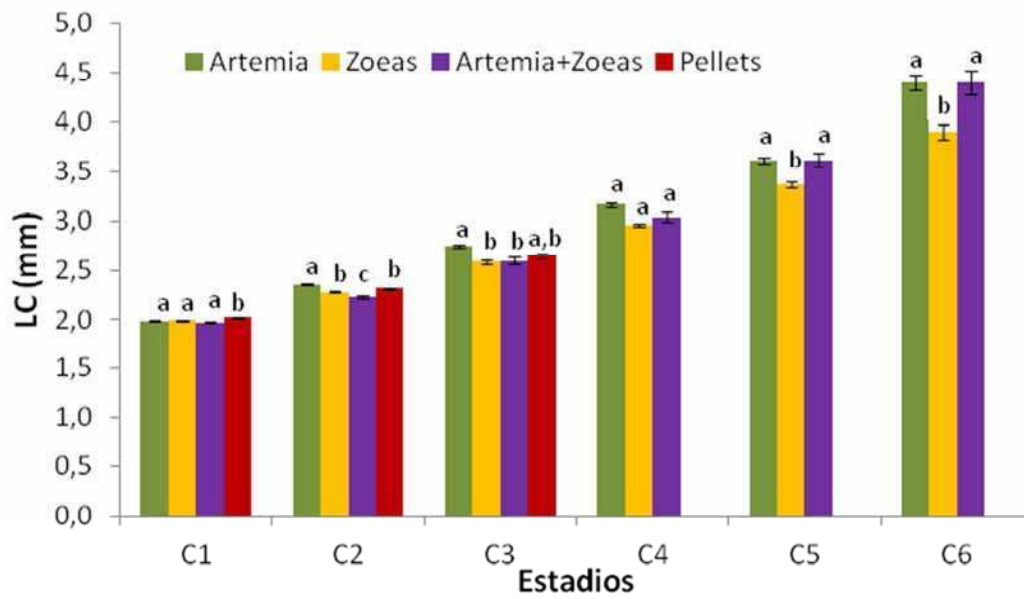


Figura 6.7- Tamaño promedio de juveniles de *L. santolla* (LC en mm) alcanzado en cada estadio y de acuerdo a la dieta a la cual fueron mantenidos. Las barras indican el error estándar y letras distintas muestran diferencias significativas de tamaño entre dietas dentro de cada estadio.

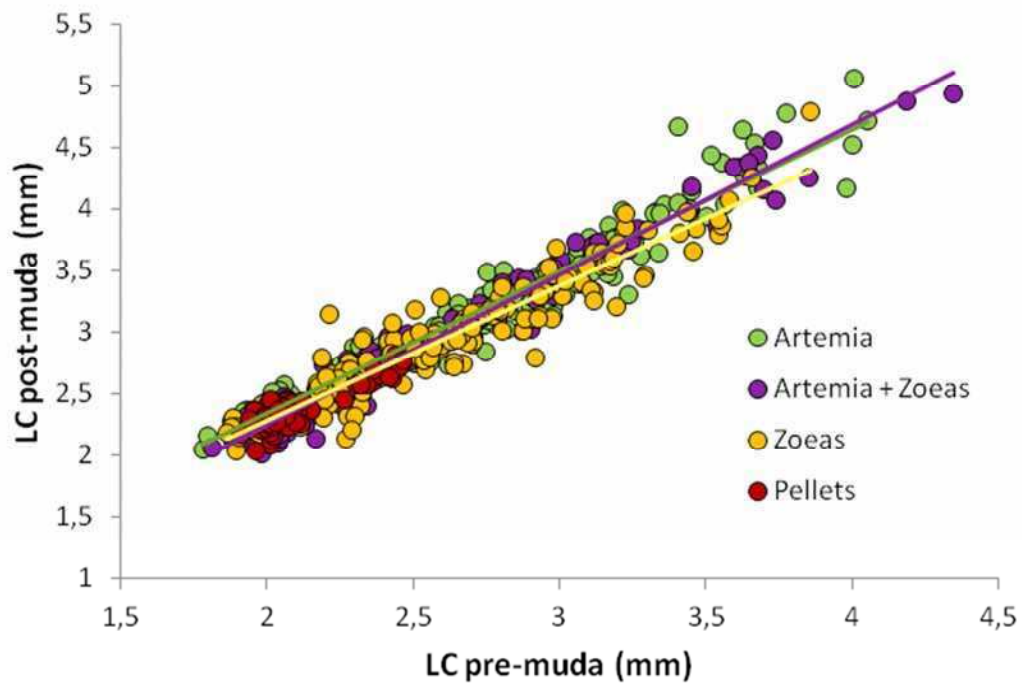


Figura 6.8- Regresión lineal entre los tamaños post y premuda en juveniles de *L. santolla* con diferentes dietas. Las respectivas funciones de Hiatt se presentan en la tabla 7.5

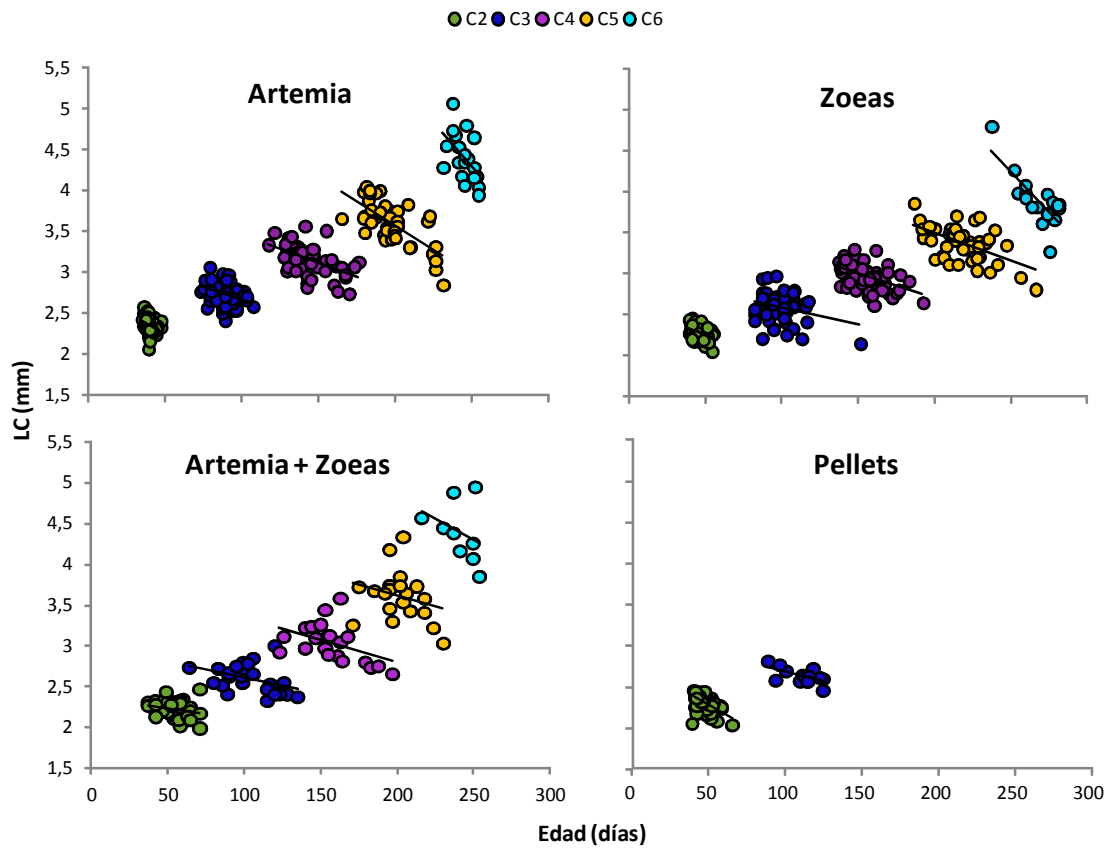


Figura 6.9- Tamaño (LC en mm) de juveniles de *L. santolla* de acuerdo a la edad (en días) en la que mudaron a cada estadio según la dieta con la cual fueron mantenidos.

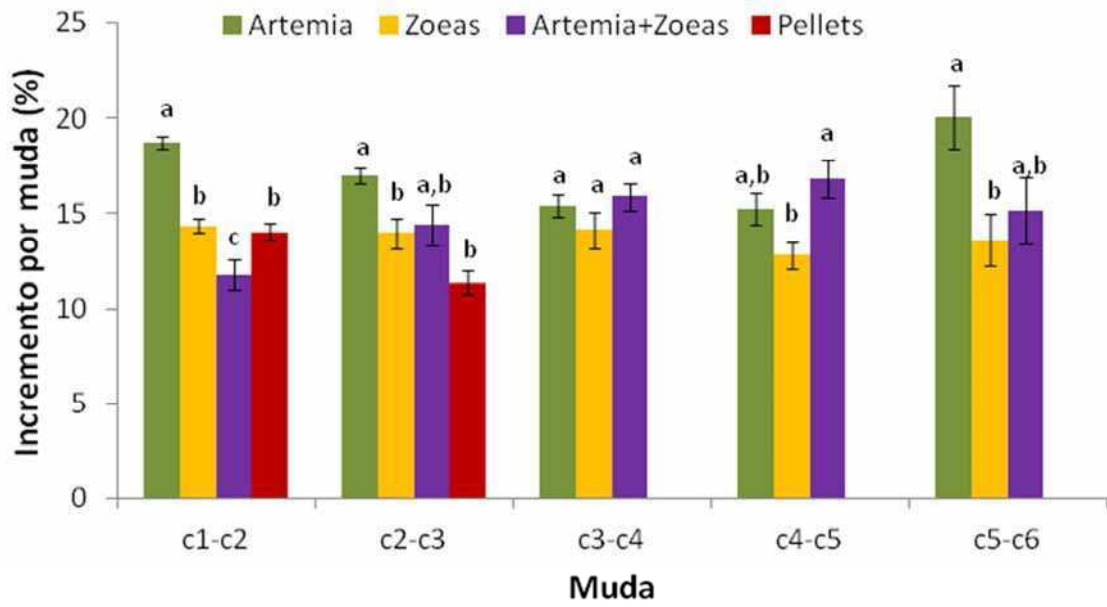


Figura 6.10- Promedios del incremento porcentual de tamaño en juveniles de *L. santolla* de acuerdo al estadio y a la dieta con la cual fueron mantenidos experimentalmente. Las barras indican el error estándar y letras distintas muestran diferencias significativas entre dietas dentro de cada estadio.

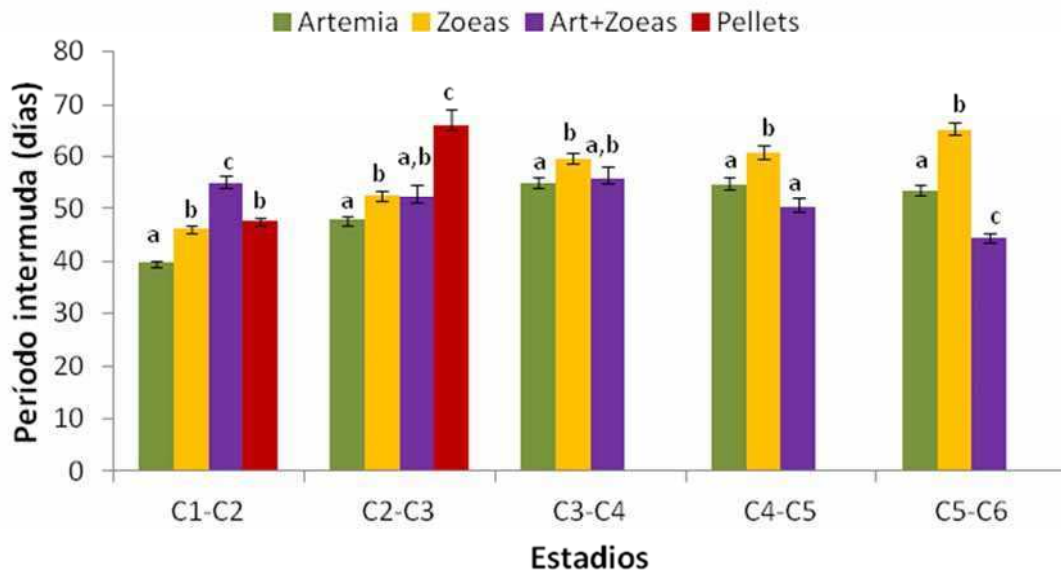


Figura 6.11.- Período intermuda promedio (en días) de juveniles de *L. santolla* bajo un régimen de diferentes dietas. Las barras indican el error estándar y dentro de cada estadio letras diferentes indican diferencias significativas entre dietas..

