

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA
MOLINA**

FACULTAD DE PESQUERIA



**“EFECTO DEL ESTRÉS AMBIENTAL ASOCIADO A LA HIPOXIA
Y PH ÁCIDO EN LA TASA DE ACLARAMIENTO DE JUVENILES
DE *Argopecten purpuratus*”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO PESQUERO**

Presentado por:

JULIO FERNANDO PALACIOS LAU

Lima – Perú

2019

**La UNALM es titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación
(Art.24 - Reglamento Propiedad Intelectual)**

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE PESQUERÍA

**“EFECTO DEL ESTRÉS AMBIENTAL ASOCIADO A LA
HIPOXIA Y PH ÁCIDO EN LA TASA DE ACLARA-
MIENTO DE JUVENILES DE *Argopecten purpuratus*”**

Presentado por:

Julio Fernando Palacios Lau

Tesis para optar el Título de:

INGENIERO PESQUIERO

Sustentado y aprobado por el siguiente jurado:

Dra. Patricia Liliana Gil Kodaka
Presidente

Dr. Jonathan Flye Sainte
Co-asesor

Dr. Jaime Humberto Mendo Aguilar
Asesor

Dr. Wilfredo Vásquez Quispesivana
Miembro del Jurado

Dra. Marta Williams León de Castro
Miembro del Jurado

A mi madre, María Luisa Lau.

Por su amor incondicional y ser mi motor de vida.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer al Institut de recherche pour le développement (IRD), en especial al proyecto LMI-DISCOH por el apoyo brindado para la elaboración de la presente tesis. Así como, al laboratorio de ecofisiología acuática del Instituto del Mar del Perú (IMARPE) por las facilidades para el uso del laboratorio y equipos.

Asimismo, agradezco al Dr. Jaime Mendo por su orientación y comentarios acertados durante la elaboración de la investigación. Definitivamente ha sido todo un honor ser uno de sus tesisas.

A la MSc. Rosa Cueto y al Dr. Arturo Aguirre quienes me brindaron además del apoyo técnico, su confianza y amistad. Fue muy gratificante trabajar juntos, sin duda alguna he aprendido mucho con ellos.

Al Dr. Jonathan Flye por estar siempre a disposición en ofrecerme comentarios acerca de la investigación.

Al equipo del laboratorio de ecofisiología, Jhon y Mary. Así como, al equipo técnico del laboratorio de alimento vivo Geraldine, Wilmer y Alex.

A Paola por ser mi compañera y mejor amiga.

A mi familia por su cariño y amor brindado todos estos años. Han sido una pieza fundamental en mi vida. En especial mis padres, mi abuela Nilda, Calin por ser como mi hermano, y mi abuelo Carlos, quien a pesar que se marchó antes de empezar la investigación me dejó grandes enseñanzas que siempre tendré presentes, gracias chino.

Y finalmente, a Dios y a la virgen por siempre acompañarme.

INDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. BIOLOGIA DE LA CONCHA DE ABANICO.....	3
2.1.1. Aspectos generales	3
2.1.2. Distribución y hábitat	4
2.2. ASPECTOS FISIOLÓGICOS RELACIONADOS A LA ALIMENTACION	5
2.2.1. Estructuras de filtración y mecanismos de ingestión.....	5
2.2.2. Proceso alimenticio.....	6
2.3. ESTIMACION DE LA ACTIVIDAD ALIMENTICIA	9
2.3.1. Unidades de medición de la actividad alimenticia	9
2.3.2. Métodos para la estimación de la tasa de aclaramiento.....	10
2.4. ASPECTOS ECOFISIOLÓGICOS	12
2.4.1. Tasa de aclaramiento	12
2.4.2. Eficiencia de retención de partículas	13
2.4.3. Tasa de ingestión	15
2.5. CRECIMIENTO Y MORTALIDAD	16
2.6. ESTRÉS EN BASE A FACTORES AMBIENTALES.....	17
2.7. EVENTOS DE HIPOXIA Y SUS EFECTOS EN BIVALVOS	18
2.8. EVENTOS DE ACIDIFICACIÓN Y SUS EFECTOS EN BIVALVOS.....	22
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
3.1. DESCRIPCION DEL EXPERIMENTO	25
3.1.1. Diseño experimental.....	25
3.1.2. Instalación del sistema.....	26
3.1.3. Toma de muestras.....	26
3.1.4. Procedencia de semilla y aclimatación.....	27

3.2. SISTEMA DE SIMULACIÓN Y REGULACION DE CONDICIONES AMBIENTALES	28
3.2.1. Regulación de gas nitrógeno (N ₂).....	28
3.2.2. Regulación de dióxido de carbono (CO ₂).....	28
3.2.3. Regulación de temperatura	29
3.2.4. Medición de parámetros ambientales	31
3.2.5. Regulación de flujos de agua y alimento.....	31
3.2.6. Limpieza y mantenimiento	32
3.3. DETERMINACION DE LA TASA DE ACLARAMIENTO	33
3.3.1. Estandarización de la TA.....	33
3.3.2. Conteo de microalgas para la preferencia relativa.....	34
3.4. REGISTRO DEL CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA	35
3.4.1. Tasa de crecimiento	35
3.4.2. Supervivencia	35
3.5. ANÁLISIS Y PROCESAMIENTO DE DATOS	36
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
4.1. CONDICIONES AMBIENTALES	37
4.2. TASA DE ACLARAMIENTO	40
4.2.1. Tasa de aclaramiento en el tiempo	40
4.2.2. Modelo de ajuste entre las tasas de aclaramiento en talla y peso	41
4.2.3. Tasa de aclaramiento específica	44
4.2.4. Tasa de aclaramiento estandarizadas	46
4.3. SELECTIVIDAD DE PARTICULAS	51
4.4. TASA DE CRECIMIENTO	53
4.4. SOBREVIVENCIA	60
V. CONCLUSIONES	63
VI. RECOMENDACIONES	65

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
VIII. ANEXOS	83

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Efectos de la hipoxia en moluscos bivalvos según literatura	21
Tabla 2: Efectos del pH ácido en moluscos bivalvos según literatura	24
Tabla 3: Diseño experimental.....	25
Tabla 4: Parámetros ambientales durante el experimento. Se muestra el promedio y la desviación estándar.....	39
Tabla 5: Coeficientes alométricos y límites de confianza del modelo tasa de aclaramiento en función a la altura valvar de <i>A. purpuratus</i> según tratamiento.....	43
Tabla 6: Coeficientes alométricos y límites de confianza del modelo tasa de aclaramiento en función al peso de <i>A. purpuratus</i> según tratamiento	44
Tabla 7: Tasas de aclaramiento estandarizadas	47
Tabla 8: Tasas de crecimiento por tratamiento.....	56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo de crecimiento de la concha de abanico producida en hatchery en la bahía de Sechura. Fuente: Tomado de Mendo <i>et al.</i> (2016)	3
Figura 2: Distribución geográfica de <i>A. purpuratus</i> . Fuente: Tomado de González <i>et al.</i> , 2002 citado por Aguirre (2016).....	4
Figura 3: A) Morfología de la valva de <i>A. purpuratus</i> . (E) Costillas radiales. (U) Umbo. B) Anatomía interna de <i>A. purpuratus</i> . (MA) Músculo aductor. (M) Manto. (B) Branquias. (GD) Glandula digestiva. (T) Teste. (O) Ovario. Fuente: Modificado de IMARPE (2015).	5
Figura 4: Diagrama de la recolección de alimento suspendido por bivalvos filtradores, a través de una abertura de inhalación o sifón y ctenidios. Fuente: Modificado de Ward y Shumway (2004).....	7
Figura 5: Diagrama que muestra las oportunidades para la selección de partículas en bivalvos lamelibranquio como la concha de abanico. Las flechas indican el movimiento general de material particulado del entorno (izquierda) a través de los órganos digestivos y de alimentación. (1) Captura preferencial por el ctenidio que da como resultado que	

algunas partículas no se retengan (NR); (2) selección y transporte diferencial por los ctenidios, lo que provoca que algunas partículas se rechacen como pseudoheces (PS); (3) selección por los palpos labiales que resulta en la ingestión preferencial de algunas partículas y la producción de PS; y (4) selección en el estómago y transporte preferencial de algunas partículas a los divertículos digestivos. Material no absorbido excretado como heces (F). Fuente: Modificado de Ward y Shumway (2004) 8

Figura 6: Diagrama del “*Steady State Method*”. (M) denota el punto de mezcla perfecta. C_i y C_o denotan la concentración de entrada y salida de la cámara, respectivamente, C_{in} ($= C_o$) y C_{out} ($=$ a cero para una retención del 100%) la concentración de los flujos de inhalantes y gases de extracción, respectivamente, Fl a través del flujo de la cámara, y TA la tasa de aclaramiento. Fuente: Tomado de Larsen y Riisgard (2018). 111

Figura 7: Diagramas de cortes transversales de filamentos branquiales que muestran patrones de flujo y eficiencias de captura. Las líneas indican el flujo a través de ctenidios, y las zonas de vórtice se muestra mediante puntos suspensivos discontinuos. Los círculos blancos y negros indican partículas antes y después del encuentro, respectivamente. (A) formación de vórtices, (B) versión del modelo en el que los filamentos poseen cilios latero-frontales simples, (C) versión del modelo en el que los filamentos poseen cilios latero-frontales grandes. Fuente: Tomado de Ward *et al.* (1998)..... 14

Figura 8: Variabilidad espacial y temporal de los ambientes hipóxicos. Fuente: Tomado y modificado de Rabalais *et al.* (2010)..... 19

Figura 9: Tanque de aclimatación de individuos 27

Figura 10: Experimento de estrés múltiple 30

Figura 11: Esquema del experimento multiestrés. (1) Tanque de alimento , (2) bombas peristálticas, (3) controlador de paso de nitrógeno, (4) pantalla, (5) enfriador de agua, (6) bomba centrífuga, (7) mezclador de gas de CO_2 , (8) contador de burbujas, (9) regulador de paso de CO_2 y (10) cartuchos de filtros de agua..... 31

Figura 12: Vista lateral y superior de los tanques. (1): Mezclador de gases, (2) malla de plástico de ½” de cocada, (3): regulador de flujo de nitrógeno y (4) llave de paso de agua. 32

Figura 13: Variación semanal de parámetros ambientales a) temperatura promedio ($^{\circ}C$), b) pH y c) saturación de oxígeno (%). 38

Figura 14: Tasa de aclaramiento ($Lh^{-1}indv^{-1}$) de la concha de abanico, por tratamiento, durante el periodo de experimentación..... 40

Figura 15: Relación alométrica de la tasa de aclaramiento ($Lh^{-1}indv^{-1}$) y la altura valvar (mm) de <i>A. purpuratus</i> según tratamiento.....	42
Figura 16: Relación alométrica de la tasa de aclaramiento ($Lh^{-1}indv^{-1}$) y peso (g) de <i>A. purpuratus</i> según tratamiento.....	42
Figura 17: Tasas de aclaramiento específicas ($L.h^{-1}.g^{-1}$) en el tiempo (Semanas).....	45
Figura 18 : Tasa de aclaramiento estandarizada promedio ($L.h^{-1}.ind^{-1}$) a) estandarizada a una talla de 30mm b) estandarizada para un individuo de 1g de peso seco, por tratamiento: C) Control, A) Estrés por acidez, H) Estrés por hipoxia, I) Estrés múltiple.	47
Figura 19: Selectividad con intervalos de confianza por tratamiento: C) Control, A) Estrés por acidez, H) Estrés por hipoxia, I) Estrés múltiple.....	51
Figura 20: Tasas de crecimiento en talla ($mm.dia^{-1}$) según tratamiento: C) Control, A) Estrés por acidez, H) Estrés por hipoxia, I) Estrés múltiple.....	54
Figura 21: Tasas de crecimiento en peso ($g.dia^{-1}$) según tratamiento: C) Control, A) Estrés por acidez, H) Estrés por hipoxia, I) Estrés múltiple.....	55
Figura 22: Evolución temporal del crecimiento por tratamiento. a) crecimiento en altura (mm), b) crecimiento en peso (g) y c) crecimiento en peso valvar	55
Figura 23: Supervivencia (%) por tratamiento	60

RESUMEN

Los eventos de hipoxia y acidificación de los mares son procesos vinculados con el cambio climático. Sus efectos sinérgicos han sido poco estudiados, a pesar, de la frecuente manifestación combinada de estos factores. En la costa peruana los eventos de hipoxia y acidificación coexisten llegando a presentar valores críticos, sin embargo, son atribuidos al afloramiento costero. Estos episodios de estrés pueden estar provocando rendimientos fisiológicos deficientes en la concha de abanico (*Argopecten purpuratus*), el recurso marino más importante para la acuicultura en el Perú. En este contexto, este estudio planteo evaluar el efecto del pH ácido e hipoxia en juveniles de *A. purpuratus* de 12.69 ± 1.57 mm de altura. Para ello se usó un diseño factorial de cuatro tratamientos: Interacción acidez e hipoxia (20% + pH 7.4), solo hipoxia (20% + pH 7.8), solo acidez (100% + pH 7.4), y control (100% + pH 7.8) y se evaluó la tasa de aclaramiento, crecimiento, sobrevivencia y selectividad de microalgas. Las condiciones experimentales fueron simuladas a nivel de laboratorio mediante la adición de N_2 , para simular la hipoxia, y CO_2 para simular la acidez. Las tasas de aclaramiento estandarizadas fueron $2.84 L.h^{-1}$ en el tratamiento control, $2.17 L.h^{-1}$ en hipoxia, $1.69 L.h^{-1}$ en acidez y $1.48 L.h^{-1}$ en interacción, encontrándose diferencias significativas ($p < 0.05$); lo cual demuestra que existió un ajuste fisiológico en condiciones de estrés y estrés múltiple. Por su parte, la tasa de crecimiento fue significativamente menor ($p < 0.05$) en los tratamientos que tenían la acidez como variable estresora. En cuanto a la sobrevivencia, esta fue significativamente menor ($p < 0.05$) bajo condiciones de acidez. Nuestros resultados evidencian que el estrés por pH ácido tiene efectos más perjudiciales que el estrés por hipoxia prolongada y dan una de las primeras evidencias del efecto sinérgico negativo sobre la biología de la concha de abanico.

Palabras clave: *Argopecten purpuratus*, tasa de aclaramiento, crecimiento, acidez, hipoxia.

ABSTRACT

Hypoxia and acidification on ecosystems along the coasts are events related to climate change. Their synergistic effects have been little studied, despite of the frequent combined manifestation of these factors. On the Peruvian coast, hypoxia and acidification events coexist, reaching critical values, however, they are attributed to upwelling events. These stress episodes may be causing poor physiological performance in peruvian scallops (*Argopecten purpuratus*), the most important marine resource for aquaculture in Peru. In this context, this study evaluated the effect of acidic pH and hypoxia in juveniles of *A. purpuratus* 12.69 ± 1.57 mm high. To do this, use a factorial design with four treatment: Acidity and hypoxia interaction (20% + pH 7.4), hypoxia (20% + pH 7.8), acidity (100% + pH 7.4), and control (100% + pH 7.8) and estimate the clearance rate, growth rate, survival and selectivity of microalgae. Experimental conditions were simulated under laboratory conditions, adding N₂, to simulate hypoxia, and CO₂ to simulate acidity. The standardized clearance rates were 2.84 L.h⁻¹ in the control treatment, 2.17 L.h⁻¹ in hypoxia, 1.69 L.h⁻¹ in acidity and 1.48 L.h⁻¹ in interaction, finding significant differences (p<0.05); which shows that there was a physiological adjustment in stress and multiple stress conditions. On the other hand, the growth rate was significantly lower (p <0.05) in the treatments that had acidity as a stress variable. Regarding to survival, this was significantly lower (p<0.05) under acidity conditions. Our results show that acid pH stress has more damaging effects than prolonged hypoxia stress and gives one of the first evidence of the negative synergistic effect on the biology of the peruvian scallop.

Keywords: *Argopecten purpuratus*, clearance rate, growth, acidity, hypoxia

I. INTRODUCCIÓN

La concha de abanico (*Argopecten purpuratus*), es una especie de gran importancia ecológica y económica en el Perú. Su extracción y cultivo sustenta toda una cadena productiva de la cual dependen poblaciones costeras de pescadores artesanales y la industria que lo procesa (Wolff y Mendo, 2000; Mendo *et al.*, 2016).

Existen registros que en las zonas de su hábitad y cultivo se producen eventos ambientales que han causado mortalidad masiva, relacionados con eventos de hipoxia (Proleón y Mendo, 2002; Aguirre *et al.*, 2015, Cueto, 2016) y acidez (Córdova, 2016; Merma, 2016). Estos eventos no ocurren de manera aislada, por el contrario, son eventos que coexisten y están relacionados, por lo cual su interacción produce un efecto sinérgico sobre la biología de los individuos (Pörtner y Langenbuch, 2005; Kim *et al.*, 2013; Gobler *et al.*, 2014; Gobler y Baumann., 2016; Jansson *et al.*, 2015; Steckbauer *et al.*, 2015).

Desde el punto de vista ecológico el registro de los principales procesos fisiológicos en los organismos es un paso indispensable para entender las relaciones del organismo con el medio cambiante. El estudio de los procesos fisiológicos de esta especie ha sido ampliamente estudiado en su hábitat natural, en cultivo y en condiciones controladas (Wolf, 1987; Mendo *et al.*, 1989; Navarro *et al.*, 2000; Rouillon *et al.*, 2002; Aguirre *et al.*, 2015; Cueto, 2016; Córdova, 2016). Sin embargo, los efectos concurrentes y sinérgicos del bajo nivel de oxígeno y la acidificación en la concha de abanico son aun en gran parte desconocidos.

Por su parte, la estimación de la cantidad de alimento que ingiere una especie por unidad de tiempo en una variable de gran interés ecológico. Debido a que es la forma en que los organismos adquieren energía del medio para poder llevar a cabo todas sus funciones biológicas y con ello su crecimiento (Lopez, 2003). Su conocimiento puede llegar a optimizar densidades de siembra, optimizar la producción y gasto de alimento en laboratorio, entre otros.

Por tal motivo, este trabajo experimental pretende evaluar los efectos de la acidez y la hipoxia, sobre la tasa de aclaramiento, crecimiento, sobrevivencia y selectividad de

alimento en *A. purpuratus* bajo condiciones simuladas en laboratorio; evaluando la hipótesis que la hipoxia y el pH ácido reducen significativamente estas tasas fisiológicas.

Para ello se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Evaluar la tasa de aclaramiento y su relación con el tamaño y peso de *A. purpuratus* en condiciones de hipoxia y acidez.
- Determinar el consumo de partículas de dos especies de microalgas en condiciones de estrés.
- Comparar la tasa de crecimiento en talla y peso de *A. purpuratus* sometidas a condiciones de hipoxia y pH bajo.
- Evaluar la sobrevivencia de *A. purpuratus* en condiciones de hipoxia y acidez.

Estos resultados podrían prever futuros impactos negativos sobre la producción de concha de abanico, y aportarían a establecer planes de contingencia ante cambios ambientales bruscos, lo cual dará mayores beneficios en términos productivos al maricultor, empresas sector pesquero y a la economía del sector en general.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. BIOLOGIA DE LA CONCHA DE ABANICO

2.1.1. Aspectos generales

La concha de abanico (*Argopecten purpuratus*, Lamarck 1819) es un filtrador de partículas en suspensión (sestón) principalmente de fitoplancton (Mendo *et al.*, 2016), de reproducción externa y hermafroditismo funcional (Avendaño *et al.*, 2001). Es una especie con una maduración sexual temprana y rápido crecimiento (Mendo *et al.* 1989) lo cual le hace poseer una gran importancia comercial, siendo la única especie de pectínido en el sistema de afloramiento del Pacífico Sur Este con este potencial.

La figura 1 muestra el ciclo de vida de la concha de abanico, la cual presenta dos fases importantes: una larval pelágica que tiene una duración aproximada de 30 días desde la fecundación, la cual depende de variables ambientales, y una bentónica que empieza cuando la postlarva cae al fondo y busca un sustrato para su fijación mediante filamentos llamados biso (Navarro, 2002).

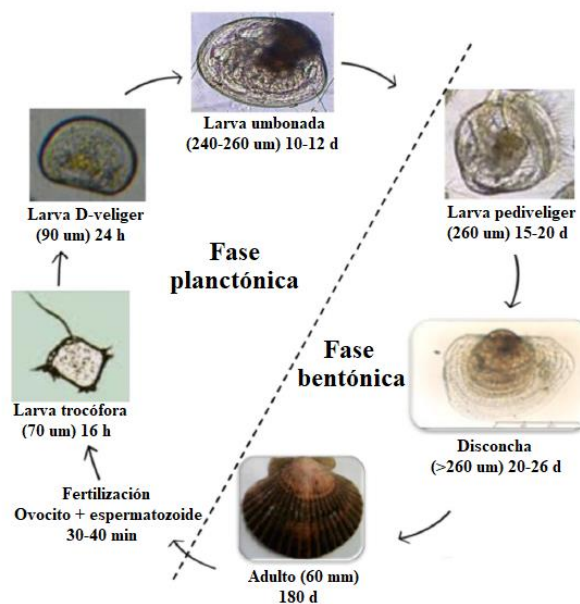


Figura 1: Ciclo de crecimiento de la concha de abanico producida en hatchery en la bahía de Sechura. Fuente: Tomado de Mendo *et al.* (2016).

2.1.2. Distribución y hábitat

Está distribuida a lo largo de la costa del Pacífico tropical, encontrándose desde Corinto, Nicaragua hasta la IV región en el norte de Chile. Los bancos más importantes se encuentran desde Paíta, Perú (5°S, 81°W) hasta Valparaíso, Chile (33°S, 71°W) (Figura 2) (Peña, 2001).



Figura 2: Distribución geográfica de *A. purpuratus*. Fuente: Tomado de González *et al.* (2002, citado por Aguirre, 2016)

Este bivalvo se encuentra en bahías con temperaturas que varían entre los 12 y 20°C en el transcurso del año, fluctuaciones oxígeno de 0.2 a 8 ml/l (Bermúdez *et al.*, 2004), sin embargo, durante eventos El Niño, caracterizados por el incremento de temperatura, puede llegar a soportar anomalías de temperaturas mayores a los 10°C, llegando a tolerar niveles de hasta 25°C sin problema (Mendo *et al.*, 2001).

A. purpuratus habita en zonas protegidas formando parte de la comunidad bentónica, a una profundidad comprendida entre los 5 a 40 metros (Mendo *et al.*, 2011). Es posible encontrarla principalmente en fondos arenosos de escasa corriente (Avendaño y Cantillán, 1996), sin embargo, también se puede encontrar sobre sustratos fangosos, pedregosos o cubiertos de macroalgas (Mendo *et al.*, 2016). Dentro de sus principales predadores se encuentran los caracoles, pulpos, cangrejos, estrellas de mar y erizos (Mendo *et al.*, 2016).

2.2. ASPECTOS FISIOLÓGICOS RELACIONADOS A LA ALIMENTACION

2.2.1. Estructuras de filtración y mecanismos de ingestión

La concha de abanico posee branquias que además de la función respiratoria, han asumido la función de atrapar material alimenticio. Cuando el agua ingresa a la cavidad paleal pasa sobre la superficie de los ctenidios donde las sustancias alimenticias en suspensión son cubiertas por un mucus y la masa viscosa formada es atraída hacia el palpo labial, donde se selecciona el verdadero alimento (Mendo *et al.*,2001).

Su sistema digestivo de está conformado por una boca que está rodeada por los palpos labiales, en la parte antero-dorsal del animal. Posteriormente hay un esófago que desemboca en un estómago complejo el cual está dentro de una glándula digestiva grande de color marrón. La parte anterior del intestino está inmersa en la gónada mientras que el intestino posterior atraviesa el pericardio y el ventrículo, y termina en el ano, el cual está ubicado en la parte posterior del músculo aductor (Puyana y Velasco, 2009).

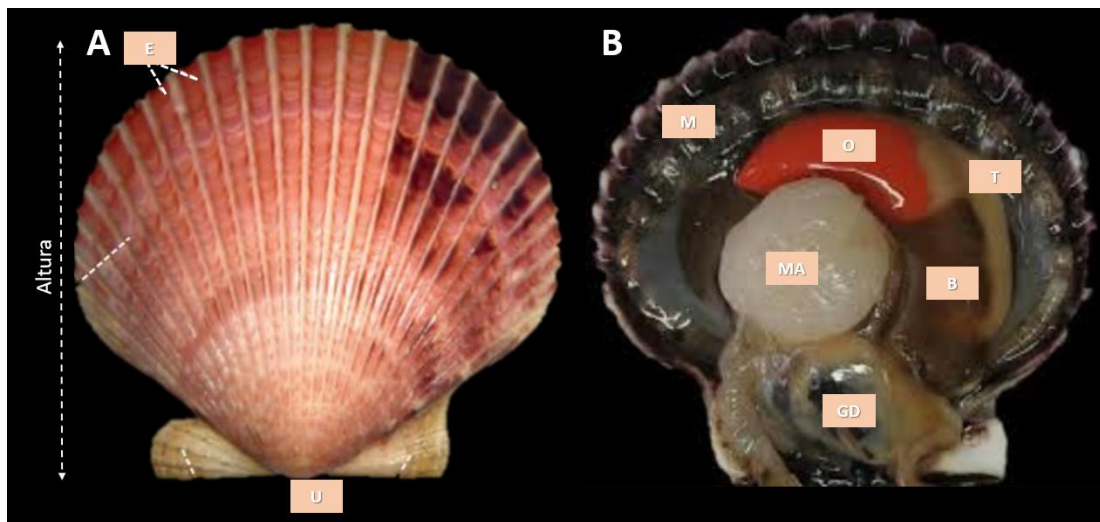


Figura 3: A) Morfología de la valva de *A. purpuratus*. (E) Costillas radiales. (U) Umbo. B) Anatomía interna de *A. purpuratus*. (MA) Músculo aductor. (M) Manto. (B) Branquias. (GD) Glándula digestiva. (T) Teste. (O) Ovario. Fuente: Modificado de IMARPE (2015).

