

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS**  
**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS**



**“EFECTO DEL MARCAJE DE SEMILLA DE ABULÓN ROJO (*Haliotis rufescens*)  
SOBRE SU SOBREVIVENCIA Y CRECIMIENTO”**

**TESIS**

**QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
BIOTECNÓLOGO EN ACUACULTURA**

**PRESENTA**

**RAMÓN FRANCISCO MARTÍNEZ SANDOVAL**

ENSENADA B.C, AGOSTO 2015

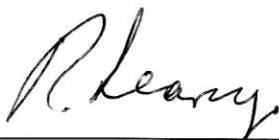
**“EFECTO DEL MARCAJE DE SEMILLA DE ABULÓN ROJO (*Haliotis rufescens*)  
SOBRE SU SOBREVIVENCIA Y CRECIMIENTO”**

TESIS

QUE PRESENTA:

**RAMÓN FRANCISCO MARTÍNEZ SANDOVAL**

Aprobado por:



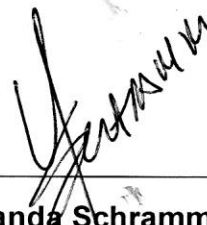
**Dr. Ricardo Searcy Bernal**

**Presidente del Jurado**



**Dra. Casandra Anguiano Beltrán**

**Sinodal**



**Dra. Yolanda Schramm Urrutia**

**Sinodal**

## RESUMEN

En este trabajo se llevaron a cabo tres experimentos relacionados con el marcaje de semilla de abulón rojo (*H. rufescens*). En el primero se utilizaron 24 semillas de una talla promedio de 35.13 mm y peso de 6.03 g para comparar la eficiencia en la retención de marcas (etiquetas plásticas y microchips tipo PIT) con los adhesivos Zap-A-Gap, CorAfixx y Kola Loka, y tiempos de secado de 5 y 10 minutos. En el segundo experimento se utilizaron seis semillas de abulón para comparar la efectividad del secado inmediato con bicarbonato de sodio con un tiempo de secado de 10 minutos. Estos dos experimentos tuvieron una duración de 37 y 31 días respectivamente. El tercer y principal experimento tuvo el objetivo de determinar el efecto del marcaje sobre la sobrevivencia y crecimiento de las semillas. Se realizó con 124 abulones con promedios de talla y peso de 26.13 mm y 2.46 g, respectivamente, en cuatro tratamientos con tres réplicas (cajas de plástico de 2 L): control sin marcas, etiquetas plásticas, microchips tipo PIT y ambas marcas. Se llevaron a cabo 3 biometrías, una al inicio del experimento, otra a los 47 días y una final a los 91 días. En los tres experimentos los organismos fueron alimentados de forma *ad libitum* y se llevaron a cabo monitoreos de la temperatura, oxígeno disuelto y pH. Durante el desarrollo de los tres experimentos la temperatura ambiente fue constante (17°C) mientras que la temperatura del agua fue en decremento (de 20 a 17°C) a causa de la transición de las estaciones anuales que imperan en esos meses. En cuanto al oxígeno disuelto y el pH siempre se mantuvieron estables ( $7.5 \pm 0.5$  ppm y  $8.3 \pm 1$ ). En el primer experimento se obtuvo una sobrevivencia del 100% y un crecimiento promedio en talla de 0.0160 mm/d y en peso de 0.0122 g/d. El desempeño de los tres adhesivos fue satisfactorio pero se obtuvo una mayor retención de marcas con el pegamento CorAfixx y en el tiempo de secado de 5 minutos. En el segundo experimento la sobrevivencia fue del 100%, solamente hubo una marca PIT desprendida del tratamiento con el secado de 10 minutos y fueron evidentes las ventajas del secado con bicarbonato. En el tercer experimento la sobrevivencia fue del 99.16%. El crecimiento en longitud y peso durante el desarrollo del experimento fue satisfactorio y no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. En la segunda biometría el mayor crecimiento en longitud se obtuvo en el tratamiento donde solo se marcó con la etiqueta plástica (0.0294 mm/d). A partir de la segunda biometría y hasta el final del experimento, en el tratamiento etiquetado con las marcas PIT, se observaron los mayores crecimiento en longitud (0.365 mm/d) y peso (0.0146 g). Se concluye que la combinación del adhesivo CorAfixx y secado inmediato con bicarbonato es un método efectivo para el marcaje de semillas de abulón rojo (*H. rufescens*), tanto con etiquetas plásticas como microchips PIT, el cual no tiene efectos adversos en su sobrevivencia y crecimiento.

## CONTENIDO

|                                                                                                                 |        |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| RESUMEN.....                                                                                                    | III    |
| LISTA DE FIGURAS.....                                                                                           | VI     |
| LISTA DE TABLAS .....                                                                                           | VIII   |
| AGRADECIMIENTOS.....                                                                                            | X      |
| DEDICATORIA.....                                                                                                | XI     |
| INTRODUCCIÓN.....                                                                                               | 1      |
| ANTECEDENTES .....                                                                                              | 3      |
| OBJETIVOS .....                                                                                                 | 6      |
| <br>MATERIALES Y METODOS.....                                                                                   | <br>6  |
| Origen y transporte de la semilla de abulón rojo ( <i>H. rufescens</i> ) .....                                  | 6      |
| Mantenimiento .....                                                                                             | 7      |
| Sistema de cultivo .....                                                                                        | 8      |
| Proceso de marcado.....                                                                                         | 10     |
| Marcas de identificación, adhesivos y tiempos de secado .....                                                   | 10     |
| Medición y pesado.....                                                                                          | 10     |
| Montaje de marcas plásticas .....                                                                               | 12     |
| Montaje de marcas electrónicas (PIT) .....                                                                      | 12     |
| Fase experimental .....                                                                                         | 14     |
| Estandarización del método de marcaje y selección del adhesivo .....                                            | 14     |
| Marcado con secado inmediato .....                                                                              | 15     |
| Efecto del marcaje sobre el crecimiento y sobrevivencia .....                                                   | 17     |
| Análisis estadísticos.....                                                                                      | 18     |
| <br>RESULTADOS.....                                                                                             | <br>19 |
| Parámetros ambientales .....                                                                                    | 19     |
| Estandarización del método de marcaje y selección del adhesivo .....                                            | 20     |
| Efecto del marcaje sobre la sobrevivencia y crecimiento de semilla de abulón rojo ( <i>H. rufescens</i> ) ..... | 23     |

|                                                           |        |
|-----------------------------------------------------------|--------|
| <i>Sobrevivencia</i> .....                                | 23     |
| <i>Mediciones y análisis estadísticos de inicio</i> ..... | 23     |
| <i>Crecimiento</i> .....                                  | 25     |
| Análisis estadístico de crecimiento .....                 | 28     |
| <br>DISCUSIÓN .....                                       | <br>31 |
| Parámetros ambientales .....                              | 31     |
| Sobrevivencia .....                                       | 31     |
| Retención de marcas .....                                 | 32     |
| Crecimiento.....                                          | 34     |
| <br>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....                  | <br>37 |
| <br>LITERATURA CITADA .....                               | <br>39 |

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Fig. 1.</b> Transporte de semilla de abulón rojo ( <i>H. rufescens</i> ). .....                                                                                                                                                                                    | 7  |
| <b>Fig. 2.</b> Sistema de cultivo con flujo abierto: a) Reservorio, b) manguera de agua conectora, c) filtración, d) tubería.....                                                                                                                                     | 9  |
| <b>Fig. 3.</b> a) Cajas experimentales, b) manguera de agua de mar, c) manguera de aire. ...                                                                                                                                                                          | 9  |
| <b>Fig. 4.</b> Marcas utilizados en el estudio. A) Marca plástica Floy Tag Inc, B) marcas electrónicas Biomark.....                                                                                                                                                   | 10 |
| <b>Fig. 5.</b> Abulones seleccionados para el proceso de marcado. ....                                                                                                                                                                                                | 11 |
| <b>Fig. 6.</b> A) Medición de longitud total, B) pesaje .....                                                                                                                                                                                                         | 11 |
| <b>Fig. 7.</b> Proceso de marcaje, A) aplicación del adhesivo, B) montaje de la marca plástica, C) surco con lima industrial, D) montaje de la marca PIT .....                                                                                                        | 13 |
| <b>Fig. 8.</b> Abulones marcados. A) Marca plástica, B) marca electrónica tipo PIT .....                                                                                                                                                                              | 13 |
| <b>Fig. 9.</b> Diagrama del diseño experimental del proceso de estandarización del marcado y selección del adhesivo; a) línea de agua, b) línea de aire, c) estanque de cultivo. Cajas experimentales en azul .....                                                   | 15 |
| <b>Fig. 10.</b> Proceso de secado inmediato del adhesivo con bicarbonato de sodio. A) Recipiente con bicarbonato de sodio, B) aplicación sobre el abulón con la concha hacia abajo, C) abulón con residuos de bicarbonato, D) lavado del abulón con agua de mar. .... | 16 |
| <b>Fig. 11.</b> Diagrama del diseño experimental del efecto del marcaje sobre la sobrevivencia y crecimiento de semilla de abulón rojo ( <i>H. rufescens</i> ); a) línea de agua, b) línea de aire, c) estanque de cultivo. Cajas experimentales en azul .....        | 18 |
| <b>Fig. 12.</b> Temperatura promedio ambiente y de agua de mar durante el desarrollo de los experimentos. ....                                                                                                                                                        | 20 |

**Fig.13.** Comportamiento del crecimiento en longitud durante el desarrollo del experimento (medias  $\pm$  error estándar) ..... 27

**Fig.14.** Comportamiento del crecimiento en peso durante el desarrollo del experimento (medias  $\pm$  error estándar) ..... 27

