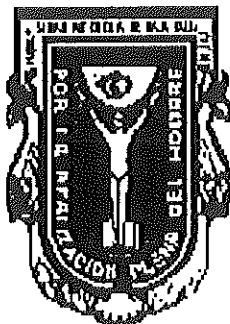


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA



FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

“Determinación de tasas de pastoreo y de crecimiento de postlarvas de abulón azul, *Haliotis fulgens*, en distintas densidades de la diatomea bentónica *Navícula incerta*.”

TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO
EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFÍA COSTERA
PRESENTA:

Luis Antonio Vélez Espino.

Ensenada B.C., junio de 1999.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

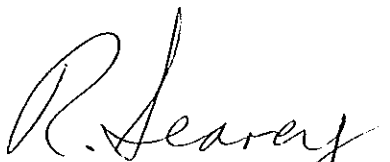
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS

“Determinación de tasas de pastoreo y de crecimiento de postlarvas de abulón azul, *Haliotis fulgens*, en distintas densidades de la diatomea bentónica *Navícula incerta*”.

TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS
EN OCEANOGRAFÍA COSTERA PRESENTA:

Luis Antonio Vélez Espino



M.C. Ricardo Searcy Bernal
Director de tesis



M.C. Enrique Valenzuela Espinoza.
Sinodal



M.C. Zaúl García Esquivel.
Sinodal

RESUMEN

En este trabajo se determinó el efecto de diferentes densidades de la diatomea bentónica *Navícula incerta* sobre la tasa de pastoreo y crecimiento de postlarvas de abulón azul, *Haliotis fulgens*. Así mismo se evaluaron los cambios en las tasas de pastoreo durante una variación diurna y después de diferentes períodos de inanición. Postlarvas de 7 a 60 días de edad se colocaron dentro de cámaras experimentales de 10 ml previamente inoculadas con diatomeas en densidades de entre 100 y 4000 cél/mm². Después de dos horas se determinó la tasa de pastoreo en células por postlarva por hora (cél/pl/h) con la ayuda de un sistema de microvideograbación y análisis digital de imágenes. Se estimó una tasa de pastoreo mínima de 78.9 cél/pl/h a los 7 días de edad y una tasa máxima de 10,998.6 cél/pl/h a los 60 días. Las postlarvas se desarrollaron normalmente en densidades de diatomea de hasta 4,000 cél/mm², y se detectó un incremento en las tasas de pastoreo y de crecimiento postlarval al aumentar la densidad de diatomeas a partir de una edad postlarval de 15 días. Se observó un incremento marcado en las tasas de pastoreo entre los 45 y 60 días de edad cuando las postlarvas alcanzaron una longitud de 1.5-2.0 mm. No se detectaron cambios significativos ($P>0.05$) de la tasa de pastoreo con respecto al horario durante una variación diurna. El efecto de los períodos de inanición (1-5 días) elevó la tasa de pastoreo a niveles comparables a las tasas máximas alcanzadas en altas densidades de diatomea sin efecto de inanición.

DEDICATORIA

A mis hijos Yaiza, Genaro y Marina

regalo maravilloso que ha dado nueva dimensión a mi vida.

A mi amada esposa por pelear la buena batalla ante la adversidad,

por ser la ayuda idónea

y por compartir el mismo yugo.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por su amor y dedicación durante los años de mi formación, y por su apoyo sin igual en todo momento.

A mi hermano Freddy por motivarme hacia la superación personal y por ser vivo ejemplo de los frutos del esfuerzo y la tenacidad.

A mi suegra Alicia Lever por su tremenda intercesión en el rescate de mi familia hacia el nuevo nacimiento.

A mi tutor académico Ricardo Searcy Bernal por guiarme con gran profesionalismo y entrega durante la realización de la presente tesis.

A Enrique Valenzuela y Zaúl García por su tiempo en la revisión de este trabajo.

A Casandra Anguiano por su gran compañerismo y apoyo en la realización de los experimentos.

A CONACYT por el apoyo económico otorgado.