El manto es el tejido más externo que recubre la superficie interna de la concha y envuelve las partes blandas. El espacio que hay entre la pared del cuerpo y el manto se conoce como cavidad paleal. El manto presenta numerosos ojos en la capa media y en la capa interior se observan numerosos tentáculos cuya función es táctil y quimiorreceptora (Alamo, 1981).

Las branquias son de color marrón pálido y están soportadas por la membrana de fijación entre el punto de contacto del saco visceral y los músculos aductores. Las branquias consisten en un par de láminas cuya unión con la membrana de fijación constituye el eje branquial (Mendo *et al.*, 2001).

El esófago es corto y une la boca con el estómago, que es un saco hueco con cámaras y varias aberturas. El estómago se halla totalmente rodeado por el divertículo digestivo (glándula), una oscura masa de tejido que muchas veces se denomina hígado (Arrieche, 2010).

Los palpos labiales son órganos especializados encargados de controlar la cantidad de alimento a ingerir, en los cuales se lleva a cabo procesos de selección de partículas. Esta selección podría basarse en el diámetro de la partícula, composición química, densidad o carga electrostática (Beninger *et al.*, 1999, Filgueira, 2007). El resultado del proceso selectivo es la expulsión de las partículas rechazadas embebidas en una matriz de mucopolisacáridos que recibe el nombre de pseudoheces (Ward y Shumway, 2004). Un análisis del contenido estomacal de *A. purpuratus* realizado por Rouillon y Mendo (2002) en la bahía de Independencia, sugiere que esta especie presentaría algún mecanismo de selección preingestiva, el cual le haría ingerir alimento con algún criterio selectivo o digiriendo con preferencia, alguna especie con respecto a otra.

2.2.2. Proceso alimenticio

El proceso de alimentación se inicia con el ingreso del agua a la cavidad del manto a lo largo del borde ventral anterior y es expulsada a través de la abertura exhalante posterior (Hartnoll, 1967). Un proceso más detallado es descrito por Arrieche (2010), quien manifiesta que el proceso de alimentación de un molusco filtrador comienza por la selección pre-ingestiva de las partículas, seguida de la ingestión, digestión, absorción y finalmente la excreción de desechos.

La captación de partículas del entorno es el primer paso en una secuencia de eventos que finalmente conduce a la ingestión de alimentos (Figura 4). En general, la alimentación de partículas se caracteriza por la absorción eficiente, la ingestión y la asimilación de material particulado (Shimeta y Jumars, 1991).

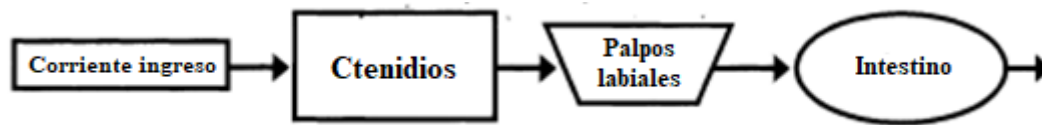


Figura 4: Diagrama de la recolección de alimento suspendido por bivalvos filtradores, a través de una abertura de inhalación o sifón y ctenidios. Fuente: Modificado de Ward y Shumway (2004)

Riisgård *et al.* (2006) afirman que las diferencias en la capacidad de selección pre-ingestiva están relacionadas con la anatomía branquial, siendo los pectínidos los más afectados por altas concentraciones de partículas inertes.

Cuando la concentración de seston es alta, la tasa de ingestión es regulada reduciendo la tasa de filtración, o rechazando el material en los filamentos branquiales antes de ser ingeridos (selección pre-ingestiva) a través de la producción de pseudoheces. La producción de pseudoheces es un mecanismo para tolerar la carga de partículas en suspensión, atrapándolas con el mucus para que no pasen al tracto digestivo (Sobral y Widdowns, 2000).

El umbral de producción de pseudoheces es expresado como la cantidad de partículas en suspensión para que el organismo empiece a producir pseudoheces. Según Brilliant y MacDonald (2002) y Fernandez *et.al* (2004) *A. purpuratus* selecciona las partículas orgánicas sobre las inertes de características similares, de modo de preferencia por las de buena calidad alimenticia, frente a variaciones de calidad y cantidad de seston.

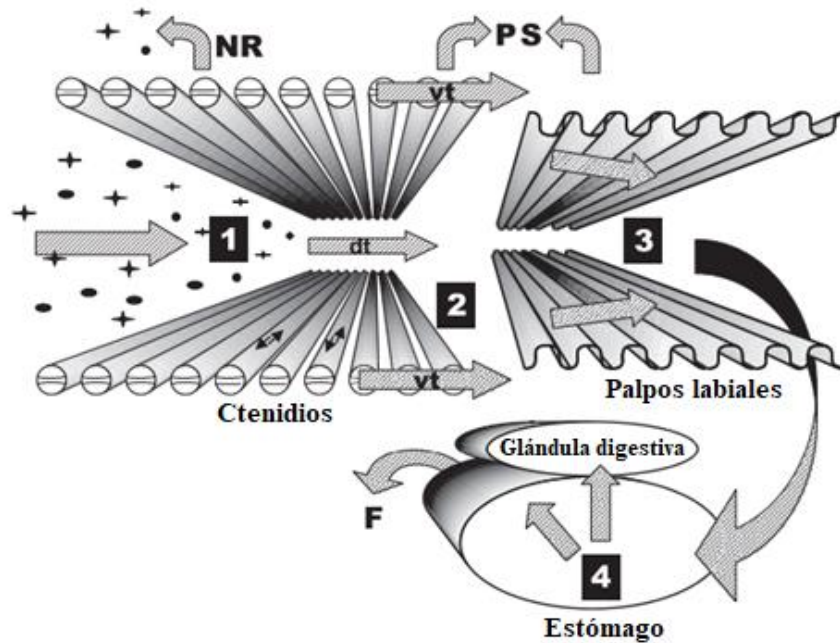


Figura 5: Diagrama que muestra las oportunidades para la selección de partículas en bivalvos lamelibranquios como la concha de abanico. Las flechas indican el movimiento general de material particulado del entorno (izquierda) a través de los órganos digestivos y de alimentación. (1) Captura preferencial por el ctenidio que da como resultado que algunas partículas no se retengan (NR); (2) selección y transporte diferencial por los ctenidios, lo que provoca que algunas partículas se rechacen como pseudoheces (PS); (3) selección por los palpos labiales que resulta en la ingestión preferencial de algunas partículas y la producción de PS; y (4) selección en el estómago y transporte preferencial de algunas partículas a los divertículos digestivos. Material no absorbido excretado como heces (F). Fuente: Modificado de Ward y Shumway (2004)

Autores como Jørgensen *et al.* (1986), afirman que los bivalvos pueden regular su actividad alimentaria en función de las condiciones tróficas. En tanto, admiten la existencia de estados de transición en los procesos de filtración entre los valores máximos observados bajo condiciones óptimas y la ausencia total de filtración bajo condiciones totalmente adversas. Según, Bayne y Newell (1983) esta respuesta se puede llevar a cabo mediante la regulación de procesos como la selección del alimento, digestión y absorción de nutrientes. Además, afirma que los cambios ambientales pueden implicar una regulación fisiológica encargada de maximizar la ganancia neta de energía. Es decir, existe una respuesta fisiológica ante cambios ambientales, y no un simple ajuste debido al cambio de las propiedades físicas del medio.

2.3. ESTIMACION DE LA ACTIVIDAD ALIMENTICIA

2.3.1. Unidades de medición de la actividad alimenticia

Existen diversas investigaciones en las que la actividad alimenticia de los bivalvos filtradores ha sido objeto de estudio (Bamber, 1990; Wang y Widdows, 1993; Sobral y Widdows, 1997; Rouillon y Mendo, 2002; Norkko *et al.*, 2006; Liu y He, 2012; Vargas *et al.*, 2014; Aguirre *et al.*, 2017). Sin embargo, no existe un consenso ni estandarización específica de las unidades a ser utilizadas para su medición (López, 2003). De modo que, es común encontrar en la literatura diversas unidades de medida para la actividad alimenticia, por lo cual, a continuación, se definen las diferentes unidades de medición existentes, sus diferencias y conceptos.

Tasa de aclaramiento: Volumen de agua liberada de partículas por unidad de tiempo (litros/hora) que se ha estimado midiendo la remoción de partículas suspendidas del agua en circulación a través de cámaras experimentales que contienen bivalvos individuales. (Widdows y Johnson, 1988; Hawkins *et al.*, 2001; Larsen y Riisgård, 2011).

Tasa de filtración: Cantidad de material colectado por un organismo filtrador, por unidad de tiempo (Wong *et al.*, 1997; Perez *et al.*, 2002).

Tasa de bombeo: Volumen total de agua que es transportada a través de las branquias por un organismo filtrador, por unidad de tiempo (Shumway, 1991).

Tasa de ingestión: Cantidad de material que es ingerido al tracto digestivo por un organismo filtrador, por unidad de tiempo (Navarro *et al.*, 1982; Brilliant y MacDonald, 2002).

En la presente investigación, se optó por cuantificar la actividad alimenticia mediante la tasa de aclaramiento, la cual puede ser estimada mediante diversas metodologías que serán descritas a continuación.

2.3.2. Métodos para la estimación de la tasa de aclaramiento

Existen dos clases de métodos que se usan comúnmente para medir la tasa de aclaramiento (TA) (Petersen, 2004). Por un lado, pueden hacerse mediciones en sistemas cerrados o estáticos, que se basan en la tasa de agotamiento en concentración de partículas causada por la actividad de filtración en una cámara cerrada. Por otro lado, existen metodologías que permiten la medición de la TA en sistemas abiertos o de flujo continuo. Se basan principalmente en la determinación del porcentaje de reducción en la concentración de partículas que se produce en una masa de agua cuando fluye a través de una cámara abierta con uno o más bivalvos adentro (Larsen y Riisgård, 2011).

Metodologías como el “*Suction Method*” y el “*Clearance Method*”, se basan en sistemas estáticos. El “*Suction Method*” consiste en aspirar el agua expulsada por el sifón exhalante y el agua que circunda al sifón inhalante en ciertos organismos filtradores, calculando la TA a partir de ambas concentraciones y el flujo de agua aspirada. Este método puede ser utilizado directamente en el medio natural, sin embargo, exige una manipulación muy próxima al individuo, que puede ocasionar estrés y alteraciones de la actividad filtradora.

Por su parte, el “*Clearance Method*” se basa en el estudio de la reducción de la concentración de partículas en el tiempo en un sistema cerrado en el cual se sitúa el filtrador. La principal ventaja es la sencillez del sistema experimental, sin embargo, presenta como desventaja el descenso de la concentración de partículas durante el experimento, provocando que el individuo esté expuesto a concentraciones cambiantes de alimento (Filgueira, 2007).

El “*Flow-Through Chamber*” y “*Steady State Method*”, son aplicables en sistemas abiertos, en donde se sitúan los bivalvos filtradores, calculándose la TA a partir de la diferencia de concentraciones entre entrada y salida y el flujo de entrada en la cámara (Figura 6). La ecuación para la estimación proviene de un balance de masa (Larsen y Riisgård, 2011). La gran ventaja de este método es que permite que los individuos permanezcan expuestos a una concentración constante de alimento, por el contrario, los requerimientos del diseño de la cámara experimental constituyen su principal desventaja.

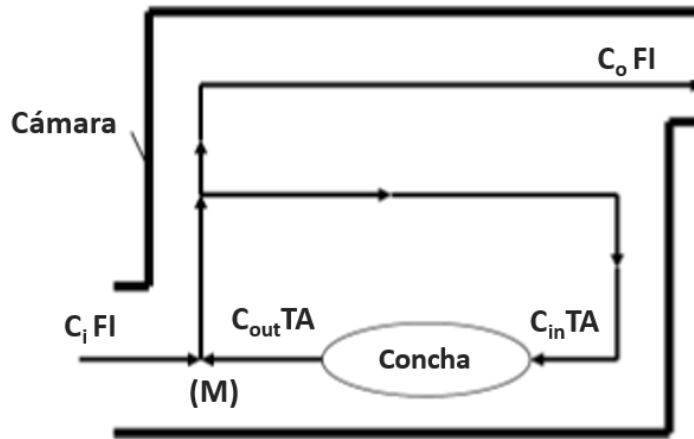


Figura 6: Diagrama del “*Steady State Method*”. (M) denota el punto de mezcla perfecta. C_i y C_o denotan la concentración de entrada y salida de la cámara, respectivamente, C_{in} ($= C_o$) y C_{out} ($=$ a cero para una retención del 100%) la concentración de los flujos de inhalantes y gases de extracción, respectivamente, FI a través del flujo de la cámara, y TA la tasa de aclaramiento. Fuente: Tomado de Larsen y Riisgård (2011).

Cabe decir que para la aplicación de este método hay que tener en cuenta ciertos supuestos: (i) no hay recirculación de agua ya filtrada por el organismo, (ii) solo el flujo de la cámara completamente mezclada debe ingresar en los organismos filtradores, y (iii) el flujo de salida del bivalvo filtrador se mezcla completamente con el flujo de entrada en el punto (M).

2.4. ASPECTOS ECOFISIOLÓGICOS

2.4.1. Tasa de aclaramiento

Según Riisgård (1988), la tasa de aclaramiento (TA), es un proceso dependiente del efecto que ejercen factores endógenos, como el tamaño, índice de condición y ciclo reproductivo de los individuos; así como factores exógenos, dentro de los cuales destacan principalmente la temperatura del medio, salinidad, pH, oxígeno, las características del seston disponible, estrés químico, entre otras (Sobral y Widdows, 1997; Denis *et al.*, 1999; Blackmore y Wang, 2003; Filgueira, 2007; Liu y He, 2012; Loncon, 2014; Aguirre, 2017). Por lo tanto, representa un proceso clave para evaluar la condición fisiológica del individuo.

Autores como Navarro y Winter (1982) indican que los individuos de mayor peso y talla aclaran mayores volúmenes de agua frente a los individuos de menor tamaño. El efecto del tamaño del individuo sobre la TA se rige por una relación alométrica ($TA = a.X^b$) donde a y b son los parámetros de las ecuaciones alométricas, denominados respectivamente constante de normalización (CN) y exponente alométrico (EA) y X es la talla o el peso corporal del individuo (Filgueira, 2007). Mientras que MacDonald y Thompson (1986) afirman que hay una reducción de la TA durante la época de reproducción en bivalvos, puede ser interpretado como un mecanismo adaptativo para evitar la ingestión de los gametos expulsados al medio.

Por su parte, Jørgensen (1986) sostiene que la TA puede reducirse como el resultado de un cierre valvar, con el fin de proteger al individuo ante condiciones adversas. Sin embargo, cuando la actividad alimenticia se reanuda y las condiciones adversas persisten, existen ajustes que involucran mecanismos de regulación, previos a la ingesta, como la selección y el rechazo de material alimenticio a nivel del ctenidio y palpos labiales (Bayne *et al.* 1982, Ward y Shumway 2004). Además, Bayne *et al.* (1987) afirman que la TA y la calidad en contenido orgánico de la dieta presentan una relación inversa que se ha interpretado como una respuesta fisiológica para mantener una tasa constante de ingestión orgánica durante periodos de baja concentración de seston total.

2.4.2. Eficiencia de retención de partículas

La eficiencia de retención puede ser definida como el porcentaje de microalga de alguna especie determinada que el organismo remueve del medio (Lopez,2003). Según Mohlenberg y Riisgård (1978), la gran mayoría de bivalvos son capaces de filtrar partículas por sobre los 3 a 4 μ m con una eficiencia del 100%, disminuyendo esta eficiencia a 35-90% frente a partículas de 2 μ m de diámetro. En el caso de los pectínidos se han descrito distintos resultados al respecto, dependiendo de la especie (Riisgård,1988).

Los bivalvos poseen tres tipos de extensiones ciliares en sus filamentos branquiales: cilios laterales, cilios frontales, y cilios latero-frontales, todos ellos desempeñan un papel en la retención de partículas (Owen y McCrae 1976). Cuando los cilios latero-frontales, se superponen al flujo captado a través del ctenidio (branquia), generan zonas de amortiguamiento del flujo directamente sobre los espacios inter filamentos branquiales y zonas de flujo continuo. Lo cual traen consigo la formación de vórtices que favorecen la captación de alimento (Figura 7a).

Una menor eficiencia de retención se relaciona comúnmente con el menor desarrollo de los ciliares latero-frontales, que son justamente los encargados de cumplir con esta función (Figura 7b). Por el contrario, una estructura latero-frontal más desarrollada proporcionara mayor eficiencia de retención (Figura 7c) (Mohlenberg y Riisgård ,1978). Por su parte, Shimeta y Jumars (1991) afirman que la anatomía, ubicación y el tamaño de las estructuras de alimentación varían considerablemente entre los taxones. Sin embargo, los mecanismos físicos e hidrodinámicos involucrados en la captura de partículas, a menudo son similares.

Ward *et al.* (1998) describió en funcionamiento de los tres tipos de cilios en el proceso de captura de alimento. Los cilios latero-frontales inducen flujos laterales que reducen o excluyen el flujo directo a través de los espacios inter filamentarios de las branquias y, por lo tanto, aumentan la eficiencia del encuentro de partículas con las superficies frontales. Las partículas se retienen en superficie frontal de filamento branquial por una combinación de moco secretado.

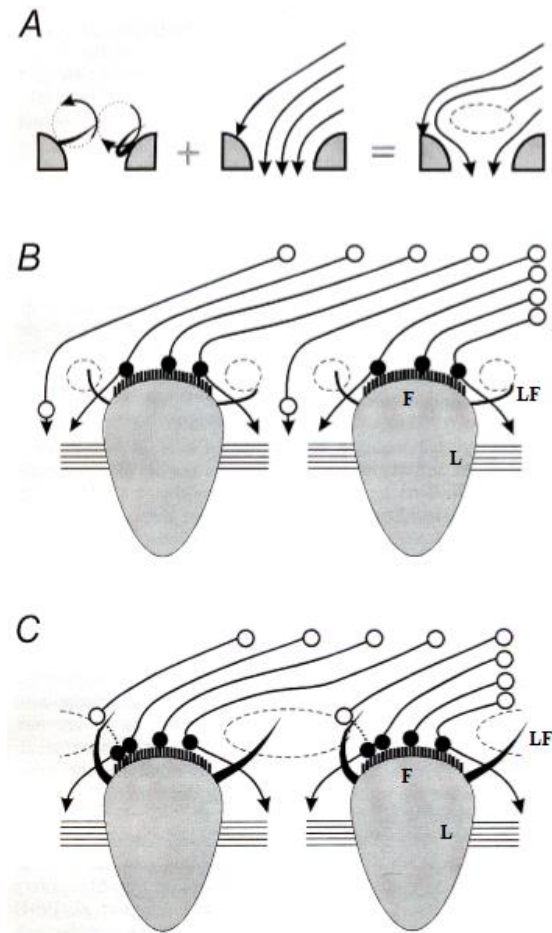


Figura 7: Diagramas de cortes transversales de filamentos branquiales que muestran patrones de flujo y eficiencias de captura. Las líneas indican el flujo a través de ctenidios, y las zonas de vórtice se muestra mediante puntos suspensivos discontinuos. Los círculos blancos y negros indican partículas antes y después del encuentro, respectivamente. (A) formación de vórtices, (B) versión del modelo en el que los filamentos poseen cilios latero-frontales simples, (C) versión del modelo en el que los filamentos poseen cilios latero-frontales grandes. Fuente: Tomado de Ward *et al.* (1998).

Otro factor, aunque ya no estructural, que juega un papel importante en la eficiencia de retención es la concentración de alimento disponible. Esta ha sido estudiada en numerosas especies de pectinidos, relacionando este factor a la actividad alimenticia y crecimiento (Cahalan *et al.* 1989). Palmer y Williams (1980) encontraron que ejemplares de *Argopecten irradians* fueron significativamente más eficaz en la retención de partículas pequeñas (menores a $3,4 \mu\text{m}$) en altas concentraciones de fitoplancton, que a bajas concentraciones por debajo del umbral para producción pseudoheces; sin embargo, observó un efecto inverso en la ostra *Crassostrea virginica*.

2.4.3. Tasa de ingestión

La determinación experimental de la tasa de ingestión de los organismos filtradores generalmente se puede realizar midiendo la tasa de aclaramiento, y multiplicándolo por la concentración de partículas. En términos estrictos el valor así obtenido es la tasa de filtración, pero cuando se ingiere toda la materia filtrada, es decir, no se producen pseudoheces, las tasas de filtración e ingestión son coincidentes (Fragoso, 2012).

Araya *et al.* (1993), evaluaron la dinámica de alimentación de individuos de *A. purpuratus* a condiciones de laboratorio. Encontrando un punto de saturación de alimento a partir del cual la tasa de ingestión resultó constante. Sin embargo, este punto resultó diferente para los intervalos de talla analizados, siendo de $10.2 \times 10^5 \text{Cel. min}^{-1} \cdot \text{ind}^{-1}$ para semillas y $24 \times 10^5 \text{Cel. min}^{-1} \cdot \text{ind}^{-1}$ para juveniles.

2.5. CRECIMIENTO Y MORTALIDAD

La concha de abanico es una especie de rápido crecimiento, pudiendo alcanzar alturas máximas de hasta 160 mm (Di Salvo *et al.*, 1984). El crecimiento y la mortalidad de la concha de abanico están influenciados por varios factores como la densidad, la predación, la disponibilidad y calidad del alimento, la temperatura, la salinidad, el oxígeno disuelto en el agua, entre otros (Mendo *et al.*, 2016).

La tasa de crecimiento de *A. purpuratus* ha sido estudiada en el Perú y Chile por diversos autores en distintas condiciones y en un amplio rango de alturas, ya sea en su ambiente natural, zonas de cultivo o en experimentos controlados.

Wolff (1987) reportó tasas de crecimiento (individuos de 15-45mm de altura) de 0.4 y 0.5 mm/día, en la Bahía Independencia (14°S) durante el fenómeno del Niño 1983. Alcazar y Mendo (2008) reportaron tasas de crecimiento (individuos de 10-30mm de altura) de 0.33mm/día para el cultivo suspendido y 0.21 mm/día para el cultivo de fondo en un experimento realizado en Casma (9°S) que consistía en comparaciones en el desempeño de cultivos suspendido y de fondo. Cisneros *et al.* (2008) reportaron tasas de crecimiento (individuos de 50-60mm de altura) entre 0.2 y 0.3 mm/día en un experimento en cultivo suspendido en Pucusana (12°S). Por su parte, Aguirre *et al.* (2015) reportaron una tasa de crecimiento (individuos de 30-40mm de altura) entre 0.25 y 0.39 mm/día para cultivo en la Bahía de Paracas (13°S).

En Chile, en la Bahía La Rinconada (23°S) y Cantillán *et al.* (2005) durante El Niño reportaron tasas de crecimiento de 0.175 mm/día, de 0.143 mm/día durante un año normal y de 0.082 mm/día durante un verano frío (La Niña). Al sur de Chile (41°S) en una zona de cultivo López *et al.* (2000) realizaron un estudio de crecimiento en concha de abanico (10-40mm de altura) estimando tasas de crecimiento entre 0.27 y 0.5 mm/día.

Investigaciones realizadas en condiciones de laboratorio como las de Córdova (2016) quien trabajó con juveniles de *A. purpuratus* (10-30 mm de altura) en condiciones de controladas reportó tasas de crecimiento de 0.30 mm.día⁻¹ y 0.33 mm.día⁻¹ para condiciones control y ácidas (a un pH de 7.4) respectivamente.

2.6. ESTRÉS EN BASE A FACTORES AMBIENTALES

Según, Chrousos y Gold (1992) el estrés es un término muy amplio que se podría definir como un estado en el cual el equilibrio dinámico de los seres vivos, llamado homeostasis, es amenazado o alterado frente a un estímulo extrínseco o intrínseco denominado agente estresante. Este término ha sido usado ampliamente en el campo de la fisiología para denotar lo contrario a bienestar (Bayne, 1975 citado por Akberali y Trueman, 1985).

El estrés se manifiesta cuando los factores físicos, químicos y/o bióticos del entorno llevan a un organismo más allá de los límites de su nicho fundamental (Eckert, 1990). Cuando el factor estresante se prolonga puede haber resistencia al estrés o adaptación (Bell y Green, 1982) o una respuesta no adaptativa (cuando los mecanismos se fuerzan más allá de sus límites empeorando el bienestar animal) (Barton e Iwama, 1991). Para Reeve (1993), la adaptación es la mayor eficiencia ecológico-fisiológica alcanzada por algunos individuos de una población (capacidad para poder responder a situaciones adversas). El ajuste al estrés induce un amplio rango de cambios metabólicos, fisiológicos y de comportamiento, que permiten una rápida recuperación o adaptación al cambio (Akberali y Trueman, 1985).

El término tiene una gran importancia ya que al igual que los seres humanos, la vida marina está expuesta a un estrés constante que puede estar relacionado al aumento de temperaturas oceánicas, incremento de contaminación, variación de la salinidad, acidificación de los océanos, hipoxia, entre otras (Bamber, 1990; Wang y Widdows, 1993; Sobral y Widdows, 1997; Laudien *et al.*, 2002; Norkko *et al.*, 2006; Michaelidis *et al.*, 2005; Gazeau *et al.*, 2010; Vargas *et al.*, 2014).

Akberali y Trueman (1985) han estudiado ampliamente el efecto del estrés ambiental sobre moluscos bivalvos marinos. Actualmente, se suman a sus esfuerzos investigaciones más recientes sobre dichos aspectos. En el Perú, Mendoza *et al.* (2017) analizaron el efecto del estrés en *Anadara tuberculosa* frente a cambios bruscos de salinidad evaluando su respuesta a nivel molecular; por otro lado, Córdova (2016) estudio el efecto del pH bajo sobre *A. purpuratus* evaluando su respuesta fisiológica. En otras latitudes, Savina y Pouvreau (2004) evaluarón el estrés térmico en *Paphia rhomboïdes* y *Glycymeris glycymeris* analizando tasas aclaramiento y las tasas de respiración.