## LISTA DE TABLAS

|                                                                                                                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabla I.</b> Tratamientos de acuerdo al pegamento y tiempo de secado. ....                                                                                                               | 14 |
| <b>Tabla II.</b> Resultados del experimento de la estandarización del método de marcaje de acuerdo a los tratamientos utilizados. Marcas caídas: plástica (P), electrónica (PIT).....       | 21 |
| <b>Tabla III.</b> Análisis de varianza del crecimiento en longitud (mm/d) del experimento de la estandarización del método de marcaje.....                                                  | 22 |
| <b>Tabla IV.</b> Análisis de varianza del crecimiento en peso (g/d) del experimento de la estandarización del método de marcaje.....                                                        | 22 |
| <b>Tabla V.</b> Longitudes y pesos iniciales promedio de las tres unidades experimentales de cada tratamiento .....                                                                         | 24 |
| <b>Tabla VI.</b> Análisis de varianza de la longitud inicial del experimento del efecto del marcaje sobre la sobrevivencia y crecimiento de semilla de abulón rojo ( <i>H. rufescens</i> )  | 24 |
| <b>Tabla VII.</b> Análisis de varianza del peso inicial del experimento del efecto del marcaje sobre la sobrevivencia y crecimiento de semilla de abulón rojo ( <i>H. rufescens</i> ) ..... | 25 |
| <b>Tabla VIII.</b> Crecimiento promedio en longitud y peso entre las biometrías.....                                                                                                        | 26 |
| <b>Tabla IX.</b> Análisis de varianza del crecimiento en longitud (mm/d) del inicio del experimento a la biometría 1. Días transcurridos: 48.....                                           | 28 |
| <b>Tabla X.</b> Análisis de varianza del crecimiento en peso (g/día) del inicio del experimento a la biometría 1. Días transcurridos: 48.....                                               | 28 |
| <b>Tabla XI.</b> Análisis de varianza del crecimiento en longitud (mm/d) de la biometría 1 a la 2. Días transcurridos: 61 .....                                                             | 29 |



|                                                                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabla XII.</b> Análisis de varianza del crecimiento en peso (g/d) de la biometría 1 a la 2.<br>Días transcurridos: 61..... | 29 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabla XIII.</b> Análisis de varianza del crecimiento en longitud (mm/d) de la biometría 0 a la 2. Días transcurridos: 109 ..... | 30 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabla XVI.</b> Análisis de varianza del crecimiento en peso (g/d) de la biometría 0 a la 2.<br>Días transcurridos: 109 ..... | 30 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a la Universidad Autónoma de Baja California, a la Facultad de Ciencias Marinas y al Instituto de Investigaciones Oceanológicas el haberme brindado la oportunidad para realizar mi tesis, una beca y las facilidades que se me otorgaron para utilizar sus instalaciones.

Mil gracias a mi director de tesis, Dr. Ricardo Searcy Bernal, por su amistad, ayuda, correcciones, consejos y compartir su gran experiencia conmigo durante la realización de este proyecto.

Muchas Gracias a mi sinodal Dr. Casandra Anguiano Beltrán, por su amistad, correcciones, consejos, y esos buenos momentos compartidos.

Muchas gracias a mi sinodal, Dra. Yolanda Schramm por sus correcciones.

Muchas Gracias por su amistad y su ayuda durante mis experimentos, además de hacer agradables todos esos momentos de trabajo a mis colegas Biotecnólogos en Acuacultura Francisco Villavicencio, Jair Quezada, y a mis compañeros Brianda Aguilar y Samuel Gómez.

Gracias a las empresa Abulones Cultivados S.A de R.L y Productores Marinos Baja S.A de C.V. por haber donado las semillas de abulón utilizadas en los experimentos.

Gracias a mis copañer@s de clase por haber compartido todo esos buenos momentos.

Un eterno agradecimiento a cado uno de los maestros con los que tome clase, ya que si no fuera por ellos no hubiera podido concluir mis estudios profesionales.

## DEDICATORIA

A Dios:

Por cada momento que hacen de esta vida la mejor de todas.

Gracias a mis padres:

Ramón Martínez Alcantar (QEPD) y Ma. Esther Sandoval Morales por su amor y guiarme siempre por el camino del bien, por ser siempre mi mejor ejemplo y por inculcarme el valor de la HUMILDAD, Los amo.

A mis hermanos:

Lucia y Jesús por siempre estar conmigo a pesar de la distancia, la familia es primero.  
Los amo.

A Mayte:

Por apoyar mis sueños y ser mi compañera de vida. Te amo.

Gracias a toda mi familia y amigos que siempre me apoyaron, y me dedicaron un momento de su tiempo para darme un consejo.

## INTRODUCCIÓN

Los abulones son moluscos gasterópodos bentónicos. Sus principales características son la forma oval de su concha, de perfil notablemente aplanado (Vivanco-Aranda, 2004), así como un músculo aductor de gran tamaño llamado pie que constituye la parte comestible (Flores-Aguilar, 1989). El hábitat de los Haliótidos se encuentra en la zona costera rocosa, desde la región intermareal hasta aproximadamente 50 metros de profundidad. Sus poblaciones se distribuyen en agregaciones ligadas a la diversidad de substratos, la intermitencia de los mantos algales, y la capacidad de dispersión de larvas (León-Carballo y Muciño-Díaz, 1996).

En el mundo existen alrededor de 100 especies de abulón, pertenecientes al género *Haliotis*, distribuidas principalmente en las zonas templadas, y clasificados de acuerdo con las características de la concha, del epipodio y del pie. En costas mexicanas se distribuyen 7 especies de abulón (*H. fulgens*, *H. corrugata*, *H. cracherodii*, *H. sorenseni*, *H. rufescens*, *H. assimilis*, *H. walallensis*) las cuales se encuentran en aguas del Océano Pacífico (SAGARPA, 2009), desde Islas Coronado Baja California hasta Bahía Magdalena, Baja California Sur, con las poblaciones mayores en el centro de la península de Baja California (Anguiano-Beltrán, 2007). De las especies distribuidas en la península de Baja California, la pesquería se basa en dos: abulón azul (*H. fulgens*) y abulón amarillo (*H. corrugata*) (Searcy-Bernal *et al.*, 2010).

La pesquería de abulón en México fue iniciada aproximadamente en los años 20's realizada a manos de japoneses, pero fue hasta los años 40's cuando empezó la pesca formal de abulón a cargo de las Sociedades Cooperativas Pesqueras. La sobrepesca, pesca ilegal, así como los cambios medioambientales globales han disminuido seriamente las poblaciones silvestres. Un ejemplo de esto fue la disminución de la captura, de un máximo histórico de 5,993 toneladas a principios de la década de los 50's hasta poco más de 400 toneladas a principios de los años 80's. La tendencia de captura para la siguiente década mejoró considerablemente, alcanzando a finales de la época de los 80's cerca de las 1,000 toneladas. A pesar de este incremento los volúmenes de captura decrecieron, y para finales de los 90's se obtuvieron alrededor de 600 toneladas. Para los inicios del siglo XXI, SAGARPA, indica que entre los años 2000-2008 los volúmenes de captura fluctuaron entre las 500 a 1000 toneladas (SAGARPA, 2006; Searcy-Bernal *et al.*, 2010). A consecuencia de la disminución de los volúmenes de captura se ha desarrollado desde hace varias décadas la tecnología de cultivo particularmente de abulón rojo (*H. rufescens*) y abulón azul (*H. fulgens*) (Searcy-Bernal *et al.*, 2010).

## ANTECEDENTES

La producción de larvas y semillas de abulón con fines de repoblamiento de los bancos naturales de abulón, es una actividad que se ha venido practicando por el sector cooperativo desde mediados de los años 80's (Searcy-Bernal *et al.*, 2010). A la fecha, son 6 los laboratorios funcionales, pertenecientes al sector pesquero, que en conjunto produjeron y liberaron alrededor de 152 millones de larvas y aproximadamente 513 mil semillas de abulon azul (*H. fulgens*) y amarillo (*H. corrugata*) en 2011 (Searcy-Bernal *et al.*, 2013). A pesar de esto, no se conoce el impacto de esta actividad en las poblaciones naturales debido a las dificultades asociadas a una evaluación precisa. En cuanto al sector privado, existen tres proyectos dirigidos a la siembra de semillas de abulón rojo (*H. rufescens*) producidas en laboratorio en las zonas de Bahía de Todos Santos, San Quintín y el Rosario, Baja California, además de otros proyectos relacionados (del Río-Portilla *et al.* 2010; Franco-Ruíz, 2010).

A nivel mundial, la siembra de semilla de abulón con fines de repoblamiento dio inicio en Japón en la década de los 60's (McCormick *et al.*, 1994; Hamasaki y Kitada, 2008). Anualmente se siembran en ese país de 25 a 30 millones de semillas y se estima una tasa de recuperación de 1-24% de abulones de talla comercial (Hamasaki y Kitada, 2008). Después de Japón, México es el segundo país con programas intensos de repoblamiento de abulón (Searcy-Bernal *et al.*, 2013).

La información que se tiene sobre el impacto de los programas de repoblamiento en otros países es reducida, ya que los estudios experimentales realizados son pocos. Estos estudios requieren la liberación y captura de semillas marcadas. Entre los países

que han evaluado la efectividad y factores que afectan la siembra de abulón se encuentran Australia (Dixon *et al.*, 2006; James *et al.*, 2007), Nueva Zelanda (Schiel, 1993; Roberts *et al.*, 2007), Sudáfrica (de Waal *et al.*, 2003; Godfrey, 2003) y Estados Unidos (Burton y Tegner, 2000). En México, los únicos trabajos científicos en este sentido fueron realizados por la UABC a mediados de los años 80's (Searcy-Bernal y Salas-Garza, 1985; Searcy-Bernal *et al.*, 2013) y más reciente por el Instituto Politécnico Nacional (Guzmán del Proó *et al.*, 2004), además de las aportaciones empíricas de las sociedades cooperativas.

El método más usual para el marcaje de abulón, consiste en pequeñas etiquetas plásticas numeradas, pegadas a la concha del abulón con adhesivo de secado rápido (Shepherd *et al.*, 2000; Godfrey, 2003; Dixon *et al.*, 2006). Este tipo de marcas han sido utilizados para marcar abulón azul (*H. fulgens*) por algunos laboratorios del sector cooperativo (Aguilar-Osuna, 2010; González-Avilés, 2010), por el Instituto Politécnico Nacional (Guzmán del Proo *et al.*, 2004) y la Universidad Autónoma de Baja California (Searcy-Bernal y Salas-Garza, 1985). El problema que radica en este tipo de marcas es su baja efectividad de visualización o lectura en las faenas de buceo, ya que son efectivos sólo durante los primeros meses, puesto que con el tiempo se cubren de fauna incrustante que deterioran las marcas llegando en algunos casos al desprendimiento de las mismas.