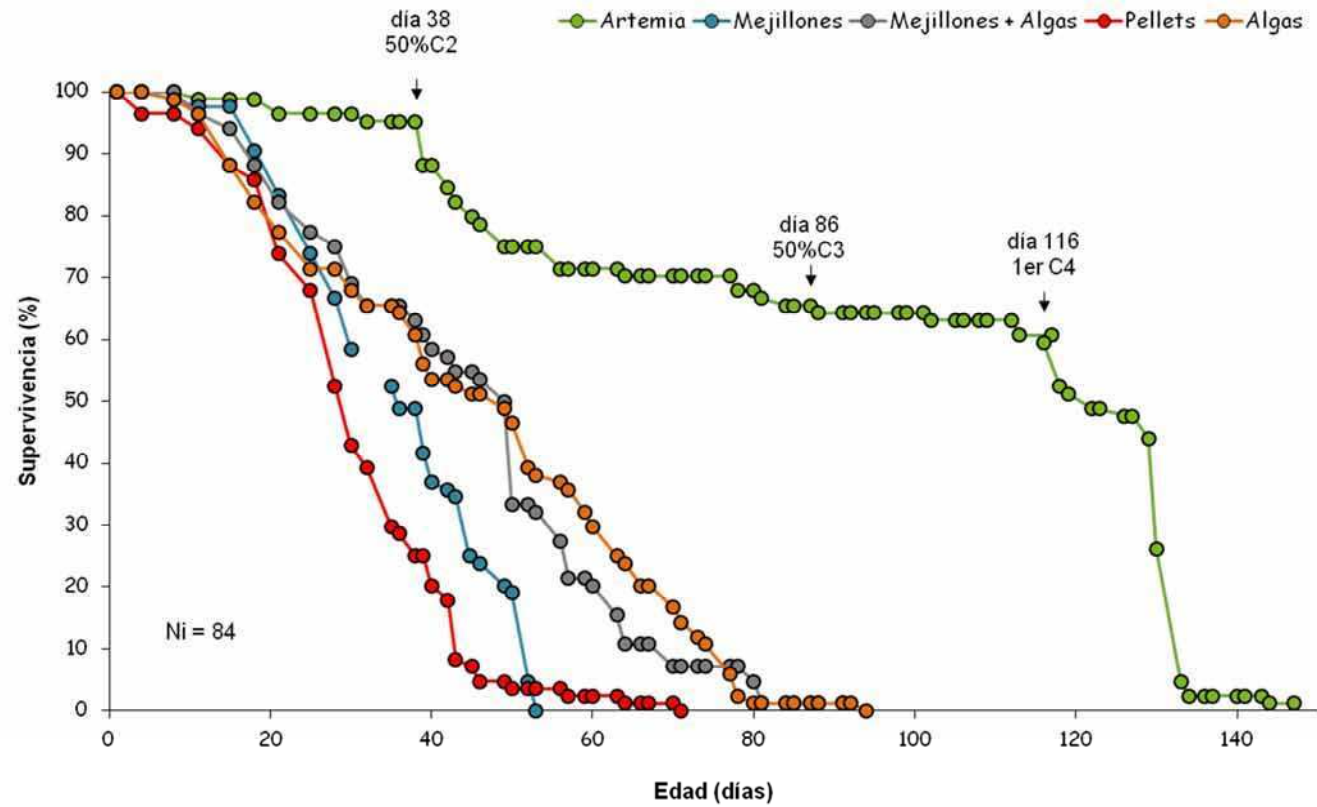


Figura 6.12.- Supervivencia de juveniles de centolla *Lithodes santolla* con distintas dietas mantenidos a partir del estadio C1. $N_{inicial}=84$ en cada tratamiento.

Tabla 6.1- Tiempo (en días) en que se alcanza (A) la primer muda y (B) el 50% de animales mudados en cada estadio juvenil (estadios C2-C6) de *L. santolla*, a partir de ejemplares en estadio C1 mantenidos individualmente con 4 dietas: Artemia, Zoeas, Artemia + Zoeas y Pellet.

	Dieta	C2	C3	C4	C5	C6
(A) 1ra muda	Artemia	35	76	118	167	234
	Zoeas	40	85	137	188	240
	Artemia+Zoeas	39	67	124	173	219
	Pellet	42	93			
(B) 50% mudas	Artemia	40	90	142	197	253
	Zoeas	58	114	162	206	257
	Artemia+Zoeas	47	99	159	219	255
	Pellet	49	120			

Tabla 6.2- Resultados de los ANOVAs de 1 factor comparando el tamaño (LC, mm) de juveniles de *L. santolla* para cada estadio de acuerdo a la dieta.

		GL	CM	F	p
C1	Dietas	3	0,036	7,9	<0,01
	error	314	0,005		
C2	Dietas	3	0,168	23,7	<0,01
	error	265	0,007		
C3	Dietas	3	0,3173	14,87	<0,01
	error	175	0,0213		
C4	Dietas	2	44048,22	0,809845	0,44
	error	134	54390,91		
C5	Dietas	2	0,758	11,79	<0,01
	error	106	0,064		
C6	Dietas	2	1,3426	13,550	<0,01
	error	42	0,0991		

Tabla 6.3- Tests de Tukey en cada estadio para detectar las diferencias entre dietas en el tamaño (LC, mm) de juveniles de *L. santolla*.

C1	A	Z	A+Z
A			
Z	0,84		
A+Z	0,57	0,15	
P	<0,01	0,04	<0,01

C2	A	Z	A+Z
A			
Z	<0,01		
A+Z	<0,01	<0,01	
P	0,01	0,07	<0,01

C3	A	Z	A+Z
A			
Z	<0,01		
A+Z	<0,01	0,99	
P	0,13	0,56	0,75

C5	A	Z	A+Z
A			
Z	<0,01		
A+Z	0,99	<0,01	

C6	A	Z	A+Z
A			
Z	<0,01		
A+Z	0,99	<0,01	

Tabla 6.4.- Valores promedio, máximos (máx) y mínimos (min) de tamaño (LC en mm) de cada al estadio alcanzado y la dieta con la cual fueron mantenidos durante el desarrollo juveniles de *L. santolla*. DS: Desvío estándar; ES: error estándar; n = número de individuos medidos.

Dieta		C1	C2	C3	C4	C5	C6
Artemia	Promedio	1,985	2,354	2,743	3,162	3,607	4,403
	DS	0,053	0,082	0,123	0,174	0,266	0,292
	ES	0,006	0,009	0,014	0,022	0,041	0,067
	n	80	77	76	63	43	19
	max	2,078	2,586	3,061	3,565	4,051	5,071
	min	1,779	2,060	2,412	2,744	2,851	3,948
Zoeas	Promedio	1,994	2,279	2,588	2,957	3,370	3,899
	DS	0,060	0,075	0,168	0,159	0,212	0,315
	ES	0,007	0,009	0,021	0,022	0,031	0,076
	n	83	73	63	52	46	17
	max	2,103	2,462	2,971	3,293	3,858	4,801
	min	1,815	2,045	2,145	2,611	2,807	3,269
Artemia + Zoeas	Promedio	1,971	2,226	2,598	3,039	3,613	4,401
	DS	0,097	0,102	0,170	0,231	0,308	0,360
	ES	0,011	0,016	0,033	0,049	0,069	0,120
	n	80	43	27	22	20	9
	max	2,167	2,481	3,002	3,594	4,346	4,950
	min	1,576	1,997	2,328	2,662	3,033	3,859
Pellets	Promedio	2,023	2,312	2,647			
	DS	0,047	0,082	0,095			
	ES	0,005	0,009	0,026			
	n	75	76	13			
	max	2,151	2,462	2,824			
	min	1,908	2,045	2,466			

Tabla 6.5- Crecimiento de juveniles de *L. santolla* con diferentes dietas expresado como función de Hiatt. N=número de observaciones, r^2 =coeficiente de determinación, F=estadístico de la regresión, p=probabilidad asociada. Se excluyó de la comparación de pendientes la dieta pellets debido a la poca superposición el intervalo de edad de individuos por mortalidad a la mitad del experimento.

Dietas	Ecuación de regresión	n	r^2	F	p
Artemia	$LC_{\text{post}} = 1,1554 LC_{\text{pre}} + 0,0347$	254	0,95	5078,99	<<<0,01
Zoeas	$LC_{\text{post}} = 1,0938 LC_{\text{pre}} + 0,1024$	237	0,93	2998,67	<<<0,01
A+Z	$LC_{\text{post}} = 1,2179 LC_{\text{pre}} - 0,1828$	116	0,97	3507,52	<<<0,01
Pellets	$LC_{\text{post}} = 0,9581 LC_{\text{pre}} + 0,3690$	79	0,76	254,05	<<<0,01
Comparación de pendientes					
	Ho: Artemia = Zoea				<0,05
	Ho: Artemia = A+Z				<0,01
	Ho: Zoeas = A+Z				<0,01

Tabla 6.6- Parámetros de crecimiento de juveniles de *L. santolla* según la edad, estadio y la dieta con la cual se mantuvieron en el experimento. LC: longitud de caparazón (mm), t: tiempo (días), r²: coeficiente de determinación; p:probabilidad asociada.

Dieta	Estadio	n	LC vs T	R ²	p
Artemia	C1	80			
	C2	77	LC = -0,0092 t + 2,7187	0,06	0,02
	C3	76	LC = -0,0062 t + 3,2865	0,11	<0,01
	C4	63	LC = -0,0069 t + 4,1401	0,25	<<0,01
	C5	43	LC = -0,0118 t + 5,9417	0,46	<<0,01
	C6	19	LC = -0,0218 t + 9,7244	0,23	0,02
Zoeas	C1	83			
	C2	73	LC = -0,0065 t + 2,5763	0,10	<0,01
	C3	63	LC = -0,0042 t + 2,9981	0,06	0,02
	C4	52	LC = -0,0061 t + 3,9189	0,23	<0,01
	C5	46	LC = -0,0067 t + 4,8309	0,28	<<0,01
	C6	17	LC = -0,0196 t + 9,1327	0,56	<0,01
Artemia+Zoeas	C1	80			
	C2	43	LC = -0,0027 t + 2,3747	0,03	0,13
	C3	27	LC = -0,0040 t + 3,0160	0,14	0,03
	C4	22	LC = -0,0055 t + 3,9061	0,16	0,03
	C5	20	LC = -0,0055 t + 4,7277	0,02	0,25
	C6	9	LC = -0,0102 t + 6,8464	0,12	0,36
Pellets	C1	75			
	C2	76	LC = -0,0124 t + 2,8016	0,30	<<0,01
	C3	13	LC = -0,0047 t + 3,1777	0,30	0,03

Tabla 6.7- Parámetros del incremento bruto por muda de juveniles de *L. santolla* de acuerdo al estadio y a las dietas con las cuales fueron mantenidos en el experimento. DS: Desvío estándar; ES: error estándar; n = número de individuos medidos; máx.: máximo; min: mínimo.

Dieta		C1-C2	C2-C3	C3-C4	C4-C5	C5-C6
Artemia	Promedio	0,372	0,399	0,421	0,480	0,732
	DS	0,056	0,082	0,122	0,169	0,258
	ES	0,007	0,010	0,016	0,026	0,059
	n	65	68	61	41	19
	máx.	0,528	0,593	0,744	0,785	1,273
	min	0,228	0,223	0,125	0,073	0,194
Zoeas	Promedio	0,286	0,319	0,362	0,381	0,469
	DS	0,059	0,127	0,158	0,136	0,200
	ES	0,007	0,017	0,022	0,021	0,050
	n	68	54	53	43	16
	máx.	0,433	0,639	0,945	0,710	0,943
	min	0,152	0,030	0,080	0,030	0,153
Artemia + Zoeas	Promedio	0,233	0,227	0,417	0,522	0,579
	DS	0,094	0,187	0,095	0,150	0,197
	ES	0,015	0,030	0,020	0,034	0,066
	n	38	39	22	19	9
	máx.	0,426	0,548	0,592	0,752	0,842
	min	0,040	0,000	0,254	0,132	0,323
Pellets	Promedio	0,284	0,271			
	DS	0,075	0,055			
	ES	0,009	0,016			
	n	67	12			
	máx.	0,446	0,384			
	min	0,083	0,198			

Tabla 6.8- ANOVAs de 1 factor para cada estadio comparando el incremento porcentual por muda de juveniles de *L. santolla* de acuerdo a la dieta con que fueron mantenidos experimentalmente.

		GL	CM	F	p
C1-C2	Dietas	3	462,36	36,596	<0,01
	error	234	12,63		
C2-C3	Dietas	3	161,61	7,6487	<0,01
	error	157	21,13		
C3-C4	Dietas	2	32,87	1,1354	0,32
	error	133	28,95		
C4-C5	Dietas	2	124,08	5,3688	0,01
	error	100	23,11		
C5-C6	Dietas	2	196,73	4,8969	0,01
	error	41	40,17		

Tabla 6.9- Tests de Tukey en cada estadio para detectar las diferencias en el incremento porcentual por muda (%) de juveniles de *L. santolla* entre dietas experimentales.

C1-C2	A	Z	A+Z	P
A				
Z	<0,01			
A+Z	<0,01	<0,01		
P	<0,01	0,95	<0,01	

C2-C3	A	Z	A+Z	P
A				
Z	<0,01			
A+Z	0,07	0,97		
P	<0,01	0,29	0,22	

C4-C5	A	Z	A+Z
A			
Z	0,06		
A+Z	0,47	<0,01	

C5-C6	A	Z	A+Z
A			
Z	0,01		
A+Z	0,15	0,83	

Tabla 6.10-Tests de Kruskal-Wallis para testear la igualdad de los cada períodos de intermuda. entre dietas. Gl = grados de libertad, n= número de muestras, H=estadístico, p=probabilidad asociada

	GL	n	H	p
C1-C2	3	292	162,83	<0,001
C2-C3	3	195	33,39	<0,001
C3-C4	3	145	12,08	<0,01
C4-C5	3	109	28,44	<0,001
C5-C6	3	48	31,21	<0,001

Tabla 6.11- Comparaciones múltiples, para la duración de período intermuda entre 4 dietas: A-Artemia, Z-Zoeas, A+Z-Artemia+Zoeas y P-Pellets.