2.7. EVENTOS DE HIPOXIA Y SUS EFECTOS EN BIVALVOS

Los niveles de oxígeno disponible en el medio son el resultado de un balance entre la producción natural de oxígeno (producido por organismos fotosintéticos), consumo (respiración aeróbica y otras reacciones químicas) y su interacción con la atmósfera (Merma, 2016). En cuanto a las zonas hipóxicas o zonas de bajo contenido de oxígeno, son características omnipresentes en entornos costeros y de mar abierto (Gobler, *et al.*, 2014). Podemos decir que la disminución del oxígeno en el medio marino puede corresponder a causas naturales o antropogénicas.

El sistema de afloramiento, corresponde a una de las causas naturales. Ya que es responsable de una alta producción primaria que favorece la disponibilidad continua de alimento para grandes poblaciones de organismos (Levin, 2003, citado por Aguirre *et al.*, 2017). Sin embargo, el hundimiento y la degradación de las partículas de materia orgánica en las zonas costeras produce un alto consumo de oxígeno que induce la aparición de zonas mínimas oxígeno (ZMO) en aguas de profundidad media (Bakun y Weeks, 2008; Díaz y Rosenberg, 2008). Estas zonas con baja saturación de oxígeno pueden ir a superficie convirtiéndose en zonas costeras hipóxicas menos profundas (Díaz y Rosenberg, 2008; Monteiro *et al.*, 2008) con lo cual, afectan a las comunidades bentónicas con movilidad limitada o nula, como bivalvos, quienes son particularmente vulnerables (Zhang *et al.*, 2010; Villnäs *et al.*, 2012). Por otro lado, la eutrofización causada por la descarga de desechos orgánicos urbanos e industriales en los ambientes marinos son los factores antropogénicos más importantes en la generación de la hipoxia costera. La eutrofización en aumento está generando también el aumento en la ocurrencia, intensidad y duración de la hipoxia en áreas costeras (Díaz y Rosenberg, 2008).

La extensión y duración de los eventos de hipoxia puede variar. En cuanto a duración, la hipoxia puede tener una persistencia de horas (ciclo diario), semanas (episodios), meses (ciclo estacional) o ser permanente (desde años hasta siglos). En cuanto a su extensión espacial, la hipoxia puede desarrollarse a nivel de estuarios y bahías, de toda la plataforma continental y hasta ser de dimensiones oceánicas; y en profundidades que van desde 1 a 2 metros hasta 600 o 700 metros (Díaz y Rosenberg 2008; Rabalais *et al.*, 2010).

Rabalais *et al.* (2010) sugieren que la influencia relativa de factores naturales es más importante en escalas mayores de tiempo y espacio que la influencia de las actividades

humanas que son más importantes a menores escalas (Figura 6). En ese sentido, los factores antropogénicos son responsables de la mayoría de casos de hipoxia de ciclo diario y estacional en estuarios y plataformas continentales internas, y han empeorado las condiciones naturales de bajo oxígeno de algunas bahías. La hipoxia de las plataformas externas y zonas batiales es generada y controlada por factores naturales en ciclos interanuales y decenales (Levin *et al.* 2009). Esta diversidad de escalas espaciales y temporales ayuda a comprender la dinámica básica de la hipoxia y sus posibles fuentes (Rabalais *et al.* 2010).

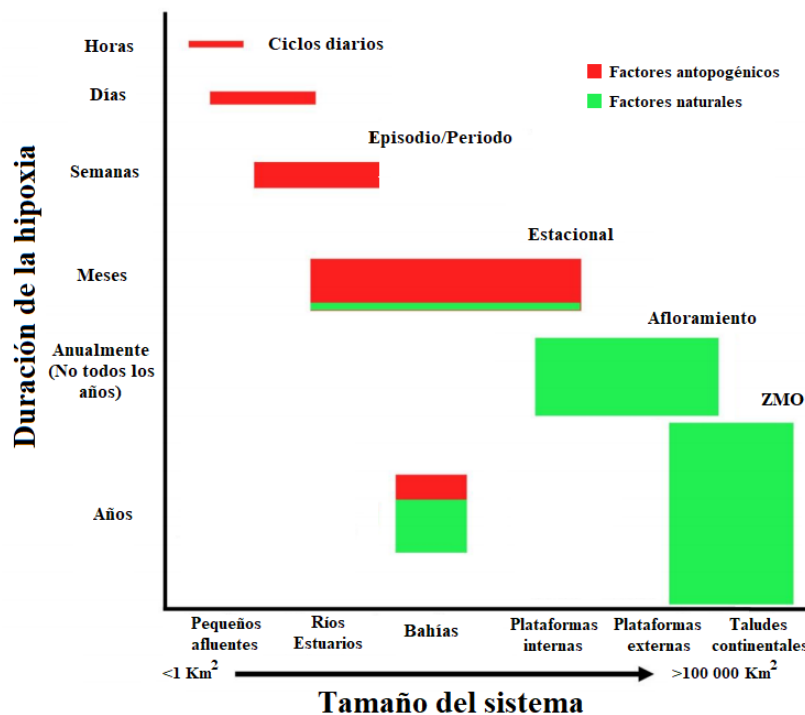


Figura 8: Variabilidad espacial y temporal de los ambientes hipóxicos. Fuente: Tomado y modificado de Rabalais *et al.* (2010).

Las escalas presentadas en la figura 8, no poseen unidades, pero van de menor a mayor. A medida que las influencias humanas aumentan en aguas menos profundas hasta Océano costero, hay más efectos en el ecosistema (Rabalais *et al.* 2010).

Cabe decir que muchas veces los eventos de hipoxia están asociada a la aparición aguas blancas o “*milk waters*”, la cual aparece como consecuencia de la formación de azufre (S°) coloidal, producto de la oxidación del H_2S en la columna de agua. Esto puede ser causas de mortalidad en las zonas afectadas (Chávez, 2014; Aguirre *et al.*; 2014, Merma, 2016; Chauca, 2018).

En Perú, Aguirre *et al.* (2015) monitoreó la bahía de Paracas, demostrando que la concha de abanico enfrenta fuertes variaciones diarias en la saturación de oxígeno. Durante el día las condiciones generalmente son cercanas a la normoxia, mientras que de noche las condiciones de hipoxia son severas y pueden superar los valores de punto crítico de oxigenación (P_{cO_2}) para *A. purpuratus* (24% a 16°C) (Aguirre *et al.*, 2016). En la misma bahía, Merma (2016) encontró que la hipoxia se presenta estacionalmente en los meses de verano en el agua de fondo. Sin embargo, el agua suprayacente al sedimento está sujeta a una hipoxia más prolongada e intensa debido a que, en el sedimento superficial, la degradación aeróbica de la materia orgánica y la reoxidación de compuestos reducidos consumen el poco oxígeno disponible del agua suprayacente (Merma, 2016).

La hipoxia aumenta el estrés y la mortalidad en los bivalvos y otros organismos (Díaz y Rosenberg, 2008; Laudien *et al.*, 2002; Breitburg *et al.*, 2009). Sin embargo, la tolerancia a la hipoxia puede variar entre las especies de moluscos, la edad y puede interactuar con otros factores de estrés (Wu, 2002; Zhang *et al.*, 2010). Investigaciones como las de Narvarte *et al.* (2001), afirman que una deficiencia en el oxígeno disuelto disponible en las zonas de cultivo podría ocasionar condiciones adversas para el crecimiento y supervivencia de postlarvas de pectínidos, ya que éstas, son sensibles a los bajos niveles de oxígeno.

La siguiente tabla describe algunos resultados de investigaciones que han estudiado los efectos de la hipoxia sobre moluscos bivalvos.

Tabla 1: Efectos de la hipoxia en moluscos bivalvos según literatura

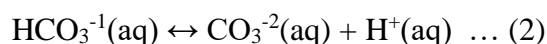
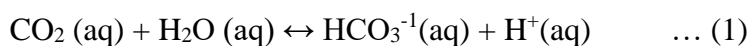
Especie	Nivel oxígeno (% saturación, KPA, uM)	Efectos en la especie	Autor
<i>Mytilus edulis</i>	1.0 kPa	Disminución de tasa de aclaramiento y tasa de ingestión	Wang y Widdows (1993)
<i>Ruditapes decussatus</i>	Menor a 25%	Disminución del metabolismo, menor tasa de aclaramiento y tasas de crecimiento positivas	Sobral y Widdows (1997)
<i>Donax serra</i>	0.337 ml.L ⁻¹	Menor sobrevivencia	Laudien <i>et al.</i> (2002)
<i>Paphies australis</i>	40%	Disminución tasa de respiración, tasa de absorción y aclaramiento.	Norkko <i>et al.</i> (2006)
<i>Mercenaria mercenaria</i> y <i>Argopecten irradians</i>	30–50 uM	Menor metamorfosis en larvas de <i>A. irradians</i> y menor sobrevivencia de <i>M. mercenaria</i>	Gobler <i>et al.</i> (2014)
<i>Argopecten purpuratus</i>	Hipoxia progresiva hasta 5%	Captación eficiente de oxígeno en un amplio rango de 5% a 100%	Aguirre <i>et al.</i> (2015)
<i>Argopecten purpuratus</i>	Hipoxia cíclica 12h:12h (normoxia:hipoxia al 5%)	Disminución de la tasa de aclaramiento, índice de condición, altura de la concha y peso glándula digestiva,	Aguirre <i>et al.</i> (2017)

2.8. EVENTOS DE ACIDIFICACIÓN Y SUS EFECTOS EN BIVALVOS

El aumento de dióxido de carbono (CO_2) antropogénico en la atmósfera, el cual aumentó su producción desde hace más de 200 años por la revolución industrial, ha determinado que los océanos cambien su estado natural, provocando un aumento de la acidez de los ambientes marinos (Caldeira y Wickett, 2003; Castillo, 2015). A raíz de este aumento de CO_2 , existe el problema del cambio químico del agua de mar, debido a que el CO_2 cuando ingresa al océano, se transforma en carbono inorgánico disuelto (CID) (Borges *et al.*, 2010). Según el IPCC (2013) las condiciones del mar en términos del estrés por disminución del pH se incrementarán dado que consideran que el pH para el año 2100 podría disminuir en 0.3 a 0.4 unidades. Para, Doney *et al.*, (2009) la acidificación es uno de los mayores desafíos que enfrentan los científicos, legisladores y la sociedad.

Según Copin-Montégut, 1995 el pH de aguas marinas normales varía entre 7.8 y 8.3 con un valor promedio de 8.1. A diferencia del océano abierto, donde el pH permanece relativamente constante, los sistemas costeros suelen estar menos amortiguados (Merma, 2016) y la actividad biológica, combinada con otras variables, puede impulsar las fluctuaciones del pH en escalas de tiempo diurnas y/o estacionales (Ringwood & Keppler 2002; Wootton *et al.* 2008, Waldbusser y Salisbury 2014). Comúnmente, durante el día la actividad fotosintética produce oxígeno, consume CO_2 y aumenta el pH, mientras que, en la noche, la reacción metabólica dominante consume oxígeno, produce CO_2 y disminuye el pH (Yates *et al.* 2007, Wootton *et al.* 2008). Los sistemas costeros, al estar menos amortiguados, pueden experimentar cambios en la acidificación del océano antes de que se observen cambios en el océano abierto (Waldbusser *et al.* 2010).

El CO_2 producido por los eventos ya mencionados (causas antropogénicas, respiración aeróbica, eutrofización) reacciona químicamente en el agua generando el aumento de la concentración de ion bicarbonato (HCO_3^{-1}), lo cual también conduce a la disminución del pH debido al aumento de protones (H^+) (ver reacción de equilibrio 1). Con el incremento de los protones, el ion carbonato (CO_3^{-2}) pasa a formar ion HCO_3^{-1} (Libes, 2009) (ver reacción de equilibrio 2). Como puede verse, uno de los resultados del incremento del CO_2 es la disminución el pH, sin embargo, adicionalmente se produce una reducción de la concentración del ion carbonato.



El sistema de afloramiento del mar peruano es una zona en la que ocurre una desgasificación o liberación de CO_2 naturalmente y presenta valores de pH bajos entre 7.1 y 8 (Graco, 2011) debido al alto contenido de CO_2 de las aguas advectadas (Friederich *et al.* 2008). Existe una relación entre los episodios de hipoxia con las bajas de pH, con lo cual podemos decir que son procesos relacionados y que guardan cierto grado de sinergia. El desarrollo de la hipoxia produce CO_2 como resultado del metabolismo aeróbico, y que esto a su vez disminuye el pH. Los ambientes marino costeros que presentan condiciones hipóxicas, como la Bahía de Paracas, también presentan condiciones de bajo pH (Aguire *et al.*, 2016; Merma, 2016; Chauca, 2018). Merma (2016) evaluó el pH en el puerto San Martín registrando valores de bajo pH en los meses de marzo, julio y enero. Siendo el promedio de pH entre 2014 y 2015 de 7.77 con un amplio rango de 7.35 a 8.40.

Los moluscos presentan respuestas especie-específicas respecto a un incremento de CO_2 en el agua de mar según la recopilación que hizo Parker *et al.* (2013, citado por Córdova, 2016), donde mostró que más del 60% de las especies que han sido objeto de estudios en acidificación muestran respuestas negativas frente al incremento de presión de CO_2 y al bajo pH. En tanto, en relación a los pectínidos el 100% de los estudios recopilados en la revisión de Parker *et al.* (2013) mostraron efectos negativos frente a la acidificación. En una revisión hecha por Gazeau *et al.* (2013), respecto a los estudios realizados en estadios larvales de los moluscos, un gran porcentaje de estos muestran respuestas negativas, un menor porcentaje muestran respuestas neutras frente a la acidificación del océano en relación a las siguientes variables: la fertilización, el éxito larval temprano, la sobrevivencia, la talla, la tasa de desarrollo, la normalidad de la concha y el asentamiento larval.

Gazeau *et al.* (2013) realizaron estudios con adultos y los juveniles de moluscos y presentaron respuestas mixtas (positivas, negativas y neutras) bajo altas presiones parciales de CO_2 cuando se evaluó las siguientes características: sobrevivencia, crecimiento de concha, tasas de respiración y tasas de aclaramiento. Bajo las características del agua naturalmente acidificada donde vive la concha de abanico, existe un vacío de conocimiento de lo que sucede con sus procesos fisiológicos (Córdova, 2016).

Por su parte, existen otras investigaciones que han analizado el efecto del pH sobre moluscos bivalvos. Dichos efectos pueden verse en la tabla 2.

Tabla 2: Efectos del pH ácido en moluscos bivalvos según literatura

Especie	pH	Efectos en la especie	Autor
<i>Mytilus edulis</i> , <i>Crassostrea gigas</i> y <i>Ostrea edulis</i> .	Menor 7.0	Supresión del crecimiento, pérdida de peso, reducción de tamaño de concha, disminución actividad de alimentación	Bamber (1990)
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	7.3	Disminución en la tasa de respiración y cambios en pH de la hemolinfa	Michaelidis <i>et al.</i> (2005)
<i>Mytilus edulis</i>	7.6 a 7.8	Disminución de las tasas de eclosión y aumento mortalidad	Gazeau <i>et al.</i> (2010)
<i>Crassostrea gigas</i>	7.1	Disminución del pH de la hemolinfa	Lannig <i>et al.</i> , (2010)
<i>Chlamys nobilis</i> y <i>Perna viridis</i>	7.4 y 7.7	Disminución de tasa de aclaramiento, tasa de respiración y tasa de excreción	Liu y He (2012)
<i>Mytilus chilensis</i>	7.6 a 7.8	Disminución capacidad de alimentación, respiración y crecimiento	Navarro <i>et al.</i> (2013)
<i>Perumytilus purpuratus</i>	7.6	Disminución de la tasa de aclaramiento	Vargas <i>et al.</i> (2014)
<i>Argopecten purpuratus</i>	7.4	Disminución tasa de crecimiento, disminución tasa de calcificación, No se encontró un efecto negativo sobre el crecimiento del tejido somático	Córdova (2016)
<i>Argopecten purpuratus</i>	7.6	Atrofia de la glándula digestiva, efectos en la salud, sin embargo, una potencial de adaptación a las condiciones	Lagos <i>et al.</i> (2016)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. DESCRIPCION DEL EXPERIMENTO

La investigación se llevó a cabo, en el Laboratorio de Ecofisiología Acuática del Instituto del Mar del Perú (IMARPE), Chucuito, Callao. Consistió principalmente en someter juveniles conchas de abanico de 12.69 ± 1.57 mm a condiciones simuladas de hipoxia (20%) y pH ácido (7.4) durante el periodo de dos meses. Las condiciones de hipoxia y pH ácido se lograron mediante la inyección regulada de gas N₂ y CO₂ respectivamente.

Las conchas fueron alimentadas de forma continua, durante las 24 horas del día, mediante tres bombas peristálticas que transportaban un mix de microalgas compuesto de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros calcitrans* a una concentración promedio 1.45×10^6 Cel.mL⁻¹.

3.1.1. Diseño experimental

Para el diseño experimental se utilizó un diseño factorial 2². Consideramos dos factores: saturación de oxígeno (niveles 20% y 100%) y pH (niveles 7.4 y 7.8) (Tabla 3). Como resultado, se obtuvieron cuatro tratamientos que fueron nombrados de la siguiente manera: control (sin estrés) (C), estrés por hipoxia (H), estrés por acidez (A) y estrés múltiple (I) (combinación de hipoxia + acidez). Los cuatro tratamientos se realizaron por triplicado, sumando un total de 12 unidades experimentales, para lo cual se utilizaron 12 tanques.

Tabla 3: Diseño experimental

	pH = 7.8	pH = 7.4
100% saturación	Control (Sin estrés) (C)	Estrés por acidez (A)
20% saturación	Estrés por hipoxia (H)	Estrés múltiple (I)

3.1.2. Instalación del sistema

Se instaló un sistema de flujo abierto de agua de mar compuesto por 12 tanques de 44 L cada uno, donde se colocaron 90 individuos de *A. purpuratus* por tanque. El agua de mar utilizada era previamente filtrada gracias a tres filtros de cartucho colocados en serie (100um, 50um y 10um). Adicionalmente, se utilizó un décimo tercer tanque, que no contenía individuos, el cual sirvió como blanco para el cálculo de la tasa de aclaramiento.

Cada tanque tuvo un mezclador de gases, compuesto por una bomba de acuario de 1200 L/h. La inyección de gas N₂ y CO₂ se hizo hacia dichos mezcladores, mediante mangueras neumáticas de poliuretano de 4x6mm. El mezclador presente en cada tanque hizo que dichos gases se distribuyan homogéneamente dentro ellos. Adicionalmente, para evitar el intercambio de gases, todos los tanques se cubrieron en la superficie con planchas de poliestireno (tecnopor) de 8mm de espesor.

3.1.3. Toma de muestras

Para la estimación de la tasa de aclaramiento (TA), se tomó una muestra diaria, a las 2:00 pm, de 15ml de agua en la salida de los 12 tanques experimentales y en el tanque blanco para cuantificar la clorofila a través de fluorescencia con ayuda del fluorómetro Hoefler DQ300. Las muestras eran tomadas en tubos tipo falcón de polipropileno. Las mediciones de clorofila en la salida de cada tanque se hicieron por triplicado, calculando de tal forma un promedio de clorofila en cada salida. Asimismo, se midieron los caudales, por triplicado, en la entrada de los tanques.

Por su parte, para el cálculo de la selectividad entre las dos microalgas, se tomaron muestras de 15ml de agua en la salida de los tanques. Posteriormente las muestras fueron fijadas con aproximadamente 0.2 ml de solución de lugol para facilitar el conteo de microalgas. El conteo se realizó por quintuplicado, con la ayuda de un microscopio de contraste de fases y una cámara de Neubauer.

Mientras que, para la estimación de la tasa de crecimiento se hicieron biometrías cada 15 días, que consistían en la extracción de 10 individuos al azar de cada tanque, a fin de realizar mediciones de talla, peso y un posterior secado en la estufa a 60°C por 48 horas. Las mediciones de talla y peso se hicieron con ayuda de un vernier de 0.01mm de precisión y una balanza de precisión Sartorius® con exactitud 0.0001g, respectivamente.

En cuanto a la sobrevivencia, esta fue calculada diariamente contabilizando los individuos muertos que eran extraídos de cada tanque de experimentación horas antes de hacer la toma de muestra para la estimación de la TA. Dado que para la estimación de la TA era necesario tener el número exacto de individuos presentes en cada tanque.

3.1.4. Procedencia de semilla y aclimatación

Los individuos utilizados fueron provistos por la Hatchery de la empresa privada Agromar (Órganos, Perú). Se transportaron en un cooler, usando esponjas humedecidas con agua de mar y gel packs para disminuir la temperatura durante el viaje. Posteriormente, los individuos se aclimataron durante una semana para reducir el estrés generado por la manipulación y el transporte. Para lo cual fueron colocados en un tanque de 210 L a 17°C con agua de mar filtrada y alimento a flujo continuo, manteniendo la saturación de oxígeno del 100% hasta el inicio del experimento de estrés múltiple (Figura 9).



Figura 9: Tanque de aclimatación de individuos

3.2. SISTEMA DE SIMULACIÓN Y REGULACION DE CONDICIONES AMBIENTALES

3.2.1. Regulación de gas nitrógeno (N₂)

El agua de los tanques de los tratamientos de estrés por hipoxia (H) y estrés múltiple (I), compuesto por tres tanques cada uno, se hicieron hipóxicos mediante la inyección controlada de gas N₂. Disminuyendo progresivamente la saturación de O₂ hasta alcanzar un valor constante de 20%.

Para ello se instaló un balón de nitrógeno de 10 m³ que fue conectado a un sistema regulador del paso de gases. Dicho sistema de regulación estaba compuesto por válvulas solenoides controladas por un software programado y un computador. Al mismo tiempo, el sistema regulador de paso de gases estuvo conectado a dos multiparámetros WTW 3430 Set G que utilizaban seis sensores (FDO® 925) para el registro del porcentaje de saturación de oxígeno. Los sensores de oxígeno (FDO® 925) estuvieron permanentemente sumergidos en los tanques y registraban la saturación de oxígeno del agua a intervalos de dos segundos. Cuando el agua de un tanque alcanzaba niveles de oxígeno mayores a 20% de saturación (programados en el software) el sensor lo detectaba y mandaba una señal al software que hacía que las válvulas solenoides se encendían y hagan una inyección controlada de gas N₂ hasta que los niveles de saturación regresaran a 20%.

3.2.2. Regulación de dióxido de carbono (CO₂)

En los tratamientos que requerían de pH bajo como estrés por acidez (A) y estrés múltiple (I), se utilizó un tanque adicional de 210L al cual se le inyectó de manera constante y controlada CO₂, hasta obtener un pH controlado de 7,4. Para ello se instaló un balón de CO₂ de 40 Kg el cual estaba conectado a un sistema controlador del paso de gases que funcionaba a través de una válvula solenoide.

Para regular la entrada de CO₂, el sistema controlador del paso de gases estaba conectado a un electrodo de pH (Sentix® 940-3) el cual estuvo sumergido permanentemente en el tanque de 210 L. Cuando el pH del agua del tanque alcanzaba niveles de pH mayores a 7.4 (programados en el controlador) el sensor lo detectaba y mandaba una señal al controlador que hacía que las válvulas solenoides se encendían y hagan una inyección de gas CO₂ hasta que los niveles de saturación regresaran a 7.4%. En este caso, la dosis de

gas necesaria era regulada a través de un regulador de flujo neumático y contador de burbujas previa entrada al tanque de 210L. Finalmente, para que el agua a pH 7.4 llegaría a los tanques experimentales que requerían pH bajo (A y I) se utilizó una bomba sumergible de 1/3 HP.

3.2.3. Regulación de temperatura

Para que no existieran cambios bruscos de temperatura a lo largo del experimento, esta fue controlada gracias a un sistema regulador de temperatura. El sistema consistió en un chiller que fue programado para que mantenga la temperatura a 17°C. El intercambio de calor se hacía a través de un serpentín de titanio sumergido en el tanque de 210L, lo cual hizo que los tratamientos de acidez (A y I) mantuvieran la temperatura deseada. Mientras que los tanques de los tratamientos H y C mantuvieron la temperatura deseada a través de otros serpentines de titanio huecos sumergidos en el tanque de 210L por los cuales transcurría el agua filtrada que gracias al intercambio de calor adquiriría la temperatura de 17°C.