A mi esposa Ada por su paciencia, su esfuerzo y sus consejos, además de sus deliciosos guisos que hicieron más agradables los días de trabajo.

Gracias a DIOS por su inmenso amor.

*De Dios es la tierra y su plenitud;
el mundo y los que en él habitan.
Por que él la fundó sobre los mares,
y la afirmó sobre los ríos.*

(Salmos 24.1-2)

*Porque la tierra será llena del
conocimiento de la gloria de Dios,
como las aguas cubren el mar.*

(Habacuc 2.14)

CONTENIDO

	pág.
I. INTRODUCCIÓN	1
I.1 ANTECEDENTES	7
I.2 OBJETIVOS	11
II. MATERIALES Y MÉTODOS	12
II.1 PREPARACIÓN DE BIOPELÍCULAS DE <i>Navícula incerta</i>	13
II.2 DETERMINACIÓN DE LAS TASAS DE PASTOREO	14
II.3 EFECTO DE LA DENSIDAD DE <i>N. incerta</i> EN LAS TASAS DE PASTOREO DE <i>H. fulgens</i>	15
II.4 EXPERIMENTO DE VARIACIÓN DIURNA	17
II.5 EXPERIMENTO DE INANICIÓN	17
II.6 ANÁLISIS DIGITAL DE IMÁGENES.	18
II.7ANÁLISIS ESTADÍSTICO	19
III. RESULTADOS	20
III.1 CRECIMIENTO DE POSTLARVAS EN EL SISTEMA DE CULTIVO	20
III.2 TASAS DE PASTOREO EN DIFERENTES DENSIDADES DE <i>N. incerta</i>	20
III.3 CRECIMIENTO EN DIFERENTES DENSIDADES DE <i>N. incerta</i>	31
III.4 CAMBIOS EN EL PASTOREO DURANTE LA VARIACIÓN DIURNA	31
III.5 EFECTO DE DIFERENTES PERIODOS DE INANICIÓN	37
III.6 TASAS DE PASTOREO EN FUNCIÓN DE LA EDAD Y LA LONGITUD POSTLARVAL	47

IV. DISCUSIÓN	50
IV.1 CRECIMIENTO DE POSTLARVAS EN EL SISTEMA DE CULTIVO	50
IV.2 RELACIÓN PASTOREO-DENSIDAD DE DIATOMEAS	52
IV.2.1 Ingestión y digestión de <i>N. incerta</i>	55
IV.3 CRECIMIENTO POSTLARVAL EN DIFERENTES DENSIDADES DE DIATOMEAS	57
IV.4 OTROS FACTORES QUE AFECTAN LAS TASAS DE PASTOREO	58
V. CONCLUSIONES	62
VI. RECOMENDACIONES	64
VII. LITERATURA CITADA	65
VIII. ANEXOS	73

LISTA DE FIGURAS

pág.

Figura 1. Crecimiento de postlarvas de *H. fulgens* (micras/día) durante el período de estudio en el sistema de cultivo. La edad cero corresponde al asentamiento. Las barras verticales son errores estándar. 21

Figura 2. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de siete días de edad en diferentes densidades de la diatomea *N. incerta*. Cada punto representa una unidad experimental. 23

Figura 3. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 15 días de edad en diferentes densidades de la diatomea *N. incerta*. Cada punto representa una unidad experimental. 24

Figura 4. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 30 días de edad en diferentes densidades de la diatomea *N. incerta*. Cada punto representa una unidad experimental. 25

Figura 5. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 45 días de edad en diferentes densidades de la diatomea *N. incerta*. Cada punto representa una unidad experimental 26

Figura 6. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 60 días de edad en diferentes densidades de la diatomea *N. incerta*. Cada punto representa una unidad experimental. 27

Figura 7. Tasas de crecimiento de postlarvas de *H. fulgens* con edad inicial de 15 días en diferentes densidades de la diatomea *N. incerta* después de un período experimental de ocho días. Cada punto representa una unidad experimental. 32

Figura 8. Tasas de crecimiento de postlarvas de *H. fulgens* con edad inicial de 30 días en diferentes densidades de la diatomea *N. incerta* después de un período experimental de seis días. Cada punto representa una unidad experimental. 33