Otro aspecto de importancia reside en los hábitos de vida de abulones juveniles que suelen encontrarse en grietas o cuevas inaccesibles, impidiendo recuperar organismos marcados. Otro método de marcado poco experimentado es mediante marcas electrónicas tipo PIT (por sus siglas en inglés, Passive Integrated Transponder). Este

tipo de marcas se han utilizado con éxito en invertebrados y peces (Nielsen, 1992; Gibbons y Andrews, 2004). Las marcas PIT son pequeñas, tienen una durabilidad de décadas y están formadas por un microchip inerte electromagnético y protegido por una capsula de cristal (Gibbons y Andrews, 2004). Cada marca contiene un código de 12 dígitos que es detectado por un lector a distancia que depende del microchip y el lector. Los estudios relacionados con este tipo de marca en abulones son escasos, uno de ellos es el llevado a cabo por el Servicio Nacional de Pesca Marina y Departamento de Pesca y Caza de California en Estados Unidos de América, que desde 2006 ha realizado investigaciones de marcado de organismos adultos de abulón rojo (*H. rufescens*) y abulón negro (*H. cracherodii*) (Koslow *et al.*, 2009). Estudios recientes recomiendan el uso de las marcas PIT en semillas de abulón *H. kamtschatkana* sin efectos negativos en su sobrevivencia (Hale *et al.*, 2012).

Para que un método de marcado sea confiable y eficiente, es necesario la retención de la marca sobre el organismo por un tiempo suficiente que posibilite la evaluación precisa del método y no interfiera en las funciones fisiológicas primarias del organismo, como son el crecimiento y la sobrevivencia (Pierre-Yves y Jarne, 2007).

En este estudio se compara la eficiencia de tres adhesivos utilizados para el marcaje de abulón con marcas plásticas numeradas y tipo PIT, para posteriormente evaluar si existe algún efecto sobre el crecimiento y sobrevivencia de abulón rojo (*H. rufescens*).



## OBJETIVOS

### General

1. Determinar el efecto del marcaje con marcas plásticas y microchips de vidrio tipo PIT en la sobrevivencia y crecimiento de semilla de abulón rojo (*H. rufescens*).

### Específicos

1. Comparar la eficiencia de tres adhesivos utilizados para marcar abulón rojo (*H. rufescens*) empleados en etiquetas plásticas y tipo PIT.
2. Determinar el efecto del marcaje en la sobrevivencia y crecimiento de semilla de abulón rojo (*H. rufescens*).

## MATERIALES Y METODOS

El desarrollo de la primera fase experimental (objetivo 1) se realizó en los meses de junio a julio de 2013, mientras que la segunda (objetivo 2) de octubre de 2013 a febrero de 2014. El total de las actividades realizadas se llevó a cabo en el Laboratorio de Bioensayos No. 5 dentro, de las instalaciones del Instituto de Investigaciones Oceanológicas en la ciudad de Ensenada Baja California.

### Origen y transporte de la semilla de abulón rojo (*H. rufescens*)

Los organismos utilizados fueron donados por la empresa Productores Marinos Baja S.A. de C.V. ubicada en el Ejido Eréndira B.C. a 100 km al sur de Ensenada B.C.; estos fueron transportados al Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la Universidad

Autónoma de Baja California en Ensenada B.C. Los abulones fueron empacados en una caja de poliestireno de 30x60x20 cm, la cual contenía en el fondo 3 bolsas tipo “gel ice”. Sobre las bolsas se colocó un recipiente de plástico la cual contenía una esponja de poliuretano húmeda donde se colocaron las semillas (Fig.1)



Fig. 1. Transporte de semilla de abulón rojo (*H. rufescens*).

Un vez llegaron al laboratorio se retiraron de la bolsa y se colocaron sobre una charola de plástico de 15 L en un sistema de cultivo abierto, aireación constante y se suministraron frondas frescas de *Macrocystis pyrifera*. Se llevó a cabo un periodo de aclimatación de 16 días antes de iniciar los experimentos.

### Mantenimiento

El mantenimiento de los organismos se realizó exactamente igual en todos los experimentos. Cada tercer día se alimentaron *ad libitum* con frondas frescas de *M. pyrifera*; y se realizó un cambio de agua del 100% para retirar heces y algas en mal estado. Se monitorearon parámetros ambientales de importancia. La temperatura se

registró diariamente, mientras que el oxígeno disuelto y el pH se registraron semanalmente. La temperatura se registró con un termómetro de mercurio Universal Enterprise Modelo L2-001, la temperatura del ambiente con termómetro digital Cole-Parmer MOD 9006-01, el oxígeno disuelto con un oxímetro marca YSI MOD Y55A12 y el pH con un potenciómetro Corning Scholar 425. Para llevar a cabo los experimentos, se utilizaron recipientes (cajas experimentales) de plástico de 2 L donde se depositaron los abulones de acuerdo con las características de los experimentos.

### Sistema de cultivo

Se utilizó un sistema de cultivo con flujo abierto. El agua utilizada en el laboratorio fue bombeada de la zona conocida como Punta Morro. Una vez el agua era transportada, se depositó en un reservorio ubicado en las instalaciones del Instituto de Investigaciones Oceanológicas y después trasladada a un sedimentador para finalmente ser distribuida por la red de tuberías hasta llegar al Laboratorio de Bioensayos No. 5. Para el buen funcionamiento de las actividades de la fase experimental se utilizó un aljibe de 500 L, esto para disponer de agua de mar durante todo el día; antes de ingresar el agua en el aljibe se realizó una primera filtración a 100  $\mu$ , una vez el agua estaba en el aljibe esta era transportada por medio de gravedad con una segunda filtración de 10 $\mu$ , y una tercera de 1 $\mu$  (Fig. 2) Después de esto, el agua se distribuyó por el sistema de cultivo hasta llegar a las cajas experimentales por medio de mangueras de plástico. El sistema de aireación también se proporcionó por medio de tuberías y se distribuyó en los recipientes por medio de mangueras y piedras de aireación (Fig. 3).

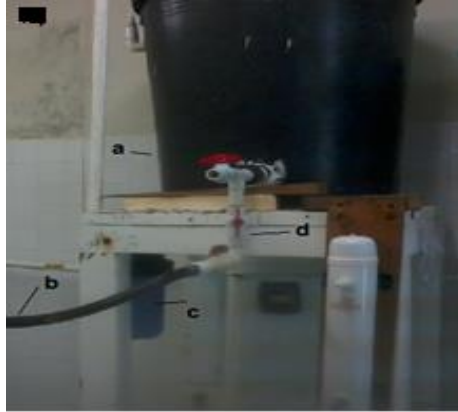


Fig. 2. Sistema de cultivo con flujo abierto: a) Reservorio, b) manguera de agua conectora, c) filtración, d) tubería.



Fig. 3. a) Cajas experimentales, b) manguera de agua de mar, c) manguera de aire.

## Proceso de marcado

### *Marcas de identificación, adhesivos y tiempos de secado*

Se utilizaron marcas plásticas Floy Tag Inc., de 3x9 mm, y marcas electrónicas o microchips tipo “PIT” de la marca Biomark, de 1.4x9 mm (Fig. 4) y los adhesivos Zap-A-Gap, CorAfixx y Kola Loka (todos a base de cianoacrilatos).

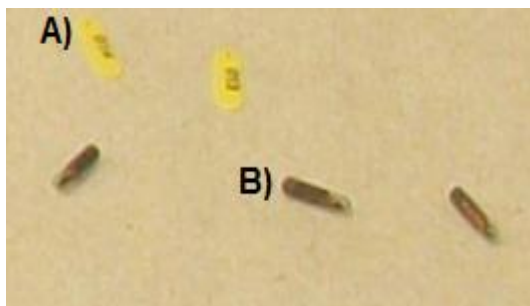


Fig. 4.- Marcas utilizados en el estudio. A) Marca plástica Floy Tag Inc, B) marcas electrónicas Biomark.

Se consideraron dos tiempos de secado: 5 y 10 minutos, así como un secado rápido utilizando bicarbonato de sodio (en un ensayo preliminar posterior).

### *Medición y pesado*

Cada abulón fue despegado con cuidado con la ayuda de una espátula y colocado sobre una charola de plástico con frondas frescas de *M. pyrifera* para que los organismos estuvieran húmedos (Fig. 5).



Fig. 5. Abulones seleccionados para el proceso de marcado.

Se retiraron de la bandeja de aclimatación grupos de 8 a 10 abulones; uno por uno fueron secados superficialmente con toallas de papel y después medidos con un vernier digital marca Cole-Parmer MOD Carbon Fiber Digital Calipre 0-6" y pesados con una balanza digital marca Acculab MOD Pocket Pro 250-B (Fig. 6).



Fig. 6. A) Medición de longitud total, B) pesaje

### *Montaje de marcas plásticas*

Después de obtener su peso y longitud de forma individual, se llevó a cabo el proceso de marcaje con etiquetas plásticas. Se colocó una gota del adhesivo correspondiente sobre la parte alta del abulón, después se montó la marca de plástico sobre la gota de adhesivo y posteriormente se agregó otra gota para asegurar que la marca quedara totalmente cubierta con el adhesivo.

### *Montaje de marcas electrónicas (PIT)*

Con la ayuda de una lima industrial se generó un pequeño surco sobre la parte baja de la concha, después se colocó una gota del respectivo adhesivo y se depositó el PIT. De la misma manera que se montaron las etiquetas plásticas se agregó otra gota del adhesivo para que la marca quedara totalmente cubierta con el adhesivo (Fig. 7). Ya marcados los abulones se dejaron secar el tiempo correspondiente de acuerdo con los diferentes tratamientos, antes de colocarlos en las cajas experimentales (Fig. 8). El número de código de la etiquetas PIT fue registrado con un lector Biomark HPR plus.



Fig. 7. Proceso de marcaje, A) aplicación del adhesivo, B) montaje de la marca plástica, C) surco con lima industrial, D) montaje de la marca PIT

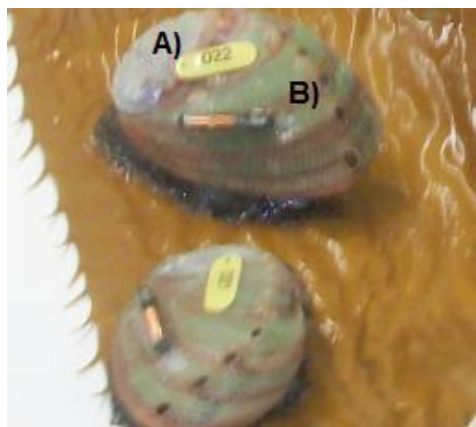


Fig. 8. Abulones marcados. A) Marca plástica, B) marca electrónica tipo PIT



## Fase experimental

### *Estandarización del método de marcaje y selección del adhesivo*

Se utilizaron semillas de abulón rojo (*H. rufescens*) con una longitud inicial promedio de 35.125 mm (e.e 0.459) y un peso promedio de 6.025 g (e.e 0.238). En este experimento se estandarizó el proceso de marcado y se determinó la efectividad de retención de marcas plásticas y PITS. Para este experimento se utilizó un total de 24 semillas de abulón rojo (*H. rufescens*) distribuidas en 3 tratamientos (2 réplicas por tratamiento). En los tres tratamientos los abulones fueron marcados con las dos marcas (Tabla 1). Para cada tratamiento se consideró un total de 4 abulones. Los organismos marcados fueron distribuidos al azar en 6 cajas experimentales de acuerdo con el tratamiento correspondiente (Fig. 9).