Figura 10: Experimento de estrés múltiple

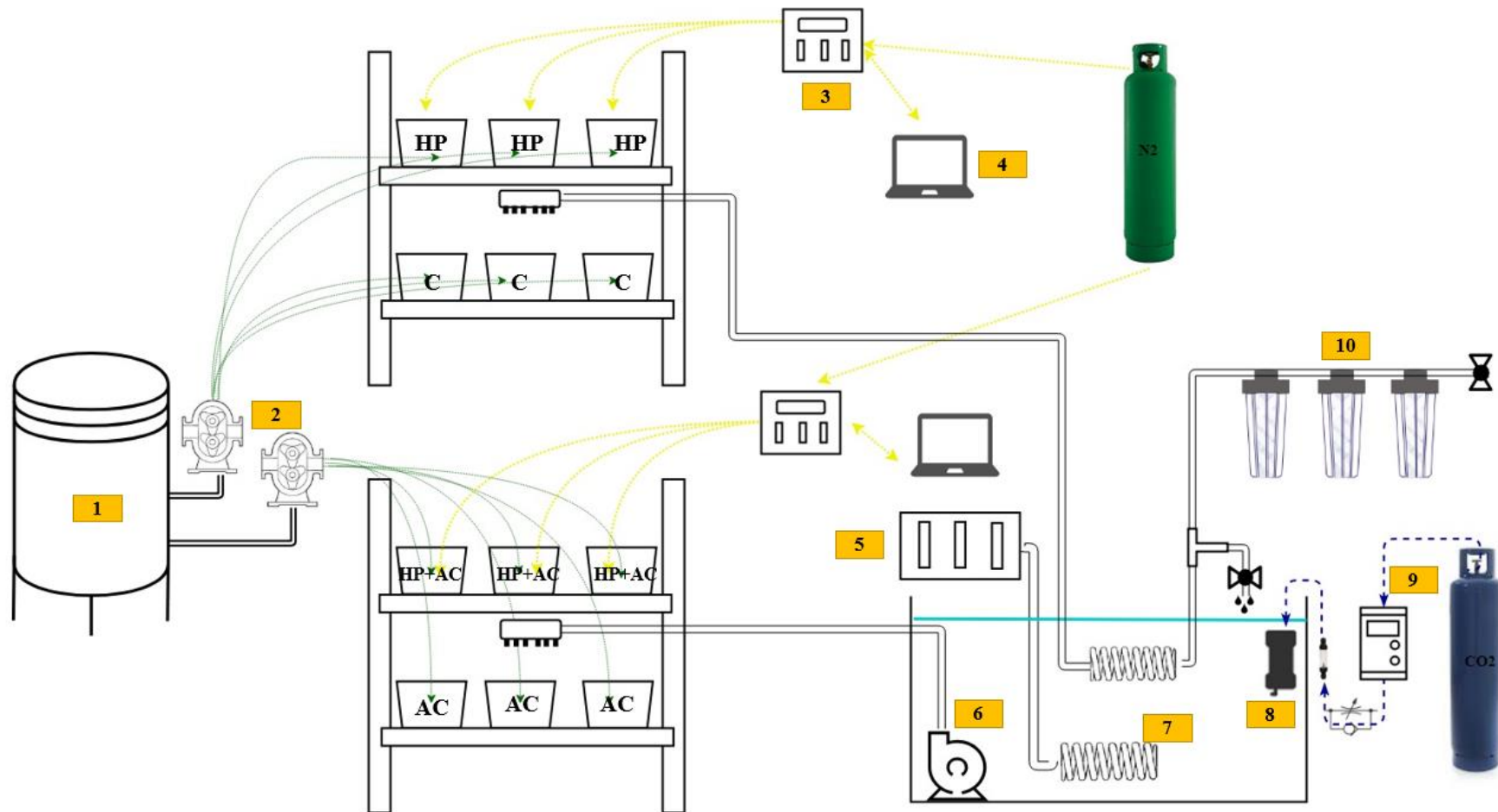


Figura 11: Esquema del experimento multiestrés. (1) Tanque de alimento, (2) bombas peristálticas, (3) controlador de paso de nitrógeno, (4) pantalla, (5) enfriador de agua, (6) bomba centrífuga, (7) mezclador de gas de CO₂, (8) contador de burbujas, (9) regulador de paso de CO₂ y (10) cartuchos de filtros de agua.

3.2.4. Medición de parámetros ambientales

Se hizo un control de parámetros físico-químicos continuamente, dos veces al día (9:00 am y 4:00 pm) en los 12 tanques experimentales. Por un lado, el pH se midió con la ayuda de un electrodo de pH (Sentix® 940-3), que fue calibrado semanalmente. Mientras que la saturación de O₂ y temperatura fueron registrados gracias a un sensor óptico de oxígeno y temperatura (FDO® 925). Ambos sensores fueron conectados a un multiparámetro WTW 3430 Set G.

3.2.5. Regulación de flujos de agua y alimento

Los individuos fueron alimentados continuamente las 24 h del día, con una mezcla de fitoplancton de proporciones similares, compuesta por *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros calcitrans*. El mix de microalgas fue suministrado hacia los 13 tanques (incluyendo el tanque blanco) por mangueras flexibles de PVC de 1/8 de pulgada que estuvieron conectadas a 3 bombas peristálticas (Figura 11).

Mientras que en cada tanque, el agua a 17°C ingresó por mangueras flexibles de PVC de 1/2" a un flujo (1.5 ml.s⁻¹). Su flujo era regulado gracias a llaves de paso (Figura 12).

Los flujos de entrada de alimento como de agua, fueron regulados y equilibrados a diario a fin de mantener un mismo flujo promedio de ingreso. De tal forma que el número de recambios en cada tanque o unidad experimental sea igual.

Cada tanque poseía una salida de agua, conformada por un reboce de una tubería de 1/2" de PVC (Figura 12).

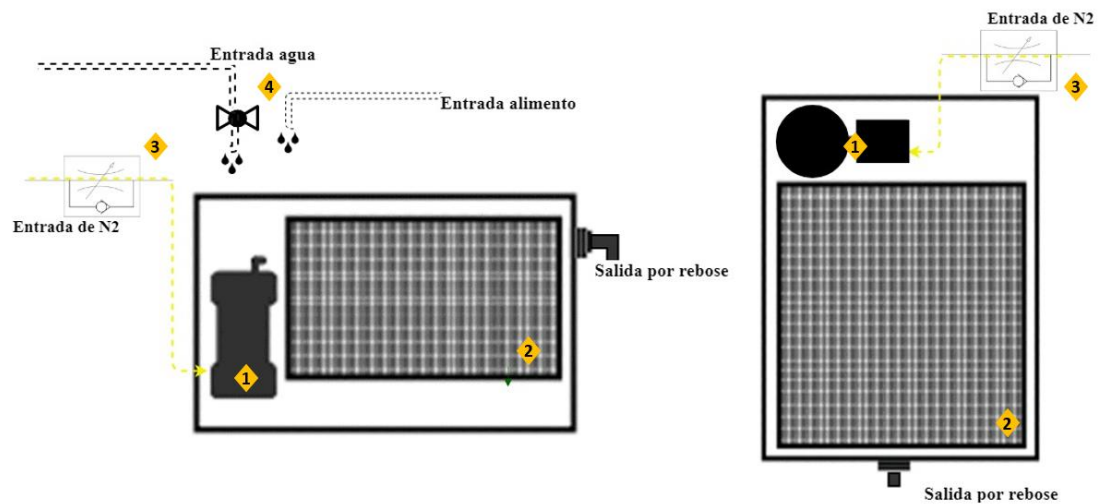


Figura 12: Vista lateral y superior de los tanques. (1): Mezclador de gases, (2) malla de plástico de ½” de cocada, (3): regulador de flujo de nitrógeno y (4) llave de paso de agua.

3.2.6. Limpieza y mantenimiento

La limpieza de los tanques se hizo de manera diaria y consistía en el sifoneo de las heces producidas por los individuos. El porcentaje de agua extraída por el sifoneo fue mínima y menor al 15% del volumen de cada tanque. A fin de la cuarta semana se hizo una limpieza total de los tanques.

3.3. DETERMINACION DE LA TASA DE ACLARAMIENTO

El cálculo de la tasa de aclaramiento fue medida con la expresión de Crisp (Crisp, 1971), que se describe a continuación:

$$TA = \frac{F}{n} \left(\frac{Fluo_{ent} - Fluo_{sal}}{Fluo_{sal}} \right)$$

En donde:

- TA: Tasa de aclaramiento (L.h⁻¹)
- F: Flujo (L.h⁻¹)
- n: Número de individuos
- Fluo_{ent}: Fluorometría de la cámara en blanco
- Fluo_{sal}: Fluorometría en los flujos de salida del tanque

3.3.1. Estandarización de la TA

Dado que la tasa de aclaramiento (TA) varía de acuerdo con el tamaño del individuo (Pouvreau *et al.*, 1999), lo cual complica cualquier comparación entre tratamientos y repeticiones, se estandarizaron a una altura de valva de 30 mm y a 1g de peso seco. Para lo cual se utilizó la fórmula de Bayne *et al.* (1987):

$$TA_{std} = TA_{exp} \times \left(\frac{X_{std}}{X_{exp}} \right)^b$$

En donde TA_{std} es la tasa de aclaramiento estandarizada, TA_{exp} es la tasa de aclaramiento experimental, X_{std} es la longitud o peso de estandarización, X_{exp} es la longitud o peso del individuo experimental y b es el exponente que relaciona la TA con la longitud. Se utilizó un valor de 2 como exponente de estandarización respecto a la longitud y 2/3 para la estandarización con respecto a peso (Aguirre *et al.*, 2017).

3.3.2. Conteo de microalgas para la preferencia relativa

En el conteo se identificó cada una de las 2 distintas especies a fin de determinar, por diferencia entre el tanque blanco y la salida de los tanques, la cantidad y proporción consumida de cada una. En tanto, la fórmula empleada para el conteo de microalgas fue la siguiente:

$$\text{Concentración (Cel/ml)} = \frac{\sum \text{Celulas}}{4} \times 10^4$$

En donde:

- $\sum cel$ = Suma de células de los cuadrantes extremos de la cámara Neubauer

3.4. REGISTRO DEL CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA

3.4.1. Tasa de crecimiento

La tasa de crecimiento (TC) en talla y peso fue estimada mediante la siguiente ecuación:

$$TC \left(\text{mm/día} \right) = \frac{\text{Altura}_f - \text{Altura}_i}{\Delta \text{Tiempo}}$$

$$TC \left(\text{g/día} \right) = \frac{\text{Peso}_f - \text{Peso}_i}{\Delta \text{Tiempo}}$$

3.4.2. Supervivencia

La supervivencia fue determinada mediante la expresión:

$$\text{Supervivencia (\%)} = \frac{\text{Ind}_{\text{día } n} - \text{Ind } m_{\text{día } n}}{\text{Ind}_{\text{día } n}} \times 100\%$$

En donde:

- $\text{Ind}_{\text{día } n}$ = Número de individuos totales en el día “n”
- $\text{Ind } m_{\text{día } n}$ = Número de individuos muertos en el día “n”

3.5. ANÁLISIS Y PROCESAMIENTO DE DATOS

El procesamiento de datos y análisis estadístico se realizó con el software R versión 3.6.1. R es un software de libre acceso que provee una gran variedad de técnicas estadísticas clásicas y multivariadas (R Core Team, 2018). Utiliza un lenguaje y entorno de programación para análisis estadístico y gráfico.

Antes de hacer uso de las pruebas no paramétricas, se hizo un ANOVA para evaluar las varianzas de las variables analizadas. Seguidamente, de una prueba de Shapiro-Wilk para analizar la distribución de los datos, y una prueba de Levene para analizar la homogeneidad de la varianza. El nivel de significación (α) fue establecido en 0.05 para todos los análisis. Para determinar si existían diferencias entre los tratamientos se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, seguidamente de la prueba Dunnett.

Para la modelación de la tasa de aclaramiento (TA) en función de la altura valvar y peso de *A. purpuratus*, se utilizó la función “*predict*” del software R, la cual predice modelos ajustando funciones.

Mientras que para modelar las curvas de crecimiento en cada tratamiento se usó la función “*nls*” del software R, que crea un modelo de regresión no lineal. La función exige que se asignen unos valores iniciales a los parámetros Beta (K y t_0) de la ecuación a estimar (Curva de Von Bertalanffy). Partiendo de los parámetros de crecimiento iniciales, estimados por Aguirre *et al.* (2014), ($K= 1.42$, $t_0 =0.083$), la función modeló y mediante un proceso de optimización numérica se aproximaron los parámetros seleccionados a los valores óptimos.

Asimismo, se hizo un análisis de componentes principales (PCA), con ayuda de la función “*prcomp*”.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CONDICIONES AMBIENTALES

Durante el experimento la temperatura en el tratamiento control (C) se mantuvo en un promedio de 16.97°C. Mientras que en los tratamientos de estrés mantuvieron un promedio de 16.88 °C, 16.93°C y 16.89°C en estrés por acidez (A), estrés por hipoxia (H) y estrés múltiple (I), respectivamente (Tabla 4). Al inicio de la cuarta semana se experimentó una tendencia a una baja de temperatura en todos los tratamientos (Figura 13a). La cual fue causada por errores de calibración del equipo enfriador de agua, además de la una baja de temperatura en las condiciones del laboratorio. Al inicio de la quinta semana la temperatura tuvo una tendencia a estabilizarse a la propuesta para la experimentación. A pesar de los cambios registrados entre tratamientos, el test de Kruskal Wallis indicó que no se registraron diferencias significativas en las temperaturas ($p > 0.05$). Por lo cual podemos decir, que todos los tratamientos fueron sometidos a las mismas condiciones de temperatura.

Por otro lado, el pH registrado indicó promedios de 7.76 en el tratamiento control, 7.39 en el tratamiento de estrés por acidez, 7.63 en estrés por hipoxia y 7.34 en estrés múltiple (Tabla 4). En la Figura 13b, se observa una disminución brusca de pH únicamente en el tratamiento de estrés por hipoxia (H) en la cuarta semana, debido probablemente a un aumento en la respiración de las conchas, microorganismos y materia orgánica presente en los tanques de ese tratamiento. A pesar de ello, el test de Kruskal Wallis indicó que no se registraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre el tratamiento control, con el cual comparte los mismos niveles de pH (7.8) para la experimentación, lo cual indicaría que fueron sometidos a las mismas condiciones de pH. Asimismo, el test de Kruskal Wallis registro que no existieron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos que tenían al pH bajo (7.4) como factor de estrés (estrés por acidez y estrés múltiple), lo cual indicaría que estos tratamientos también sometidos a las mismas condiciones de pH.

Por su parte, la saturación de oxígeno entre el tratamiento control y estrés por acidez, se mantuvieron en un promedio 99.31% y 98.16%, mientras que entre los tratamientos de

estrés múltiple e hipoxia un promedio de 19.93% y 19.77%. No se detectaron diferencias significativas ($p > 0.05$) según el test de Kruskal Wallis, entre los tratamientos de A vs C y H vs I, lo cual indicaría que estos tratamientos fueron sometidos a las mismas condiciones de saturación de oxígeno (Figura 13c).

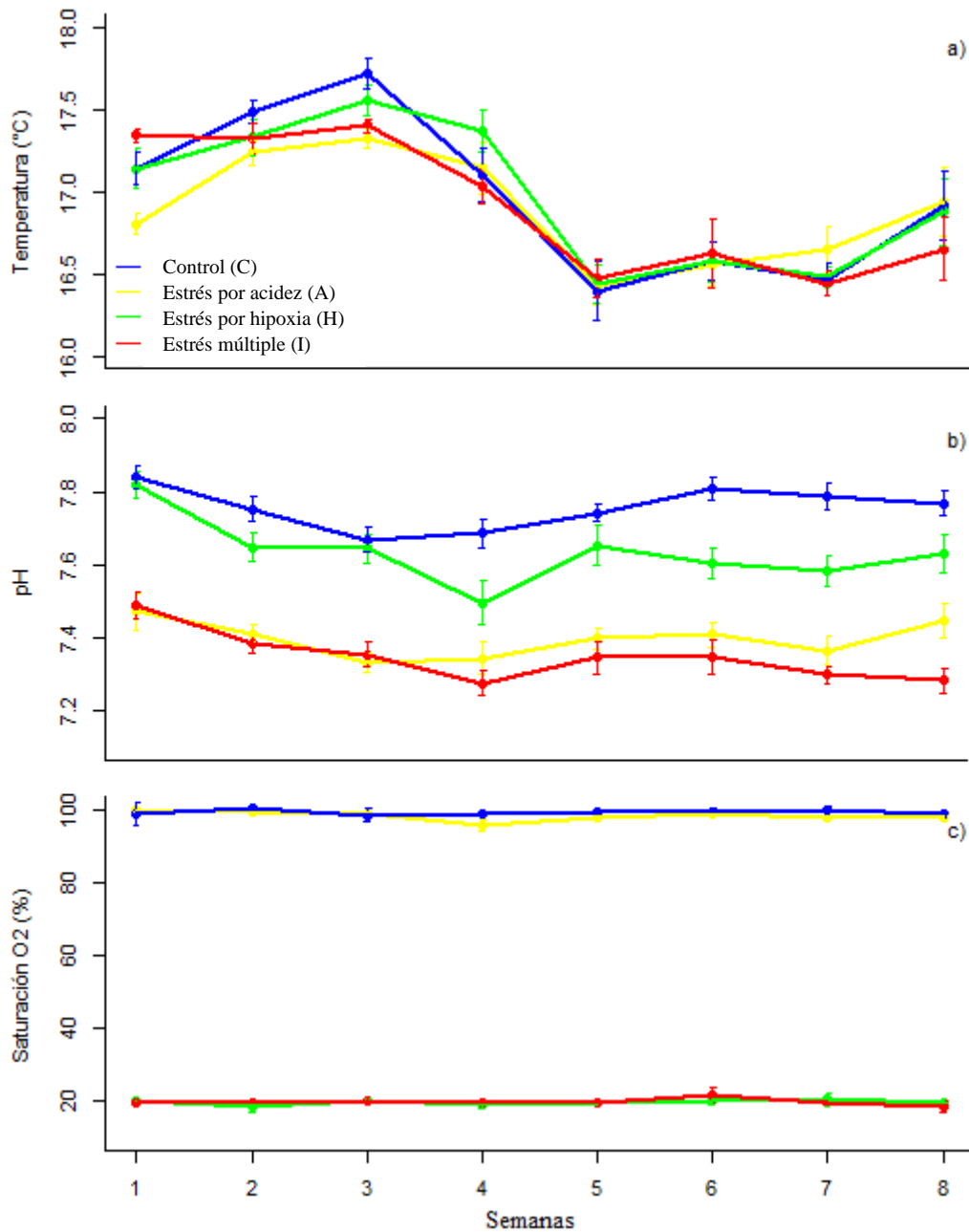


Figura 13: Variación semanal de parámetros ambientales a) temperatura promedio (°C), b) pH y c) saturación de oxígeno (%). Las barras verticales indican intervalos de confianza al 95%

Tabla 4: Parámetros ambientales durante el experimento. Se muestra el promedio y la desviación estándar (entre paréntesis)

Tratamiento	Temperatura	pH	Saturación OD
Control (C)	16.97 (0.61)	7.76 (0.12)	99.31 (3.34)
Estrés por acidez (A)	16.88 (0.50)	7.39 (0.13)	98.16 (2.85)
Estrés por hipoxia (H)	16.93 (0.59)	7.63 (0.18)	19.77 (2.83)
Estrés Múltiple (I)	16.89 (0.13)	7.34 (0.13)	19.93 (3.31)

4.2. TASA DE ACLARAMIENTO

4.2.1. Tasa de aclaramiento en el tiempo

En la figura 14, se muestra la evolución de la TA ($\text{Lh}^{-1} \text{indv}^{-1}$) en los cuatro tratamientos a lo largo de los dos meses de experimentación. El análisis de regresión correspondiente a cada tratamiento mostró pendientes positivas. Los valores de las tasas de aclaramiento iniciales fluctuaron en los rangos de $0.06\text{-}0.38 \text{Lh}^{-1}$ en los tratamientos, mientras que los finales en $0.92\text{-}3.01 \text{Lh}^{-1}$, mostrándose un aumento de 89%. Este aumento de la TA a lo largo del tiempo, está relacionado con el aumento de la altura promedio (12.69 a 28.67 mm) y el peso somático de los individuos (0.092 a 1.38 g).

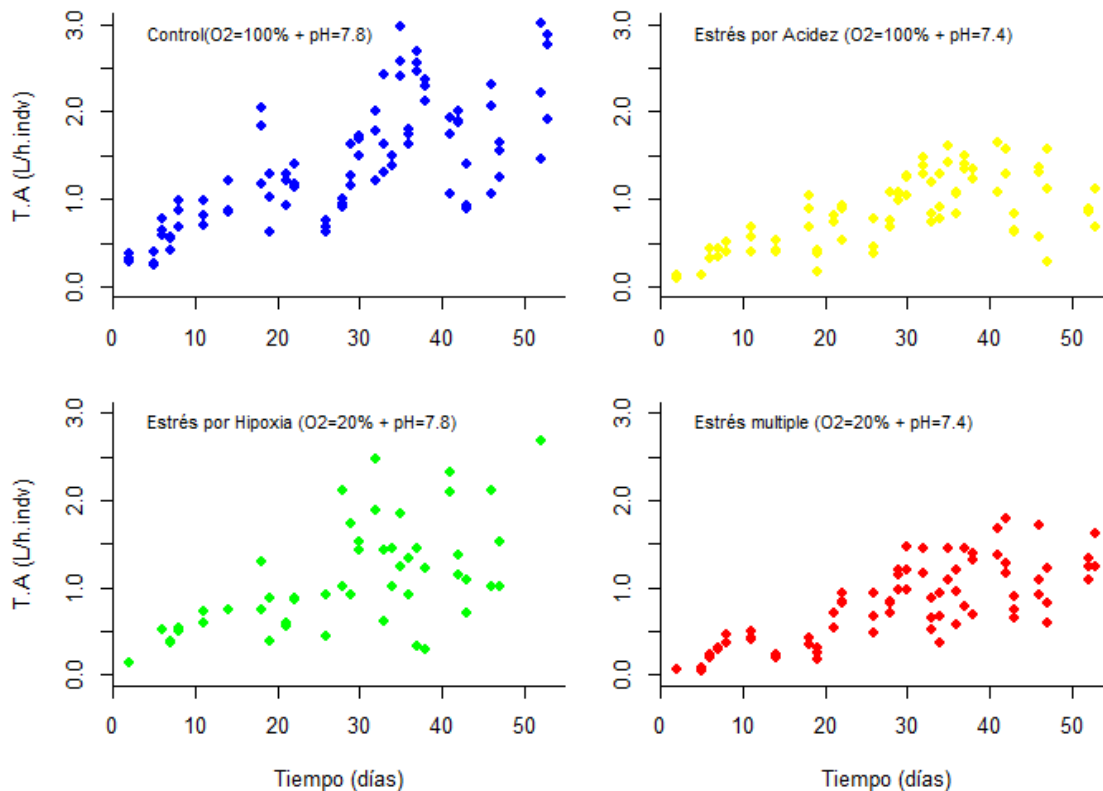


Figura 14: Tasa de aclaramiento ($\text{Lh}^{-1} \text{indv}^{-1}$) de la concha de abanico, por tratamiento, durante el periodo de experimentación

Por un lado, gráficamente se aprecian menores TA en todos los tratamientos de estrés (estrés por hipoxia, estrés por acidez y estrés múltiple) en comparación al tratamiento control. Esto podría ser consecuencia de un ajuste fisiológico relacionado a la regulación de su alimentación en función a sus necesidades fisiológicas y energéticas (Norkko, 2006; Navarro, 2002).

Por otro lado, la presencia de pseudoheces observada en los tratamientos de estrés por acidez, estrés por hipoxia y estrés múltiple puede deberse a que la concha de abanico se encontraba en situaciones poca demanda energética. Al respecto, Ho Kang *et al.* (2008), afirman que la tasa de aclaramiento en el mejillón se reduce al disminuir la demanda metabólica. Mientras que, Bayne *et al.* (1982) y Ward y Shumway (2004) afirman que este ajuste ante condiciones adversas involucra mecanismos de regulación previos a la ingesta, como la selección y el rechazo de material alimenticio (producción de pseudoheces) a nivel del ctenidio y palpos labiales.

Por su parte, Jørgensen (1986) afirma que la filtración es una actividad de bajo costo energético, lo cual explicaría que la TA en la presente investigación no disminuyera abruptamente ni llegara a niveles críticos, a pesar de las condiciones de estrés múltiple.

4.2.2. Modelo de ajuste entre las tasas de aclaramiento en talla y peso

La figura 15 y 16 muestran la relación entre la TA (Lh^{-1}) vs la talla (mm) y la TA (Lh^{-1}) vs el peso somático (g) de *A. purpuratus* respectivamente para cada tratamiento. Se puede observar que la TA presento una relación alométrica en función a la talla y peso. Las curvas de ajuste obtenidas de los tratamientos de estrés (por acidez, por hipoxia y múltiple) mostraron tener diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto a la curva del tratamiento control. Sin embargo, no existió diferencia significativa ($p > 0.05$) entre la curva de estrés por acidez y estrés múltiple.

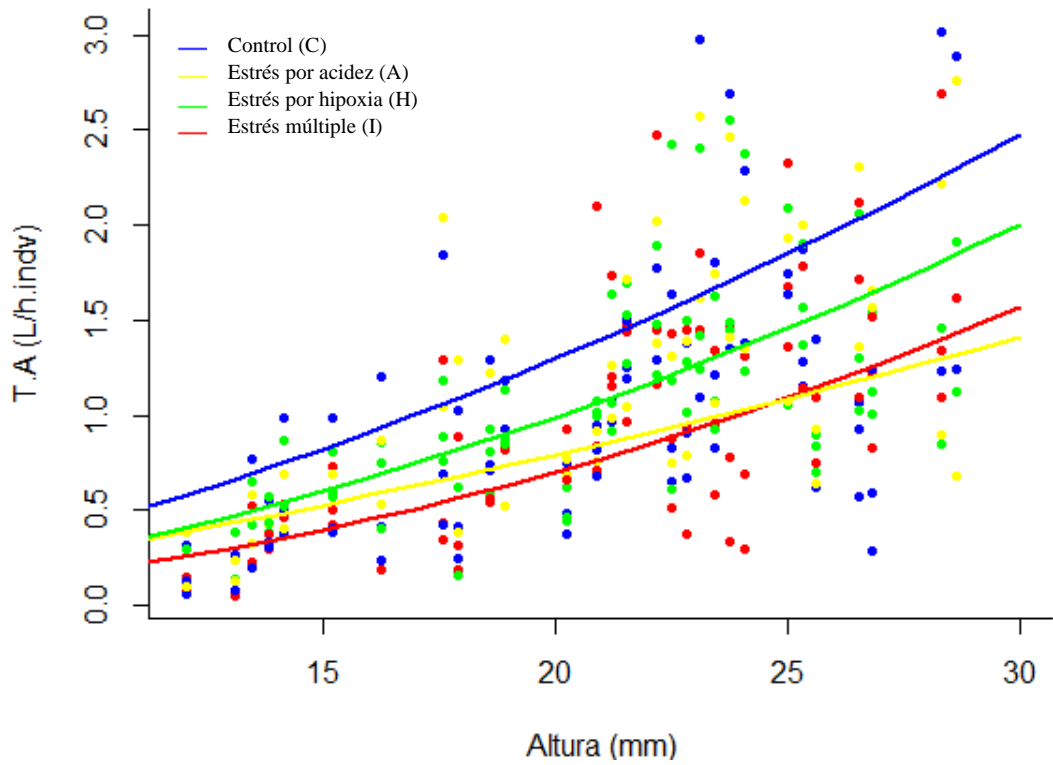


Figura 15: Relación alométrica de la tasa de aclaramiento ($Lh^{-1}indv^{-1}$) y la altura valvar (mm) de *A. purpuratus* según tratamiento.