Figura 9. Tasas de crecimiento de postlarvas de *H. fulgens* con edad inicial de 45 días en diferentes densidades de la diatomea *N. incerta* después de un período experimental de siete días. Cada punto representa una unidad experimental. 34

Figura 10. Tasas de crecimiento de postlarvas de *H. fulgens* con edad inicial de 60 días en diferentes densidades de la diatomea *N. incerta* después de un período experimental de siete días. Cada punto representa una unidad experimental. 35

Figura 11. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 15 días de edad a diferentes horas, alimentadas con *N. incerta*. Las barras indican el error estándar. 38

Figura 12. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 30 días de edad a diferentes horas, alimentadas con *N. incerta*. Las barras indican el error estándar. 39

Figura 13. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 45 días de edad a diferentes horas, alimentadas con *N. incerta*. Las barras indican el error estándar. 40

Figura 14. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 60 días de edad a diferentes horas, alimentadas con *N. incerta*. Las barras indican el error estándar. 41

Figura 15. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 30 días de edad sobre biopelículas de la diatomea *N. incerta*, sometidas a diferentes períodos de inanición. Las barras indican error estándar. 43

Figura 16. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 45 días de edad sobre biopelículas de la diatomea *N. incerta*, sometidas a diferentes períodos de inanición. Las barras indican error estándar. 44

Figura 17. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 60 días de edad sobre biopelículas de la diatomea *N. incerta*, sometidas a diferentes períodos de inanición. Las barras indican error estándar. 45

Figura 18. Tasas de pastoreo máximas de postlarvas de *H. fulgens* en distintas edades. Las barras indican el error estándar. 48

Figura 19. Relación entre tasas de pastoreo máximas y longitud de postlarvas de *H. fulgens*. Las barras indican el error estándar. 49

LISTA DE TABLAS

pág.

Tabla I. Regresiones lineales (a =coef.de regresión; b =ordenada al origen) y coeficiente de correlación (r) para las tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* en su relación con las diferentes densidades de la biopelícula de *N. incerta*. (n.s) indica falta de significancia; (*) representa $P < 0.05$; (**) indica $P < 0.01$. 28

Tabla II. Estado cualitativo de biopelículas de *N. incerta* a los 7 días de pastoreo por postlarvas de *H. fulgens* de 15, 30, 45 y 60 días. 0 representa clareo total; 1 significa diatomeas aisladas; 2 representa parches aislados; y 3 indica tapetes con amplia cobertura; # indica ausencia de datos. 30

Tabla III. Regresiones lineales ($y=ax+b$) y coeficiente de correlación (r) para las tasas de crecimiento de postlarvas de *H. fulgens* en su relación con las diferentes densidades de la biopelícula de *N. incerta*. (n.s) indica falta de significancia. 36

Tabla IV. Resultados de ANOVA y LSD ($\alpha = 0.0034$ indicado para 6 tratamientos) con respecto a tasas de pastoreo de *H. fulgens* en diferentes horarios, para postlarvas de 15, 30, 45 y 60 días. 42

Tabla V. Resultados de ANOVA y LSD ($\alpha = 0.005$ indicado para 5 tratamientos) con respecto a tasas de pastoreo de *H. fulgens* en diferentes períodos de inanición, para postlarvas de 30, 45 y 60 días. 46

Tabla VI. Comparación entre las tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* obtenidas después de un período de inanición y las tasas evaluadas en altas densidades de diatomeas. 60

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Resultados de longitud (μm) de postlarvas de <i>H. fulgens</i> en las diferentes edades experimentales (longitud inicial= $250\mu\text{m}$).	<u>73</u>
Anexo B. Tasas de pastoreo de postlarvas de <i>H. fulgens</i> en diferentes densidades de diatomeas.	<u>74</u>
Anexo C. Tasas de crecimiento promedio de postlarvas de <i>H. fulgens</i> en diferentes densidades de diatomea a diferentes edades.	<u>75</u>
Anexo D. Tasas de pastoreo de postlarvas de <i>H. fulgens</i> en distintos horarios y diferentes edades.	<u>76</u>
Anexo E. Tasas de pastoreo de postlarvas de <i>H. fulgens</i> después de diferentes períodos de inanición.	<u>77</u>
Anexo F. Resultados de pastoreo máximo observado en las distintas edades postlarvales	<u>78</u>
Anexo G. Resultados de pastoreo máximo en su relación con la longitud postlarval.	<u>79</u>