Tabla I.- Tratamientos de acuerdo al pegamento y tiempo de secado.

| <b>Tratamiento<br/>y unidad</b> | <b>Pegamento</b> | <b>Tiempo de secado<br/>(minutos)</b> |
|---------------------------------|------------------|---------------------------------------|
| 1 (AI)                          | Zap-A-Gap        | 5                                     |
| 2 (AII)                         | Zap-A-Gap        | 10                                    |
| 3 (BI)                          | CorAfixx         | 5                                     |
| 4 (BII)                         | CorAfixx         | 10                                    |
| 5 (CI)                          | Kola Loka        | 5                                     |
| 6 (CII)                         | Kola Loka        | 10                                    |

Este experimento tuvo una duración de 37 días, del 18 de junio de 2014 al 24 de julio de 2014. Durante el experimento se realizaron dos biometrías, la primera al inicio y la segunda al final.

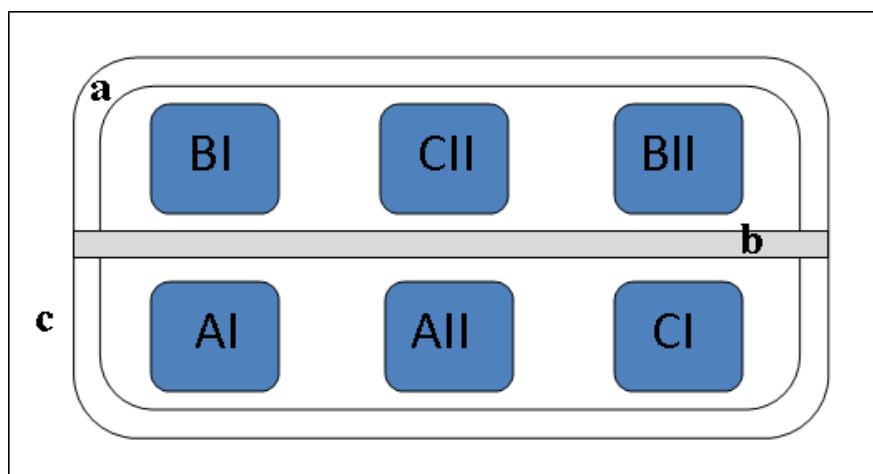


Fig. 9.- Diagrama del diseño experimental del proceso de estandarización del marcado y selección del adhesivo; a) línea de agua, b) línea de aire, c) estanque de cultivo.  
Cajas experimentales en azul

#### *Marcado con secado inmediato*

Al estar corriendo el experimento de la estandarización de método de marcaje y selección del adhesivo se nos informó de un procedimiento utilizado por el laboratorio de producción de semilla de abulón de la S.C.P.P Progreso, en el cual se lleva a cabo un secado de adhesivo de forma inmediata utilizando bicarbonato de sodio. Este método de secado se probó preliminarmente en abulones marcados con los dos tipos de marcas y el adhesivo Zap-A-Gap recién aplicado. Se colocó bicarbonato en un recipiente lo suficientemente grande para que los abulones cupieran, posteriormente se tomó el abulón con la concha hacia abajo y se puso en contacto el adhesivo con el

bicarbonato, lavando inmediatamente con agua de mar contenida en una piseta, para asegurar el desprendimiento de residuos de bicarbonato (Fig. 10). En dicho ensayo se utilizaron sólo seis abulones marcados con las dos distintas marcas y se utilizó un tiempo de secado de 10 minutos en tres de ellos y un tiempo de secado inmediato con bicarbonato en los otros tres. Los organismos se mantuvieron durante 31 días, del 25 de junio al 25 de julio de 2014. Durante el experimento se realizaron dos biometrías; la primera al iniciar el experimento y la segunda al finalizar.



Fig. 10.- Proceso de secado inmediato del adhesivo con bicarbonato de sodio. A) Recipiente con bicarbonato de sodio, B) aplicación sobre el abulón con la concha hacia abajo, C) abulón con residuos de bicarbonato, D) lavado del abulón con agua de mar

### *Efecto del marcaje sobre el crecimiento y sobrevivencia*

El segundo experimento tuvo como objetivo conocer si hay efectos del marcaje sobre el crecimiento y sobrevivencia de semillas de abulón rojo (*H. rufescens*). El proceso de marcaje y los procedimientos utilizados fueron exactamente igual a los descritos con anterioridad. En este experimento se utilizaron un total de 120 semillas de una longitud inicial promedio de 26.13 mm (e.e 0.016) y un peso inicial promedio de 2.46 g (0.004). Se llevaron a cabo 3 tratamientos experimentales con 3 réplicas y un tratamiento control; cada una de las réplicas constó de 10 abulones. En el tratamiento control los abulones no fueron marcados, en otro tratamiento solamente fueron marcados con las etiquetas plásticas, otro más con etiquetas electrónicas y otro más con las dos diferentes marcas. Al final se obtuvieron 12 cajas experimentales distribuidas al azar en 3 bloques (Fig. 11). El experimento tuvo una duración de 91 días del 26 de octubre de 2013 al 11 de febrero de 2014. Durante el experimento se realizaron 3 biometrías; la primera al iniciar el experimento, la segunda a los 47 días y la tercera al finalizar en experimento.

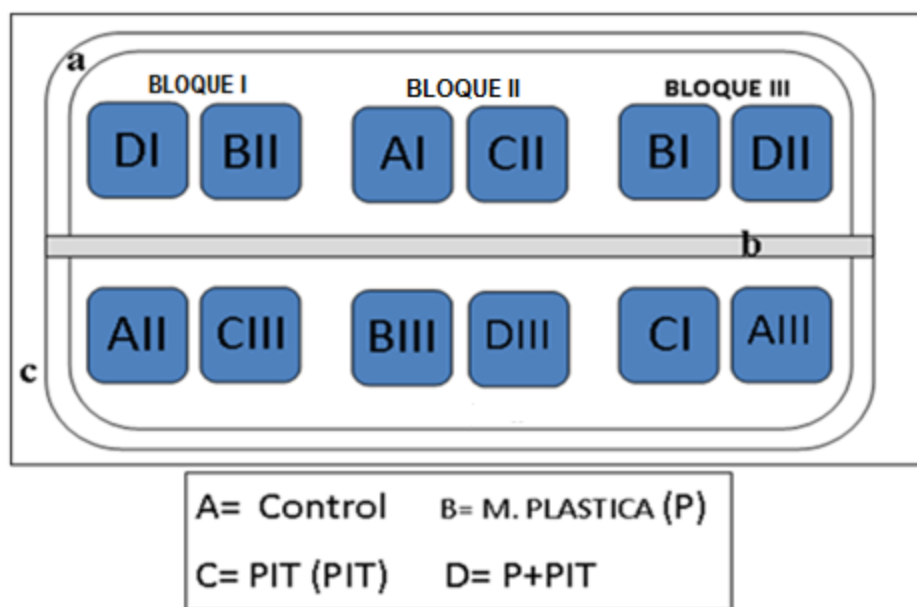


Fig. 11.- Diagrama del diseño experimental del efecto del marcaje sobre la sobrevivencia y crecimiento de semilla de abulón rojo (*H. rufescens*); a) línea de agua, b) línea de aire, c) estanque de cultivo. Cajas experimentales en azul

### Análisis estadísticos

Para evaluar estadísticamente los experimentos se llevaron a cabo análisis de varianza (ANOVA) para comparar la efectividad de los adhesivos y determinar el efecto del marcaje con diferentes métodos sobre la sobrevivencia y crecimiento de la semilla. En el caso del ensayo con bicarbonato de sodio se evaluó el efecto en crecimiento, en longitud y peso, mediante la prueba *t* de Student.

## RESULTADOS

### Parámetros ambientales

Durante el periodo experimental la temperatura del ambiente fue relativamente constante ya que el Laboratorio de Bioensayos No. 5, donde fueron desarrollados los experimentos, cuenta con aire acondicionado programado a 17°C. Las temperaturas del agua de mar registraron variaciones debido al cambio estacional en el agua de ingreso (Fig.12). Durante el experimento de la estandarización del método de marcaje y el experimento del secado inmediato realizado en los meses de junio y julio la temperatura del agua fluctuó entre los 19.0-21.0°C, temperaturas típicas de verano del agua de mar costera en la Bahía de Todos Santos, B.C. Por otro lado, en el experimento del efecto del marcaje sobre el crecimiento y la sobrevivencia, el cual se desarrolló del mes de octubre al mes de febrero, la temperatura del agua de mar fue disminuyendo gradualmente, de acuerdo con la transición de otoño a invierno. De la misma manera el pH no mostró variaciones importantes ( $8.3 \pm 0.1$ ) y el oxígeno disuelto se comportó de forma similar ( $7.5 \pm 0.5$  ppm),

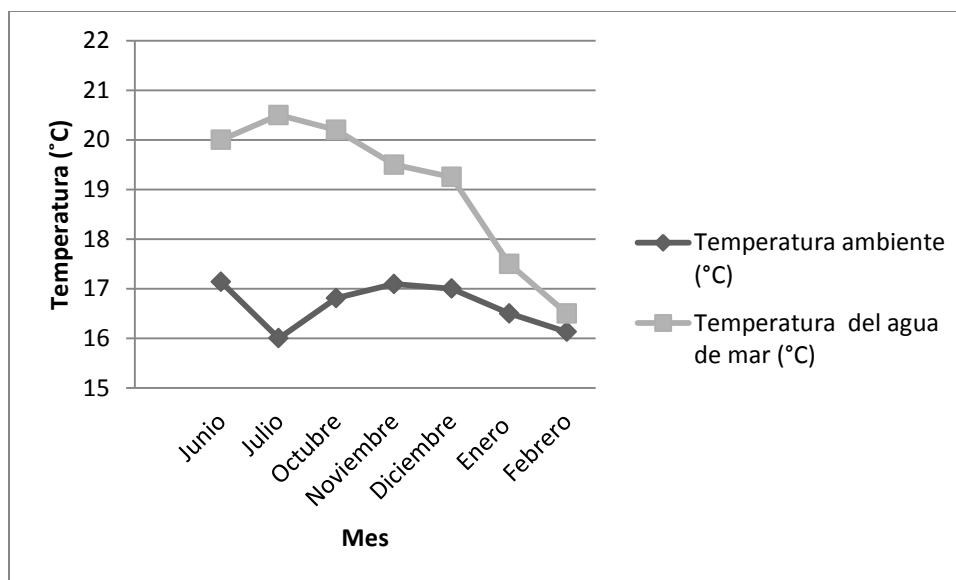


Fig. 12.- Temperatura promedio ambiente y de agua de mar durante el desarrollo de los experimentos

#### Estandarización del método de marcaje y selección del adhesivo

Durante los 37 días de este experimento la sobrevivencia obtenida para los diferentes tratamientos fue del 100%.