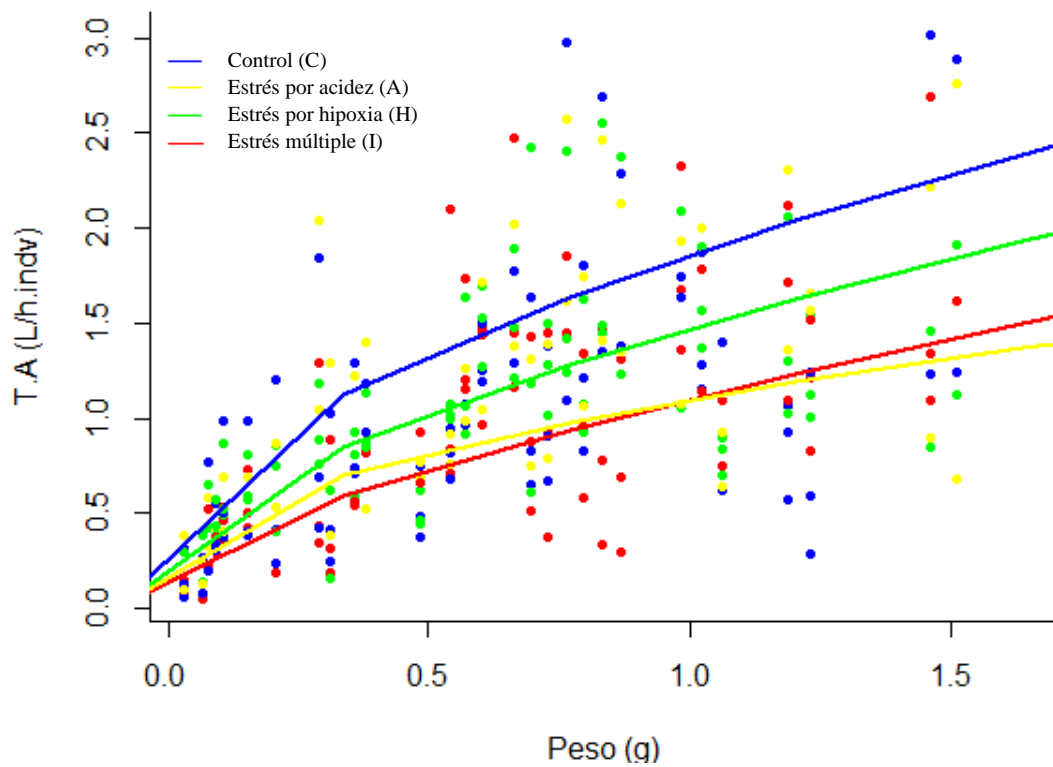


Figura 16: Relación alométrica de la tasa de aclaramiento ($Lh^{-1}indv^{-1}$) y peso (g) de *A. purpuratus* según tratamiento

La tabla 5 muestra los parámetros de las regresiones que se obtuvieron para el ajuste en talla por tratamiento. El rango en el que se encontró la constante de normalización (a) fue de 0.17-0.43, mientras que el valor del exponente alométrico (b) entre 1.41-1.98 para el rango de tallas trabajadas. Asimismo, el valor la constante de normalización del tratamiento control versus el de estrés múltiple fue significativamente mayor. Según, Winter (1976) y Bernard (1983), citados por Filgueira (2007), un menor índice de condición, puede ser explicado como una respuesta a condiciones ambientales desfavorables, por lo cual, el tratamiento de estrés múltiple tiene una menor constante de normalización.

Tabla 5: Coeficientes alométricos y límites de confianza (en paréntesis) del modelo tasa de aclaramiento en función a la altura valvar de *A. purpuratus* según tratamiento

Tratamiento	a	b	R²	N
Control (C)	0.430 (0.305-0.860)	1.59 (1.229-1.984)	0.64	85
Estrés por acidez (A)	0.290 (0.207-0.407)	1.41 (1.036-1.834)	0.58	77
Estrés por hipoxia (H)	0.296 (0.144-0.523)	1.74 (1.048-2.563)	0.49	50
Estrés múltiple (I)	0.177 (0.118-0.252)	1.99 (1.570-2.430)	0.73	79

Mientras que, la tabla 6 muestra las variables alométricas en el ajuste en peso por tratamiento. Los rangos en que se encontraron (a) y (b) fueron 0.59- 1.127 y 0.48-0.677 respectivamente. Asimismo, el valor la constante de normalización del tratamiento control fue superior al de los tratamientos de estrés por acidez y estrés múltiple.

Tabla 6: Coeficientes alométricos y límites de confianza (en paréntesis) del modelo tasa de aclaramiento en función al peso de *A. purpuratus* según tratamiento

Tratamiento	a	b	R ²	N
Control (C)	1.127 (0.997-1.254)	0.543 (0.419-0.677)	0.59	85
Estrés por acidez (A)	0.699 (0.615-0.781)	0.484 (0.354-0.626)	0.47	77
Estrés por hipoxia (H)	0.848 (0.667-1.021)	0.594 (0.358-0.875)	0.47	50
Estrés múltiple (I)	0.587 (0.507-0.667)	0.677 (0.537-0.832)	0.67	79

Los valores b obtenidos para el ajuste de la TA vs peso (Tabla 6) fueron similares a los reportados por Navarro y Gonzáles (1998) en *A. purpuratus* en Chile (b=0.44) y a los de Cabezas (2016) en la Bahía de Paracas (b=0.223-0.586). Así como también, a los reportados para especies similares; *Pinctada margarifera* (b= 0.573) (Pouvreau *et al.*,1999), *M. chilensis* b= 0.38-0.74 (Winter, 1976 citado por Povreau *et al.*, 1999).

Según Filgueira (2007), las diferencias tan acusadas entre los modelos de ajuste TA vs talla y peso para una misma especie pueden evidenciar una elevada variación en la estimación de los parámetros alométricos, lo cual afirma el rechazo la hipótesis de existencia de una relación alométrica universal. Cabe decir que los exponen alométricos hallados en esta investigación, corresponden a un ajuste de TA vs peso y talla de un rango reducido de tallas y pesos.

4.2.3. Tasa de aclaramiento específica

Es conocido que en los seres vivos las tasas fisiológicas son más elevadas en estadios tempranos del desarrollo. En la presente investigación, las tasas de aclaramiento específicas (L.h⁻¹.g⁻¹) fueron mayores al inicio del experimento en comparación al final (Figura 17). Esto pudo deberse al mayor requerimiento energético por unidad de peso de individuos de menor tamaño (Resgalla *et al.*, 2004). Las diferencias de las tasas de aclaramiento específicas entre tratamientos, por semana, están detalladas en el Anexo 7.

La tasa de aclaramiento específica en nuestros tratamientos de estrés (I, H y A) estuvo entre los valores de 0.49-0.99 L.h⁻¹.g⁻¹ para un rango de tallas de 12 a 31mm. Estos están dentro de los rangos reportados por Cabezas (2016) para *A. purpuratus* (0.448 - 3.046

$L \cdot h^{-1} \cdot g^{-1}$) en un rango de tallas de 25 a 55 mm en la bahía de Sechura. Así mismo, valores de $0.68 L \cdot h^{-1} \cdot g^{-1}$ para individuos de 45 a 55mm, fueron reportados por Balducci y Mendo (2011) en la misma bahía, valor que se encuentra en el rango obtenido en el presente estudio.

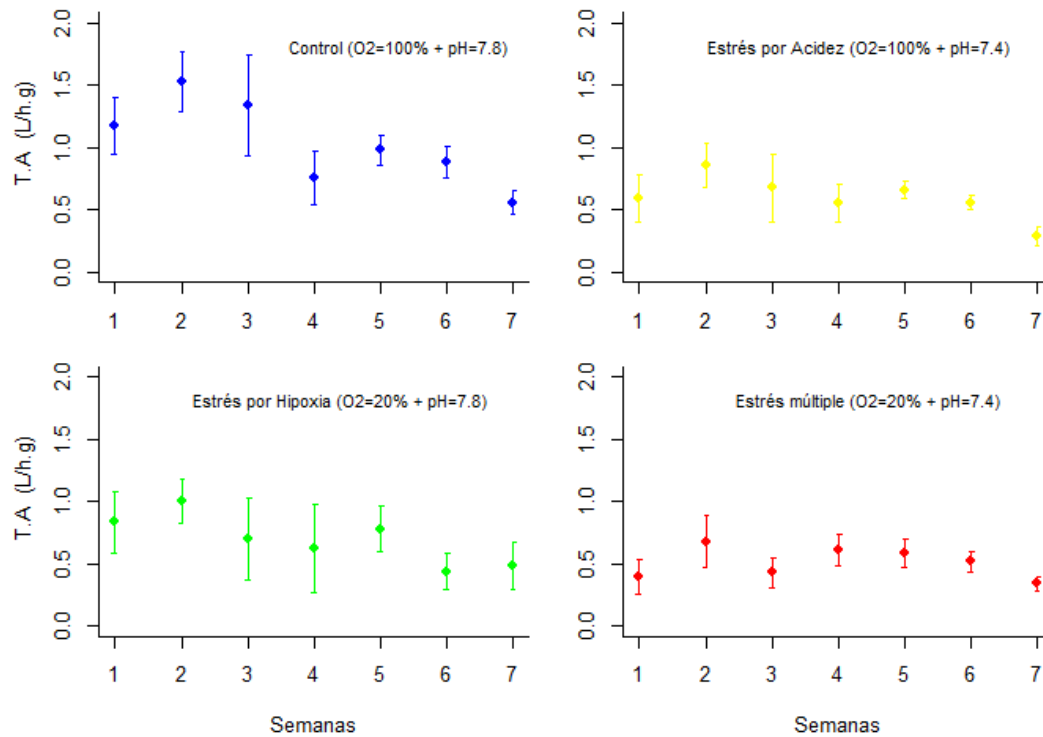


Figura 17: Tasas de aclaramiento específicas ($L \cdot h^{-1} \cdot g^{-1}$) en el tiempo (Semanas)

La semana uno, al inicio del experimento, las TA específicas ($L \cdot h^{-1} \cdot g^{-1}$) en los tratamientos de estrés por acidez y estrés múltiple fueron significativamente menores ($p < 0.05$) que en el tratamiento control. Asimismo, se observó una TA específica significativamente menor en el tratamiento de estrés múltiple en comparación al tratamiento de estrés por hipoxia en la primera semana ($p < 0.05$). Al finalizar el experimento, en la semana siete, las TA específicas continuaron siendo significativamente menores ($p < 0.05$) en los tratamientos de estrés múltiple y estrés por acidez, en comparación al tratamiento control, además de ser significativamente menores al tratamiento de estrés por hipoxia. Lo cual mostró que la demanda energética por unidad de peso en los tratamientos que tenían a la acidez como variable estresora (A y I) fue menor.

Owen (1974), indica que las tasas de alimentación específicas en bivalvos decrecen con el incremento del tamaño. Por su parte, Bayne (1976) explica que esto puede ser causa de una reducción en la relación del área de las branquias-peso de tejido. Ya que existe una reducción en la relación del área branquial-peso tejido conforme crece el organismo.

4.2.4. Tasa de aclaramiento estandarizadas

La figura 18a y 18b, muestran la TA estandarizada para un individuo de una talla de 30mm (TA_{st30mm}) y la TA estandarizada para un individuo de un 1g de peso seco (TA_{st1g}), respectivamente, en todos los tratamientos. Los resultados obtenidos en la TA_{st30mm} indicaron las mismas tendencias que la TA_{st1g} .

La mayor TA_{st30mm} se registró en el tratamiento que no poseía ninguna variable estresora (control) ($2.84 L \cdot h^{-1}$), seguida por el tratamiento de estrés por hipoxia ($2.17 L \cdot h^{-1}$), estrés por acidez ($1.69 L \cdot h^{-1}$) y estrés múltiple ($1.48 L \cdot h^{-1}$). Mientras que, TA_{st1g} mostraron las mismas tendencias siendo mayor en el tratamiento control ($6.319 L \cdot h^{-1}$), seguido de estrés por hipoxia ($4.837 L \cdot h^{-1}$), estrés por acidez ($3.767 L \cdot h^{-1}$) y estrés múltiple ($3.302 L \cdot h^{-1}$) (Tabla 7). Los resultados muestran una reducción de un 48%, 40% y 24% en las tasas de aclaramiento de los tratamientos de estrés múltiple (I), estrés por acidez (A) y estrés por hipoxia (H) respectivamente, con respecto al tratamiento control.

El análisis estadístico de Kruskal Wallis, aplicado a ambos casos, indicó que existieron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos de estrés (H y A) y estrés múltiple (I) con respecto al control (C), sin embargo, no existieron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre el tratamiento de estrés por acidez y estrés múltiple.

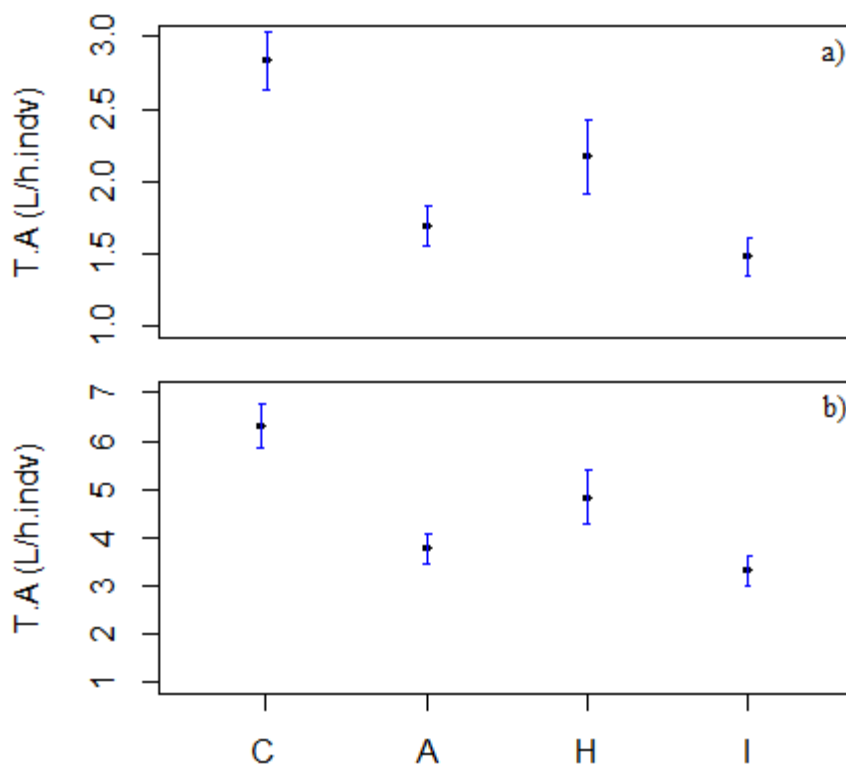


Figura 18 : Tasa de aclaramiento estandarizada promedio ($L \cdot h^{-1} \cdot ind^{-1}$) a) estandarizada a una talla de 30mm b) estandarizada para un individuo de 1g de peso seco, por tratamiento: C) Control, A) Estrés por acidez, H) Estrés por hipoxia, I) Estrés múltiple. Las barras verticales indican intervalos de confianza al 95%

Tabla 7: Promedio de tasa de aclaramiento estandarizada a 30mm (TA_{st30mm}) y tasa de aclaramiento estandarizada a 1g de peso seco (TA_{st1g}), desviación estándar (entre paréntesis)

Tratamiento	$T.A_{st30mm}$ ($L \cdot h^{-1} \cdot ind^{-1}$)	$T.A_{st1g}$ ($L \cdot h^{-1} \cdot ind^{-1}$)
Control (C)	2.836 (0.952)	6.319 (2.126)
Estrés por acidez (A)	1.689 (0.632)	3.767 (1.413)
Estrés por hipoxia (H)	2.169 (0.899)	4.837 (2.011)
Estrés múltiple (I)	1.480 (0.609)	3.302 (1.367)

Con respecto a las condiciones libres de estrés, la TA estandarizada para un individuo de 1g de peso seco ($T.A_{st1g}$) en el tratamiento control (6.31 L h^{-1}) fue similar a la reportada por Aguirre *et al.* (2017) (5.05 L.h^{-1}) quien trabajó con *A. purpuratus* a una temperatura de 16°C y a un porcentaje de saturación de saturación mayor al 90%, similar al usado en esta investigación. Asimismo, nuestros resultados se asemejan a los reportados para especies similares, tales como *Chlamys Ferrari*, 5.95 L.h^{-1} a 15.4°C (Zhou *et al.* 2006) y 6.2 L.h^{-1} a 18°C para *Argopecten irradians* (Riisgård *et al.*, 1988).

Por otro lado, nuestros resultados difieren de los reportados por Dionicio y Flores (2015), quienes reportaron una TA de 0.24 L h^{-1} para *A. purpuratus* de una talla promedio de 37 mm en condiciones de laboratorio a temperatura y saturación de O_2 similares a los nuestros. Estas diferencias pueden deberse al uso de un sistema cerrado para la estimación de la TA, en el cual no interviene un flujo de corriente de agua (“*Clearance Method*”). Además, en nuestro tratamiento la cantidad promedio de fitoplancton en nuestros tanques se mantuvo en un promedio de $20\,000 \text{ cel.ml}^{-1}$, mientras que en el tratamiento de Dionicio y Flores (2015) tuvo un promedio de $1 \times 10^6 \text{ cel ml}^{-1}$. Al respecto, Bayne *et al.*, (1987) muestra una relación inversa entre la concentración de fitoplancton y la TA, que podría explicar las diferencias entre el trabajo de Dionicio y Flores (2015) y el presente estudio.

La TA de *A. purpuratus* bajo condiciones de hipoxia fue significativamente menor con respecto al control ($p < 0.05$). Resultados similares en la misma especie fueron encontrados por Aguirre *et al.* (2017) bajo condiciones de hipoxia cíclica diaria (12h:12h normoxia:hipoxia), concluyendo que en periodos de hipoxia cíclica la TA puede reducirse en un 30%. En el presente estudio hubo una reducción del 24% de la TA, valor muy cercano a lo reportado por estos autores. Es importante mencionar que niveles de oxígeno por debajo de 24.4 % de saturación de oxígeno pueden afectar la respuesta metabólica de la especie (Aguirre *et al.*, 2016).

Las TA estandarizadas a 30 mm ($T.A_{st30mm}$: 2.17 ± 0.89) obtenidas en el presente estudio estuvieron dentro del rango de valores reportados por Aguirre *et al.* (2017) bajo condiciones de hipoxia ($T.A_{st30mm}$: $1.84\text{-}2.08 \text{ L.h}^{-1}$). Estas similitudes serían podrían deberse a que en ambos experimentos se empleó el método de “*Steady State Method*” para la estimación de la TA además de haber sido realizado en un laboratorio a condiciones simuladas y controladas. Investigaciones con otros bivalvos, *Paphies australis*, *Ruditapes decussatus*, *Perna viridis*, también reportaron una disminución de la

TA por stress causado por hipoxia (Sobral y Widdows 1997; Norkko *et al.*, 2006; Wang y Widdows, 1993).

La TA en los tratamientos que tenían a la acidez como variable estresora (A y I) fue significativamente menor ($p < 0.05$) en comparación a los demás tratamientos. Esto pudo deberse a daños mecánicos en las estructuras de filtración causado por la prolongada exposición a pH ácido. Existen varios estudios que muestran efectos negativos sobre las tasas de aclaramiento e ingestión en bivalvos, posiblemente debido a deficiencias en el funcionamiento de los sistemas digestivo y de filtrado (Lardies *et al.*, 2017; Navarro *et al.*, 2013; Vargas *et al.*, 2014). En China, Liu y He, 2012, reportaron una disminución en la tasa de aclaramiento de los bivalvos *Chlamys nobilis* y *Perna viridis* a niveles de pH bajos de 7.7 y 7.4; mientras en *Pinctada fucata*, a los mismos niveles de pH, la TA aumenta. En Chile, Lardies *et al.* (2017) reportaron que el pH bajo (es decir alta pCO_2) en el agua de mar afecta la salud de *A. purpuratus* a través de la atrofia de la glándula digestiva y de órganos que encargados de la filtración. Por su parte una exposición prolongada (mayor a 35 días) a pH bajo de 7.6, produjo una disminución en la tasa de aclaramiento en individuos juveniles de *Mytilus chilensis* y *Perumytilus purpuratus* (Navarro *et al.* 2013; Vargas *et al.*, 2014).

En el presente trabajo se encontró que el pH bajo afecta la TA en mayor medida que la hipoxia. Se sabe que, en condiciones de pH bajo, los bivalvos aplican mecanismos similares a los aplicados cuando se encuentran en condiciones de bajo oxígeno; como la depresión metabólica (Jansson *et al.*, 2015). Sin embargo, en condiciones de pH ácido la hipercapnia, o no compensación de pH intra-extra celular puede representar un costo energético adicional lo cual puede estar relacionada a la reducción mayor de la TA (Cummmings *et al.*, 2011 y Stumpp *et al.*, 2011, citados por Vargas *et al.*, 2014).

Roney *et al.*, 2009 afirma que una disminución en la TA puede explicar una disminución del gasto energético para otros procesos fisiológicos. Con lo cual, las diferencias significativas entre las TA entre el tratamiento de control (C) y los tratamientos de estrés y estrés múltiple (H, A y I) pueden explicar los efectos en reducción en parámetros de crecimiento y sobrevivencia encontrados.

Cabe decir que las condiciones simuladas a nivel de laboratorio nunca son idénticas a las del ambiente natural, dado a que, en este último, existen una decena de variables adicionales. Por lo cual, la extrapolación de las tasas de aclaramiento obtenidas puede ser arriesgada, por lo tanto, debe subrayarse la necesidad de "intercalibrar" con los estudios *in situ*. A pesar de ello, los datos obtenidos dan una noción de lo que ocurre en el medio natural.

4.3. SELECTIVIDAD DE PARTICULAS

La selectividad por *I. galbana* fue mayor en el tratamiento control (58.41%) y menor en el tratamiento de estrés por hipoxia (45.8%), mientras que en el tratamiento de acidez e hipoxia se obtuvieron consumos de 55.0% y 47.8% respectivamente. En cuanto a consumo de *C. calcitrans*, fue mayor en el tratamiento de estrés por hipoxia (54.2%) y menor en el tratamiento control (41.6%), mientras que el tratamiento de estrés múltiple y estrés por acidez de 52.23% y 45%, respectivamente (Figura 19). Sin embargo, la prueba de Kruskal Wallis arrojó que no existieron diferencias significativas ($p < 0.05$) en la selectividad de *I. galbana* y *C. calcitrans* en los tratamientos. Esto pudo ocurrir porque ambas microalgas poseen características similares que favorecen su fácil selección.

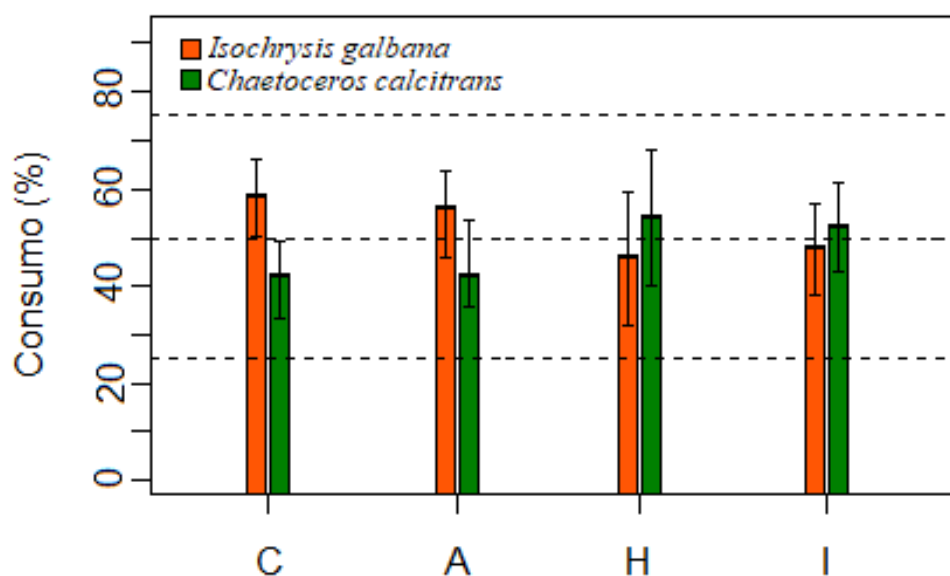


Figura 19: Selectividad de partículas por tratamiento: C) Control, A) Estrés por acidez, H) Estrés por hipoxia, D) Estrés múltiple. Las barras verticales indican intervalos de confianza al 95%

Según Foighil *et al.* (1990), la capacidad de retención de las partículas alimenticias está en función de su tamaño y es un aspecto fundamental de la biología y ecología de los organismos filtradores. Lora Vilchis *et al.* (2004), indican que las dimensiones de *C. calcitrans* (3-7 μm) e *I. galbana* (5-6 μm) se encuentran en el umbral de eficiencia de retención. Por lo cual la selectividad de estas dos especies, para este rango de tallas de *A. purpuratus* parecería no estar relacionada al tamaño de microalgas.