I. INTRODUCCIÓN

El abulón (*Haliotis spp.*) ha sido sometido a una explotación intensa que pone en gran riesgo su recuperación natural (Guzmán Del Proó, 1992). Esta es la razón principal por la que tanto en México como en otros países se le esté dando impulso a la acuicultura de este molusco. Por otro lado, la demanda de este recurso por países como Japón, China, Taiwan y Estados Unidos está por encima de la oferta. A raíz de esta situación se ha estado desarrollando la producción de semilla de abulón (juveniles de 1 a 3 cm.), la cual puede tener dos destinos ulteriores: su liberación en la costa para repoblamiento, o continuar su desarrollo en maricultivos hasta la talla comercial, que es de 5 a 8 cm. (Hahn, 1989).

En respuesta a esta necesidad, en nuestro país existen actualmente varios centros y programas de cultivo de abulón desarrollados por los sectores federal, social, privado y académico (Pérez Muñoz, 1995). En lo referente a este último caso, en el Instituto de Investigaciones Oceanológicas (I.I.O) de la Universidad Autónoma de Baja California (U.A.B.C) se desarrollan desde hace más de 10 años proyectos de investigación y estudios multidisciplinarios sobre el cultivo del abulón.

De las 80 especies del género *Haliotis*, 7 habitan en Norteamérica, y la de mayor longitud (hasta 30 cm) es el abulón rojo *H. rufescens* (Hooker y Morse, 1985). El abulón azul, *H. fulgens*, puede alcanzar longitudes similares, aunque la media es inferior. Además es una especie bien cotizada en los mercados internacionales. En este estudio se trabajará con postlarvas de esta última especie.

El abulón azul, *H. fulgens*, se distribuye desde Point Conception, California, Estados Unidos, hasta Bahía Magdalena, Baja California Sur, México, y es capturado comercialmente en ambos países (Cox, 1962). En México *H. fulgens* representa del 25 al 40% de la producción abulonera (Rocha, 1985), y un 10% en Estados Unidos (Hooker y Morse, 1985). En este último país la captura se ha concentrado en *H. rufescens*, y en segundo término sobre *H. fulgens*, mientras que en México los mayores esfuerzos recaen sobre esta última especie, la cual soporta temperaturas más altas.

Leighton (1974) reporta que *H. fulgens* presenta una tasa de crecimiento mayor que otras especies de abulón, formando el primer poro respiratorio en la mitad del tiempo requerido por otras especies como *H. rufescens* y *H. corrugata*.

Una descripción breve de la técnica estándar de cultivo es la siguiente:

Se inicia con una fase de laboratorio que dura de 6 a 12 meses, la cual incluye la inducción al desove de sementales, la combinación de gametas y la obtención de larvas. Después de una semana de vida larvaria, se induce la metamorfosis y fijación por medio de biopelículas desarrolladas previamente en los recipientes de cultivo o con el uso del neurotransmisor ácido gamma-aminobutírico (GABA), que actualmente se utiliza rutinariamente en los principales laboratorios de México y Estados Unidos (Searcy Bernal, 1994).

De acuerdo a Ebert y Houk (1984), las larvas se consideran competentes para el asentamiento y metamorfosis cuando pueden sostenerse sobre su pie desplazándose con ayuda de los cilios, lo cual sucede entre 4 y 10 días después de la fertilización dependiendo de la especie y de factores ambientales (Hooker y Morse, 1985). Experimentos en laboratorio han demostrado que las larvas de abulón no poseen mecanismos endógenos para disparar la metamorfosis, sino que dependen de estímulos externos. Si estos no se proporcionan, las larvas pueden permanecer más de 3 semanas en estadio planctónico, pero menos del 1% sufrirá la metamorfosis y eventualmente sobrevivirá (Morse, 1984). El asentamiento, metamorfosis y deposición de la concha peristomal marcan la transición del período de vida larvario al postlarvario.