C1-C2	A	Z	A+Z	P
A				
Z	<<0,01			
A+Z	<<0,01	<<0,01		
P	<<0,01	0,34	0,02	

C2-C3	A	Z	A+Z	P
A				
Z	<<0,01			
A+Z	0,08	1,00		
P	<<0,01	<<0,01	0,01	

C3-C4	A	Z	A+Z
A			
Z	<0,01		
A+Z	1,00	0,09	

C4-C5	A	Z	A+Z
A			
Z	<0,01		
A+Z	0,12	<<0,01	

C5-C6	A	Z	A+Z
A			
Z	<<0,01		
A+Z	<<0,01	<<0,01	

EFFECTO MATERNO

Introducción

El término “efecto materno” posee múltiples definiciones pero aquellas más amplia y frecuentemente aplicadas son las que lo definen como la contribución no-genética de la hembra a la condición de la descendencia, (Reznick, 1991); cualquier influencia parental en la descendencia que no sea causada por el ADN que comparten (Reinhold, 2002) o la variación fenotípica de la descendencia que es consecuencia del fenotipo materno y no de la constitución genética de la descendencia (Roff, 1998). Las fuentes de variación no-genéticas de la descendencia pueden ser de ambos progenitores aunque, dado que la hembra es la que provisiona los huevos con nutrientes, hormonas y citoplasma, es más plausible que ella sea una fuente de variación más potente al menos en las primeras etapas del desarrollo de su descendencia (Green, 2008).

Los efectos maternos son una fuente de variación fenotípica importante dentro de una población. La relación existente entre el tamaño y/o la edad de las hembras y la robustez (viabilidad, tamaño, etc.) de su descendencia está documentada en muchas especies acuáticas, particularmente en peces (Chambers y Leggett, 1996; Green, 2008). A demás, en crustáceos, si bien la influencia materna fue reconocida inicialmente como el gasto energético que las hembras realizaban en la producción de los huevos, luego se evidenció que tareas como la portación de huevos, aireación, limpieza, protección y en algunos casos la asistencia en la eclosión resultan en un gasto energético considerable para la hembra que las realiza (Levi et al, 1999; Fernandez et. al, 2000; Fernandez et. al, 2002). A pesar de estos antecedentes, pocos son los estudios sobre cuál es la influencia materna sobre la progenie en crustáceos de interés comercial (Sato y Suzuki, 2010).

En especies como la langosta americana *Homarus americanus* y en la langosta europea, *H. gammarus*, el número y contenido energético de los huevos o la fecundidad y el tamaño de los huevos aumentan con el tamaño de las hembras (Tully, et al., 2001; Agnalt, 2008). La influencia materna también se ha evidenciado en los litódidos de importancia comercial de la región magallánica. Tanto en la centolla como el centollón (*L. santolla* y *P. granulosa*, respectivamente) el número de huevos por puesta se incrementa con el tamaño de la hembra que los porta (Lovrich, 1997).

La eclosión de larvas en *L. santolla* se caracteriza por ocurrir extendida en el tiempo abarcando un total de entre 35 y 41 días en cada hembra (Thatje, et al., 2003). En particular, el número de larvas que nacen por hembra durante el período de eclosión, puede describirse como una campana gaussiana, donde además de que el número de larvas eclosionadas al principio y al final del período es menor y la movilidad de las larvas reciente o tardíamente eclosionadas parece ser reducida (observación personal). Asimismo, la supervivencia hasta cangrejo 1 es mayor en aquellas larvas que eclosionan promediando el periodo de eclosión (Tapella, et al., 2009b). Estas observaciones llevaron a plantear como hipótesis, la existencia de un fitness diferencial entre aquellas larvas nacidas al principio (P), medio (M) o final (F) del período de eclosión de cada hembra.

Este capítulo busca evaluar si el tamaño de la hembra o el momento de eclosión de las zoeas puede servir como herramienta sencilla para la producción de juveniles de centolla de mejor calidad. De existir alguna relación entre el tamaño de las hembras o el momento en el cual eclosionan las larvas y la “calidad” de su descendencia (ya sea de la supervivencia, el tamaño de los cangrejos, etc.), dicha información resultará de utilidad tanto para el manejo sustentable del

recurso como para la optimización del cultivo de larvas y juveniles de centolla a partir de un criterio de selección de hembras ovígeras por tamaño.

Objetivo general

Determinar la influencia materna de *L. santolla* en su descendencia y evaluar la influencia del momento de eclosión en el tamaño de los juveniles.

Objetivos particulares:

1. Evaluar si existe relación entre el tamaño de las hembras de *Lithodes santolla* con
 - a.- el tamaño de sus huevos
 - b.- el contenido energético de sus huevos
 - c.- el tamaño de las Zoeas I al momento de la eclosión
 - d.- el tamaño de los primeros estadios juveniles (cangrejo 1, C1 y cangrejo 2, C2)
- 2.-Evaluar si existen diferencias en el tamaño de los C1 de acuerdo al momento (principio (P), medio (M) y final (F) en el que eclosionaron las zoeas que les dieron origen.

Materiales y Métodos

Se utilizaron 3 grupos diferentes de hembras, uno para el estudio de los tamaños de los huevos, otro para analizar el contenido energético de los huevos y el tamaño de juveniles (C1 y C2), en función del tamaño de la hembra madre. Finalmente un tercer grupo de hembras se utilizó para estimar el tamaño de larvas (Zoeas I) en relación al tamaño de sus madres.

Tamaño de huevos

La estimación del tamaño de los huevos de *L. santolla* se realizó a partir de huevos con embriones de aproximadamente 4-5 meses de embriogénesis extraídos de 12 hembras (intervalo de tamaño: 96,0-124,7 mm LC) en marzo de 2011. Las muestras de huevos fueron preservadas en formol 4% hasta que fueron fotografiados bajo lupa (Leica M205-C). El tamaño promedio del diámetro mayor del huevo se estimó a partir de la medición de 10 huevos por hembra sobre las imágenes tomadas, con el programa Image-Pro-Plus 6.0 (Fig. 7.1).

Contenido energético de huevos y tamaño de juveniles

El segundo set de hembras consistió en 17 hembras ovígeras (intervalo de tamaños: 79,3-126,7 mm LC) que se mantuvieron individualmente en los acuarios de recirculación. El chequeo diario permitió la extracción de una muestra de huevos (~100) con embriones en avanzado estado de desarrollo y coincidentes con el día en que comenzó la eclosión de las primeras larvas de cada hembra. Los huevos fueron inmersos durante 3 segundos en agua destilada para extraer la sal

proveniente del medio y preservados en congelador a -20°C . Éstos se procesaron siguiendo el protocolo de análisis de contenido energético por calorimetría (Ver Anexo 2).

De este mismo grupo de madres, se seleccionaron 7 hembras ovígeras (intervalo de tamaños: 88,6-126,7 mm) procurando diferencias en su tamaño, y se mantuvieron en los acuarios para cultivar larvas hasta C1 (ver Cap. 2, Metodología General). Una vez obtenidos los C1, se seleccionaron entre 20-30 C1 por hembra y se fijaron en alcohol con glicerina (70%) para la estimación de su tamaño, dejando al menos 60 ejemplares (C1) para continuar su cría individual hasta C2. Para ello, los C1 se traspasaron a recipientes individuales de 100 ml de capacidad y se identificaron para seguir su crecimiento en el tiempo.

El cultivo de los cangrejos hasta C2 se llevó a cabo en cámara fría, a una temperatura que varió entre 7,2 y 7,7 $^{\circ}\text{C}$, alimentándolos con *Artemia* sp dos veces a la semana y con renovación de agua tres veces a la semana. El chequeo de los individuos se realizó diariamente, registrando las muertes y la presencia de exuvias. En caso de muda, cada exuvia se preservó individualmente en alcohol con glicerina (70%) para ser fotografiada bajo lupa (Leica M205-C) y medida con el programa Image-Pro-Plus 6.0. El análisis se realizó sobre el tamaño promedio de los C1 y C2 por hembra.

Tamaño de larvas y momento de eclosión

Se trabajó con un conjunto de 14 hembras (intervalo de tamaños: 90,3 - 121,1 mm LC) de las cuales se tomaron muestras de larvas (ZI) para relacionar su tamaño con el de sus madres. Las hembras elegidas fueron mantenidas en el sistema de recirculación de agua (ver Cap. 2 Metodología General) y fueron chequeadas diariamente con el fin de detectar la presencia de

larvas. Al constatar la eclosión de las larvas, éstas se colectaron y se preservaron en formol para posteriormente fotografiarlas y medirlas mediante el software Image-Pro Plus 6.0. El tamaño de cada Zoea I se estimó a partir de la medición del caparazón desde el extremo de la espina rostral hasta el extremo de una de las dos espinas postero-laterales y siguiendo la curvatura del propio caparazón (Fig. 7.2). Esta medida morfométrica se la denominará longitud total del caparazón (LTC) para diferenciarla de la longitud de caparazón estándar (LC) que se toma en los estadios juveniles y adultos sin considerar las espinas y la curvatura del caparazón. El análisis se llevó a cabo utilizando el promedio de las larvas medidas por hembra.

Además, se seleccionaron del grupo anterior, 7 hembras de tallas similares (intervalo de tamaños: 99,3 - 102,9 mm LC) de modo de descartar el tamaño de la hembra como potencial fuente de variabilidad en el tamaño de las larvas y evaluar la influencia del momento de eclosión en el tamaño de los juveniles (C1). Para esto se recolectaron 300 Zoeas I tanto al principio, como al medio y final de la eclosión de cada hembra, como se define a continuación. Principio (P): se recolectaron las larvas el primer día en el cual eclosionaron al menos 350 larvas en total. Medio (M): La muestra de larvas se tomó el día en el cual eclosionaron el mayor número de larvas por día. Final (F): se recolectaron las larvas el último día en el que eclosionaron al menos 350 larvas. La frecuencia diaria de eclosión de una hembra sigue aproximadamente una distribución normal (Tapella com. pers, observación personal). El control diario de cada hembra permitió estimar el número de larvas eclosionadas por día, logrando así definir claramente estos periodos. El número de larvas se estimó a partir de su volumen, de acuerdo a la siguiente función (Tapella, com. pers):

$$\text{Nro. larvas} = 106,97 \text{ Vol (larvas)} - 31,60$$

Las 300 larvas colectadas de acuerdo al momento de eclosión y por hembra se transfirieron a los cambiadores (descritos en Metodología general) inmersos en bateas en el mismo sistema de recirculación de agua. Cada contenedor consistió en un tubo cilíndrico de PVC (9 cm diámetro, 11 cm altura) con base enmallada (1 mm, polietileno) y cuya superficie total fue de 64 cm² y soportes inferiores de 1 cm para que la malla no estuviera en contacto con el fondo recipiente. Cada contenedor fue chequeado diariamente y fueron contabilizadas las larvas muertas hasta obtener los C1.

Procedimientos estadísticos

Se evaluó la relación entre el contenido energético de los huevos, el contenido energético y tamaño de larvas, el tamaño de juveniles, en relación al tamaño de las hembras que les dieron origen, a través de análisis de regresión lineal (Sokal y Rohlf, 1995).

Resultados

1a.- Tamaño de los huevos

No se observó relación entre el tamaño de la hembra y el diámetro mayor promedio de sus huevos (Fig. 3.3; Tabla 7.1). El tamaño promedio de los huevos varió entre $1,37 \pm 0,01$ (N=12) y $1,99 \pm 0,02$ mm (N=12), correspondientes a una hembra de 116,55 y 96,95mm de LC respectivamente. El promedio general del diámetro mayor de huevos entre todas las hembras fue de $1,80 \pm 0,05$ mm (N=12).

1b.- Contenido energético de huevos

Los valores de contenido energético de los huevos fluctuaron entre los 22,06 y 26,49 kJ.gr^{-1} de tejido (Fig.7.4). Asimismo, hembras más grandes pueden producir huevos de mayor contenido energético puesto que se encontró una relación significativa y positiva entre estas variables (Tabla 7.1 $p < 0.05$).

1c.- Tamaño de larvas (Zoeas I)

El tamaño promedio de las Zoeas I varió entre 2,774 y 4,615 mm de LTC, y se encontró una relación positiva entre el tamaño del primer estadio larval y el de las hembras de las cuales provinieron (Fig. 7.5, Tabla 7.1).

1d.- Tamaño de los juveniles

La tendencia general de los datos indica una disminución del tamaño promedio de los C1 y C2 con el tamaño de la madre. Sin embargo, no se encontró relación significativa entre el tamaño de los juveniles (tanto C1 como C2) y el tamaño de las hembras que les dieron origen (Fig. 7.6 y 7.7; Tabla 7.1). El tamaño mínimo encontrado para un individuo C1 fue de 1,701 mm, proveniente de la hembra más grande (126,7 mm LC) y el tamaño máximo fue de 2,209 mm proveniente de una hembra de las más pequeñas utilizadas en la experiencia, de 92,1 mm LC. Los C2 variaron individualmente en un intervalo de tallas entre 1,861 y 2,478 mm.

2- Momento de eclosión

Debido a fallas técnicas con el sistema de calentamiento-enfriamiento en el sistema de recirculación de agua, tanto durante el período reproductivo 2010 como en el 2011 cuando se repitió la experiencia, la temperatura máxima del agua de mar en la cual se mantuvieron los cultivos se elevó en más de 5°C en menos de 48 h promediando la experiencia y provocando la muerte masiva de las larvas. En consecuencia no pudo recabarse la información necesaria para evaluar al “momento de eclosión” como potencial fuente de variación en el tamaño de los juveniles de centolla.