La tasa de crecimiento tuvo un promedio general de 0.0160 mm/d (e.e 0.000356) mientras que el crecimiento en peso fue de 0.0122 g/d (e.e 0.000183) (Tabla II). Como se mencionó, el objetivo principal del experimento fue conocer el pegamento más efectivo a partir de la tasa de retención de marcas mayor. En general el desempeño de los 3 pegamentos fue satisfactorio. La retención de marcas fue buena y sólo se desprendieron algunas de tipo electrónico (ninguna de plástico) durante este ensayo preliminar. En el tratamiento A (adhesivo Zap-A-Gap), en el tiempo de secado corto (5 min) se obtuvo un 100% de retención de marcas; mientras que en el tiempo de secado

largo (10 min) hubo dos marcas desprendidas, por lo cual se obtuvo un 50% de retención de marcas. En el tratamiento B en donde se utilizó el adhesivo CorAfixx, en el tiempo de secado largo se desprendió una marca, por lo cual se obtuvo un 75% de retención, mientras que en el tiempo de secado corto no hubo ningún desprendimiento, por lo cual la retención de marcas fue del 100%. En el tratamiento C se utilizó el adhesivo Kola Loka; con este adhesivo el desprendimiento de marcas fue mayor. Para el tiempo de secado corto hubo una marca desprendida, obteniendo un 75% de retención de marcas y para el tiempo de secado largo se desprendieron dos marcas con un 50% de retención de marcas (Tabla II).

Tabla II.- Resultados del experimento de la estandarización del método de marcaje de acuerdo a los tratamientos utilizados. Marcas caídas: plástica (P), electrónica (PIT)

| <b>Adhesivo</b> | <b>Tiempo de<br/>secado<br/>(min)</b> | <b>Longitud<br/>inicial<br/>(mm)</b> | <b>Crecimiento<br/>en<br/>longitud<br/>(mm/d)</b> | <b>Peso<br/>inicial (g)</b> | <b>Crecimiento<br/>en peso<br/>(g/d)</b> | <b>Marcas<br/>Caídas</b> |
|-----------------|---------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------|------------------------------------------|--------------------------|
| Zap-A-Gap       | 5                                     | 35.275                               | 0.0182                                            | 5.825                       | 0.0115                                   | 0                        |
| Zap-A-Gap       | 10                                    | 35.075                               | 0.0223                                            | 6.025                       | 0.0134                                   | 2 (PIT)                  |
| CorAfixx        | 5                                     | 36.025                               | 0.0162                                            | 6.625                       | 0.0149                                   | 0                        |
| CorAfixx        | 10                                    | 35.200                               | 0.0142                                            | 6.050                       | 0.0105                                   | 1(PIT)                   |
| Kola Loka       | 5                                     | 34.300                               | 0.0113                                            | 5.725                       | 0.0101                                   | 1(PIT)                   |
| Kola Loka       | 10                                    | 34.875                               | 0.0135                                            | 5.900                       | 0.0130                                   | 2(PIT)                   |
| media           |                                       | 35.125                               | 0.0160                                            | 6.025                       | 0.0122                                   |                          |
| desv.est.       |                                       | 0.5628                               | 0.0039                                            | 0.3182                      | 0.002                                    |                          |

Una vez que se obtuvieron los resultados finales se llevó a cabo un análisis de varianza de un factor (ANOVA) para conocer si los pegamentos tuvieron algún efecto en el crecimiento en longitud y el crecimiento peso en la semilla utilizada. Para los dos análisis de varianza se utilizó un alfa de 0.05. En la Tabla III se puede observar una



probabilidad final de 0.2836, dicho resultado es mayor en comparación con el alfa utilizado. Para el caso del crecimiento en peso, la probabilidad final obtenida fue de 0.9131 (Tabla IV), que al igual que el primer análisis es mayor que el alfa. Para los dos casos no se detectaron diferencias significativas que indicaran que los diferentes pegamentos afectaran el crecimiento de los organismos.

Tabla III.- Análisis de varianza del crecimiento en longitud (mm/d) del experimento de la estandarización del método de marcaje

| <i>F. de V.</i>      | <i>SC</i> | <i>g.l</i> | <i>CM</i>  | <i>F</i> | <i>Probabilidad</i> | <i>V. crítico F</i> |
|----------------------|-----------|------------|------------|----------|---------------------|---------------------|
| Entre grupos         | 0.0003    | 5          | 6.1143E-05 | 1.3645   | <b>0.2836</b>       | 2.7729              |
| Dentro de los grupos | 0.0008    | 18         | 4.4809E-05 |          |                     |                     |
| Total                | 0.0011    | 23         |            |          |                     |                     |

Tabla IV.- Análisis de varianza del crecimiento en peso (g/d) del experimento de la estandarización del método de marcaje

| <i>F. de V.</i>      | <i>SC</i>  | <i>g.l</i> | <i>CM</i>  | <i>F</i> | <i>Probabilidad</i> | <i>V. crítico F</i> |
|----------------------|------------|------------|------------|----------|---------------------|---------------------|
| Entre grupos         | 6.9445E-05 | 5          | 1.389E-05  | 0.2887   | 0.9131              | 2.7729              |
| Dentro de los grupos | 0.0009     | 18         | 4.8106E-05 |          |                     |                     |
| Total                | 0.0009     | 23         |            |          |                     |                     |

Durante el periodo de duración del ensayo con bicarbonato la sobrevivencia fue del 100%. La retención de marcas fue óptima para los dos tratamientos. En el tiempo de secado largo hubo una marca desprendida obteniendo un 66.66% de retención de marcas. En el tiempo de secado inmediato se obtuvo un 100% de retención de marcas.

El crecimiento promedio en longitud mayor se obtuvo en el tiempo de secado largo con 0.0237 mm/d, mientras que el tiempo de secado inmediato fue 0.0172 mm/d. En cuanto al crecimiento promedio en peso fue al revés, el tiempo de secado inmediato fue mayor con 0.0151 g/d que el de secado lento con 0.0131 g/d. Para conocer si ocurrió algún efecto en crecimiento en longitud y crecimiento en peso se utilizaron pruebas *t de Student* ya que sólo se compararon dos variables como tales, un secado largo y un secado inmediato. Para el crecimiento en longitud no se observaron diferencias significativas entre los dos tratamientos ( $t=2.1318$ ;  $P=0.0550$ ), el crecimiento en peso se comportó de forma similar ( $t=2.1318$ ;  $P=0.8321$ ) sin diferencias significativas.

Efecto del marcaje sobre la sobrevivencia y crecimiento de semilla de abulón rojo (*H. rufescens*)

#### *Sobrevivencia*

Durante el desarrollo del experimento la sobrevivencia final fue del 99.16%. Un solo abulón no fue recuperado y como no se encontró muerto, posiblemente escapó por el drenaje.

#### *Mediciones y análisis estadísticos de inicio*

Para detectar posibles diferencias iniciales entre los organismos utilizados en los tratamientos éstos se midieron y pesaron, considerando esta, la primera medición o biometría “0” (Tabla V).

Tabla V.- Longitudes y pesos iniciales promedio de las tres unidades experimentales de cada tratamiento

| Tratamiento  | L. inicial |            | P. inicial |            |
|--------------|------------|------------|------------|------------|
|              | (mm)       | Desv. est. | (g)        | Desv. est. |
| Control      | 26.117     | 0.314      | 2.483      | 0.224      |
| Plástica (P) | 26.033     | 0.055      | 2.467      | 0.021      |
| Electrónica  |            |            |            |            |
| (PIT)        | 26.377     | 0.523      | 2.527      | 0.286      |
| P + PIT      | 25.987     | 0.245      | 2.413      | 0.206      |

Como se puede observar en la Tabla VI, el análisis de varianza aplicado a las longitudes iniciales en los 4 tratamientos no presentaron diferencias significativas, ya que la probabilidad obtenida ( $P=0.5112$ ) fue mayor al alfa utilizado (0.05). De la misma manera se puede observar (Tabla VII) el mismo comportamiento con respecto a los pesos iniciales ( $P=0.9262$ ).