En relación con las etapas del desarrollo, no existe una frontera bien definida entre postlarva y juvenil. Algunos autores consideran el inicio de la vida juvenil al comenzar la formación del primer poro respiratorio ($\sim 2\text{mm}$), lo cual ocurre a los dos meses aproximadamente, mientras que para otros autores la completa formación del primer poro (3-5mm en *H. iris* y *H. discus hannai*) da inicio al estadio juvenil (Takahashi y Obata, 1986; Seki, 1997).

Morse (1984) establece que mediante el GABA se obtiene un alto porcentaje de metamorfosis, así como un desarrollo acelerado y sincronizado. Aunque es importante mencionar que una buena inducción al asentamiento y metamorfosis no es necesariamente una garantía suficiente de una alta sobrevivencia postlarval (Searcy-Bernal *et al.*, 1992a). García (1991), trabajando con *H. fulgens*, encontró que el uso del GABA es más eficiente que las películas de diatomeas y el mucus de abulón, en términos del número de larvas metamorfozadas y en la aceleración del desarrollo temprano de las mismas.

Uno de los efectos del GABA dentro de las técnicas experimentales es sincronizar el asentamiento, lo que permite trabajar con postlarvas de la misma edad. El uso del GABA tiene su origen en el descubrimiento de la interacción entre *Haliotis spp.* y las algas rojas incrustantes (Morse *et al.*, 1979; 1980; Morse y Morse, 1984; Morse, 1992). Estas proveen un sustrato para el reclutamiento de

larvas de abulón induciendo el asentamiento y la metamorfosis con moléculas inductoras disponibles en la superficie de las algas (Crofts, 1929; Shepherd, 1973; Saito, 1981; Morse y Morse, 1984; Douros, 1985; Shepherd y Turner, 1985; Shepherd y Daume, 1996).

Después del asentamiento empieza la etapa de postlarva y es donde se presenta la mayor mortalidad. La sobrevivencia oscila entre el 1 y el 10% con las técnicas convencionales durante los primeros 1-2 meses post-asentamiento (Hahn, 1989). Actualmente, con el uso del GABA, se ha superado la sobrevivencia en esta etapa del cultivo alcanzando hasta un 30%. El presente estudio es parte de los esfuerzos por entender las causas de esta elevada mortalidad y así poder eficientizar la producción de semilla.

Esta mortalidad postlarval masiva se ha asociado al desequilibrio entre las tasas de pastoreo de las postlarvas y el desarrollo de las biopelículas de diatomeas bentónicas utilizadas como alimento (Ebert y Houk, 1984; Hahn, 1989). Un exceso de pastoreo puede producir inanición después de agotarse el alimento; por otro lado, un sobredesarrollo de las biopelículas produce condiciones adversas para las postlarvas, tales como una sobresaturación en la concentración de oxígeno (Searcy-Bernal, 1996). Es posible que las densidades altas de diatomeas afecten también las tasas de pastoreo y el crecimiento de las postlarvas.

El estudio de las tasas de pastoreo postlarval y los factores que las determinan es fundamental para poder controlar adecuadamente los sistemas de cultivo

En este trabajo se estimaron tasas de pastoreo y crecimiento de postlarvas de *H. fulgens* hasta la edad de 60 días después del asentamiento. Las postlarvas fueron alimentadas con biopelículas monoespecíficas de la diatomea bentónica *Navícula incerta*, la que ha probado ser un excelente alimento de postlarvas de *Haliotis spp.* (Martínez Ponce, 1998). Se evaluó el efecto de las variaciones de la densidad de las biopelículas de *N. incerta* sobre las tasas de pastoreo de *H. fulgens*, el efecto de diferentes períodos de inanición, y los cambios en el pastoreo a lo largo de una variación diurna. Para ello se contó con herramientas tales como la microvideograbación y el análisis digital de imágenes.