Discusión

Los resultados obtenidos en este capítulo evidencian la influencia de las hembras de *L. santolla* sobre su progenie, particularmente en las primeras etapas del desarrollo, tanto en el contenido energético de huevos como en el tamaño del primer estadio larval (Zoea I). Sin embargo, el diámetro promedio de los huevos, el contenido energético de las Z1, así como como el tamaño de los dos primeros estadios juveniles (C1 y C2) no presentaron relación con el tamaño corporal de la hembra (Tabla 7.1). Esta información resulta valiosa como herramienta para el cultivo y especialmente para el manejo del subsidio poblacional y la pesquería de este decápodo.

A pesar de no encontrarse relación entre el tamaño corporal de las hembras y el diámetro mayor promedio de sus huevos en *L. santolla* tal como ocurre en *L. camtchaticus* (Hynes, 1968); hembras más grandes presentaron huevos con mayor contenido energético y Zoeas I más grandes. El mayor tamaño de las zoeas I al momento de eclosión, reviste especial importancia para su supervivencia en el medio natural y podría contrarrestar la pérdida de individuos en la población por depredación. En la naturaleza, se estima una alta mortalidad de los estadios tempranos de desarrollo en invertebrados marinos que puede llegar al 99% (Sale, 1990; Pechenik, 1999). La depredación durante la fase larval y juvenil ha sido planteada como la causa principal de pérdida de individuos a lo largo del desarrollo de los mismos haciendo que, del extenso número de huevos fertilizados en especies con larvas de hábito pelágico, sólo unos pocos alcancen el estado adulto (Thorson, 1950; Sale, 1990). Así, el tamaño larval al momento de la eclosión, podría resultar clave para la supervivencia de las mismas, dado que un mayor tamaño corporal reduce la susceptibilidad de las larvas ante depredadores debido a la habilidad de escape

y la limitación de tamaño de presa por parte de los propios depredadores (Sato y Suzuki, 2010). En este contexto, la progenie de hembras de mayor tamaño tendría una ventaja adaptativa por sobre aquellas provenientes de hembras más chicas.

Desde el punto de vista del cultivo, los resultados obtenidos alientan por un lado, la utilización de hembras grandes dada la relación positiva encontrada entre su tamaño y fecundidad (Vinuesa, 1982; Lovrich, 1997), con lo cual el “productor” se aseguraría la producción de un mayor número de individuos. Así mismo, la elección de hembras de tamaño grande supondría la obtención de huevos con alto contenido energético y larvas (Z1) en promedio también más grandes. A pesar de no haber encontrado relación entre el tamaño de las hembras y el de sus juveniles (C1 o C2), se podría esperar que tanto el alto contenido energético, como el tamaño de las Z1 sean factores que probablemente incrementen la supervivencia de esos juveniles (no analizado en esta tesis).

Es relevante también, tener en cuenta como posible fuente de variabilidad en las larvas de centolla, el momento en el cual eclosionan durante del período de eclosión de cada hembra, tal como fue previsto originalmente en este capítulo. Aunque este efecto no pudo ser evaluado en esta tesis, sería importante ponerlo a prueba en futuros estudios porque no sólo se ha observado una mayor supervivencia hasta C1 en larvas que provienen del medio (M) del periodo de eclosión (Tapella, et al., 2009b) sino que además existen otros indicios como por ej. de movilidad, que sugieren diferencias entre las larvas de *L. santolla* entre el inicio, medio y final del período de eclosión (obs. pers.). Moland y colaboradores (2010) revelaron que la fecha de eclosión tiene un

efecto significativo en la supervivencia de las larvas de *Homarus gammarus*. Cuanto más tardía es la fecha de eclosión, mayor es el período de incubación, y mayor la energía usada por los embriones previos a la eclosión, generando en consecuencia una supervivencia menor.

Figuras y Tablas

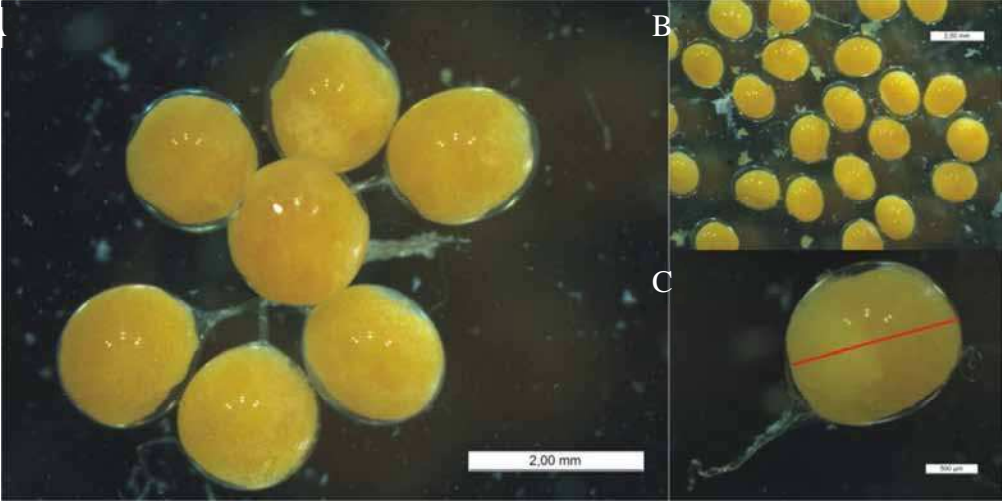


Figura 7.1. Huevos de *Lithodes santolla*. A) Huevos unidos por los funículos, B) huevos sueltos preparados para medir y C) detalle de un huevo de centolla indicando su diámetro mayor.



Figura 7.2. Larva (Zoeas I) de *Lithodes santolla*. Detalle de una Zoea I, fijada en formol, en donde la línea de color indica la medida de longitud total del caparazón (LTC).

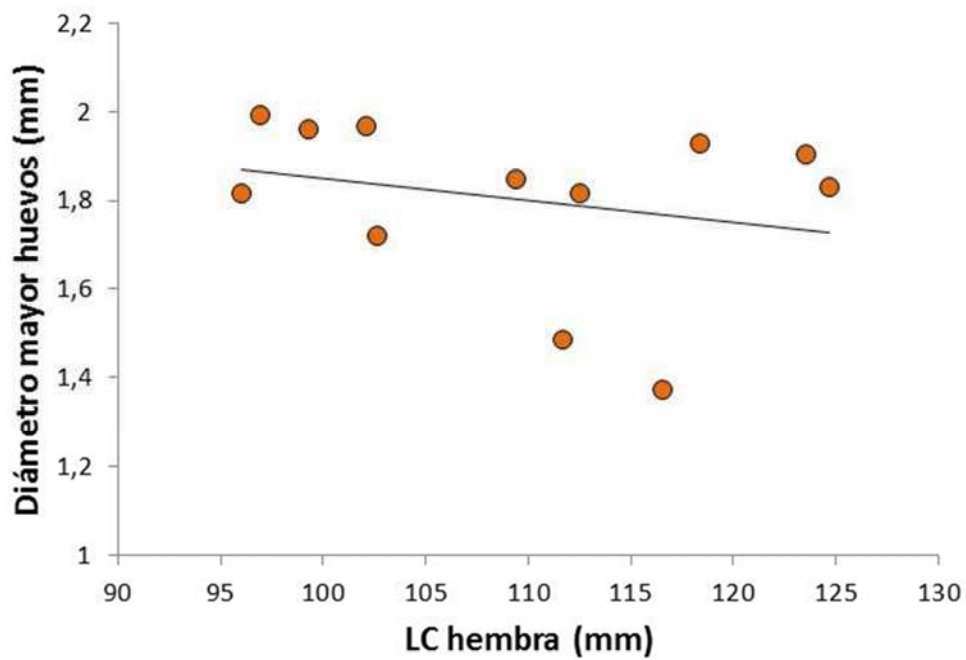


Figura 7.3- Relación entre el diámetro de los huevos y el longitud de caparazón de las hembras de *L. santolla* que les dieron origen. Se muestran los diámetros de los 10 huevos medidos por hembra con el fin de mostrar la variabilidad existente en cada hembra. Sin embargo la regresión lineal realizada se llevó a cabo con el promedio del diámetro de huevos de cada hembra (Tabla 3.1).

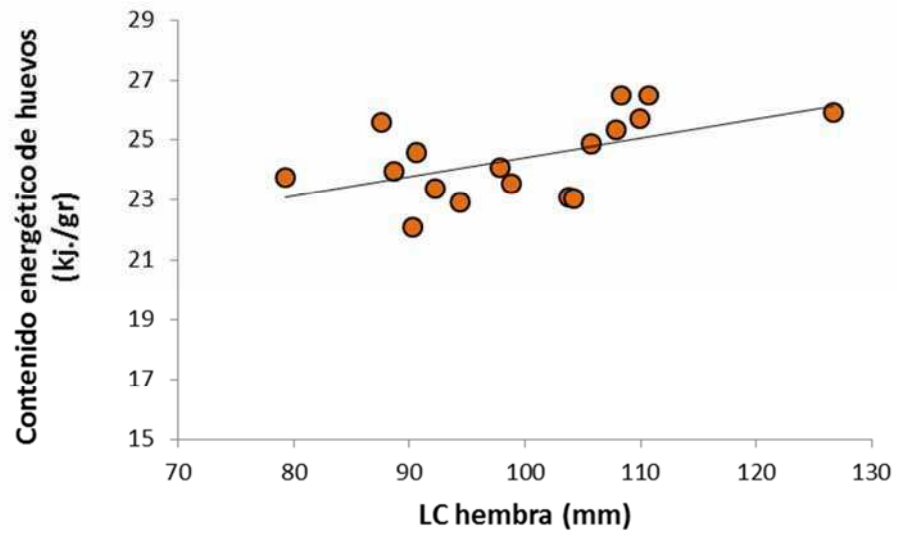


Figura 7.4.- Relación entre el contenido energético de huevos y el tamaño de las hembras de *L. santolla* de las cuales provinieron.

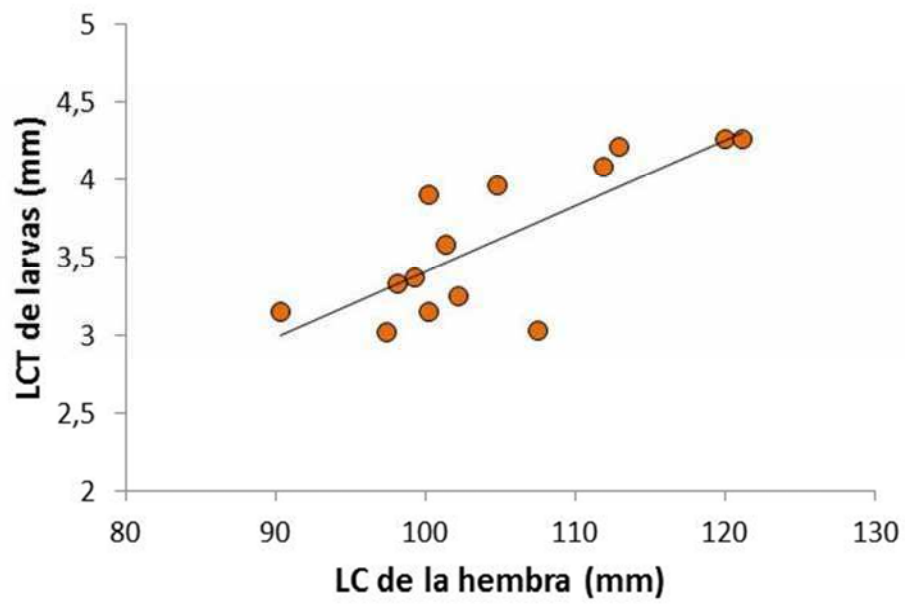


Figura 7.5.-. Relación entre el tamaño de Zoeas I y el tamaño de las hembras de *L. santolla* de las cuales provinieron.

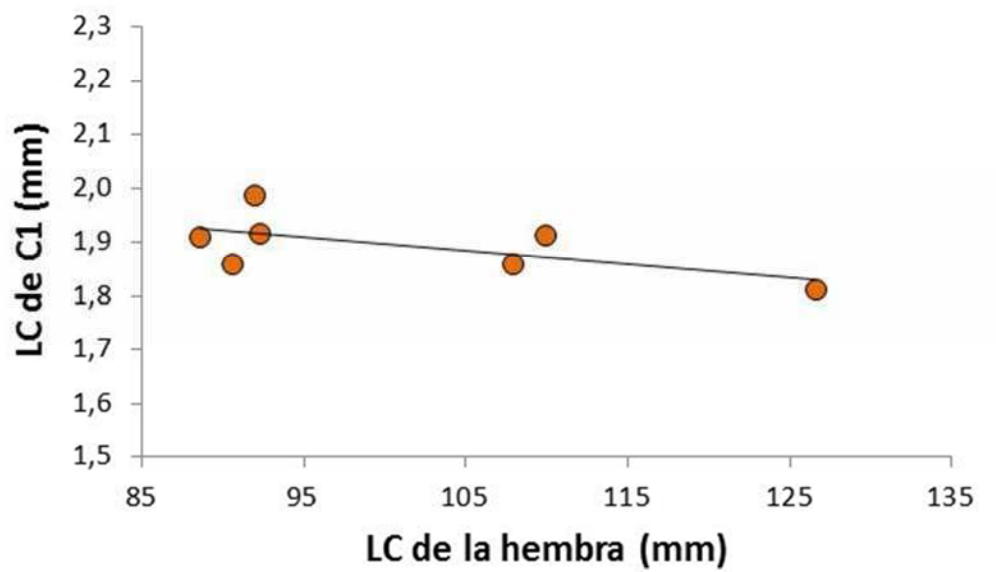


Figura 7.6- Regresión entre el tamaño promedio de los primeros juveniles (C1) de *L. santolla* y el tamaño de las hembras de las cuales provinieron.