Tabla VI.- Análisis de varianza de la longitud inicial del experimento del efecto del marcaje sobre la sobrevivencia y crecimiento de semilla de abulón rojo (*H. rufescens*)

| <i>F. de V.</i>      | <i>SC</i> | <i>g.l</i> | <i>CM</i> | <i>F</i> | <i>Probabilidad</i> | <i>V. crítico F</i> |
|----------------------|-----------|------------|-----------|----------|---------------------|---------------------|
| Entre grupos         | 0.2727    | 3          | 0.0909    | 0.8354   | 0.5112              | 4.0662              |
| Dentro de los grupos | 0.8705    | 8          | 0.1088    |          |                     |                     |
| Total                | 1.1432    | 11         |           |          |                     |                     |

Tabla VII.- Análisis de varianza del peso inicial del experimento del efecto del marcaje sobre la sobrevivencia y crecimiento de semilla de abulón rojo (*H. rufescens*)

| <i>F. de V.</i>      | <i>SC</i> | <i>g.l</i> | <i>CM</i> | <i>F</i> | <i>Probabilidad</i> | <i>V. crítico F</i> |
|----------------------|-----------|------------|-----------|----------|---------------------|---------------------|
| Entre grupos         | 0.0198    | 3          | 0.0066    | 0.1509   | 0.9262              | 4.0662              |
| Dentro de los grupos | 0.3491    | 8          | 0.0436    |          |                     |                     |
| Total                | 0.3688    | 11         |           |          |                     |                     |

### *Crecimiento*

Durante el periodo de 91 días de duración del experimento, la semilla creció satisfactoriamente tanto en longitud como en peso. Las diferencias en crecimiento entre los tratamientos se pueden deber a diferentes factores o actividades realizadas en el manejo de la semilla. En la Tabla VIII se muestran los resultados de crecimiento en longitud y en peso de los 4 tratamientos durante las 3 biometrías. El comportamiento en el crecimiento en longitud de la biometría 0 a la 1, en el tratamiento donde se utilizó solamente la marca plástica, se obtuvo el crecimiento mayor (0.0294 mm/d). Sin embargo, no sucedió lo mismo de la biometría 1 a la 2, ni en el crecimiento general final. El crecimiento general mayor se obtuvo en el tratamiento donde se utilizaron solamente los PITS. El crecimiento menor en longitud fue el del tratamiento control. Las diferencias en los crecimientos en general entre cada uno fueron muy reducidas. En el crecimiento en peso las diferencias fueron casi insignificantes. El tratamiento el cual obtuvo mayor ganancia de peso durante todo el experimento fue, el tratamiento donde se utilizaron los PITS el, con un crecimiento en peso final de 0.0146 g/d. El menor crecimiento en peso fue del tratamiento control (0.0098 g/d).

Tabla VIII. Crecimiento promedio en longitud y peso entre las biometrías

| Tratamiento      | Crecimiento en longitud (mm/d) |           |         | Crecimiento en peso (g/d) |           |         |
|------------------|--------------------------------|-----------|---------|---------------------------|-----------|---------|
|                  | 0 - 1ra                        | 1ra - 2da | 0 - 2da | 0 - 1ra                   | 1ra - 2da | 0 - 2da |
| Control          | 0.0285                         | 0.0316    | 0.0302  | 0.0044                    | 0.0142    | 0.0098  |
| Plástica (P)     | 0.0294                         | 0.0414    | 0.0361  | 0.0080                    | 0.0159    | 0.0124  |
| Electrónica(PIT) | 0.0272                         | 0.0438    | 0.0365  | 0.0115                    | 0.0172    | 0.0146  |
| P + PIT          | 0.0258                         | 0.0410    | 0.0343  | 0.0115                    | 0.0132    | 0.0125  |

Durante todo el experimento se puede observar un crecimiento mayor en longitud del tratamiento donde se utilizaron solamente las marcas electrónicas (Fig.13). Por otro lado, el crecimiento en peso se comportó diferente. De inicio todos los tratamientos crecieron relativamente igual, pero al cumplirse la mitad del experimento, el tratamiento en el que se utilizó la marca plástica, el crecimiento fue notoriamente superior a los demás, mientras que el tratamiento en donde se obtuvo el crecimiento mayor en longitud (PITS) estuvo solamente por arriba del menor crecimiento (control). Después de esto, el crecimiento en peso fue cambiando con el paso de los días hasta finalizar similarmente como el crecimiento en longitud. El crecimiento mayor en peso se encontró en el tratamiento utilizando PIT, y el crecimiento menor en el tratamiento control (Fig. 14).

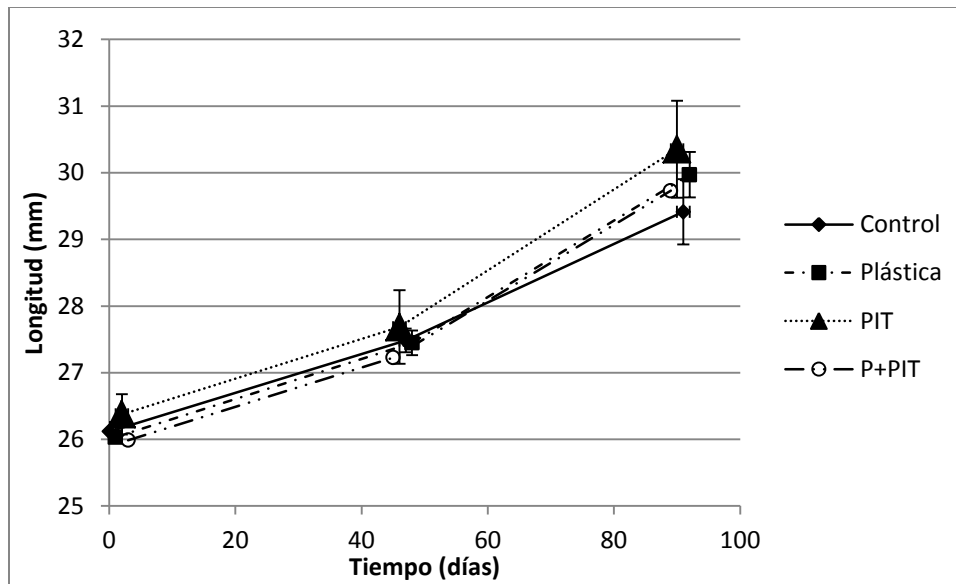


Fig.13.- Comportamiento del crecimiento en longitud durante el desarrollo del experimento (medias  $\pm$  error estándar)

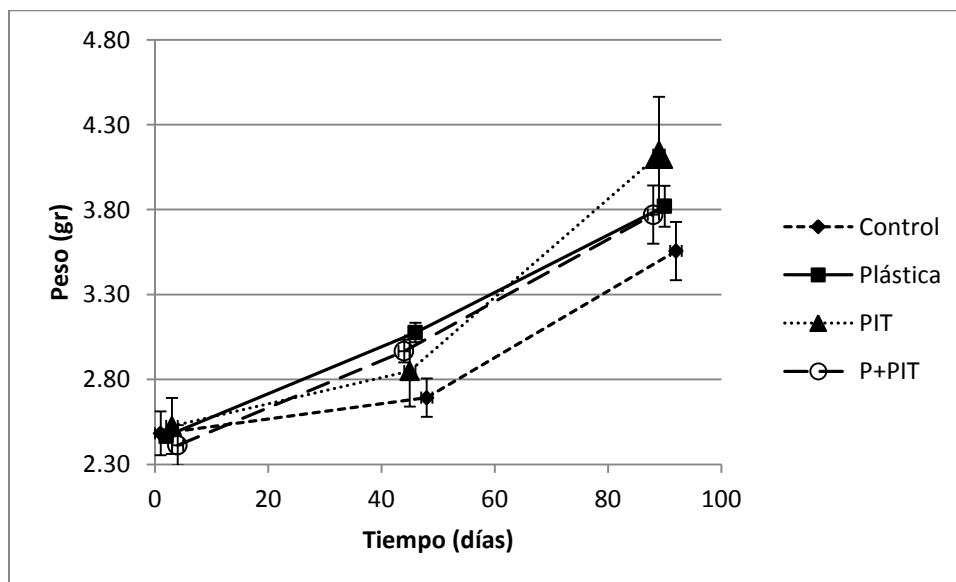


Fig.14.- Comportamiento del crecimiento en peso durante el desarrollo del experimento (medias  $\pm$  error estándar)

## Análisis estadístico de crecimiento

En la primer análisis de varianza (ANOVA) en relación al crecimiento en longitud, que abarcó desde la biometría 0 a la primera biometría, las diferencias no fueron significativas (Tabla IX,  $F=0.0793$ ,  $P=0.9694$ ). Con respecto al crecimiento en peso, el análisis ANOVA aplicado mostró resultados muy distintos, donde se pueden observar diferencias significativas (Tabla X;  $F=6.2606$ ,  $P=0.0171$ ). Posiblemente esto se deba al crecimiento muy bajo en el control (Tabla VIII).

Tabla IX.- Análisis de varianza del crecimiento en longitud (mm/d) del inicio del experimento a la biometría 1. Días transcurridos: 48

| <i>F. de V.</i>      | <i>SC</i> | <i>g.l</i> | <i>CM</i>  | <i>F</i> | <i>Probabilidad</i> | <i>V. crítico F</i> |
|----------------------|-----------|------------|------------|----------|---------------------|---------------------|
| Entre grupos         | 2.203E-05 | 3          | 7.3447E-06 | 0.0793   | <b>0.9694</b>       | 4.0662              |
| Dentro de los grupos | 0.0007    | 8          | 9.2654E-05 |          |                     |                     |
| Total                | 0.0008    | 11         |            |          |                     |                     |

Tabla X.- Análisis de varianza del crecimiento en peso (g/día) del inicio del experimento a la biometría 1. Días transcurridos: 48

| <i>F. de V</i>       | <i>SC</i>  | <i>g.l</i> | <i>CM</i>  | <i>F</i> | <i>Probabilidad</i> | <i>V. crítico F</i> |
|----------------------|------------|------------|------------|----------|---------------------|---------------------|
| Entre grupos         | 0.0002     | 3          | 7.1172E-05 | 6.2606   | <b>0.0171</b>       | 4.0662              |
| Dentro de los grupos | 9.0946E-05 | 8          | 1.1368E-05 |          |                     |                     |
| Total                | 0.0003     | 11         |            |          |                     |                     |

El análisis ANOVA de la biometría 1 a la 2 no mostró diferencias significativas ( $F=2.1282$ ;  $P=0.1749$ ) que muestren algún efecto de las marcas sobre el crecimiento en longitud (Tabla XI). De igual manera no se muestra algún efecto sobre el crecimiento en peso (Tabla XII).