I.1 ANTECEDENTES

Como antecedentes sobre tasas de pastoreo en postlarvas de abulón existen escasos reportes, entre ellos el trabajo de tesis de maestría de Martínez-Ponce (1998), quien realizó dos experimentos con postlarvas de *H. rufescens* durante su primer mes de vida bentónica.

En otro tipo de estudios se ha considerado que larvas recién metamorfozadas de *H. rufescens* pueden alimentarse de bacterias y microalgas menores de 10 μm (Ebert y Houk, 1984). Por otro lado, Norman-Boudreau *et al.* (1986) reportaron que la alimentación con diatomeas bentónicas comienza 2 días después de la metamorfosis. No cabe duda de que las bacterias son consumidas por las postlarvas, pero su contribución a la nutrición no ha sido estudiada (Garland y Cooke, 1985). Se han encontrado altas densidades de bacterias viables en intestinos de juveniles de abulón, sugiriendo que al menos algunas bacterias son indigeribles (Erasmus *et al.*, 1997).

Recientemente, Kawamura y Takami (1995) encontraron que el material extracelular de las diatomeas es utilizado como alimento por las postlarvas recién fijadas de *H. discus hannai* hasta que estas alcanzan una longitud de concha de 800

µm. Estas observaciones se han extendido a *H. rufescens* por Kitting y Morse (1997).

Diversos autores, entre ellos Jaeckle y Manahan (1989 a y b) han comprobado que larvas y postlarvas recién asentadas pueden utilizar metabólicamente la materia orgánica disuelta (MOD). Las larvas de abulón carecen de un sistema digestivo y son consideradas lecitotróficas. Las reservas energéticas del huevo y la asimilación de MOD proveen la energía necesaria para la metamorfosis (Manahan y Jaeckle, 1992; Shilling *et al.*, 1996). Incluso puede observarse la formación de la concha peristomal en ausencia de alimento particulado cuando la metamorfosis es inducida con GABA (Morse *et al.*, 1979; Barlow y Truman, 1992; Roberts y Nicholson, 1997). Esto resulta importante para este trabajo ya que, debe tenerse en cuenta que la relación entre las reservas energéticas al momento de la metamorfosis, y la sobrevivencia de las postlarvas es aún desconocida (Morse y Morse, 1984).

Diversos investigadores consideran que una de las principales causas de la elevada mortalidad en la etapa postlarvaria es la dieta utilizada (Imai, 1977; Seki, 1980; Garland y Cooke, 1985; McBride, 1990). Esto debemos entenderlo no solo como deficiencias nutricionales cualitativas, sino también cuantitativas, por lo que es evidente la importancia del conocimiento acerca de las tasas de pastoreo y de los efectos de diferentes densidades de diatomea sobre el comportamiento alimenticio,

crecimiento y sobrevivencia postlarval en diferentes edades. Pero a pesar de su importancia para el manejo efectivo de sistemas de cultivo, la determinación de tasas de pastoreo en postlarvas de haliótidos no ha sido explorada con amplitud.

Hasta este momento el análisis digital de imágenes videograbadas ha resultado una herramienta adecuada para el estudio de este tema (Martínez-Ponce y Searcy-Bernal, 1998). Esta técnica permite calcular las áreas clareadas por el pastoreo y las densidades de la biopelícula de diatomeas.

Cabe aclarar que este método puede sobrestimar las tasas de pastoreo bajo ciertas condiciones. Por ejemplo, cuando existen grumos de diatomeas, comunes en altas densidades de biopelícula, éstos pueden ser removidos por los movimientos de la concha de las postlarvas y no por actividad alimenticia. Otro caso es cuando las diatomeas son removidas por la rádula pero no son ingeridas (Martínez-Ponce y Searcy-Bernal, 1998).

En los experimentos de Martínez-Ponce (1998), trabajando con *H. rufescens*, el pastoreo fue mínimo durante los primeros días después del asentamiento. Es factible que durante este período el requerimiento energético sea cubierto por reservas alimenticias y por MOD (Manahan y Jaeckle, 1992; Shilling *et al.*, 1996). El mismo autor también encontró que una alimentación vigorosa comienza cuando el tamaño de la concha alcanza los 500-600 μm .