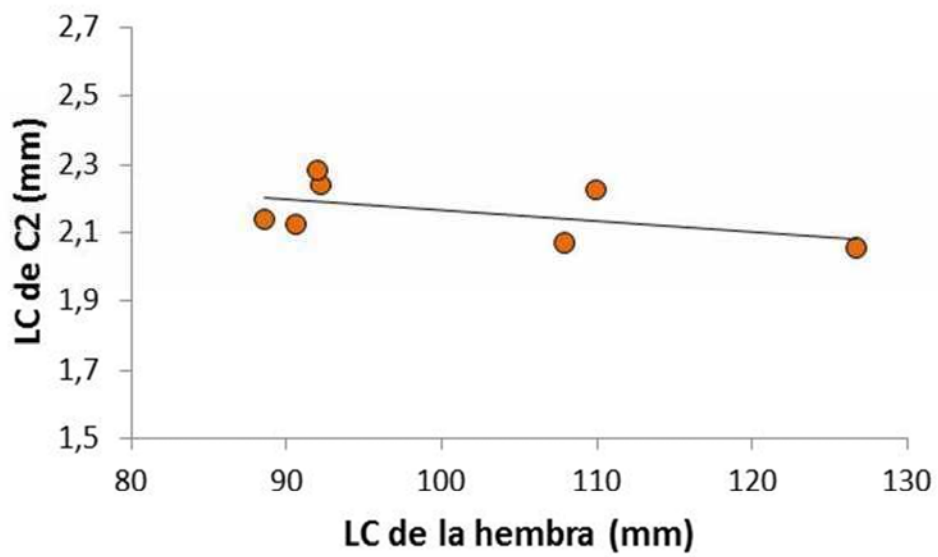


Figura 7.7- Regresión entre el tamaño de ejemplares juveniles estadio 2 (Cangrejo 2) de *L. santolla* y el tamaño de las hembras de las cuales provinieron.

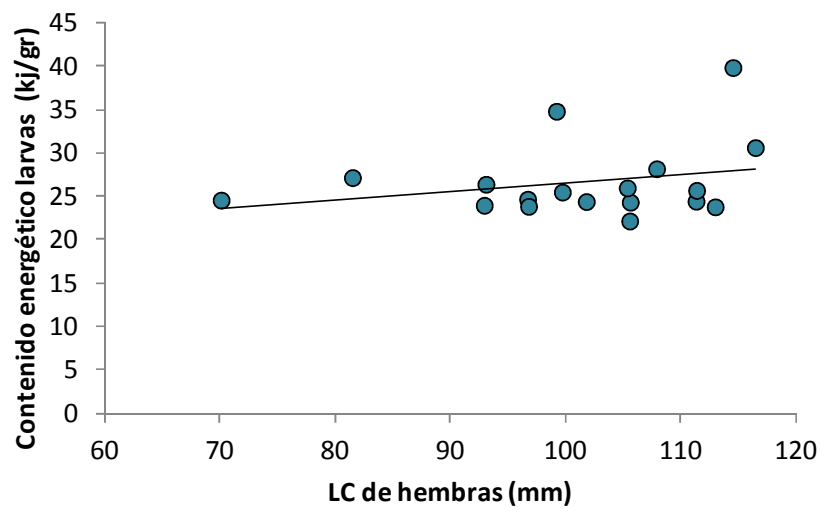


Figura 7.8. Regresión entre el contenido energético de larvas Zoea I de *L. santolla* y el tamaño de sus madres. Datos sin publicar, Tapella (com. pers.).

Tabla 7.1- Parámetros de las regresiones lineales entre variables de la descendencia en función del tamaño de la hembra (LC_H). Se muestran para cada uno de ellos la ecuación de regresión, el número de observaciones (n), coeficiente de determinación (r^2), el estadístico (F) y su probabilidad asociada (p). Se resaltan en **negrita** los valores de probabilidad para las regresiones estadísticamente significativas.

Variable	Ecuación de regresión	n	r^2	F	p
Fecundidad (F) (datos extraídos de Gowland-Sainz, 2010)	$\log F = 2,632 \log LC_H - 1,118$	37	0,72		<<0,001
Diámetro de huevos (H)	$H = -0,005 LC_H + 2,345$	12	0,06	0,715	0,418
Contenido energético de huevos (E_H)	$E_H = 0,064 LC_H + 17,972$	17	0,30	6,431	0,023
LC de larvas (Zoeasl) (LTC)	$LTC = 0,045 LC_H - 1,162$	13	0,55	15,631	<0,01
Contenido energético de larvas (Zoeasl) (E_L) (datos cedidos por Tapella)	$E_L = 0,097 LC_H + 16,867$	18	0,07	1,179	0,294
Tamaño de C1 (LC_{C1})	$LC_{C1} = -0,002 LC_H + 2,143$	7	0,40	3,328	0,128
Tamaño de C2 (LC_{C2})	$LC_{C2} = -0,003 LC_H + 2,487$	7	0,26	1,804	0,237

CONSIDERACIONES FINALES

Aspectos biológicos

El estudio de la biología de los estadios tempranos de *Lithodes santolla*, permitió observar que el canibalismo es un comportamiento común en los estadios juveniles de la especie, incluso durante el período intermuda. La predación entre conespecíficos puede ser de ~6% cuando las relaciones caníbales se dan entre individuos de un mismo estadio, o alcanzar hasta el 75 o el 83% cuando coexisten estadios consecutivos o individuos de diferentes cohortes respectivamente. Los ataques caníbales se evidencian como pérdidas de apéndices completos, que en su mayoría corresponden a apéndices caminadores. La habilidad natatoria de las megalopas, reviste una ventaja importante para disminuir la mortalidad por canibalismo, permitiendo la evasión de los predadores de su misma especie (C1) durante aproximadamente los primeros 9 días. Pasado este período, las megalopas disminuyen su comportamiento natatorio y se comportan de manera preferentemente sedentaria, por lo cual pasan más tiempo en contacto con el fondo y son más susceptibles a los ataques caníbales.

La condición de muda, densidad de individuos y la disponibilidad de sustrato y/o refugio, son factores que influyen sobre el canibalismo; por tanto su manipulación podría servir para la optimización de la supervivencia de juveniles de centolla. Así mismo, la ingestión de conespecíficos (canibalismo) en combinación con *Artemia* influye en el crecimiento de los individuos, acortando el período intermuda (C5-C6).

El fenotipo materno, en particular el tamaño de la hembra, influye especialmente durante las primeras etapas del desarrollo de su descendencia. En este sentido, hembras más grandes producen huevos más ricos energéticamente y larvas (Zoeas I) de mayor tamaño. Esto podría

implicar una ventaja adaptativa para las hembras más grandes al momento de la eclosión de sus larvas en el medio natural, dado que larvas de mayor tamaño correrían menos riesgo de ser víctimas de ciertos predadores (límites de talla predador-presa) optimizando su supervivencia.

Contexto y aplicación de la información generada

Lithodes santolla es una especie de relevancia comercial mundial y regional. En Ushuaia y zonas aledañas (incluyendo Chile) constituye un recurso valioso para el sector pesquero artesanal. La intensa presión de pesca a la que ha sido sometida la centolla en el Canal Beagle en las últimas décadas y el deterioro de la población que no evidencia signos de recuperación, han llevado a considerar el repoblamiento o subsidio poblacional como una posible estrategia para revertir la disminución en el número de individuos de la población.

Existen numerosas limitaciones tanto técnicas como metodológicas en el desarrollo de la metodología necesaria para el cultivo de centolla, dadas las características particulares de la especie (temperaturas frías, crecimiento lento, mortalidad elevada de etapas larvales y juveniles, etc.). Sin embargo, cada capítulo de esta tesis contribuye al conocimiento de la biología y comportamiento de los juveniles tempranos de centolla en cultivo y constituyen una herramienta necesaria y útil en vistas a la optimización del mantenimiento de larvas y juveniles que puedan ser, en un futuro, liberados al mar.

Esta tesis aporta conocimiento relevante para desarrollar un programa de repoblamiento con juveniles de *L. santolla* que forme parte de las normas de manejo de esta especie. Así, este programa debería no solo servir para llevar a cabo el repoblamiento de

poblaciones colapsadas como en el caso del Canal Beagle, sino también en sitios donde las evaluaciones de stock de pesca así lo ameriten (i.e. Golfo San Jorge donde los desembarcos superan los volúmenes sugeridos (Lovrich y Tapella 2013 y referencias allí citadas) y por tanto se esperaría un colapso inminente de sus poblaciones).

El conocimiento desarrollado en esta tesis es valioso porque aporta información importante para maximizar la supervivencia durante: 1) el cultivo masivo y manutención de los estadios tempranos, y 2) la liberación de juveniles de *L. santolla* en su ambiente natural.

1) *Lithodes santolla* en cultivo

La ausencia de larvas de centolla en muestras planctónicas en aguas del Canal Beagle (Lovrich, 1999) ha fomentado la captura de hembras ovígeras como punto de partida para obtener y cultivar juveniles de centolla. La incidencia materna de *L. santolla* sobre su progenie, especialmente en las primeras etapas del desarrollo (Capítulo 7) sugiere que la selección de hembras de tamaño grande podría beneficiar el cultivo de juveniles de la especie ya que su fecundidad es mayor (Lovrich, 1997; Gowland Sainz 2011), sus huevos poseen mayor contenido energético, así como las larvas (Z1) alcanzan un mayor tamaño al momento de eclosión. A pesar de haberse no encontrado relación entre el tamaño de las hembras y de sus juveniles (ya sean C1 o C2), la tendencia encontrada de una mayor supervivencia de larvas de centolla hasta C1 provenientes de hembras de mayor tamaño (Tapella, et al., 2009b), es una evidencia más que alienta el uso de hembras ovígeras grandes para la producción de larvas en cultivo.

El canibalismo, constituye uno de los principales obstáculos en el cultivo masivo de centollas (Kovatcheva, et al., 2006; Borisov, et al., 2007; Daly, et al., 2009) y resultó una conducta frecuente que influye negativamente en la supervivencia de larvas y juveniles de *L. santolla* (Capítulos 3, 4 y 5). La ocurrencia de canibalismo, tiene estrecha relación con la probabilidad de encuentros entre individuos y las características de esos individuos. Por este motivo, el aislamiento de los cangrejos y su cultivo individual evita el canibalismo (Kovatcheva, et al., 2006) aunque resulta extremadamente ineficiente cuando el objetivo final es maximizar la producción de esos cangrejos (Daly, et al., 2009). Así, las investigaciones actuales (incluyendo esta tesis) ponen énfasis en el estudio los factores reguladores del canibalismo. En este sentido, en *L. santolla*, la alta disponibilidad de sustrato y/o refugio funciona como atenuante del canibalismo, mientras que la presencia de individuos pequeños o en condición post-muda (animales “soft shell”) promueve la mortalidad entre conespecíficos. Se observó también que la dieta afecta el crecimiento de los primeros juveniles de centolla (Capítulo 6). El desarrollo de una dieta adecuada que satisfaga las necesidades nutricionales de esos juveniles podría disminuir la ingestión de conespecíficos debido a la escasa variabilidad de alimento en cultivo u oferta de alimento de baja calidad.

En el cultivo de juveniles de *L. santolla* debe evitarse la coexistencia entre individuos de distintas cohortes. Los resultados obtenidos en el Capítulo 3 indican que la mezcla de individuos de cohortes diferentes es inviable en juveniles de *L. santolla*, por lo cual el mantenimiento de juveniles debe restringirse a aquellos producidos en un mismo período reproductivo (o misma cohorte) y tamaño similares.

Si se considera el inicio de un cultivo de juveniles de *L. santolla* a partir de C1, sería esperable una mortalidad por canibalismo no superior al 6% mientras todos los animales permanezcan en este estadio. La asincronía en la muda entre juveniles (esta tesis, Daly, et al., 2009) generaría la coexistencia de cangrejos de distintos estadios, tamaños y condiciones de muda. Durante estos momentos críticos, se hace relevante la mitigación del canibalismo, porque este comportamiento podría generar hasta un 75% de individuos dañados (incluyendo muertos y heridos) incluso durante la intermuda (Capítulo 3). La clasificación y separación por tamaño de los individuos en cultivo (“grading”, en inglés) es una opción viable en aquellos casos en que el número de animales sea relativamente bajo. En cambio cuando se manejan altas densidades, este procedimiento se vuelve metodológicamente complejo y costoso. Así, la incorporación de sustratos o refugios ya sea para aumentar la superficie disponible en el acuario o generar espacios intersticiales, que permitan aumentar la distancia entre cangrejos y disminuir la probabilidad de encuentro resultaría altamente beneficiosa (Capítulo 5).

Los datos experimentales obtenidos en el presente trabajo brindan herramientas para aumentar la supervivencia de juveniles de centolla en cultivos masivos. La obtención de grandes cantidades de juveniles constituye el primer paso en vistas a un posible subsidio poblacional de *L. santolla* en el Canal Beagle.

2) Subsidio poblacional en el Canal Beagle

Varias son las características inherentes a la biología y comportamiento de *L. santolla* que deben tenerse en cuenta a la hora de evaluar la implementación de un programa de subsidio poblacional. A continuación se sintetizan dichas características que, en su conjunto, alentarían las investigaciones futuras en pos del manejo del recurso a través de estrategias de subsidio.