Tabla XI.- Análisis de varianza del crecimiento en longitud (mm/d) de la biometría 1 a la 2. Días transcurridos: 61

| <i>F. de V.</i>      | <i>SC</i> | <i>g.l</i> | <i>CM</i>  | <i>F</i> | <i>Probabilidad</i> | <i>V. crítico F</i> |
|----------------------|-----------|------------|------------|----------|---------------------|---------------------|
| Entre grupos         | 0.0003    | 3          | 8.5886E-05 | 2.1282   | <b>0.1749</b>       | 4.0662              |
| Dentro de los grupos | 0.0003    | 8          | 4.0357E-05 |          |                     |                     |
| Total                | 0.0006    | 11         |            |          |                     |                     |

Tabla XII.- Análisis de varianza del crecimiento en peso (g/d) de la biometría 1 a la 2. Días transcurridos: 61

| <i>F. de V</i>       | <i>SC</i>  | <i>g.l</i> | <i>CM</i>  | <i>F</i> | <i>Probabilidad</i> | <i>V. crítico F</i> |
|----------------------|------------|------------|------------|----------|---------------------|---------------------|
| Entre grupos         | 2.8372E-05 | 3          | 9.4572E-06 | 0.8347   | 0.5116              | 4.0662              |
| Dentro de los grupos | 9.0642E-05 | 8          | 1.133E-05  |          |                     |                     |
| Total                | 0.0001     | 11         |            |          |                     |                     |

El análisis ANOVA aplicado al crecimiento en longitud de la biometría 0 a la 2, el cual abarca la totalidad del tiempo que duró el experimento no mostró diferencias significativas (Tabla XIII), ( $P=0.5905$ ). De la misma forma, el crecimiento en peso muestra un comportamiento similar (Tabla XIV) obteniendo una  $F$  (1.9424) menor a la  $F$  crítica (4.0662).



Tabla XIII.- Análisis de varianza del crecimiento en longitud (mm/d) de la biometría 0 a la 2. Días transcurridos: 109

| <i>F. de V.</i>      | <i>SC</i>  | <i>g.l</i> | <i>CM</i>  | <i>F</i> | <i>Probabilidad</i> | <i>V. crítico F</i> |
|----------------------|------------|------------|------------|----------|---------------------|---------------------|
| Entre grupos         | 7.3539E-05 | 3          | 2.4513E-05 | 0.6764   | 0.5905              | 4.0662              |
| Dentro de los grupos | 0.0003     | 8          | 3.6241E-05 |          |                     |                     |
| Total                | 0.0004     | 11         |            |          |                     |                     |

Tabla XVI.- Análisis de varianza del crecimiento en peso (g/d) de la biometría 0 a la 2. Días transcurridos: 109

| <i>F. de V</i>       | <i>SC</i>  | <i>g.l</i> | <i>CM</i>  | <i>F</i> | <i>Probabilidad</i> | <i>V. crítico F</i> |
|----------------------|------------|------------|------------|----------|---------------------|---------------------|
| Entre grupos         | 3.4684E-05 | 3          | 1.1561E-05 | 1.9424   | 0.2014              | 4.0662              |
| Dentro de los grupos | 4.7616E-05 | 8          | 5.952E-06  |          |                     |                     |
| Total                | 8.2301E-05 | 11         |            |          |                     |                     |

## DISCUSIÓN

### Parámetros ambientales

Fue importante el monitoreo de parámetros ambientales como la temperatura, el pH y el oxígeno disuelto, ya que estas variables están correlacionadas. Además, cambios drásticos pueden provocar condiciones de estrés en los organismos, afectando el crecimiento y la sobrevivencia. Durante el tiempo que se llevó a cabo la fase experimental los parámetros ambientales antes mencionados fueron los adecuados para el mantenimiento del abulón (Leighton, 2000). La temperatura del aire se mantuvo constante ( $17\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) con la ayuda del aire acondicionado, pero la del agua se asemejó a la del medio natural puesto que se utilizó un sistema de cultivo abierto. Lo mismo ocurrió con el pH y el oxígeno disuelto que se mantuvieron constantes, por lo que no se considera que fueron variables que afectaran negativamente el crecimiento y la sobrevivencia.

### Sobrevivencia

Durante el desarrollo del primer y segundo experimento, la sobrevivencia fue del 100%. En el tercer experimento se obtuvo un 99.13% de sobrevivencia ya que un abulón se extravió; posiblemente se escapó de la caja experimental deslizándose por el tanque principal hasta llegar al tubo de desagüe y se “consideró” como mortalidad. En general, durante los 91 días que duró el experimento la sobrevivencia fue excelente. En comparación con otro estudio similar en el cual se utilizó abulón pinto (*H. kamtschatkana kamtschatkana*) con marcas electrónicas (PIT) y tres diferentes

métodos de marcaje, la tasa de mortalidad obtenida fue similar (sobrevivencia del 90%; *Hale et al.*, 2015), aunque las marcas se adhirieron con Zap-A-Gap en la parte interior ventral de la concha. Esto corrobora que el marcaje utilizado en el presente estudio no tiene efecto en la sobrevivencia de abulón rojo (*H. rufescens*).

### Retención de marcas

Los resultados finales de los pegamentos sugieren que la mayor retención fue obtenida por el adhesivo CorAfixx, después el Zap-A-Gap, y por último la Kola Loka.

Durante toda la etapa experimental la tasa de retención de marcas fue alta, pero se presentaron diferencias significativas que ayudaron a tomar decisiones correctas en cuanto a los adhesivos y los tiempos de secado. El número mayor de marcas desprendidas correspondieron a las marcas electrónicas (PIT); en cuanto a las marcas plásticas no hubo ningún desprendimiento. El uso de diferentes adhesivos y tiempos de secado influyeron en los resultados de los primeros dos experimentos. En el tercer experimento el adhesivo y tiempo de secado ya había sido seleccionado por lo que la tasa de retención de marcas aumentó.

En el experimento uno, el cual tuvo una duración de 37 días, hubo un desprendimiento de 6 marcas, dos en el tratamiento A con un tiempo de secado de 10 minutos, una en el tratamiento B con un tiempo de secado de 10 minutos y 3 en el tratamiento C, una en el tiempo de secado corto y dos con el tiempo de secado largo. Durante el experimento dos, el cual duró 30 días, y donde se utilizó el secado rápido con bicarbonato, ocurrió el desprendimiento de una marca con el método sin bicarbonato. En dicho experimento se utilizó el adhesivo Zap-A-Gap, ya que uno de los

pocos estudios similares donde se llevó a cabo marcado de abulón utilizaron dicho adhesivo (*Hale et al. 2012*). El secado rápido fue evaluado por la necesidad de reducción de tiempos, ya que el etiquetar los abulones se exponen a condiciones de estrés al ser secados fuera del agua. Como se pudo observar en los resultados de los dos primeros experimentos, los tiempos de secado cortos fueron más efectivos que los tiempos largos. Esto ocurrió posiblemente por el tiempo de exposición del adhesivo a la temperatura ambiente. En tiempos cortos los abulones eran depositados rápido a las cajas experimentales donde se lavaba con flujo de agua el exceso de adhesivo, por lo cual el adhesivo que se iba adhiriendo al abulón y a la marca era el que quedó al final, puesto que no se generó una capa superficial que interfiriera en el secado de la capa interior. En el caso del secado largo, el adhesivo fue más expuesto a la temperatura ambiente por lo cual sólo secaba un porcentaje bajo la capa superficial del adhesivo, quedando la capa interior mayormente sin secar, y la cantidad de adhesivo seco en este caso, era menor al del periodo corto. En cuanto al tiempo de secado con bicarbonato este ocurría de forma inmediata, por lo cual las marcas quedaban totalmente adheridas a la concha del abulón.

Una vez concluidos los dos experimentos se seleccionó el pegamento CorAfixx y el tiempo de secado inmediato con bicarbonato ya que se obtuvo una retención alta de marcas y la manipulación de los organismos fue reducida casi en su totalidad.

Para el experimento tres, en el cual se utilizaron el tiempo y el adhesivo antes mencionado y el cual tuvo una duración de 91 días, la retención fue del 100% , con esto se ratificó la combinación de la efectividad del adhesivo CorAfixx y el tiempo de secado inmediato muy por encima de los otros adhesivos y tiempos de secado.

## Crecimiento

Uno de los principales puntos críticos a considerar cuando se implementa un método de marcaje en gasterópodos, es el efecto que este tiene en las principales funciones fisiológicas como el crecimiento (Pierre y Phillippe, 2007). Durante el desarrollo de los tres experimentos se presentaron diferentes tasas de crecimiento, a pesar de que en los dos primeros estudios el crecimiento en talla y en peso no fue la variante más importante a considerar. Conocer el crecimiento de los abulones ayudó a hacer hincapié a los posibles efectos que pudiesen haberse presentado en el tercer experimento.

En la Tabla II se pueden observar los promedios generales de crecimiento del experimento uno. Durante este experimento no se observó algún efecto del método de marcaje. Los crecimientos en talla como en peso fueron propicios a pesar del corto tiempo de estudio. De alguna manera en los abulones donde se utilizaron los adhesivos Zap-A-Gap y CorAfixx fueron los tratamientos en donde se presentó crecimiento promedio mayor (0.0202 y 0.0152 mm/día, respectivamente), por el contrario los organismos donde se utilizó Kola Loka presentaron crecimiento menor (0.0124 mm/día). A pesar de que hubo diferencias, estas no fueron significativas, por lo cual los tres pegamentos no tuvieron algún efecto a considerar en el crecimiento de los abulones.

En el segundo experimento donde se utilizó el secado inmediato y donde se llevaron a cabo dos tratamientos, el secado con tiempo (10 min), aunque presentó mayor crecimiento general en talla (0.024 mm/día) en comparación con el secado inmediato

(0.0.17), no presentó el mismo comportamiento en cuanto al peso (0.0135 g/día y 0.155 g/día respectivamente). Esto constata que el uso de bicarbonato para el secado del pegamento no afectó el crecimiento del abulón, por lo cual es un tipo de secado viable para ser usado en el marcaje de abulón rojo (*H. rufescens*), así mismo por presentar la característica de la poca manipulación y eficiencia en la labor del marcaje.

En el experimento tres que duró 91 días, no hubo algún efecto en el crecimiento. Son pocos los estudios que se han realizado sobre el efecto del marcaje utilizando PITs, pero ninguno es similar a este estudio, en lo que respecta al método de marcaje. El crecimiento obtenido para los 4 tratamientos –incluyendo el control- fue satisfactorio (Tabla VIII). No se observaron crecimientos anormales que se consideren como efecto del marcaje. Los organismos marcados con etiquetas plásticas, las cuales ya han sido usadas en proyectos de repoblamiento por las Sociedades Cooperativas no tienen efecto alguno sobre el crecimiento en longitud y peso, ya que en la primera biometría fue el tratamiento donde se obtuvo el mayor crecimiento. El tratamiento donde se utilizaron los PITs fue donde se obtuvo el crecimiento mayor tanto en longitud como en peso a partir de la segunda biometría y así se comportó por el resto del experimento. En el tratamiento donde fueron utilizadas las dos marcas se obtuvo la misma respuesta que en el tratamiento control y el tratamiento utilizando sólo etiquetas plásticas.