Martínez-Ponce (1998) reporta variaciones importantes en la densidad en diatomeas aún cuando se procuró una misma densidad para todas las pruebas. Esto pudo haber afectado las tasas de pastoreo, lo que motivó el presente estudio. Otros aspectos importantes que aún no han sido estudiados es si existe algún hábito alimenticio de las postlarvas en relación con la hora del día, así como el efecto que pueda tener diferentes períodos de inanición sobre las tasas de pastoreo.

Conocer el efecto de la densidad de diatomeas sobre las tasas de pastoreo postlarval del abulón en condiciones de cultivo es de suma importancia para el manejo y mejoramiento de la producción. Con esta base, se podrán sugerir estrategias para mantener las densidades de diatomeas en los sistemas de cultivo, las cuales optimicen el crecimiento y sobrevivencia de las postlarvas en diferentes etapas de su desarrollo.

I.2 OBJETIVOS

- 1) Determinar las variaciones en las tasas de pastoreo de postlarvas de *Haliotis fulgens* de diferentes edades en distintas densidades de *Navícula incerta* usada como alimento.
- 2) Evaluar el crecimiento de postlarvas de *Haliotis fulgens* en diferentes densidades de *Navícula incerta*.
- 3) Determinar los cambios en las tasas de pastoreo de postlarvas de *Haliotis fulgens* a lo largo de un ciclo diurno.
- 4) Determinar el efecto de diferentes períodos de inanición sobre las tasas de pastoreo de las postlarvas de *Haliotis fulgens*.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Las larvas de abulón azul que se utilizaron en este trabajo fueron donadas por el Laboratorio de Producción de Semilla de Abulón de la Sociedad Cooperativa Emancipación, Baja California Sur. Éstas llegaron a Ensenada el 13 de octubre de 1998 con 5 días de edad, y se mantuvieron en cultivo en las instalaciones del I.I.O. durante un día en cubetas de 20 litros con agua filtrada a 1 μm y tratada con U.V., utilizando cloranfenicol como antibiótico a una concentración de 10 mg/lt. El 14 de octubre se indujo el asentamiento, y el primer alimento consistió en inóculos de *Navícula incerta*, el cual se proporcionó el día 16 de octubre.

Para la inducción a la metamorfosis se utilizó ácido gamma-aminobutírico (GABA) a una concentración de 1.5 μM (Searcy-Bernal y Anguiano Beltrán, 1998) durante 2 días en cubetas de 20 litros. Las postlarvas se mantuvieron en estos mismos recipientes, los cuales se encontraban en una cama de fibra de vidrio dentro de un laboratorio con aire acondicionado ($17 \pm 1^\circ\text{C}$) e iluminación constante (ca. 50 μE), cambios de agua cada 2 días durante las 2 primeras semanas, y flujo abierto de agua filtrada a 5 μm hasta terminar el experimento (Martínez Ponce, 1998).

La diatomea bentónica utilizada como alimento de las postlarvas de *H. fulgens* (*Navícula incerta*), fue proporcionada por el laboratorio de microalgas del I.I.O-U.A.B.C.

Desde el momento de la metamorfosis (pérdida del velum) los abulones son llamados postlarvas. Otros autores usan el término “plantígrados”(Shilling *et al.*, 1996). En este trabajo se considera como “edad cero” el día de la inducción a la metamorfosis.

II.1 PREPARACIÓN DE BIOPELÍCULAS DE *N. incerta*

Para la preparación de biopelículas de diatomea de diferente densidad fue indispensable el uso de un sonicador (Fisher Scientific FS6), mediante el cual se homogenizaba la cepa de diatomea a una frecuencia de 44 Khz durante un tiempo máximo de 3 minutos para no dañar las células. Posteriormente eran pasadas por un tamíz de 20 μ m para retener los grumos. Por último, se procedió a determinar la densidad de diatomeas mediante conteo con una cámara Neubauer de 0.1 mm de profundidad.