Por su parte, Bricelj y Shumway (1991) indican que los miembros de la familia Pectinidae pueden retener con eficiencia partículas que tienen de 5 a 7 μm . Mientras que, la

capacidad de retener partículas de menor dimensión varía de especie a especie y los microorganismos menores de 1 μm no pueden ser retenidos por estos filtradores.

Helm *et al.* (2006), afirman que *I. galbana* se caracteriza por no poseer pared celular, ser flagelada y con movilidad; mientras que *C. calcitrans* se caracteriza por no presentar movilidad y poseer setas largas y delgadas conformadas de silicio. Su composición energética ha sido descrita por Lora Vilchis *et al.* (2001) mostrando valores similares entre ambas microalgas, alcanzando valores de 19.8 $\text{mJ}\cdot\text{mg}^{-1}$ en *I. galbana* y 19.1 $\text{mJ}\cdot\text{mg}^{-1}$ en *C. calcitrans*. Por lo cual, un mayor consumo de una con respecto a la otra, no representaría diferencias significativas en la captación de energía. Aun así, es necesario mencionar que los perfiles de EPA y DHA son mayores en *I. galbana* (Napolitano, 1990), lo cual hace probable a que el tratamiento control haya experimentado un mejor crecimiento por su mayor consumo.

Rouillon *et al.* (2002) reportó en un experimento realizado en la bahía de Independencia que la concha de abanico poseía un criterio selectivo con preferencia a algunas especies. Sin embargo, este comportamiento se debió a que la oferta alimentaria *in situ* es muy amplia a diferencia de nuestras condiciones experimentales. Encontrándose en el medio natural decenas de microalgas además de otros componentes particulados característicos de un seston rico en términos productividad.

4.4. TASA DE CRECIMIENTO

La figura 20a y 20b muestra la evolución temporal del crecimiento en altura y peso, respectivamente. En ellas se evidencian que a partir de la segunda semana de experimentación comenzaron a observarse diferencias significativas ($p < 0.05$) en las alturas y pesos entre los tratamientos. Siendo las evidencias más apreciables las observadas entre los tratamientos C vs A, C vs I, H vs A y H vs I tanto en talla y peso.

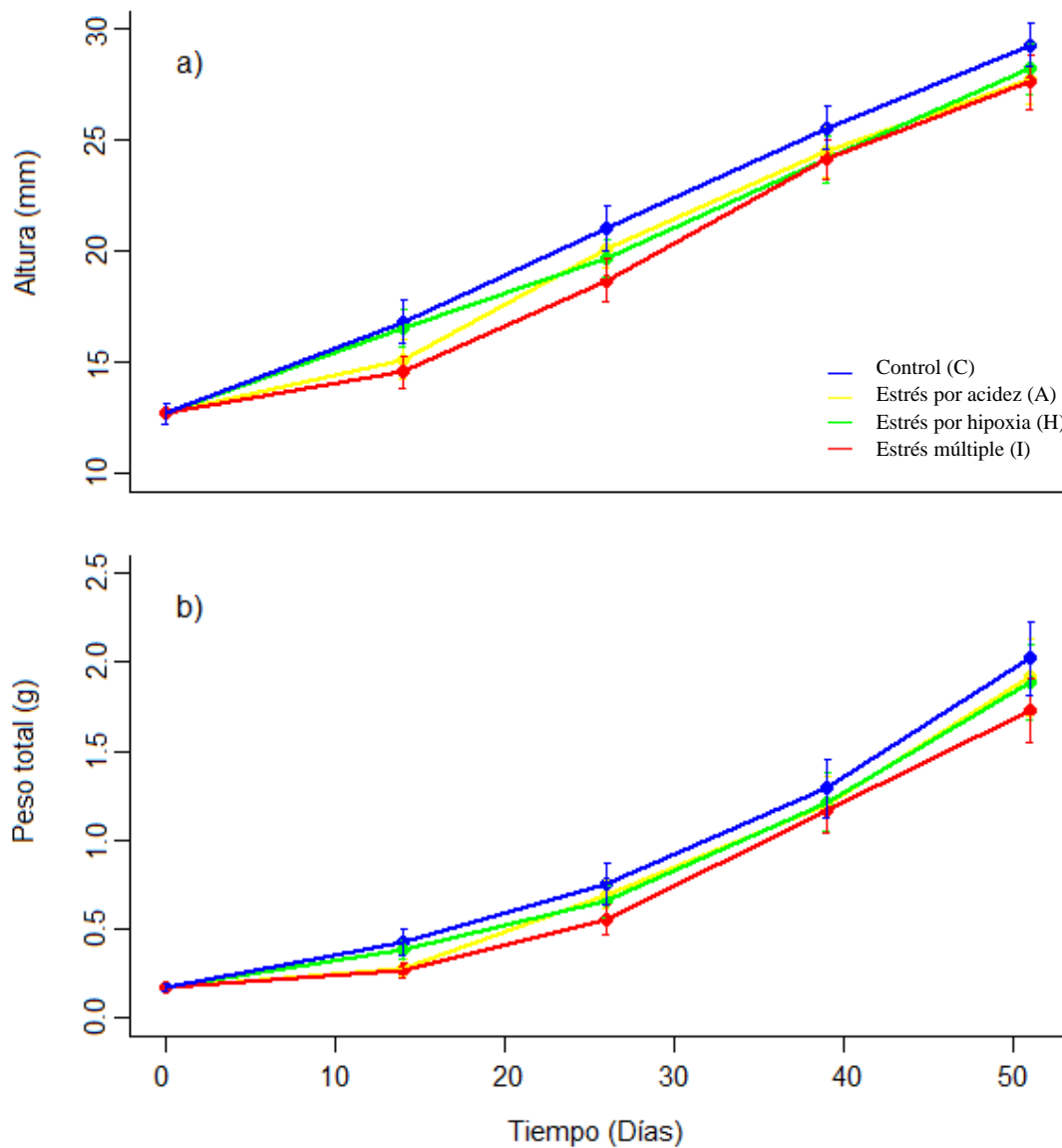


Figura 20: Evolución temporal del crecimiento por tratamiento. a) crecimiento en altura (mm), b) crecimiento en peso (g). Las barras verticales indican intervalos de confianza al 95%

Las tasas de crecimiento en altura demostraron presentar diferencias significativas ($p < 0.05$) según el test de Kruskal Wallis, siendo mayor en el tratamiento control $0.332 \text{ mm.dia}^{-1}$ y menor en el tratamiento de estrés múltiple (I) $0.298 \text{ mm.dia}^{-1}$. En cuanto a los tratamientos de estrés por hipoxia y estrés por acidez las tasas de crecimiento fueron 0.31 mm.dia^{-1} y 0.30 mm.dia^{-1} respectivamente, entre ellas no existieron diferencias significativas ($p > 0.05$) (Figura 21). Con lo cual el mayor promedio de alturas finales alcanzadas fue el tratamiento control ($29.26 \pm 2.62 \text{ mm}$) y el menor en el tratamiento de estrés múltiple ($27.6 \pm 3.32 \text{ mm}$). Las alturas mínimas y máximas alcanzadas por tratamiento fueron respectivamente de 24.4 y 33.4 en el control, 22.1 y 32.2 en estrés por acidez, 22.25 y 32.8 en estrés por hipoxia y 22.1 y 38.55 en estrés por múltiple.

El test de Kruskal Wallis aplicado para comparar la altura valvar al final del experimento mostro diferencias significativas ($p < 0.05$) entre el control y los tratamientos de estrés múltiple (I) y estrés por acidez (A).

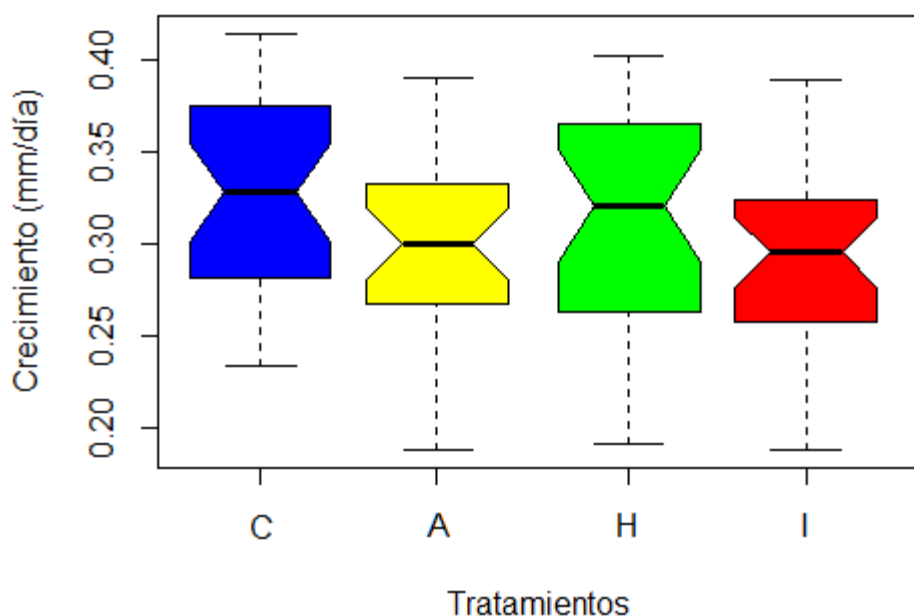


Figura 21: Tasas de crecimiento en talla (mm.dia^{-1}) final, según tratamiento: C) Control, A) Estrés por acidez, H) Estrés por hipoxia, I) Estrés múltiple. Las barras verticales indican intervalos de confianza al 95%.

La tasa de crecimiento en peso fue significativamente menor en el tratamiento de estrés múltiple (I), mostrando valores de $0.0424 \text{ g.dia}^{-1}$ (Figura 22) y siendo significativamente inferior ($p < 0.05$) con respecto al tratamiento control, según el test de Kruskal Wallis. La

misma prueba estadística, mostro que no existieron diferencias significativas ($p > 0.05$) en la tasa de crecimiento en peso entre los tratamientos de hipoxia, acidez y el control. En relación al peso final se registraron diferencias significativas entre el tratamiento de interacción y control.

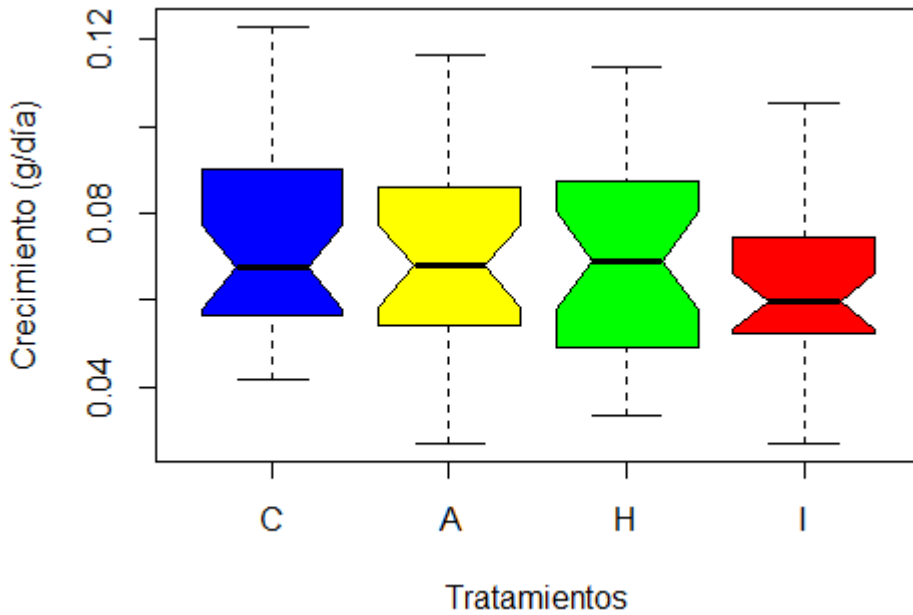


Figura 22: Tasas de crecimiento en peso (g.día^{-1}) final, según tratamiento: C) Control, A) Estrés por acidez, H) Estrés por hipoxia, I) Estrés múltiple. Las barras verticales indican intervalos de confianza al 95%.

Las tasas de crecimiento (0.29 a 0.33 mm.día^{-1}) en esta investigación (Tabla 8), fueron similares a las encontradas en otras investigaciones realizadas en la misma especie en el medio natural. Alcazar y Mendo (2008) reportaron crecimiento en altura valvar de 0.33 mm.día^{-1} para el cultivo suspendido en juveniles de *A. purpuratus* (10mm de altura valvar) en Samanco (9°S) y un crecimiento en peso de que vario de 0.009 y $0.100 \text{ g. día}^{-1}$. Asimismo, Cisneros *et al.* (2008) reportaron tasas de crecimiento entre 0.26 y 0.34 mm.día^{-1} en un experimento de cultivo suspendido en Pucusana (13°S) en su rango de tallas de 18.1 a 33.1 mm . Por su parte, Aguirre *et al.* (2015) reportaron para el cultivo de fondo (25mm) en la Bahía de Paracas (13°S) una tasa de crecimiento entre 0.25 y 0.39 mm.día^{-1} .

Tabla 8: Tasas de crecimiento final por tratamiento

Tratamiento	TC altura (mm.día⁻¹)	TC peso somático (g.día⁻¹)
Control (C)	0.3315	0.074
Estrés por acidez (A)	0.3009	0.070
Estrés por hipoxia (H)	0.3107	0.069
Estrés múltiple (I)	0.2906	0.062

Además, nuestros resultados son similares a los presentados por Córdova (2016), quien trabajó un experimento en juveniles de *A purpuratus* de 14 mm en condiciones de controladas. Reportó las mismas tasas de crecimiento encontradas en esta investigación 0.33 mm.día⁻¹ y 0.30 mm.día⁻¹ para su tratamiento control y tratamiento de estrés por acidez (a un pH de 7.4) respectivamente.

La exposición prolongada al estrés causado por hipoxia (20% saturación) mostro ejercer un efecto negativo en tasas de crecimiento en peso y talla en comparación al control (reducción del 6% y 3% en crecimiento en talla y peso respectivamente), sin embargo, las diferencias no fueron significativas ($p > 0.05$). Esto pudo haber ocurrido porque la concha de abanico presenta adaptaciones metabólicas eficientes para enfrentar condiciones hipóxicas que comúnmente ocurren en la costa peruana (Aguirre *et al.*, 2017). Tal estrategia consistiría en disminuir su metabolismo y a su vez la demanda de energía para lograr un bajo equilibrio entre la oferta y la demanda de energía (Hochachka y Buck, 1996, citado por Aguirre *et al.*, 2017). Un estudio reportado por Sobral y Widdows (1997) en *R. decussatus* afirma que en condiciones de baja pO_2 (0.9KPa) obtuvieron tasas de crecimiento positivas. Demostrando que estos individuos tienen la capacidad de reducir los costos metabólicos, pero aun así pueden cumplir con los costos de mantenimiento, lo cual le permitía a la especie tolerar la hipoxia. Este mecanismo de ahorro de energía es común en los bivalvos y podríamos decir que también ocurrió para *A. purpuratus* en el presente estudio. Además, Grieshaber *et al.*, 1994 y Isani *et al.*, 1995, citados por Aguirre *et al.*, (2017) afirman que estas adaptaciones están relacionadas al hecho que los bivalvos

son capaces de usar una variedad de vías metabólicas anaeróbicas para la obtención de energía.

Aunque se observó un crecimiento positivo en los tratamientos que tenían al pH bajo como variable estresora (A y I), tales variables afectaron significativamente el crecimiento en talla ($p < 0.05$). Esto pudo ocurrir ya que la altura valvar, con la cual estimamos la tasa de crecimiento (TC), está directamente relacionada con la tasa de calcificación. Findlay *et al.* (2009), citado por Córdova (2016) afirman que frente a condiciones ácidas el gasto de energía para producir material calcificado se incrementa y esto puede hacer que el organismo crezca menos. Asimismo, la formación de las valvas es un proceso energéticamente costoso y requiere un aporte energético mayor cuando el CO_2 elevado crea condiciones desfavorables para la precipitación del carbonato de calcio (Palmer, 1992; Pörtner 2008; Waldbusser *et al.* 2013, citados por Clark *et al.*, 2016). Córdova (2016) reportó una reducción de 9.9 % de la calcificación neta de *A. purpuratus* y reducción de 8.5% de la tasa de crecimiento en talla a un de pH de 7.4. Al mismo tiempo existen reportes que confirman una de reducción de la tasa de calcificación y crecimiento en larvas *A. purpuratus* y especies similares (Hans *et al.*, 2005; Duarte *et al.*, 2013; Gobler *et al.*, 2014).

Resultados similares a los de esta investigación fueron reportados por Lagos *et al.*, (2016), quien encontró menores tasas de crecimiento en *A. purpuratus* en Tongoy, bajo pH de 7.6. Michaelidis *et al.*, (2005), citado por Wenguang, (2011) reportó que en *Mytilus galloprovincialis* un periodo de exposición de 90 días a pH 7.3 hubo disminución en las tasas metabólicas (tasa de respiración) y cambios en pH de la hemolinfa. Por su parte Berge *et al.* (2006) detecto reducción en la tasa de crecimiento de *M. edulis* durante la exposición a agua de mar (pH =7.1) por 44 días. Otros estudios describen que el crecimiento puede ser significativamente reducido bajo medios y prolongadas condiciones de altas pCO_2 (Duarte *et al.*, 2013, Beniash *et al.*, 2010).

Por su parte, la tasa de crecimiento en peso, fue significativamente menor en el tratamiento de estrés múltiple (I). Lo cual demuestra el efecto aditivo del pH bajo e hipoxia sobre la ganancia de peso. Resultados similares fueron reportados por Kim *et al.*, (2013), quienes encontraron un crecimiento negativo producido por un efecto aditivo de pH bajo (7.65) y baja concentración de O_2 ($5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) en el abalón (*Haliotis rufescens*). Por el contrario, Jansson *et al.* (2015) no encontró relación sinérgica negativa entre pH

bajo (7.35) y oxígeno bajo ($3\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) en *Macoma báltica*, lo cual es atribuido a una tolerancia producto a un comportamiento adaptativo, ya que en condiciones naturales dicho recurso está expuesto a condiciones de hipoxia y pH ácido desde estadios larvarios.

En general, podemos afirmar que el crecimiento significativamente menor ($p < 0.05$), visto de los tratamientos de A y I puede deberse a que la actividad alimenticia (TA) llegó a valores significativamente menores (reducción de la TA en un 40 y 48% respectivamente), sin embargo, la TA no llegó a valores críticos. Lardies *et al.* (2017) demostraron que el rendimiento del organismo podría mantenerse cuando la ingesta alta de alimentos compensa los costos de energía adicionales asociados con la disminución del pH.

Adicionalmente podríamos proponer algunas hipótesis con las cuales podemos explicar el efecto negativo en los tratamientos de pH ácido (A y I):

- i) Disminución de eficiencia de absorción: aunque esta tasa fisiológica no fue cuantificada, investigaciones como la de Vargas *et al.*, (2014) afirman que la eficiencia de absorción en bivalvos disminuye a pH bajo debido a posibles deficiencias en el funcionamiento del sistema digestivo. Por lo cual, las tasas de crecimiento menores, en comparación al tratamiento control, pueden haberse debido a que, además de una significativa reducción en la TA, la eficiencia de absorción de nutrientes fue menor. Navarro *et al.*, (2013) reportó una reducción en la tasa de ingestión (TI) y la eficiencia de absorción (EA) bajo un stress por pH de 7.6 en *M. chilensis*.
- ii) Aumento del costo energético destinado a la calcificación y homeostasis: Lardies *et al.*, (2014) afirman que el pH bajo demanda un mayor costo energético para la homeostasis. Asimismo, existen impactos negativos en el aumento de tejidos metabólicamente activos a causa de que la energía que va a otros procesos fisiológicos como la calcificación y el equilibrio osmótico ácido-base.

- iii) Supresión metabólica: existen registros de que el pectínido *C.nubilis*, ante condiciones de stress por acides (pH=7.7-7.4) redujo su tasa de respiración (TR) y tasa de excreción (TE) . La disminución en la tasa de excreción puede indicar una reducción drástica en el catabolismo de los aminoácidos. La tasa de excreción de los individuos disminuye porque no pueden compensar por completo las perturbaciones en su equilibrio ácido-base cuando se exponen a condiciones de pH bajo y esto puede conducir a una depresión metabólica. La supresión metabólica es, en muchos casos, una estrategia adaptativa para la supervivencia en condiciones estresantes (Michaelidis *et al.*,2005).

4.4. SOBREVIVENCIA

Se encontró sobrevivencia significativamente menor ($p < 0,05$) según el test de Kruskal Wallis en el tratamiento de estrés por acidez (40.83%) con respecto al resto de tratamientos. En tanto, la sobrevivencia tratamiento de estrés múltiple fue 57.42%, mientras que en estrés por hipoxia fue 65.81%, El tratamiento control presento una sobrevivencia de 80.51% (Figura 23).

Al inicio de la cuarta semana de experimentación, empezó a observarse la ruptura de ligamento que unía las valvas de los individuos presentes en los tratamientos de estrés y estrés múltiple. Individuos con dicha ruptura continuaron apareciendo hasta el final del experimento, ocasionando en ellos una desviación entre la valva izquierda y derecha. Los individuos que presentaron estas anomalías fueron retirados de los tanques inmediatamente.

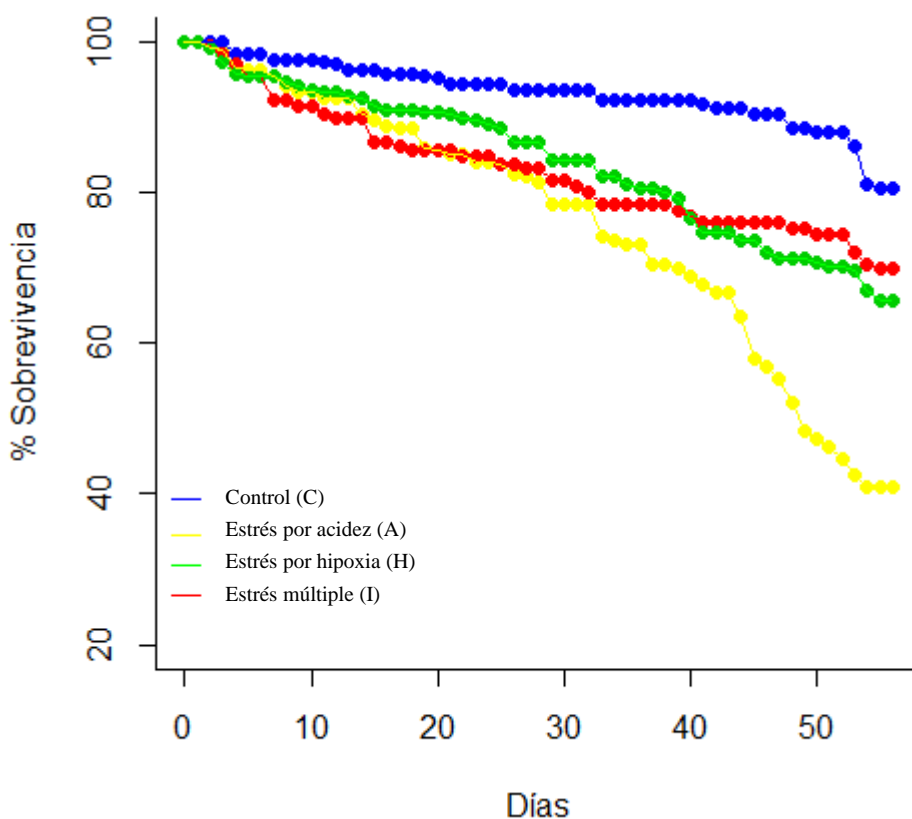


Figura 23: Sobrevivencia (%) por tratamiento

La aparición de individuos con una desviación valvar a nivel del umbo (Véase anexo 10), puede estar explicada por la disolución de aragonita presente en esta estructura (Kikuchi & Tamiya 1987). Dichos niveles de aragonita no fueron cuantificados en nuestra investigación, sin embargo, es común observar una disminución en su disolución en experimentos que contemplan al pH ácido como variable estresora (Vargas *et al.*, 2014; Navarro *et al.*, 2013; Jansson *et al.*, 2015 y Córdova, 2016). Experiencias similares las tuvieron Broadaway (2012) con *Argopecten irradians* y Córdova (2016) con *Argopecten purpuratus*. Broadaway (2012) observó que la sobrevivencia de *A. irradians* no era mayor a 2 días cuando se observaba esta condición de valvas separadas.

Existen investigaciones que afirman que condiciones de pH ácido, causan mayor mortalidad que condiciones de hipoxia. Sin embargo, según Lardies *et al.* (2017), reportaron que en condiciones de pH ácido, los daños causados en estructuras digestivas por de altos niveles de pCO₂ no necesariamente causan mortalidad en *A. purpuratus*.

El motivo de que las condiciones de solo acidez hayan presentado mayor mortalidad que condiciones multiestrés (acidez + hipoxia) puede deberse a que la concha de abanico se encontraba en situación de poca demanda energética por efecto de la hipoxia y acidez (Hochachka y Buck, 1996, citado por Aguirre *et al.*, 2017). Las condiciones de hipercapnia (elevada pCO₂ a niveles de emolinfa) eran las mismas en A y I, sin embargo, en condiciones de únicamente estrés por acidez (A) la concha de abanico tenía más vías metabólicas activas que en condiciones de estrés múltiple (I), lo cual tuvo impacto en su mortalidad. Resultados similares fueron reportados por Jansson *et al.*, (2015) quienes trabajaron con *Macoma báltica* y reportaron menor sobrevivencia a condiciones de pH ácido de 6.35 (60%), seguido de hipoxia a 3 mg.L⁻¹ (72%) y mayor sobrevivencia en su tratamiento de estrés múltiple (85%), inclusive menor al control (64%).