Las hembras de *Lithodes santolla* se caracterizan por poseer fecundidad elevada (Gowland Sainz, 2011) y un período de eclosión de larvas extendido, en el cual cada hembra puede dar larvas durante 41 días (Thatje, et al., 2003), a pesar que el ciclo reproductivo de la especie es anual. Una vez eclosionadas las larvas, aunque su mortalidad es elevada, su hábito lecitotrófico resulta sumamente ventajoso. La independencia del alimento, facilita metodológica (ej. calidad del agua) y económicamente su mantenimiento. En condiciones normales, la temperatura promedio de las aguas en las que habita *L. santolla* no supera los 10°, lo cual está estrechamente ligado al crecimiento lento típico de estos animales. No obstante, se ha observado en experiencias realizadas en Puerto Montt, Chile, que la manipulación de la temperatura del agua, puede contrarrestar en parte el crecimiento lento de juveniles de centolla (Paschke, et al., 2006). Por último, el comportamiento caníbal que presentan los juveniles de centolla en cultivo, constituye una de las desventajas más significativas para la producción de un número elevado de juveniles y su posterior liberación al medio natural. Sin embargo, los resultados obtenidos en esta tesis indican que la atenuación de esta conducta es posible, a través de la incorporación y desarrollo de “refugios” o “sustratos complejos” que minimicen la posibilidad de encuentro entre individuos coexistentes. A demás, se erige como línea de investigación fundamental a futuro, el desarrollo de dietas para satisfacer los requerimientos energéticos de los juveniles de la especie y así minimizar la depredación intraespecífica debido a una alimentación deficiente.

El conocimiento actual sobre las larvas de centolla indicaría su presencia en ambientes complejos, principalmente en fondos donde prevalecen grava, roca y conchillas asociadas a los bosques de cachiyuyo (*Macrocystis pyrifera*) (Tapella, et al., 2012). Estos datos conjuntamente con la selección activa de sustrato por parte de las larvas en condiciones experimentales, alentarían el subsidio poblacional en estos ambientes. Sin embargo, la disyuntiva que surge contrapone la conveniencia de subsidiar el Canal Beagle con individuos en estadio megalopa o con juveniles. En este sentido, la obtención de megalopas ocurre en menos tiempo y la supervivencia es mayor. Además, si las megalopas se liberan a los pocos días de haber mudado a este estadio, su capacidad natatoria les permitiría no sólo evadir a sus predadores conespecíficos (siempre que sean de la misma cohorte), sino también dispersarse, aunque con riesgos de depredación por peces. La independencia de las megalopas con respecto al alimento, también sería relevante para la adaptación de las larvas al medio natural, ya que contarían con ~50 días sin la necesidad de alimentarse para localizar un sustrato adecuado que provea protección y alimento para su muda a cangrejo 1.

Así, el conocimiento actual de la biología y técnicas de cultivo de estadios tempranos de centolla conjuntamente con los datos provenientes de esta tesis, aportan información que permitiría a futuro cumplimentar las dos primeras etapas de la implementación de un programa de subsidio poblacional: la producción de grandes cantidades de juveniles y su liberación al medio natural (Ver Introducción General). En este sentido y con la información generada hasta el momento, sería recomendable que el subsidio en el Canal Beagle se realizara con individuos recientemente mudados (*ei.* dentro de los 5 días) al estadio Megalopa y en sustratos complejos con presencia de *Macrocystis* sp. Así, esta estrategia posibilitaría que las megalopas se dispersen

(aprovechando su capacidad natatoria) por sus propios medios y colonicen ambientes adecuados que maximicen su supervivencia a la fase juvenil. Sin embargo, si se continúa avanzando con el conocimiento en torno a los requerimientos nutricionales de los juveniles y el consecuente desarrollo de dietas que maximicen el crecimiento en cautiverio, así como en mitigadores del comportamiento caníbal típico de los juveniles de *L. santolla* en masividad; debería evaluarse la efectividad del subsidio con cangrejos de mayor tamaño. Subsidiar el ambiente natural con juveniles de mayor porte no solo propiciaría una mayor supervivencia de los individuos a la fase adulta sino que permitiría marcar (física o genéticamente) a los individuos. Esto permitiría realizar el posterior seguimiento de los mismos para determinar la tasa de mortalidad de los animales subsidiados y evaluar la efectividad del programa de repoblamiento.

Anexo 1

Cultivo de *Artemia* sp para alimentación de cangrejos

El cultivo de *Artemia* se realizó a partir de quistes provenientes del Gran Lago Salado, Estados Unidos (Sanders ®).

Para la eclosión de las larvas de *Artemia* se procedió de la siguiente forma:

- Se colocó agua salada (~32‰) en una botella plástica invertida y acondicionada con una entrada de aire desde la base (para mantener los quistes en suspensión, favoreciendo una hidratación uniforme)
- Se incorporaron los quistes de *Artemia* en el agua (1-1,5 grs/lit), y el dispositivo fue iluminado en forma directa y constante con luz cálida, alcanzando el medio temperaturas entre 25-30°C.
- Luego de 24-36 hs se retiraron los nauplios de *Artemia* para su utilización como alimento, haciendo uso del fototactismo positivo que presentan.

Anexo 2

Contenido energético por calorimetría

Las masas ovígeras húmedas de *L. santolla* se pesaron en una balanza analítica de 0,1 mg de precisión. Luego todas las muestras se secaron en estufa a 60°C hasta obtener un peso seco constante.

Las muestras secas se homogeneizaron por molienda en mortero y se confeccionaron los pellets correspondientes con una prensa Parr modelo 2812. El peso de los pellets varió entre 25 y 200 mg, que representan los pesos límites establecidos para el correcto funcionamiento del calorímetro. El pellet permaneció durante dos horas en estufa a temperatura constante de 60°C y dos horas en campana de vacío, eliminando la posible ganancia de peso por absorción de humedad durante la preparación de la muestra.

El contenido energético de cada muestra se determinó por combustión completa, en un calorímetro Parr modelo 1425 con una microbomba calorimétrica Parr modelo 1341. El calorímetro mide el calor de combustión que libera la muestra dentro de una bomba con oxígeno puro a 35 atmósferas de presión, sumergida en una cantidad determinada de agua. Un termómetro ubicado en el agua registra la variación de la temperatura producto de la combustión con una precisión de $\pm 0,0001^\circ\text{C}$ y la lee a través de un microprocesador. El valor resultante es expresado en calorías por gramo de material quemado.

Los valores energéticos de las muestras se calcularon utilizando ecuaciones estándar (Parr Instrument Co., 1991, 1993). Cada valor obtenido se corrigió posteriormente por la formación de

residuos de ácido nítrico y sulfúrico, por los restos de fusible que no se quemó y por las cenizas. Los datos se transformaron en kilojoules por gramo de masa seca del material libre de cenizas, considerando que 1 caloría equivale a 0,004186 kilojoules (Lucas, 1996).

Bibliografía

- Agnalt, A.-L., 2008. Fecundity of the European lobster (*Homarus gammarus*) off southwestern Norway after stock enhancement: do cultured females produce as many eggs as wild females?. ICES Journal of Marine Sciences 65, 164-170.
- Amaral, V., Paula, J., Hawkins, S., Jenkins, S., 2009. Cannibalistic interactions in two co-occurring decapod species: Effects of density, food, alternative prey and habitat. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 368, 88-93.
- Anger, K., 2001. The biology of decapod crustacean larvae. A.A. Balkema, Lisse, 419 pp.
- Arnold, S.J., Sellars, M.J., Crocos, P.J., Coman, G.J., 2006a. Intensive production of juvenile tiger shrimp *Penaeus monodon*: An evaluation of stocking density and artificial substrates. Aquaculture 261(3), 890-896.
- Arnold, S.J., Sellars, M.J., Crocos, P.J., Coman, G.J., 2006b. An evaluation of stocking density on the intensive production of juvenile brown tiger shrimp (*Penaeus esculentus*). Aquaculture 256(1-4), 174-179.
- Barría, E.M., González, M., 2008. Effect of autotomy and regeneration of the chelipeds on growth and development in *Petrolisthes laevigatus* (Guérin, 1835) (Decapoda, Anomura, Porcellanidae). Crustaceana 81(6), 641-652.
- Bechtol, W.R., Kruse, G.H., 2009. Reconstruction of historical abundance and recruitment of red king crab during 1960–2004 around Kodiak, Alaska. Fisheries Research 100(1), 86-98.
- Bell, J.D., Rothlisberg, P.C., Munro, J.L., Loneragan, N.R., Nash, W.J., Ward, R.D., Andrew, N.L., 2005. Advances in Marine Biology. Restocking and Stock Enhancement of Marine Invertebrate Fisheries. Academic Press, 374 pp.

- Bell, J.D., Leber, K.M., Blankenship, H.L., Loneragan, N.R., Masuda, R., 2008. A New Era for Restocking, Stock Enhancement and Sea Ranching of Coastal Fisheries Resources. *Reviews in Fisheries Science* 16(1-3), 1-9.
- Borisov, R.R., Epelbaum, A.B., Kryakhova, N.V., Tertitskaya, A.G., Kovatcheva, N.P., 2007. Cannibalistic Behavior in Red King Crabs Reared Under Artificial Conditions. *Russian Journal of Marine Biology* 33(4), 227-231.
- Boschi, E.E., Bertuche, D.A., Wyngaard, J.G., 1984. Estudio biológico pesquero de la centolla (*Lithodes antarcticus*) del Canal Beagle, Tierra del Fuego, Argentina. *Contribución Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero* 441, 1-72.
- Brambatti, A., 1991. Strait of Magellan Project. Oceanography and sedimentology, 1-302 pp.
- Brodersen, C., Rounds, P.M., Babcock, M.M., 1989. Diet influences cannibalism in laboratory-held juvenile red king crabs (*Paralithodes camtschatica*), *Proc. Int. Symp. King & Tunnor crabs*, Anchorage, Alaska, pp. 337-382.
- Calcagno, J.A., Anger, K., Lovrich, G.A., Thatje, S., Kaffemberger, A., 2004. Larval development of the subantarctic king crabs *Lithodes santolla* and *Paralomis granulosa* reared in the laboratory. *Helgoland Marine Reserch* 58, 11-14.
- Calcagno, J.A., Lovrich, G.A., Thatje, S., Nettelmann, U., Anger, K., 2005. First year growth in the lithodids *Lithodes santolla* and *Paralomis granulosa* reared at different temperatures. *Journal of Sea Research* 54(3), 221-230.
- Campodonico, I., Guzman, L., Sanhueza, A., 1974. Madurez sexual en los machos de la centolla, *Lithodes antarctica* Jacquinot, del Area Punta Arenas-Porvenir, Estrecho de Magallanes. *Anales del Instituto de la Patagonia* 5, 215-221.

- Campondonico, I., Hernández, M.B., Riveros, E., 1983. Investigación, manejo y control de las pesquerías de centolla y centollón de la XII Región. Informe consolidado: recurso centollón. Inf. Inst. Pat. 25, 1-97.
- Cárdenas, C., Cañete, J.I., Oyarzún, S., Mansilla, A., 2007. Podding of juvenile king crabs *Lithodes santolla* (Molina, 1782) (Crustacea) in association with holdfasts of *Macrocystis pyrifera* (Linnaeus) C. Agardh, 1980. Investigaciones Marinas, Valparaíso 35(1), 105-110.
- Claessen, D., Van Oss, C., De Roos, A.M., Persson, L., 2002. The impact of size-dependent predation on population dynamics and individual life history. Ecology 83(6), 1660-1675.
- Claessen, D., de Roos, A.M., Persson, L., 2004. Population dynamic theory of size-dependent cannibalism. Proceedings of the Royal Society fo London B, 271, 333-340.
- Cobb, J.S., Tamm, G.R., 1974. Social Conditions Increase Intermolt Period in Juvenile Lobsters *Homarus americanus*. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 31(12), 1941-1943.
- Collizza, E., 1991. Preliminary report on coastal morphology and sea-bottom sediment of the Canales Beagle, Ballenero, Brecknock, Cockburn and Magdalena. Bolletino di Oceanologia Teorica ed Applicata. 9, 273-279.
- Comoglio, L. (2008) Starvation effects on physiological parameters and biochemical composition of the hepatopancreas of the southern king crab *Lithodes santolla* (Molina, 1782). Revista de Biología Marina y Oceanografía 43: 345-353
- Comoglio, L., Smolko, L., Amin, O. (2005). Effects of starvation on oxygen consumption, ammonia excretion and biochemical composition of the hepatopancreas on adult males of the False Southern King crab *Paralomis granulosa* (Crustacea, Decapoda). Comparative

- Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology 140: 411-416
- Comoglio L.I, Amin, O.A. (1996). Dieta natural de la centolla patagonica *Lithodes santolla* (Lithodidae) en el Canal Beagle, Tierra Del Fuego, Argentina. *Biología Pesquera* 25: 51-57.
- Conan, G.Y., 1985. Periodicity and phasing of molting. In: Wenner, A.M. (Ed.), *Factors in adult growth*.
- Crear, B.J., Thomas, C.W., Hart, P.R., Carter, C.G., 2000. Growth of juvenile southern rock lobsters, *Jasus edwardsii*, is influenced by diet and temperature, whilst survival is influenced by diet and tank environment. *Aquaculture* 190, 169-182.
- Crowder, L.B., Cooper, W.E., 1982. Habitat structural complexity and the interaction between bluegills and their prey. *Ecology* 63(6), 1802-1813.
- Chambers, R.C., Leggett, W.C., 1996. Maternal Influences on Variation in Egg Sizes in Temperate Marine Fishes. *American Zoologist* 36, 180-196.
- Chau, N.M., Ngoc, N.T.B., Nhan, L.T., 2009. Effect of different types of shelter on growth and survival of *Panulirus ornatus* juveniles, Spiny lobster aquaculture in the Asia-Pacific region, Nha Trang, Vietnam, pp. 85-88.
- Chittleborough, R.G., 1974. Review of prospects for rearing rock lobster. *Australian Fisheries* 33, 4-8.
- Daly, B., Swingle, J.S., Eckert, G.L., 2009. Effects of diet, stocking density, and substrate on survival and growth of hatchery-cultured red king crab (*Paralithodes camtschaticus*) juveniles in Alaska, USA. *Aquaculture* 293, 68-73.