Son pocos los estudios llevados a cabo sobre el marcaje y su efecto en Haliótidós. Aunque las poblaciones silvestres de estos organismos han disminuido desde la década de los 60's, los métodos de marcaje utilizados han sido poco eficientes para llevar a cabo un monitoreo fiable de los abulones liberados en los proyectos de repoblamiento ya que las marcas utilizadas no han sido efectivas para el seguimiento

de abulones marcados (Com. per. Antonio Espinoza Montes, SCPP Buzos y Pescadores de BC, 2015).

En un estudio similar, *Hale et al. (2012)* analizaron el crecimiento en juveniles de abulón pinto (*H. kamtschatkana kamtschatkana*) de tallas similares (promedio: 23.6) marcados con PIT pero en la parte interior ventral de la concha. En dicho experimento se obtuvo un crecimiento de 0.0016 mm/día, mucho menor que el registrado en este estudio (0.0365 mm/día). En cuanto al crecimiento en peso de abulón no ha sido evaluado en ningún estudio anterior, por lo que el presente trabajo documenta por primera vez que éste no es afectado por el marcaje en el abulón rojo (*H. rufescens*).

Para que un método de marcaje en gasterópodos sea eficiente debe cumplir ciertos requisitos, entre los que se encuentran: una alta retención de marcas, facilidad de identificación y que no afecte los procesos fisiológicos principales como son el crecimiento y la sobrevivencia como lo mencionan Pierre-Yves y Jarne (2007); y en este trabajo encontramos que: las marcas tipo PIT, el adhesivo CorAfixx y el secado inmediato con bicarbonato de sodio, son una combinación perfecta para ser utilizada en proyectos de repoblamiento de abulón rojo (*H. rufescens*).

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Este estudio es la introducción a una nueva forma de método de marcaje para abulones. Los resultados demuestran la efectividad del método utilizado, que por lo menos es apropiada para futuros proyectos de repoblamiento del abulón rojo (*H. rufescens*). Con este método de marcaje y las marcas electrónicas utilizadas (PIT) se facilitará el seguimiento de abulones liberados puesto que, por los hábitos naturales de los abulones las marcas antes utilizadas (etiquetas plásticas y tipo resorte) son inapropiadas para un seguimiento eficiente. Estas marcas antes mencionadas serán parte del pasado ya que las nuevas tendencias tecnológicas de marcado, como los PIT, por necesidad, serán utilizadas en un corto plazo.

Es recomendable e importante realizar pruebas previas antes de llevar a cabo un marcaje de forma masiva, ya que el método de marcado llevado a cabo en este estudio se basa principalmente en la práctica, por lo que los resultados finales, principalmente en la retención de marcas, dependerá en parte de la pericia que tengan las personas encargadas del marcado.

La poca información actual limita el conocer los efectos que pudiese tener el marcaje en otras especies de Haliótidos de importancia comercial y se recomienda llevar a cabo estudios en otras especies, principalmente en las que realmente se llevan a cabo programas de repoblamiento en México como son el abulón azul (*H. fulgens*) y el abulón amarillo (*H. corrugata*).



A pesar de que en este trabajo no se detectaron efectos del marcaje en abulón rojo (*H. rufescens*) en laboratorio, es importante llevar a cabo estudios de campo en el medio natural que conlleven mayores tiempos de evaluación para conocer los efectos del marcaje a mediano y a largo plazo. En particular, estos estudios deben incluir la detección de marcas tipo PIT con lectores apropiados, que permitan encontrar abulones marcados *in situ*.

## LITERATURA CITADA

- Aguilar-Osuna, D. 2010. Cultivo y repoblamiento de abulón en La Bocana, B.C.S. p. 25-32 en: Searcy-Bernal, R., Espinoza-Montes, J.A. y Anguiano-Beltrán, C. (eds.). Repoblamiento de abulón en México. Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, B.C., 82 pp.
- Anguiano-Beltrán, C., 2007. El papel de las bacterias en la supervivencia y crecimiento de postlarvas de abulón rojo *Haliotis rufescens*. Tesis de doctorado. Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Facultad de Ciencias Marinas, UABC, Ensenada, 96 pp.
- Burton, R.S. y Tegner, M.J. 2000. Enhancement of red abalone *Haliotis rufescens* stocks at San Miguel Island: reassessing a success story. Mar. Ecol. Prog. Ser. 202:303-308.
- de Waal, S.W.P., Branch, G.M. y Navarro, R. 2003. Interpreting evidence of dispersal by *Haliotis midae* juveniles seeded in the wild. Aquaculture 221:299-310.
- del Río Portilla, M.A., Paniagua-Chávez, C. y Resek-Duarte, S. 2010. Cultivo de abulón en La Lobera, El Rosario, B.C. p. 59-63 en: Searcy-Bernal, R., Espinoza-Montes, J.A. y Anguiano-Beltrán, C. (eds.). Repoblamiento de abulón en México. Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, B.C., 82 pp.
- Dixon, C.D., Day, R.W., Huchette, S.M.H. y Shepherd, S.A. 2006. Successful seeding of hatchery-produced juvenile greenlip abalone to restore wild stocks. Fisheries Res. 78:179-185.

- Flores-Aguilar, R.A., 1989. Estudio de factibilidad técnico-económico para un cultivo de abulón *Haliotis spp* en Baja California. Tesina para especialidad, Facultad de Ciencias Marinas, UABC, Ensenada, pp. 93.
- Franco-Ruiz, J.A. 2010. Repoblamiento de abulón rojo (*H. rufescens*) en Islas Todos Santos, p. 65-68. en: Searcy-Bernal, R., Espinoza-Montes, J.A. y Anguiano-Beltrán, C. (eds.). Repoblamiento de abulón en México. Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, B.C., 82 pp.
- Gibbons, J.W. y Andrews, K.M. 2004. PIT tagging: Simple technology at its best. *Bioscience* 54(5): 447-454.
- Godfrey, B.P. 2003. The potential of abalone stock enhancement in the Estern Cape Province of South África. M.S. thesis. Rhodes University, Grahamstown, South Africa, 163 pp.
- González-Avilés, J.G. 2010. Repoblamiento de abulón mediante siembra de larvas y semilla en la Cooperativa Pescadores Nacionales de Abulón en Isla de Cedros y Benitos, Baja California, México. p. 43-47 en: Searcy-Bernal, R., Espinoza-Montes, J.A. y Anguiano-Beltrán, C. (eds.). Repoblamiento de abulón en México. Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, B.C., 82 pp.
- Guzmán del Proó, S.A., Carrillo-Laguna, J., Belmar-Pérez, J., Carreón-Palau, L. y Castro, A. 2004. Transplanting of wild and cultivated juveniles of green abalone (*Haliotis fulgens* Philippi 1845): Growth and survival. *J. Shellfish Res.* 23:855-860.

- Hale, J.R., Bouma, J.V., Vadopolas, B. y Friedman, C.S. 2012. Evaluation of passive integrated transponders for abalone: tag placement, retention and effect on survival. *J. Shellfish. Res.* 31:789-794.
- Hamasaki, K. y Kitada, S. 2008. The enhancement of abalone stocks: lessons from Japanese case studies. *Fish and Fisheries* 9:243-260.
- James, D. S., Day, R.W. y Shepherd, A. 2007. Experimental abalone ranching on artificial reef in Port Phillip Bay. *J. Shellfish Res.* 26:P687-695.
- Koslow, T., Rogers-Bennett, L., Vetter, R. y Allen, A. 2009. Reports, review, and publications. Part 1. Committee Report. CalCOFI Rep., Vol. 50.
- Leighton L.D, 2000. The biology and culture of the California abalones. Durrance-Publishing Co. Pittsburgh, Pennsylvania. 216 pp.
- León-Carballo, G. y Muciño-Díaz M., 1996. "Pesquería de Abulón". En: Casas-Valdez, M., y Ponce-Díaz, G. (Eds.). Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur. Vol. II. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., La Paz, México, 15-41 pp.
- McCormick, T.B., Herbinson, K., Mill, T.S. y Altick, J. 1994. A review of abalone seeding, possible significance and a new seeding device. *Bull. Mar. Sci.* 55:680-693.
- Nielsen, L. A. 1992. Methods of marking fish and shellfish. American Fisheries Society Special Publication 23.

- Pierre-Yves, H. y Jarne, P. 2007. Marking hard-shelled gastropods: tag loss, impact on life-history traits, and perspectives in biology. *Invertebrate Biology*. 126(2): 138-153.
- Roberts, R. D., Keys, E.F. Prendeville, G. y Pilditch, C.A.. 2007. Variability of abalone (*Haliotis iris*) stock enhancement by release of hatchery-reared seed in Marlborough, New Zealand. *J. Shellfish Res.* 26: 697-703.
- SAGARPA, 2006. Anuario estadístico de acuacultura y pesca 2006. México: SAGARPA. 219 pp.
- SAGARPA, 2009. Programa maestro abulón. México: SAGARPA. 191 pp.
- Schiel, D.R. 1993. Experimental evaluation of commercial-scale enhancement of abalone *Haliotis iris* populations in New Zealand. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 97:167-184
- Searcy-Bernal, R. y Salas-Garza, A.E. 1985. Estudio sobre ecología y siembra de abulón en Baja California. *CIBCASIO Transactions* X:105-122.
- Searcy-Bernal R., Salas-Garza, A. E. y Flores-Aguilar, R. A. 1988. Crecimiento de postlarvas y juveniles de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en un laboratorio mexicano. *Ciencias Marinas* 14 (4), 57-72 pp.
- Searcy-Bernal, R., Ramade-Villanueva, M. y Altamira, B. 2010. Current status of abalone fisheries and culture in México. *J. Shellfish Res.* 29(3):573-576.
- Searcy-Bernal, R., Anguiano-Beltrán, C., Espinoza-Montes J. A. y Carpizo-Ituarte E. 2013. Restocking of Abalone population (*Haliotis* spp.) in Mexico. *Journal of Shellfish Research*, 32(1): pp. 189-195.

Shepherd, S.A., Preece, P.A. y White, R.G.W. 2000. Tired nature's sweet restorer?—ecology of abalone stock enhancement in Australia. In: Campbell, A. (Ed.), Workshop on Rebuilding Abalone Stocks in British Columbia. Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci. 130, 84–98.

Vivanco-Aranda M., 2004. Relación entre el crecimiento y características genéticas del abulón en dos sistemas de cultivo. Tesis de maestría. División de Oceanología, Departamento de Acuicultura, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, 143 pp.