El no haber experimentado niveles de mortalidad abruptos, podría ser evidencia de que la supresión del metabolismo habría sido una estrategia eficiente para la sobrevivencia. Según, Sobral y Widdows (1997) esta es una estrategia común en bivalvos, la cual les permite sobrevivir.

Según, Breitburg *et al.* (2009), citado por Clark (2016) afirman que la hipoxia aumenta el estrés y la mortalidad en los moluscos. La tolerancia a la hipoxia puede variar entre las especies de bivalvos y la edad, y puede interactuar con otros factores de estrés (Wu 2002,

Zhang *et al.* 2010). En nuestra experiencia, la falta de sedimento pudo haber mitigado los efectos negativos de la hipoxia en la mortalidad. Dado que las condiciones de hipoxia del medio natural, están relacionados con aparición de H₂S que comúnmente ocurren en ambientes costeros con alta cantidad de materia orgánica como bahías y estuarios (Bruchert *et al.*, 2003, citado por Chauca, 2018). Reportes de mortalidades masivas por hipoxia severa han sido reportadas por Aguirre *et al.*, (2016), en tanto ellos afirman que los eventos de aguas sulfurosas también estarían relacionados.

Cabe mencionar que es bien sabido que los estudios sobre el crecimiento y otras variables fisiológicas como la TA y TI en molusco bivalvos tienen un grado de variabilidad intraespecífica a escalas espaciales. Esto fue demostrado por Vargas *et al.* (2014) quienes afirmaron que la TA y TI en juveniles de *P. purpuratus* eran únicamente afectada en individuos provenientes del litoral sur chileno (Calfuco) en comparación a individuos de latitudes menores (Antofagasta). Por lo cual sería interesante evaluar posteriormente a diferentes stocks de *A. purpuratus* de nuestro litoral a nuestras condiciones experimentales propuestas.

4.5. ANALISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

La figura 24, es el resultado del grafico del análisis de componentes principales de tres variables analizadas (tasa de aclaramiento, sobrevivencia y crecimiento en talla). La primera componente explica el 72.6% de la varianza, mientras que la segunda componente el 24.0%.

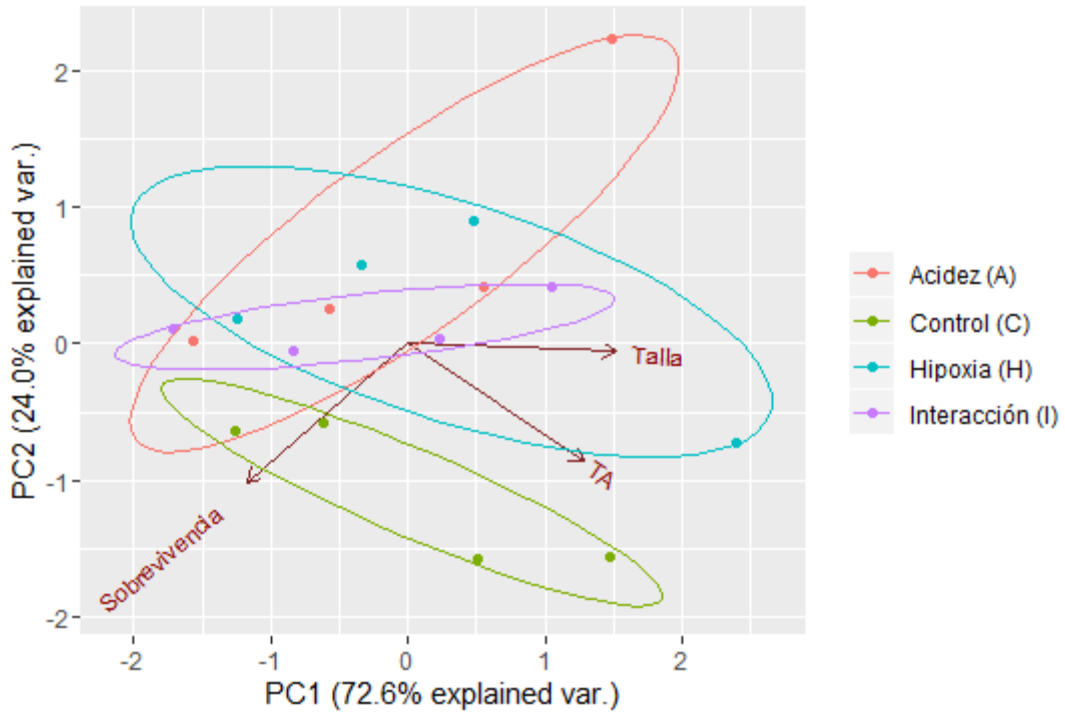


Figura 24: Análisis de componentes principales

V. CONCLUSIONES

- Las tasas de aclaramiento en *Argopecten purpuratus* bajo condiciones de estrés por acidez y estrés por hipoxia presentaron una relación alométrica con el tamaño y peso de los individuos.
- La tasa de aclaramiento es más afectada negativamente por el estrés por acidez (1,69 L.h⁻¹) en comparación al estrés por hipoxia (2,17 L.h⁻¹). Asimismo, hay un efecto sinérgico perjudicial entre ambas variables (1,48 L.h⁻¹). Por tanto, queda aceptada la hipótesis sobre el efecto negativo en la TA en condiciones de estrés ambiental relacionadas a hipoxia, pH ácido y su interacción.
- La tasa de crecimiento es afectada negativamente por el estrés ambiental. Siendo más afectada en tratamientos que tenían al pH bajo como variable estresora. El pH bajo tiene un efecto más perjudicial que la hipoxia prolongada en la tasa de crecimiento. Con lo cual queda aceptada la hipótesis sobre el efecto negativo en la TC en condiciones de estrés ambiental relacionadas a hipoxia, pH ácido y su interacción.
- El efecto del pH bajo sobre la sobrevivencia de *A.purpuratus* es mayor que de la hipoxia.
- No se encontraron diferencias significativas en el consumo de *I. galbana* y *C. calcitrans*.

VI. RECOMENDACIONES

- Evaluar la eficiencia de absorción y tasa de excreción y respiración para cada condición de estrés con el fin de comprender mejor el balance energético de la concha de abanico.
- Realizar futuras investigaciones con individuos provenientes de diferentes zonas de la costa peruana, a fin de evaluar el desenvolvimiento de diferentes stocks.
- Considerar evaluar el desenvolvimiento de individuos de mayor talla y peso para futuras investigaciones.
- Considerar a la temperatura como variable adicional en futuras investigaciones, dado que es una variable importante, desencadenadora de procesos metabólicos, que guarda relación con el cambio climático y el estrés ambiental.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguirre A, Flye-Sainte Marie J, Thouzeau G, Mendo J, Jean F. (2015). Sclerochronological records and daily microgrowth of the Peruvian scallop (*Argopecten purpuratus*, Lamarck, 1819) related to environmental conditions in Paracas Bay, Pisco, Peru. *Journal of Sea Research*, 99, 1-8.
- Aguirre A, Jean F, Thouzeau G, Flye-Sainte Marie. (2017). Feeding behaviour and growth of the Peruvian scallop (*Argopecten purpuratus*) under daily cyclic hypoxia conditions. *Journal of Sea Research*, 131, 85-94.
- Aguirre A. (2016). Bioenergetics of the Peruvian scallops (*Argopecten purpuratus*) in an environmental context limiting oxygen. Earth Sciences. (Tesis doctoral, Université de Bretagne occidentale). Recuperada de: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01542077>.
- Aguirre-V., A. Fred, J. Thouzeau, G. Flye-Sainte-Marie, J. (2016). Effects of progressive hypoxia on oxygen uptake in juveniles of the Peruvian scallop, *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). *Aquaculture* 451, 385-389.
- Akberali, H.B. and Trueman, E.R.. (1985). Effects of environmental stress on marine bivalve molluscs. *Adv. Mar. Biol.* 22, 101 – 136.
- Alamo, V. (1981). Algunos aspectos del cultivo de moluscos en Pisco. pp 13 - 37. En: R. Ruiz (ed.). Segundo Simposium sobre desarrollo de la acuicultura en el Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina - Ministerio de Pesquería. Lima-Perú.
- Alcazar, J. A., Mendo, J. (2008). Crecimiento y supervivencia de *Argopecten purpuratus* en sistemas de fondo y suspendido en la zona de Casma, Perú. *Ecol. Apl.* 7, 1-10.

- Araya P., Pozo A. y Avendaño M. (1993). Dinámica de alimentación de individuos *Argopecten purpuratus* en condiciones de laboratorio. Biol. Mar, Valparaíso, Vol 18. pp 313-329.
- Arrieche D. (2010). Efecto del flujo y el seston sobre la fisiología energética del callo de hacha *Atrina maura* (Sowerby 1835) y del Mejillon de laguna *Mytella strigata* (Hanley, 1843) (Tesis de doctorado, Centro de investigaciones biológicas del Noroeste) Recuperada de: https://www.oceandocs.org/bitstream/handle/1834/3658/galindez_d.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Avendaño, M. Cantillán, M. (1996). Efecto de la pesca clandestina, sobre *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819), en el banco La Rinconada II Región. Cienc. Tec. Mar. 19:57- 65.
- Avendaño, M., Le Pennec, M. y Cantillán, M. (2001). Anormalidades en larvas de *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) (mollusca: pectinidae), uno de los problemas en la producción artificial. Estud. Oceanol 20:33-42. Recuperada de: https://www.researchgate.net/profile/Miguel_Avendano/publication/235917869_Anormalidades_en_larvas_de_Argopecten_purpuratus_Lamarck_1819_Mollusca_Pectinidae_uno_de_los_problemas_en_la_produccion_artificial_de_semilla/links/02bfe51422cdacd014000000/Anormalidades-en-larvas-de-Argopecten-purpuratus-Lamarck-1819-Mollusca-Pectinidae-uno-de-los-problemas-en-la-produccion-artificial-de-semilla.pdf
- Bakun, A., Weeks, S. J. (2008). The marine ecosystem off Peru: What are the secrets of its fishery productivity and what might its future hold. Prog. Oceanogr. 79(2-4), 290–299.
- Bamber, R. N. (1990). The effects of acidic seawater on three species of lamellibranch mollusc. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 143(3), 181–191. doi:10.1016/0022-0981(90)90069-o
- Barton, B.A., Iwama, G.K., 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annual Review of Fish Diseases. 1, 3-26.

- Bayne B, A. Buvel P, Gabbot D, Linvingstone D. (1982). Glycogen utilization and gametogenesis in *Mytilus edulis*. Marine Biology Letters 3: 89-105
- Bayne B, Hawkins AJS, Navarro E. (1987). Feeding and digestion by the mussel *Mytilus edulis* in mixture of silt and algal cells at low concentrations. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 111: 1–22.
- Bayne B. (1976). Marine mussels: their ecology and physiology. Cambridge University Press. 505 pp.
- Bayne, B. and Newell, R. (1983). Physiological energetics of marine molluscs. In: Wilburg, K.M., Saleuddin, A.S.M.Ž. Eds., The Mollusca, Vol. 4. Academic Press, London, pp. 407– 415.
- Bell, P., & Green, T. (1982). Thermal stress: physiological, comfort, performance and social effects of hot and cold environments. En G. Evans, Environmental Stress. New York: Cambridge University Press. pp. 75- 104
- Beninger PG, Veniot A, Poussart Y. (1999). Particles of pseudofeces rejection on the bivalve mantle: integration in particle processing. Mar Ecol Prog Ser 178:259-269
- Bermúdez Corcuera, P. I., & Aquino Bravo, H. (2004). Manual de cultivo suspendido de concha de abanico. AECI/PADESPA - FONDEPES, Lima, Perú.
- Borges A V., Gypens N. (2010). Carbonate chemistry in the coastal zone responds more strongly to eutrophication than ocean acidification. Limnology and Oceanography. 55(1):346–53.
- Bricelj M. & E. Shumway. (1991). Physiology: Energy acquisition and utilization In: S. E. Shymway, editor. Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture. Amsterdam: Elsevier, pp. 305-376.
- Brilliant M. & MacDonald B. (2002). Postingestive selection in the sea scallop (*Placopecten magellanicus*) on the basis of chemical properties of particles. Marine biology 141:457-465

- Broadaway BJ. (2012). The relation among essential habitat, ocean acidification, and calcification on the Nantucket bay scallop (*Argopecten irradians*). (Tesis doctoral, University of Massachusetts). Recuperada de: https://scholarworks.umb.edu/doctoral_dissertations/64.
- Cahalan, J.A., S.E. Siddall & M.W. Luckenbach. (1989). Effects of flow velocity, food concentration and particle flux on growth rates of juvenile bay scallops *Argopecten irradians*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., Vol. 129, pp. 45-60.
- Caldeira K, Wickett ME. (2003). Oceanography: anthropogenic carbon and ocean pH. Nature. 425(656):365.
- Cantillán, M., Avendaño, M. y Thouzeau, G. (2005). Reproductive cycle of *Argopecten purpuratus* (Bivalvia: Pectinidae) in La Rinconada marine reserve (Antofagasta, Chile): response to environmental effects of El Niño and La Niña. Aquaculture, (246): 181– 195.
- Castillo P. (2015). Potenciales Impactos de la Acidificación de los Océanos para las Pesquerías y Acuicultura Marina en Ecuador. Tilapia & camarones, Vol. 24. pp. 28-33
- Chauca Z. (2018). Caracterización de los eventos de aguas blancas frente a Pisco y Chincha (entre los 13°-15° S). (Tesis de maestría, Universidad peruana Cayetano Heredia). Recuperada de: http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/3751/Caracterizacion_ChaucaVela_Zulita.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Chavez, M. (2014). Productividad de la semilla de concha de abanico (*Argopecten purpuratus*) de diferente procedencia en la bahía Paracas, Pisco. (Tesis para optar el grado de ingeniero pesquero, Universidad Nacional Agraria La Molina). Recuperada de: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1915/M12.C359-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Chrousos, G.P., Gold, P.W., 1992. The concepts of stress and stress system disorders: overview of physical and behavioral homeostasis. *Jama*. 267, 1244-1252.
- Cisneros, R., Bautista, J., Argüelles, J. (2008). Crecimiento comparativo de la concha de abanico (*Argopecten purpuratus*) en sistemas suspendidos. *Ecol. Apl.* 7, 82-87.
- Clark, H., Gobler, C. (2016). Diurnal fluctuations in CO₂ and dissolved oxygen concentrations do not provide a refuge from hypoxia and acidification for early-life-stage bivalves. *Mar Ecol Prog Ser* 558:1-14. <https://doi.org/10.3354/meps11852>.
- Copin-Montégut C, Raimbault P. (1994). The Peruvian upwelling near 15°S in August 128 1986. Results of continuous measurements of physical and chemical properties between 0 and 200 m depth. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*.41(3):439–67.
- Córdova K. (2016). Evidencias del efecto negativo de la disminución del pH sobre el crecimiento y calcificación de *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). (Tesis de maestría, Universidad peruana Cayetano Heredia). Recuperada de: <http://repositorio.upch.edu.pe/handle/upch/237>.
- Cueto, R. (2016). Influencia de las variables ambientales sobre el índice gonadosomático de la concha de abanico *Argopecten purpuratus* (L, 1819) en la bahía de Paracas, Pisco (Tesis para optar el grado de ingeniero pesquero, Universidad Nacional Agraria La Molina). Recuperada de: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/2231>
- Di Salvo L.H., Alarcón E., Martínez E. & Uribe E. (1984). Progress in mass culture of *Chlamys Argopecten purpuratus* Lamarck (1819) with notes on its natural history. *Rev Chil Hist Nat*. 57: 35-45.
- Díaz, R.J.,Rosenberg,R.(2008). Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *Science* 321,926–929.

- Dionicio, J. & Flores, J. (2015). Efecto de la temperatura en respuestas fisiológicas de la concha de abanico *Argopecten purpuratus*. Revista Peruana de Biología, 22(3), 329-334. <https://dx.doi.org/10.15381/rpb.v22i3.11439>.
- Doney, S. C., Fabry, V. J., Feely, R. A., & Kleypas, J. A. (2009). Ocean Acidification: The Other CO₂ Problem. Annual Review of Marine Science, 1(1), 169–192. doi:10.1146/annurev.marine.010908.163
- Duarte CM, Hendriks IE, Moore TS, Olsen YS and others (2013) Is ocean acidification an open-ocean syndrome? Understanding anthropogenic impacts on seawater pH. Estuar Coasts 36: 221–236.
- Eckert, R.; Randall, D. y Augustine, G. (1990). " Fisiología animal. Mecanismos y adaptaciones". Interamericana-McGraw-Hill. 683 pp.
- Fernández-Reiriz, M. J., Labarta, U., & Navarro, J. M. (2004). Feeding and digestive response of *Argopecten purpuratus* to short-term variation in food quality and quantity. Aquaculture, 237(1-4), 347–364. doi: [10.1016/j.aquaculture.2004.03.024](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.03.024)
- Filgueira R. (2007). Comportamiento alimentario del mejillón *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) en las condiciones tróficas de las Rías Gallegas (Tesis Doctoral, Universidad de Vigo). Recuperada de: <http://digital.csic.es/bitstream/10261/4261/1/Ram%c3%b3n%20Filgueira%20-%20Tesis.pdf>
- Flores E. (2016). Impacto de la dinámica oceanográfica en la variación de azufre inorgánico en sedimentos de la bahía de paracas (Tesis de maestría, Universidad peruana Cayetano Heredia). Recuperada de: <http://biblioimarpe.imarpe.gob.pe:8080/bitstream/handle/123456789/3063/Flores%2c%20Rafael.pdf?sequence=1>
- Foighil D., B. Kingzett, G. and N. Bourne. (1990). Growth and survival of juvenile japanese scallops *Patinipecten yessoensis*, in nurse culture. J. Shellfish. Res. 9 (1):135-144.

- Fragoso M. (2012). Bioinvasión del mitílido *Xenostrobus securis* (Lamarck, 1819) en las rías gallegas. Análisis fisiológico y bioquímico bajo condiciones ambientales variables (Tesis doctoral, Universidad de Santiago de Compostela). Recuperada de: <https://digital.csic.es/bitstream/10261/48756/1/Tesis%20Doctoral%20Ma.%20del%20Roc%c3%ado%20Fragoso%20P%c3%a9rez.pdf>.
- Friederich GE, Ledesma J, Ulloa O, Chavez FP. (2008). Air-sea carbon dioxide fluxes in the coastal southeastern tropical Pacific. *Prog Oceanogr*. Elsevier Ltd 79(2- 4):156–66.
- Gazeau F, Parker LM, Comeau S, Gattuso JP and others. (2013). Impacts of ocean acidification on marine shelled molluscs. *Mar Biol* 160:2207–2245.
- Gobler CJ, DePasquale EL, Griffith AW, Baumann H (2014) Hypoxia and Acidification Have Additive and Synergistic Negative Effects on the Growth, Survival, and Metamorphosis of Early Life Stage Bivalves. *PLoS ONE* 9(1): e83648. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083648>
- Gobler, C. J., & Baumann, H. (2016). Hypoxia and acidification in ocean ecosystems: coupled dynamics and effects on marine life. *Biology Letters*, 12(5), 20150976. doi:10.1098/rsbl.2015.0976
- Gordon, M, S. (1984). *Fisiología Animal: Principios y Adaptaciones al Medio Ambiente*. CIA. Editorial continental, S.A DE C.V., México, D.F. 746 pp.
- Graco, M. (2011). Estudio para determinar la Contribución del Océano Pacífico Sur-Oriental como Sumidero de Gases de Efecto Invernadero. Comisión Permanente del Pacífico Sur - CPPS. Guayaquil, Ecuador. Serie Estudios Regionales No. 3. Recuperada de: <http://cpps.dyndns.info/cpps-docs-web/dircient/publicaciones/serie-estudios-regionales/SER3.pdf>
- Hartnoll, R. G. (1967). An investigation of the movement of the scallop *Pecten maximus*. *Helgolander Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen* 15:523-533.
- Hawkins AJS, Fang JG, Pascoe PL, Zhang JH, Zhang XL, Zhu MY. (2001). Modelling short-term responsive adjustments in particle clearance rate among

bivalve suspension-feeders: separate unimodal effects of seston volume and composition in the scallop *Chlamys farreri*. J Exp Mar Biol 262:61-73

- Helm, M.; Bourne, N; Lovatelli, A. (2006). Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico. Documento Técnico de Pesca FAO, Roma. 184 p.
- IMARPE. (2012). Condiciones oceanográficas anómalas y su relación con la mortandad de concha de abanico (*Argopecten purpuratus*) en la Bahía de Paracas durante Abril y Mayo del 2012. Informe N° 30 -2012. Peru.9 pp.
- IMARPE. (2015). Guía de campo ilustrada para el reconocimiento de especies de moluscos bivalvos con valor comercial. Programa Presupuestal 0095, Fortalecimiento de la Pesca Artesanal. Recuperada de: <http://biblioimarpe.imarpe.gob.pe:8080/handle/123456789/3024?show=full>
- IPCC. (2013). Summary for Policymakers. Clim. Chang. 2013 Phys. Sci. Basis. Contrib. Work. Gr. I to Fifth Assess. Rep. Intergov. Panel Clim. Chang. Recuperada de: https://www.ipcc.ch/site/assets/uploads/2018/02/WG1AR5_SPM_FINAL.pdf
- Jansson, A., Norkko, J., & Dupont, S. (2015). Growth and survival in a changing environment: Combined effects of moderate hypoxia and low pH on juvenile bivalve *Macoma balthica*. Journal of Sea Research. doi: 10.1016/j.seares.2015.04.00
- Jørgensen, C.B., P. Famme, H.S. kristensen, P.S. Larsen, F. Mohlenberg Y H.V. Riisgard. (1986). The bivalve pump. Mar. Ecol. Prog. Ser.34, pp. 69-77.
- Kikuchi Y, Tamiya N. (1987). Chemical taxonomy of the hinge-ligament proteins of bivalves according to their amino acid compositions. Biochem J.242:505–10.
- Kim, T. W., Barry, J. P., and Micheli, F. (2013). The effects of intermittent exposure to low-pH and low-oxygen conditions on survival and growth of juvenile red abalone, Biogeosciences, 10, 7255–7262. doi: <https://doi.org/10.5194/bg-10-7255-2013>.

- Lagos NA, Benítez S, Duarte C, Lardies MA y otros. (2016). Efectos de la temperatura y la acidificación de los océanos en las características de la concha de *Argopecten purpuratus*: implicaciones para la acuicultura de vieira en un área influenciada por el afloramiento. *Aquacult Environ Interact* 8: 357-370.
- Lardies, M. A., Benitez, S., Osoreo, S., Vargas, C. A., Duarte, C., Lohrmann, K. B., & Lagos, N. A. (2017). Physiological and histopathological impacts of increased carbon dioxide and temperature on the scallops *Argopecten purpuratus* cultured under upwelling influences in northern Chile. *Aquaculture*, 479, 455–466. doi:10.1016/j.aquaculture.2017.06.008.
- Larsen P. and Riisgård, H. (2011). Validation of the flow-through chamber (FTC) and steady-state (SS) methods for clearance rate measurements in bivalves. *Biology Open* 1, pp. 6–11
- Libes SM. (2009). Introduction to marine biogeochemistry. Second Edi. Marine Chemistry. Elsevier Inc. Recuperada de: https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=KVZJUw4nORgC&oi=fnd&pg=PP1&dq=Introduction+to+marine+biogeochemistry.+Second+Edi.+Marine+Chemistry&ots=JfyQTpzcZf&sig=6ZAY6WdPdJXhcWVcpgWbK3ddErI&redir_esc=y#v=onepage&q=Introduction%20to%20marine%20biogeochemistry.%20Second%20Edi.%20Marine%20Chemistry&f=false
- Liu, W., & He, M. (2012). Effects of ocean acidification on the metabolic rates of three species of bivalve from southern coast of China. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 30(2), 206–211. doi:10.1007/s00343-012-1067-1.
- Loncón D. (2014). Efecto combinado del CO₂ y salinidad sobre la fisiología energética en juveniles de *Mytilus chilensis*. (Tesis de grado de licenciado en Biología Marina, Universidad Austral de Chile). Recuperada de: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2014/fcl738e/doc/fcl738e.pdf>
- López A. (2003). Tasa de filtración y aclaramiento en la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) a dos tallas, en función de la temperatura y cantidad de alimento (Tesis de maestría, Centro de investigaciones biológicas del Noroeste). Recuperada de:

https://www.oceandocs.org/bitstream/handle/1834/3432/lopez_j.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- López J. (2013). Respuesta fisiologica de *Mytilus chilensis* (chorito) en cultivo suspendido y su relación con las variables ambientales (Tesis de maestría, Universidad Austral de Chile). Recuperada de: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2013/fcl864r/doc/fcl864r.pdf>
- López, D., Riquelme, V. & González, M. (2000). The effects of epibionts and predators on the growth and mortality rates of *Argopecten purpuratus* cultures in southern Chile Aquaculture International 8: 431-436.
- Lora M., Velasco E., Reynoso T., and D. Voltolina. (2004). Evaluation of Five Microalgae Diets for Juvenile Pen Shells *Atrina maura*. Journal of the world aquaculture society, pp.232-235.
- Lora-Vilchis, M. C., & Doktor, N. (2001). Evaluation of Seven Algal Diets for Spat of the Pacific Scallop *Argopecten ventricosus*. Journal of the World Aquaculture Society, 32(2), 228–235.
- MacDonald, B. A., & Thompson, R. J. (1986). Influence of temperature and food availability on the ecological energetics of the giant scallop *Placopecten magellanicus*. Marine Biology, 93(1), 37–48. doi:10.1007/bf00428653.
- Mendo J, Ysla L, Orrego H, Miglio M, Gil P, Del Solar A. (2011). Bases Científicas y Tecnológicas para incrementar la productividad del cultivo de concha de abanico en áreas de repoblamiento en la Bahía de Sechura. Proyecto FINCYT – Contrato N° 01 – 2009.
- Mendo J. y Wolf M. (2003). El impacto del niño sobre la producción de concha de abanico (*Argopecten purpuratus*) en bahía Independencia, Pisco, Perú. Ecología Aplicada, 2(1).
- Mendo J., M. Wolff, T. Mendo & L. Ysla. (2016). Scallop Fishery and Culture in Peru. En: Scallops: Biology, Ecology, Aquaculture, and Fisheries. Shumway S, Parsons J, editors. Third Edit. p. 1089–1109.