- Daly, B., Swingle, J.S., Eckert, G.L., 2012. Dietary astaxanthin supplementation for hatchery-cultured red king crab, *Paralithodes camtschaticus*, juveniles. *Aquaculture Nutrition*, 1-9.
- Davis, J.L.D., Young-Williams, A. C., Hines, A. H. y Zmorab, O., 2004a. Comparing two types of internal tags in juvenile blue crabs. *Fisheries Research* 67, 265–274.
- Davis, J.L.D., Young-Williams, A.C., Aguilar, R., Carswell, B.L., Goodison, M.R., Hines, A.H., Kramer, M.A., 2004b. Differences between Hatchery-Raised and Wild Blue Crabs: Implications for Stock Enhancement Potential. *Transactions of the American Fisheries Society* 133, 1-14.
- Davis, J.L.D., Young-Williams, A.C., Hines, A.H., Zohar, Y., 2005a. Assessing the potential for stock enhancement in the case of the Chesapeake Bay blue crab (*Callinectes sapidus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 62, 109-122.
- Davis, J.L.D., Eckert-Millsa, M.G., Young-Williamsa, A.C., Hinesa, A.H., Zohar, Y., 2005b. Morphological conditioning of a hatchery-raised invertebrate, *Callinectes sapidus*, to improve field survivorship after release. *Aquaculture* 243, 147-158.
- Dew, C., 1990. Behavioral ecology of podding red king crab, *Paralithodes camtschaticus*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 47, 1944-1958.
- Dew, C.B., McConnaughey, R.A., 2005. Did trawling on the brood stock contribute to the collapse of Alaska's king crab? *Ecological Applications* 15(3), 919-941.
- Diaz, H., Orihuela, B., Jr, F.R.B., Ritschoff, D., 1999. Orientation of blue crab *Callinectes sapidus* Rathbun megalopae: responses to visual and chemical cues. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 233, 25-40.

- Duarte, C.A., Giarratano, E., Amin, O., Comoglio, L.I., 2011. Heavy metal concentrations and biomarkers of oxidative stress in native mussels (*Mytilus edulis chilensis*) from Beagle Channel coast (Tierra del Fuego, Argentina). *Marine Pollution Bulletin* 62, 1895-1904.
- Dutil, J.D., Munro, J., Péloquin, M., 1997. Laboratory study of the influence of prey size on vulnerability to cannibalism in snow crab (*Chionoecetes opilio* O. Fabricius, 1780) *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 212, 81-94.
- Dvoretzky, A.G., Dvoretzky, V.G., 2009. Limb autotomy patterns in *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815), an invasive crab, in the coastal Barents Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 377(1), 20-27.
- Eldgar, M.A., Crespi, B.J., 1992. *Cannibalism: Ecology and evolution among diverse taxa*. Oxford University Press, Oxford, 361 pp.
- Food and Agriculture Organization (FAO), 1994. Estadísticas de pesca: capturas y desembarques, 1992., pp. 678.
- Fernandez, M., 1999. Cannibalism in Dungeness crab *Cancer magister*: effects of predator-prey size ratio, density, and habitat type. *Marine Ecology Progress Series* 182, 221-230.
- Figueiredo, J., van Woesik, R., Lin, J., Narciso, L., 2009. *Artemia franciscana* enrichment model — How to keep them small, rich and alive? *Aquaculture* 294, 212-220.
- Fox, L., 1975. Cannibalism in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 6, 87-106
- Gonor, S.L., Gonor, J.J., 1973. Feeding, cleaning, and swimming behavior in larval stages of porcellanid crabs (Crustacea: Anomura). *Fishery Bulletin* 71(1), 225-234.

- Gowland Sainz, M. F. 2011. Efecto de la pesca en la pérdida de huevos de centolla *Lithodes santolla* y centollón *Paralomis granulosa* en el Canal Beagle, Tierra del Fuego, AIAS. Universidad de la Patagonia San Juan Bosco. Tesis de licenciatura. 44 pp.
- Green, B.S., 2008. Chapter 1 Maternal Effects in Fish Populations. In: David, W.S. (Ed.), *Advances in Marine Biology*. Academic Press, pp. 1-105.
- Guzman, L., Rios, C., 1986. Talla de madurez sexual en centolla (*Lithodes antarcticus* Jacquinet): Hacia la elaboración de un modelo específico. . En: *La Pesca En Chile*, P.Arana (Ed) Escuela de ciencias del mar. UCV, 89-101.
- Hartnoll, R.G., 1982. , 1982. Growth. In: Bliss, D.E.L.G.A.e. (Ed.), *The Biology of Crustacea*. Academic Press, New York, pp. 111-196.
- Hartnoll, R.G., 1985. Growth, sexual maturity and reproductive output. Factors in adult growth. *Crustaceans Issues* 3, 101-128.
- Hartnoll, R.G., 2001. Growth in Crustacea – twenty years on. *Hydrobiologia* 449, 111–122.
- Hernandez, M.B., 1985. Southern king crab, *Lithodes antarcticus* of the Magellan Region, Chile. *Proceedings of the International King Crab Symposium* 231-247.
- Hjelset, A.M., Nilssen, E.M., Sundet, J.H., 2012. Reduced size composition and fecundity related to fishery and invasion history in the introduced red king crab (*Paralithodes camtschaticus*) in Norwegian waters. *Fisheries Research* 121, 73-78.
- Iorio, M.I., Firpo, C., Wyngaard, J., Isla, M., 2008. Condición del recurso centollón (*Paralomis granulosa*) en el área actual de pesca del Canal Beagle. Resultados de la prospección realizada entre octubre y noviembre de 2007. INIDEP, pp. 20.

- Johnston, D., Melville-Smith, R., Hendriks, B., Maguire, G.B., Phillips, B., 2006. Stocking density and shelter type for the optimal growth and survival of western rock lobster *Panulirus cygnus* (George). *Aquaculture* 260, 114-127.
- Johnston, C.A., Lipcius, R.N., 2012. Exotic macroalga *Gracilaria vermiculophylla* provides superior nursery habitat for native blue crab in Chesapeake Bay. *Marine Ecology Progress Series* 467, 137-146.
- Juanes, F., Smith, L.D., 1995. The ecological consequences of limb damage and loss in decapod crustaceans: A review and prospectus. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 193(1-2), 197-223.
- Kanazawa, A., 1984. Nutrition of penaeid prawns and shrimps. In: Taki, Y., Primavera, J.H., Llobrera, J.A. (Eds.), *Proceedings of the First International Conference on the Culture of*, Iloilo City, Philippines.
- Kattner, G., Graeve, M., Calcagno, J., Lovrich, G., Thatje, S., Anger, K., 2003. Lipid, fatty acid and protein utilization during lecithotrophic larval development of *Lithodes santolla* (Molina) and *Paralomis granulosa* (Jacquinot). *Experimental Marine Biology and Ecology* 292, 61-74.
- Kington, S.W., 1999. Factors influencing the on-growing and restocking of *Jasus edwardsii*. University of Auckland, Auckland. Tesis doctoral.
- Kovatcheva, N., Epelbaum, A., Kalinin, A., Borisov, R., Lebedev, R., 2006. Early life history stages of the Red King Crab *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815): biology and culture VNIRO, Moscow.
- Kuris, A.M., Forrest Blau, S., Paul, A.J., Shields, J.D., Wickham, D.E., 1991. Infestation by brood symbionts and their impact on egg mortality of the red king crab, *Paralithodes*

- camtschatica*, in Alaska: Geographic and temporal variation. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 48(551-568).
- Laranja Jr, J.L.Q., Qunitio, E.T., Catacutan, M.R., Coloso, R.M., 2010. Effects of dietary l-tryptophan on the agonistic behavior, growth and survival of juvenile mud crab *Scylla serrata*. Aquaculture 310(1-2), 84.
- Levi, T., Barki, A., Hulata, G., Karplus, I., 1999. Mother-offspring relationships in the red-claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. Journal of Crustacean Biology 19(3), 477-484.
- Linnane, A., Mercer, J.P., 1998. A comparison of methods for tagging juvenile lobsters (*Homarus gammarus* L.) reared for stock enhancement. Aquaculture 163, 195-202.
- Loher, T., Armstrong, D.A., 2000. Effects of habitat complexity and relative larval supply on the establishment of early benthic phase red king crab (*Paralithodes camtschaticus* Tilesius, 1815) populations in Auke Bay, Alaska. Experimental Marine Biology and Ecology 245, 83-109.
- Loher, T., Armstrong, D.A., 2005. Historical changes in the abundance and distribution of ovigerous red king crabs (*Paralithodes camtschaticus*) in Bristol Bay (Alaska), and potential relationship with bottom temperature. Fisheries Oceanography 14, 292-306.
- Lomovasky, B.J., Brey, T., Morriconi, E., Calvo, J., 2002. Growth and production of the venerid bivalve *Eurhomalea exalbida* in the Beagle Channel, Tierra del Fuego. Journal of Sea Research 48(3), 209-216.
- Long, W.C., Popp, J., Swiney, K.M., Van Sant, S.B., 2012. Cannibalism in red king crab, *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815): Effects of habitat type and predator density on predator functional response. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 422-423(0), 101-106.

- Lovrich, G.A., Vinuesa, J.H., 1993. Reproductive biology of the False Southern King Crab (*Paralomis granulosa*, Lithodidae) in The Beagle Channel, Argentina. Fishery Bulletin 91, 664-675.
- Lovrich, G.A., Vinuesa, J.H., 1995. Growth of juvenile false southern king crab *Paralomis granulosa* (Anomura, Lithodidae) in the Beagle Channel, Argentina. Scientia Marina 59(1), 87-94.
- Lovrich, G.A., 1997. La pesquería mixta de las centollas *Lithodes santolla* y *Paralomis granulosa* (Anomura: Lithodidae) en Tierra del Fuego, Argentina. Investigaciones Marinas, Valparaíso.
- Lovrich, G.A., Sainte-Marie, B., 1997. Cannibalism in the snow crab, *Chionoecetes opilio* (O. Fabricius) (Brachyura: Majidae) and its potencial importance to recruitment. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 211, 225-245.
- Lovrich, G.A., 1999. Seasonality of larvae of Brachyura and Anomura (Crustacea, Decapoda) in the Beagle Channel, Argentina. En: Scientia Marina Arntz, W y C. Rios (Eds). 63(supl. 1), 347-354.
- Lovrich, G. A., Vinuesa, J. H. 1999. Reproductive potential of the lithodids *Lithodes santolla* and *Paralomis granulosa* in the Beagle Channel, Argentina. En: Scientia Marina. 63(supl.1) 355-360.
- Lovrich, G.A., Vinuesa, J.H., Smith, B.D., 2002. Male growth, maturity and mating of *Lithodes santolla* in the Beagle Channel, Argentina. In: Paul, A.J., Dawe, E.G., Elnor, R., Jamieson, G.S., Kruse, G.H., Otto, R.S., Sainte-Marie, B., Shirley, T.C., Woodby, D. (Eds.), Crabs in cold water regions: Biology, management and economics, Fairbanks, pp. 147-168.

- Lovrich, G.A., Thatje, S., Calcagno, J.A., Anger, K., Kaffenberger, A., 2003. Changes in biomass and chemical composition during lecithotrophic larval development of the southern king crab, *Lithodes santolla* (Molina). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 288, 65-79.
- Lovrich, G. A. y Tapella, F. 2013. Southern King Crabs of the World: Biology and Fisheries Management. Stevens (Ed). CRC Press. Taylor and Francis Group, USA. En prensa.
- Loyola Rihbein, S.A., 2009. Evaluación de sistemas de cultivo y dietas para juveniles de *Lithodes santolla* (Molina, 1782) (Decapoda, Lithodidae), y obtención de un indicador fisiológico que permita la identificación de individuos con alta tasa de crecimiento, bajo condiciones de laboratorio”. Escuela de Acuicultura y Pesquerías. Universidad Austral de Chile, Puerto Montt. Tesis de grado. pp. 67.
- Lucas, A., 1996. Bioenergetics of Aquatic Animals. Taylor & Francis Ltd., Londres, 166 pp.
- Luppi, T.A., Spivak, E.D.y., Anger, K., 2001. Experimental studies on predation and cannibalism of the settlers of *Chasmagnathus granulata* and *Cyrtograpsus angulatus* (Brachyura: Grapsidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 265, 29-48.
- Macpherson, E., 1988. Revision of the family Lithodidae Samouelle, 1819 (Crustacea, Decapoda, Anomura) in the Atlantic Ocean. *Monografías de Zoología Marina* 2, 9-153.
- Maginnis, T.L., 2006. The costs of autotomy and regeneration in animals: a review and framework for future research. *Behavioral Ecology* 17, 857-872.
- Mann, D.L., Asakawa, T., Kelly, B., Lindsay, T., Paterson, B., 2007. Stocking density and artificial habitat influence stock structure and yield from intensive nursery systems for mud crabs *Scylla serrata* (Forsskål 1775). *Aquaculture Research* 38(14), 1580-1587.

- Marshall, S., Warburton, K., Paterson, B., Mann, D., 2005. Cannibalism in juvenile blue-swimmer crabs *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1766): effects of body size, moult stage and refuge availability. *Applied Animal Behaviour Science* 90(1), 65.
- Martin, J. W, Davis, G. E. 2001. An update classification of the recent Crustacea. *Science Series* 39,1-124. Natural History Museum of Los Angeles County.
- Mauchline, J., 1976. The Hiatt growth diagram for crustacea. *Marine Biology* 35(1), 79-84.
- Moir, F., Weissburg, M.J., 2009. Cautious cannibals: Behavioral responses of juvenile and adult blue crabs to the odor of injured conspecifics. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 369, 87-92.
- Moland, E., Moland, O. E., Stenseth, N. C. 2010. Maternal influences on offspring size variation and viability in wild European lobster *Homarus gammarus*. *Marine Ecology Progress Series* 400, 165-173.
- Moller, H., Lee, S.Y., Paterson, B., Mann, D., 2008. Cannibalism contributes significantly to the diet of cultured sand crabs, *Portunus pelagicus* (L.): A dual stable isotope study. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 361, 75-82.
- Mortensen, A., Damsgard, B., 1995. Growth, Mortality, and Food Preference in Laboratory-reared Juvenile King Crab (*Paralithodes camtschaticus*). In: No.96-02, U.o.A.S.G.C.P.R. (Ed.), *International Symposium on Biology, Management and Economics of Crabs from High Latitude Habitats Anchorage, Alaska*.
- Motz Carver, A., Wolcott, T.G., Wolcott, D.L., Hines, A.H., 2005. Unnatural selection: Effects of a male-focused size-selective fishery on reproductive potential of a blue crab population. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 319, 29-41.

- Murua, H., Kraus, G., Saborido-Rey, F., Witthames, P.R., Thorsen, A., Junquera, S., 2003. Procedures to estimate fecundity of marine fish species in relation to their reproductive strategy. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*. 33, 33-54.
- Mykles, D.L., 2001. Interactions Between Limb Regeneration and Molting in Decapod Crustaceans. *American Zoologist* 41, 399-406.
- Nguyen, M.C., Nguyen, T.B.N., Le Thi, N., 2008. Effect of different types of shelter on growth and survival of *Panulirus ornatus* juveniles. In: Williams, K.C. (Ed.), *Spiny lobster aquaculture in the Asia-Pacific region. Proceedings of an international symposium.*, Nha Trang, Vietnam, pp. 162.
- Orenzanz, J.M., Armstrong, J., Armstrong, D., Hilborn, R., 1998. Crustacean resources are vulnerable to serial depletion - the multifaceted decline of crab and shrimp fisheries in the Greater Gulf of Alaska. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 8, 117-176.
- Otto, R.S., 1986. Management and assessment of Eastern Bering Sea King Crab Stocks, North Pacific Workshop on stock assessment and management of invertebrates.
- Otto, R.S., 1989. An overview of Eastern Bering Sea King and Tanner crab fisheries. *Proc. Int. Symp. King & Tanner Crabs. Alaska Sea Grant College Program Report 90-04*, 9-26.
- Paschke, K., Gebauer, P., Hausen, T., 2006. Cultivation of *Lithodes santolla* in Chile: Advances in the last six years using multiple approaches in Puerto Montt, Chile. In: Stevens, B.G. (Ed.), *Alaska Crab Stock Enhancement and Rehabilitation*, Kodiak, Alaska, pp. 89.
- Paul, A., Paul, J., 1997. Breeding success of large male red king crab *Paralithodes camtschaticus* with multiparous mates. *Journal of Shellfish Research* 16(2), 379-381.
- Paul, A.J., Paul, J.M., 2001. Growth of Juveniles Golden King Crabs *Lithodes aequispinus* in the Laboratory. *Alaska Fishery Research Bulletin* 8(2), 135-138.

- Pechenik, J.A., 1999. On the advantages and disadvantages of larval stages in benthic marine invertebrate life cycles Marine Ecology Progress Series 177, 269-297.
- Petriella, A.M., Boschi, E.E., 1997. Crecimiento en crustáceos decápodos: resultados de investigaciones realizadas en la Argentina. Investigaciones Marinas, Valparaíso 25, 137-157.
- Pineda, J., Riebensahm, D., Medeiros-Bergen, D., 2002. *Semibalanus balanoides* in winter and spring: larval concentration, settlement, and substrate occupancy. Marine Biology 140, 789-800.
- Polis, G.A., 1981. The evolution and dynamics of intraspecific predation. Annual Review of Ecology and Systematics 12, 225-251.
- Powell, G.C., James, K.E., Hurd, C.L., 1974. Ability of male king crab, *Paralithodes camtschatica* to mate repeatedly, Kodiak, Alaska, 1973. Fishery Bulletin 72(1), 171-179.
- Reinhold, K. (2002). Maternal effects and the evolution of behavioural and morphological characters: A literature review indicates the importance of extended maternal care. J. Hered. 93, 400–405.
- Reznick, D. N. 1991. Maternal effects in fish life histories. En: The unity of evolutionary biology: proceedings of the fourth IC-SEB. Dudley (Ed.). Portland OR: Dioscorides Press. 780-793.
- Roff, D. (1998). The detection and measurement of maternal effects. In “Maternal Effects as Adaptations” (Mousseau and Fox, eds), pp. 83–96. Oxford University Press, New York.

- Romero, M.C., 2003. Hábitos alimentarios y bioenergética de la langostilla *Munida subrugosa* (Decapoda: Anomura) del Canal Beagle, Argentina. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, pp. 208.
- Ruppert, A., Barnes, D., 1996. Zoología de los invertebrados. McGraw-Hill Interamericana, Barcelona, 1114 pp.
- Ryer, C.H., van Montfrans, J., Moody, K.E., 1997. Cannibalism, refugia and the molting blue crab. Marine Ecology Progress Series 147, 77-85.
- Saborowski, R., Thatje, S., Calcagno, J., Lovrich, G., Anger, K., 2006. Digestive enzymes in the ontogenetic stages of the southern king crab, *Lithodes santolla*. Marine Biology 149(4), 865-873.
- Sainte-Marie, B., Lafrance, M., 2002. Growth and survival of recently settled snow crab *Chionoecetes opilio* in relation to intra- and intercohort competition and cannibalism: a laboratory study. Marine Ecology Progress Series 244, 191-203.
- Sale, P.F., 1990. Recruitment of marine species: Is the bandwagon rolling in the right direction. TREE 5, 25-27.
- Sato, T., Goshima, S., 2006. Impacts of male-only fishing and sperm limitation in manipulated populations of an unfished crab, *Hapalogaster dentata*. Mar Ecol Prog Ser 313, 193-204.
- Sato, T., Suzuki, N., 2010. Female Size as a Determinant of Larval Size, Weight, and Survival Period in the Coconut Crab, *Birgus latro*. Journal of Crustacean Biology 30(4), 624-628.
- Sokal, R.R., Rohlf, F.J., 1995. Biometry, the principles and practice of statistics in biological research. W.H. Freeman and Co., N.Y. New York., 887 pp.
- Southgate, P.C., Lou, D.C., 1995. Improving the n-3 HUFA composition of *Artemia* using microcapsules containing marine oils. Aquaculture 134, 91-99.

- Stevens, B.G., 2006. Alaska Crab Stock. Enhancement and Rehabilitation. In: Stevens, B.G. (Ed.), Alaska Crab Stock. Enhancement and Rehabilitation. Alaska Sea Grant College Programe, Kodiak, Alaska.
- Stevens, B.G., Kittaka, J., 1998. Postlarval settling behavior, substrate preference, and time to metamorphosis for red king crab *Paralithodes camtschaticus*. Marine Ecology Progress Series 167, 197-206.
- Stevens, B.G., Swiney, K.M., 2005. Post-settlement effects of habitat type and predator size on cannibalism of glaucothoe and juveniles of red king crab *Paralithodes camtschaticus*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 321, 1-11.
- Stevens, B.G., Persselin, S., Matweyou, J., 2008. Survival of blue king crab *Paralithodes platypus* Brandt, 1850, larvae in cultivation: effects of diet, temperature and rearing density. Aquaculture Research 39, 390-397.
- Tacon, A.G.J., Cody, J.J., Conquest, L.D., Divakaran, S., Forster, I.P., Decamp, O.E., 2002. Efect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed diferent diets. Aquaculture Nutrition 8(121-137).
- Tapella, F., Lovrich, G.A., 2006. Asentamiento de estadíos tempranos de las centollas *Lithodes santolla* y *Paralomis granulosa* (DECAPODA: LITHODIDAE) en colectores artificiales pasivos en el Canal Beagle, Argentina. Investigaciones Marinas, Valparaíso 34(002), 47-55.
- Tapella, F., Romero, M.C., Stevens, B.G., Buck, C.L., 2009a. Substrate preferences and redistribution of blue king crab *Paralithodes platypus* glaucothoe and first crab on natural substrates in the laboratory. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 372, 31-35.

- Tapella, F., Sotelano, M.P., Romero, M.C., Lovrich, G., 2009b. Survival and condition of southern king crab *Lithodes santolla* larvae in cultivation: tools for stock enhancement., International Symposium on Aquaculture, Biology and Management of Commercially Important Crabs (ISABMC). Shanghai Ocean University, Shanghai, China.
- Tapella, F., Sotelano, M.P., Romero, M.C., Lovrich, G.A., 2012. Experimental natural substrate preference of southern king crab *Lithodes santolla* larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 411(0), 70-77.
- Thatje, S., Calcagno, J., Lovrich, G.A., Sartoris, F.J., 2003. Extended hatching periods in the subantarctic lithodid crabs *Lithodes santolla* and *Paralomis granulosa* (Crustacea: Decapoda: Lithodidae). *Helgoland Marine Research* 57, 110-113.
- Thorson, G., 1950. Reproductive and larval ecology of marine bottom invertebrates. *Biological Reviews*. 25, 1-45.
- Tully, O., Roantree, V., Robinson, M., 2001. Maturity, fecundity and reproductive potential of the European lobster (*Homarus gammarus*) in Ireland. *Journal of the Marine Biological Association of the UK* 81(1), 61-68.
- Van Olst, J.C., Carlberg, J.M., Ford, R.F., 1975. Effects of Substrate Type and Other Factors on the Growth, Survival, and Cannibalism of Juvenile *Homarus Americanus* in Mass Rearing Systems. *Journal of the World Aquaculture Society* 6(1-4), 261-274.
- Ventura, R., da Silva, U., Perbiche-Neves, G., Ostrensky, A., Boeger, W., M., P., 2008. Larval cannibalism rates in the mangrove crab *Ucides cordatus* (Decapoda: Ocypodidae) under laboratory conditions. *Aquaculture Research* 39, 263-267.

- Vinuesa, J.H., 1982. Biología de la reproducción y el desarrollo embrionario y larval de la centolla *Lithodes antarcticus* Jacquinot en el Canal Beagle. Tierra del Fuego. Universidad de Buenos Aires, pp. 155.
- Vinuesa, J.H., 1984. Sistema reproductor, ciclo y madurez gonadal de la centolla (*Lithodes antarcticus*) del Canal Beagle. Contribuciones del Instituto Nacional de Investigaciones y Desarrollo Pesquero 41, 75-95.
- Vinuesa, J.H., Comoglio, L.I., Lovrich, G.A., 1990. Growth of immature southern king crab *Lithodes santolla* in the Beagle Channel. Proceedings of the International Symposium on King and Tanner Crabs. Alaska Sea Grant Program Rpt N° 90-04, 259-271.
- Vinuesa, J.H., 1991. Biología y pesquería de la centolla (*Lithodes santolla*). Atlántica 13(1), 233 - 244.
- Vinuesa, J.H., Guzmán, L., González, R., 1996. Overview of Southern King Crab and False King Crab fisheries in the Magellanic Region. High Latitude Crabs: Biology, Management, and Economics. Alaska Sea Grant College Program Report No. 96-02, University of Alaska Fairbanks., 3-11.
- Wahle, R.A., 2003. Revealing stock–recruitment relationships in lobsters and crabs: is experimental ecology the key? Fisheries Research 65(1-3), 3-32.
- Welch, J.M., Rittschof, D., Bullock, T.M., Forward Jr, R.B., 1997. Effects of chemical cues on settlement behavior of blue crab *Callinectes sapidus* postlarvae. Marine Ecology Progress Series 154, 143-153.
- Williams, K., 2008. Spiny lobster aquaculture in the Asia–Pacific region. In: Williams, K. (Ed.), Proceedings of an international symposium, Nha Trang, Vietnam, pp. 162.

- Winberg, S., Nilsson, G.E., 1993. Roles of brain monoamine neurotransmitters in agonistic behaviour and stress reactions, with particular reference to fish. *Comparative Biochemistry and Physiology C* 106, 597-614.
- Zaklan, S.D., 2002. Review of the Family Lithodidae (Crustacea: Anomura: Paguroidea): Distribution, Biology, and Fisheries. In: Paul, A.J., Dawe, E.G., Elnor, R., Jamieson, G.S., Kruse, G.H., Otto, R.S., Sainte-Marie, B., Shirley, T.C., Woodby, D. (Eds.), *Cabsin Cold Water Regions: Biology, Management and Economics*. University of Alaska Sea Grant, AK-SG-02-01, Fairbanks. 751–845 (866 pp.).
- Zmora, O., Findiesen, A., Stubblefield, J., Frenkel, V., Zohar, Y., 2005. Large-scale juvenile production of the blue crab *Callinectes sapidus*. *Aquaculture* 244, 129-139.