- Mendo J., Ysla, H. Orrego Y Tomaylla. (2001). Manual técnico cultivo y manejo integral de la concha de abanico. Programa APGEP - SENREM.. primera edición Lima - Perú. 74 p
- Mendo, J., C. Yamashiro, J. Rubio, A. Camella, E. Jurado, M. Maldonado, Y S. guzman. (1989). Evaluación de la concha de abanico (*Argopecten purpuratus*) en la Bahía Independencia, Pisco, Perú. 23 septiembre-9 de octubre de 1987. Instituto del mar del Perú. Informe n° 94.
- Mendo, J., Wolff, M., Carbajal, W., González, I. y Badjeck, M. (2008). Manejo y explotación de los principales bancos naturales de concha de abanico (*Argopecten purpuratus*) en la costa Peruana. En A. Lovatelli, A. Farías e I. Uriarte (eds.). Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. Taller Técnico Regional de la FAO. 20–24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. FAO Actas de Pesca y Acuicultura. No. 12. Roma, FAO. pp. 101–114.
- Mendoza O., Pretell K., Diringer B., Avellan R., Zapata K., Marchan A., Cedeño V., Peralta T., Ordinola A., Mialhe E. (2017). Respuesta fisiológica y molecular de *Anadara tuberculosa* al estrés de salinidad. *Rev Trop Biol.* 65, 1142-1151.
- Merma L. (2016). Foraminíferos bentónicos asociados a condiciones de hipoxia costera y bajo pH en la bahía de Paracas. (Tesis de maestría, Universidad peruana Cayetano Heredia). Recuperada de : <http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/240/Foramin%C3%ADferos.bent%C3%B3nicos.asociados.a.condiciones.de.hipoxia.costera.y.bajo.pH.en.la.Bah%C3%ADa.de.Paracas.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Michaelidis B, Ouzonis C, Paleras A, Portner H. (2005). Effects of long-term moderate hypercapnia on acid–base balance and growth rate in marine mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Mar Ecol Prog. Ser.* 293: 109–118. doi: 10.3354/meps293109
- Møhlenberg, F. y Riisgard, H.U. 1978. Efficiency of particle retention in 13 species of suspension feeding bivalves. *Ophelia* 17(2): 239- 246. *Mar Ecol: Prog Ser* 129:189–196.

- Monteiro, P., VanderPlas, A., Mélice, J. (2008). Interannual hypoxia variability in a coastal upwelling system: Ocean–shelf exchange, climate and ecosystem-state implications. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 55 (4), 435– 450.
- Napolitano, G. E., Ackman, R. G., & Ratnayake, W. M. N. (1990). Fatty Acid Composition of Three Cultured Algal Species (*Isochrysis galbana*, *Chaetoceros gracilis* and *Chaetoceros calcitrans*) Used as Food for Bivalve Larvae. *Journal of the World Aquaculture Society*, 21(2), 122–130.
- Narvarte, M.A., Félix-Pico, E., Ysla-Chee, L.A. (2001). Asentamiento larvario de pectínidos, en colectores artificiales. In: Maeda-Martínez, A.N. (Eds.), *Los Moluscos Pectínidos de Latinoamérica: Ciencia y Acuicultura*. Cap., vol. 9, pp. 173 – 192
- Navarro, J. and Winter, J. (1982). Ingestion rate, assimilation efficiency and energy balance in *Mytilus chilensis* in relation to body size and different algal concentrations. *Marine Biology*. 67: 255-266.
- Navarro, J. M., Torres, R., Acuña, K., Duarte, C., Manriquez, P. H., Lardies, M., ... Aguilera, V. (2013). Impact of medium-term exposure to elevated pCO₂ levels on the physiological energetics of the mussel *Mytilus chilensis*. *Chemosphere*, 90(3), 1242–1248. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.09.063.
- Navarro, J., Leiva, G., Martínez, G. Y Aguilera, C. (2000). Interactive effects of diet and temperature on the scope of growth of the scallop *Argopecten purpuratus* during reproductive conditioning. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 247, 67–83.
- Navarro, JM. (2002). Fisiología energética de pectínidos iberoamericanos. *Los Moluscos Pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura*. Cap. 2-4: 27-104.
- Norkko, J., Hewitt, J. E., & Thrush, S. F. (2006). Effects of increased sedimentation on the physiology of two estuarine soft-sediment bivalves, *Austrovenus stutchburyi* and *Paphies australis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 333(1), 12–26. doi:10.1016/j.jembe.2005.11.015

- Owen G. (1974). Feeding and digestion in the bivalvia. *Advances in Comparative Physiology and Biochemistry*. 5: 1-35pp.
- Palmer, R. E., & Williams, L. G. (1980). Effect of particle concentration on filtration efficiency of the bay scallop *Argopecten irradians* and the oyster *Crassostrea virginica*. *Ophelia*, 19(2), 163–174. doi:10.1080/00785326.1980.10425514.
- Parker LM, Ross PM, O'Connor WD, Pörtner HO, Scanes E, Wright JM. (2013). Predicting the Response of Molluscs to the Impact of Ocean Acidification. *Biology (Basel)*.2:651–92.
- Peña, J. B. (2001). Taxonomía, morfología, distribución y hábitat de los pectínidos iberoamericanos. pp. 1 - 25. En: Maeda-Martinez (ed.) 2001. Los moluscos pectinidos de Iberoamérica: Ciencia Acuicultura. Editorial Limusa. México. 501 p.
- Perez A., Delgado M. y Albentosa M. (2002). Influencia del tamaño y la concentración de alimento sobre las tasas de aclaramiento e ingestión de la almeja *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 18 (1-4). pp 315-320
- Petersen, J. (2004). Methods for measurement of bivalve clearance rate-hope for common understanding. *Mar. Ecol., Prog. Ser.* 276. 309-310.
- Pörtner HO, and Langenbuch M. (2005). Synergistic effects of temperature extremes, hypoxia, and increases in CO₂ on marine animals: from Earth history to global change. *Journal of Geophysical Research*, 110, C09S10.
- Pouvreau, S., Jonquière, G., Buestel, D. (1999). Filtration by the pearls oyster *Pinctada margaritifera*, under conditions of low seston load and small particle size in a tropical lagoon habitat. *Aquaculture* 176:295-314.
- Pouvreau, S., Jonquière, G., Buestel, D. (1999). Filtration by the pearls oyster *Pinctada margaritifera*, under conditions of low seston load and small particle size in a tropical lagoon habitat. *Aquaculture* 176:295-31.

- Proleón, J. y Mendo, J. (2002). Estrategia adoptada por los pescadores artesanales ante el reclutamiento masivo de concha de abanico (*Argopecten purpuratus*) en la Bahía Independencia, 1997–2000 Pisco. En: J. Mendo y M. Wolf (eds) Memorias de la I Jornada Científica de la Reserva Nacional de Paracas, 28–31 Marzo Pisco. del 2001. Univ. Nacional Agraria La Molina.
- Puyana, M. y Velasco, L. (2009). Bioecología y taxonomía de las especies de pectínidos comerciales de Colombia. Biología y cultivo de los pectínidos de interés comercial de Colombia. Universidad de Magdalena. Recuperada de: <https://www.worldcat.org/title/biologia-y-cultivo-de-los-pectinidos-de-interes-comercial-de-colombia/oclc/496014247>
- R Core Team. (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. URL: <http://www.R-project.org/>.
- Rabalais NN, Díaz RJ, Levin LA, Turner RE, Gilbert D, Zhang J. (2010). Dynamics and distribution of natural and human-caused coastal hypoxia. *Biogeosciences*.7:585–619.
- Reeve HK. (1993). Adaptation and the goals of evolutionary research. *Q. Rev. Biol.*68:1-9.
- Resgalla J, *et al.* (2004). Physiological rates in different classes of size of *Perna perna* (Linnaeus, 1758) submitted to experimental laboratory conditions. *Brazilian Journal of biology*, vol. 66, pp. 325-336.
- Riisgård HU, Nielsen C. (2006). Feeding mechanism of the polychaete *Sabellaria alveolata* revisited: comment on Dubois *et al.* (2005). *Mar Ecol Prog Ser* 328:295–305. doi: <https://www.int-res.com/articles/meps2007/328/m328p307.pdf>.
- Riisgård, H.U. (1988). Efficiency of particle retention and filtration rate in 6 species of northeast American bivalves. *Mar. Ecol., Prog. Ser.* 45, 217 – 223.
- Riisgård, H.U. and Randlov, A. (1981). Energy budget growth and filtration rates in *Mytilus edulis* at different algal concentration. *Mar. Biol.* 61, 227-234.

- Ringwood AH, Keppler CJ. (2002). Water quality variation and clam growth: is pH really a non-issue in estuaries? *Estuaries* 25: 901–907.
- Rouillon, G., Mendo, J., Ochoa, N. (2002). Fitoplancton en el contenido estomacal de *Argopecten purpuratus* (Mollusca, Bivalvia) suspendida a diferentes profundidades en Bahía Independencia. Bases ecológicas y socioeconómicas para el manejo de recursos vivos de la reserva nacional de Paracas. pp. 60-67.
- Savina M., and Pouvreau S. (2004). A comparative ecophysiological study of two infaunal filter-feeding bivalves: *Paphia rhomboides* and *Glycymeris glycymeris*. *Rev Aquaculture* 239, 289-306.
- Shimeta, J. and Jumars, P.A. (1991). Physical mechanisms and rates of particle capture by suspension-feeders. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 29, 191 – 257.
- Shumway, S.E. (1991). *Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture*. Elsevier Science Publishers B.V. New York, USA. 1095 pp.
- Sobral P. & Widdows. (2000). Effects of increasing current velocity, turbidity and particle size on the feeding activity and scope for growth of *Ruditapes decussatus* from Ria Formosa, southern Portugal. *J Exp Mar. Ecol.* 245: 111-125.
- Sobral, P., & Widdows, J. (1997). Influence of hypoxia and anoxia on the physiological responses of the clam *Ruditapes decussatus* from southern Portugal. *Marine Biology*, 127(3), 455–461. doi:10.1007/s002270050033.
- Steckbauer A, Ramajo L, Hendriks IE, Fernandez M, Lagos NA, Prado L and Duarte CM. (2015). Synergistic effects of hypoxia and increasing CO₂ on benthic invertebrates of the central Chilean coast. *Front. Mar. Sci.* 2:49.
- Vargas, C. A., Aguilera, V. M., Martín, V. S., Manríquez, P. H., Navarro, J. M., Duarte, C., ... Lagos, N. A. (2014). CO₂-Driven Ocean Acidification Disrupts the Filter Feeding Behavior in Chilean Gastropod and Bivalve Species from Different Geographic Localities. *Estuaries and Coasts*, 38(4), 1163–1177. doi:10.1007/s12237-014-9873-7.

- Villnäs, A., Norkko, J., Lukkari, K., Hewitt, J., Norkko, A. (2012). Consequences of increasing hypoxic disturbance on benthic communities and ecosystem functioning .PloS One7(10),e44920.
- Waldbusser GG, Bergschneider H, Green MA. (2010). Size-dependent pH effect on calcification in post-larval hard clam *Mercenaria spp.* Mar Ecol Prog Ser. 417:171–82.
- Waldbusser GG, Salisbury JE. (2014). Ocean acidification in the coastal zone from an organisms perspective:multiple system parameters, frequency domains, and habitats. Annu Rev Mar Sci 6: 221–247.
- Wang W and J. Widdows. (1993). Metabolic responses of the common mussel *Mytilus edulis* to hypoxia and anoxia. Mar. Ecol. Prog. Ser. 95: 205-214.
- Ward, E. and Shumway, S. (2004). Separating the grain from the chaff: particle selection in suspension- and deposit-feeding bivalves. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 300 pp.83 – 130.
- Ward, J. E., Sanford, L. P., Newell, R. I. E., & MacDonald, B. A. (1998). A new explanation of particle capture in suspension- feeding bivalve molluscs. Limnology and Oceanography, 43(5), 741–752. doi:10.4319/lo.1998.43.5.0741
- Widdows, J., Johanson, D. (1988). Physiological energetics of *Mytilus edulis*: scope for growth. Mar. Ecol., Prog. Ser. 46. 113-121.
- Wolf, M and Mendo, J., (2000). Management of the scallop under some environmental conditions with special reference to effects of suspended silt, lack of soluble oxygen and others on ciliary movement of gill pieces. Japanese Journal of Ecology: 5:172-175
- Wolff, M. (1987). Population dynamics of the Peruvian scallop *Argopecten purpuratus* during the El Nino Phenomenon of 1983. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 44, 1684-169.

- Wong, E., Gonzalez, F., Antillon, Glen, E. (1997). Efecto de varios agentes a diferentes niveles de pH, sobre la tasa de filtración de la piangua *Anadara tuberculosa* (Mollusca, Arcidae). *Revista de Biología Tropical*. 45(4):1453-1457.
- Wootton JT, Pfister CA, Forester JD. (2008). Dynamic patterns and ecological impacts of declining ocean pH in a highresolution multi-year dataset. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 18848–18853
- Wu RSS .(2002). Hypoxia:from molecular responses to ecosystem responses. *Mar Pollut Bull* 45: 35–45.
- Yates KK, Dufore C, Smiley N, Jackson C, Halley RB. (2007). Diurnal variation of oxygen and carbonate system parameters in Tampa Bay and Florida Bay. *Mar Chem* 104: 110–124.
- Zhang J, Gilbert D, Gooday AJ, Levin L and others. (2010). Natural and human-induced hypoxia and consequences for coastal areas:synthesis and future development. *Biogeosciences* 7: 1443–1467.
- Zhou,Y.,Yang,H.,Zhang,T.,Qin,P.,Xu,X.,Zhang,F.,2006.Density dependent effects on seston dynamics and rates of filtering and biodeposition of the suspension-cultured scallop *Chlamys farreri* in a eutrophic bay (northern China): An experimental study in semi-insitu flow-through systems.*J. Mar.Syst.*59 (1-2),143–158.

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Pruebas estadísticas de la tasa de aclaramiento estandarizada a una talla de 30mm

ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F-value	Pr (>F)
Trat	3	91.04	30.35	49.73	2×10^{-16} ***
Residual	295	180.02	0.61		

(***) Existen diferencias significativas

SHAPIRO TEST

Shapiro-Wilk normality test

W = 0.96911	p-value = 5.048×10^{-06}
-------------	-----------------------------------

Ya que: p-value < 0.05. Se rechaza H₀: No normalidad

Por lo cual, según la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk la tasa de aclaramiento estandarizada a una talla de 30mm no tiene una distribución normal.

KRUSKAL TEST

Kruskal-Wallis rank sum test

chi-squared = 96.6	df = 3	p-value = 0
--------------------	--------	-------------

Ya que: p-value < 0.05. Se rechaza H₀

Por lo cual, según la prueba de Kruskal Wallis, con un nivel de significación del 5%, hay evidencia para afirmar que tasa de aclaramiento estandarizada a una talla de 30mm difiere entre los tratamientos.

DUNNETT TEST

		Comparison of TA vs Tratamiento		
Col	Mean-			
Row	Mean	A	C	H
C		-7.326479 0.0000*		
H		-2.827617 0.0023*	3.615081 0.0002*	
I		1.735076 0.0414	9.151278 0.0000*	4.385554 0.0000*

(*) Existen diferencias significativas

La prueba de Dunnet indica a un nivel de confianza del 95%, que existen diferencias significativas entre los tratamientos de C vs A, H vs A, H vs C, I vs C y I vs H.

Anexo 2: Pruebas estadísticas de la tasa de aclaramiento estandarizada para un individuo de 1g de peso seco

ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F-value	Pr (>F)
Trat	3	451.1	150.35	49.25	2x10 ⁻¹⁶ ***
Residual	295	900.7	3.05		

(***) Existen diferencias significativas

SHAPIRO TEST

Shapiro-Wilk normality test

W = 0.9693	p-value = 5.386x10 ⁻⁰⁶
------------	-----------------------------------

Ya que: p-value < 0.05. Se rechaza H₀: No normalidad

Por lo cual, según la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk la tasa de aclaramiento estandarizada para un individuo de 1g de peso seco no tiene una distribución normal

KRUSKAL TEST

Kruskal-Wallis rank sum test

chi-squared = 95.96	df = 3	p-value = 0
---------------------	--------	-------------

Ya que: p-value < 0.05. Se rechaza H₀

Por lo cual, según la prueba de Kruskal Wallis, con un nivel de significación del 5%, hay evidencia para afirmar que tasa de aclaramiento estandarizada para un individuo de 1g de peso seco difiere entre los tratamientos.

DUNNET TEST

		Comparison of x by group		
Col	Mean-			
Row	Mean	A	C	H
C	-7.310399 0.0000*			
H	-2.832994 0.0023*	3.595347 0.0002*		
I	1.715164 0.0432	9.114699 0.0000*	4.373238 0.0000*	

(*) Existen diferencias significativas

La prueba de Dunnet indica a un nivel de confianza del 95%, que existen diferencias significativas entre los tratamientos de C vs A, H vs A, H vs C, I vs C y I vs H.

Anexo 3: Pruebas estadísticas tasa de aclaramiento especifica

ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F-value	Pr (>F)
Trat	3	11.66	3.888	38.77	2×10^{-16} ***
Residual	315	31.59	0.100		

(***) Existen diferencias significativas

SHAPIRO TEST

Shapiro-Wilk normality test

W = 0.9312	p-value = 5.011×10^{-06}
------------	-----------------------------------

Ya que: p-value < 0.05. Se rechaza H_0 : No normalidad

Por lo cual, según la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk la tasa de aclaramiento especifica no tiene una distribución normal

KRUSKAL TEST

Kruskal-Wallis rank sum test

chi-squared = 76.981	df = 3	p-value = 2.2×10^{-16}
----------------------	--------	---------------------------------

Ya que: p-value < 0.05. Se rechaza H_0

Por lo cual, según la prueba de Kruskal Wallis, con un nivel de significación del 5%, hay evidencia para afirmar que la tasa de aclaramiento especifica difiere entre los tratamientos.

DUNNET TEST

		Comparison of x by group		
Col	Mean-	A	C	H
Row	Mean			
C		-6.392368 0.0000*		
H		-1.400547 0.0807	4.763396 0.0000*	
I		1.888089 0.0295	8.340529 0.0000*	3.235248 0.0006*

(*) Existen diferencias significativas

La prueba de Dunnet indica a un nivel de confianza del 95%, que existen diferencias significativas entre los tratamientos de C vs A, H vs C, I vs C y I vs H.

Anexo 4: Pruebas estadísticas de la tasa de crecimiento en talla

ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F-value	Pr (>F)
Trat	3	179	59.83	1.536	2×10^{-16} ***
Residual	632	24622	38.96		

(***) Existen diferencias significativas

SHAPIRO TEST

Shapiro-Wilk normality test

W = 0.9544	p-value = 3.933×10^{-13}
------------	-----------------------------------

Ya que: p-value < 0.05. Se rechaza H₀: No normalidad

Por lo cual, según la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk la tasa de crecimiento en talla no tiene una distribución normal

KRUSKAL TEST

Kruskal-Wallis rank sum test

chi-squared = 4.1695	df = 3	p-value = 0.2437
----------------------	--------	------------------

Ya que: p-value > 0.05. No se rechaza H₀

Por lo cual, según la prueba de Kruskal Wallis, con un nivel de significación del 5%, no hay evidencia para afirmar que la tasa de crecimiento en talla no difiere entre los cuatro tratamientos.

DUNNET TEST

		Comparison of x by group		
Col	Mean- Row Mean	A	C	H
	C	-1.402263 0.0804		
	H	-0.282443 0.3888	1.118934 0.1316	
	I	0.577180 0.2819	1.985699 0.0235*	0.860510 0.1948

(*) Existen diferencias significativas

La prueba de Dunnet indica a un nivel de confianza del 95%, que existen diferencias significativas entre los tratamientos de C vs I.

Anexo 5: Pruebas estadísticas de la tasa de crecimiento en peso

ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F-value	Pr (>F)
Trat	3	6.7	2.229	1.129	0.337
Residual	627	1238.6	1.975		

SHAPIRO TEST

Shapiro-Wilk normality test

W = 0.8689	p-value = 2.2×10^{-16}
------------	---------------------------------

Ya que: p-value < 0.05. Se rechaza H₀: No normalidad

Por lo cual, según la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, la tasa de crecimiento en peso no tiene una distribución normal

KRUSKAL TEST

Kruskal-Wallis rank sum test

chi-squared = 3.0018	df = 3	p-value = 0.3913
----------------------	--------	------------------

Ya que: p-value > 0.05. No se rechaza H₀

Por lo cual, según la prueba de Kruskal Wallis, con un nivel de significación del 5%, no hay evidencia para afirmar que la tasa de crecimiento en peso no difiere entre los cuatro tratamientos.

DUNNET TEST

		Comparison of x by group		
Col	Mean-	A	C	H
ROW	Mean			
C		-1.078298 0.1405		
H		-0.238627 0.4057	0.839538 0.2006	
I		0.617050 0.2686	1.708966 0.0437*	0.858578 0.1953

(*) Existen diferencias significativas

La prueba de Dunnet indica a un nivel de confianza del 95%, que existen diferencias significativas entre los tratamientos de C vs I.

Anexo 6: Pruebas estadísticas sobrevivencia

ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F-value	Pr (>F)
Trat	3	24916	8305	56.79	2×10^{-16} ***
Residual	623	91115	146		

(***) Existen diferencias significativas

KRUSKAL TEST

Kruskal-Wallis rank sum test

chi-squared = 150.29	df = 3	p-value = 2.2×10^{-16}
----------------------	--------	---------------------------------

Ya que: p-value < 0.05. Se rechaza H_0

Por lo cual, según la prueba de Kruskal Wallis, con un nivel de significación del 5%, hay evidencia para afirmar que la sobrevivencia difiere entre los tratamientos.

DUNNET TEST

Co1 ROW	Mean- Mean	Comparison of x by group		
		A	C	H
C	-11.39532 0.0000*			
H	-1.431599 0.0761	8.760686 0.0000*		
I	-3.089114 0.0010*	8.306206 0.0000*	-1.331389 0.0915	

(*) Existen diferencias significativas

La prueba de Dunnet indica a un nivel de confianza del 95%, que existen diferencias significativas entre los tratamientos de C vs A, A vs I, I vs C y H vs C.

Anexo 7: Comparación semanal entre las tasas de aclaramiento especifica

Semana	Comparaciones	Diferencias	p-value	Chi-cuadrado
1	C-A	sig (C>A)	p-value = 0.00	chi-squared = 25.4
	C-H	n.s		
	C-I	sig (C>I)		
	H-A	n.s		
	H-I	sig (H>I)		
	I-A	n.s		
2	C-A	sig (C>A)	p-value = 0.00	chi-squared = 15.7704
	C-H	n.s		
	C-I	sig (C>I)		
	H-A	n.s		
	H-I	sig (H>I)		
	I-A	n.s		
3	C-A	sig (C>A)	p-value = 0.00	chi-squared = 16.0993
	C-H	n.s		
	C-I	sig (C>I)		
	H-A	n.s		
	H-I	sig (H>I)		
	I-A	n.s		
4	C-A	n.s	p-value = 0.41	chi-squared = 2.6999
	C-H	n.s		
	C-I	n.s		
	H-A	n.s		
	H-I	n.s		
	I-A	n.s		
5	C-A	sig (C>A)	p-value = 0.00	chi-squared = 18.3194
	C-H	n.s		
	C-I	sig (C>I)		
	H-A	n.s		
	H-I	sig (H>I)		
	I-A	n.s		
6	C-A	sig (C>A)	p-value = 0.00	chi-squared = 17.9543
	C-H	sig (C>H)		
	C-I	sig (C>I)		
	H-A	n.s		
	H-I	n.s		
	I-A	n.s		
7	C-A	sig (C>A)	p-value = 0.00	chi-squared = 20.4785
	C-H	n.s		
	C-I	sig (C>I)		
	H-A	sig (H>A)		
	H-I	sig (H>I)		
	I-A	n.s		

n.s: No hay diferencias significativas

sig: Hay diferencias significativas

Anexo 8: Comparación de la selectividad de microalgas *I. galbana* y *C. calcitrans*

Microalga	Comparaciones	Diferencias	p-value	Chi-cuadrado
<i>I. galbana</i>	C-A	n.s	p-value = 0.20	chi-squared = 4.5146
	C-H	n.s		
	C-I	n.s		
	H-A	n.s		
	H-I	n.s		
	I-A	n.s		
<i>C. calcitrans</i>	C-A	n.s	p-value = 0.21	chi-squared = 4.1328
	C-H	n.s		
	C-I	n.s		
	H-A	n.s		
	H-I	n.s		
	I-A	n.s		

n.s: No hay diferencias significativas

Anexo 9: Parámetros de crecimiento de la curva Von Bertalanffy obtenidas en cada tratamiento

Tratamiento	K	To	L.I (K)	L.S (K)	L.I (To)	L.S (To)
Estrés múltiple (I)	1.51	0.201	1.36	1.65	0.185	0.213
Estrés por acidez (A)	1.44	0.189	1.29	1.58	0.171	0.203
Estrés por hipoxia (H)	1.37	0.175	1.19	1.54	0.15	0.195
Control (C)	1.45	0.179	1.3	1.59	0.161	0.195

Anexo 10: Imágenes de individuos con desviación valvar