Una vez conocida la densidad celular se tomaron los inóculos correspondientes a las densidades deseadas para cada caso. Estas densidades esperadas fueron

verificadas, en el momento de realizar los experimentos, mediante el sistema de microvideograbación utilizado en este trabajo.

Las suspensiones de *N. incerta* utilizadas para la preparación de las biopelículas se encontraban, en todos los casos, en el día 6-7 de cultivo de la cepa, tiempo correspondiente a la fase estacionaria del cultivo de diatomeas (Valenzuela, E., Lab. de Microalgas, IIO-UABC, com. pers.). Durante la fase estacionaria se mantiene una concentración estable de células por unidad de volumen (Stein, 1979).

II.2 DETERMINACIÓN DE LAS TASAS DE PASTOREO

En el laboratorio donde se hicieron los experimentos de tasas de pastoreo, crecimiento y sobrevivencia, se registraron intensidades luminosas de 200-300 lux en el día y 5-10 lux en la noche. La temperatura se mantuvo en $19 \pm 1^{\circ}\text{C}$ mediante un sistema de aire acondicionado. Las unidades experimentales (cámaras de plástico estériles de 10 ml, Corning mod. 25810, 9.45 cm^2 de área en el fondo) se inocularon previamente con *N. incerta*. Después de 1-2 días fueron introducidas las postlarvas (3-7 por cámara, dependiendo de la edad). En todos los casos se utilizó cloranfenicol (10 mg/l).

A las 2 horas de haber sido introducidas las postlarvas en las cámaras experimentales, se realizaron videograbaciones con una cámara SONY Modelo

SSC-C374 CCD adaptada a un microscopio invertido MEIJI TECHNO que proporciona la ventaja de observar directamente la ingestión de alimento y el desarrollo de los órganos alimenticios. Así mismo, se determinaron las longitudes de los organismos (longitud máxima transversal), el área clareada por el pastoreo y la densidad de diatomeas mediante el procesamiento digital de imágenes en una computadora Macintosh Power PC.

Este tiempo de 2 horas se justifica por la velocidad de recolonización de las áreas clareadas por parte de las diatomeas, la cual empieza a ser importante alrededor de las 4 horas (Martínez Ponce, 1998).

La tasa de pastoreo se obtuvo multiplicando el área clareada a las 2 horas por la densidad de diatomeas para cada cámara y dividiendo entre 2 para obtener los valores por hora. Este método es común a todos los experimentos.

II.3 EFECTO DE LA DENSIDAD DE *N. incerta* EN LAS TASAS DE PASTOREO DE *H. fulgens*.

Para el experimento principal se realizaron mediciones de las tasas de pastoreo de postlarvas de 5 edades diferentes (7, 15, 30, 45 y 60 días), con 6 diferentes densidades de diatomeas (100, 500, 750, 1000, 2000 y 4000 cél/mm²), y con 3

réplicas para cada tratamiento. Así mismo se determinó la longitud inicial de las postlarvas.

No se utilizaron testigos (es decir cámaras con diatomeas pero sin postlarvas), debido a que dentro del tiempo establecido para las mediciones (2 horas después de introducir las postlarvas a las cámaras ya inoculadas con diatomeas), el crecimiento de las microalgas no afecta de manera importante la determinación de las tasas de pastoreo (Hur, 1991; Martínez Ponce, 1998).

Las cámaras del experimento principal, correspondientes a las edades de 15, 30, 45 y 60 días, se mantuvieron por 6-8 días con cambios de agua cada 2 días y cloranfenicol (10 mg/l). Se hicieron evaluaciones finales sobre el estado de las biopelículas de diatomeas, sobrevivencia y crecimiento de postlarvas.

Para evaluar el estado de las biopelículas de *N. incerta* después de una semana de experimentación, se utilizó una escala cualitativa definiendo 4 categorías : clareo total (0), diatomeas aisladas (1), parches aislados (2), y tapetes con amplia cobertura (3).

La sobrevivencia postlarval se estimó con un microscopio estereoscópico, y la longitud final mediante el análisis digital de imágenes.

II.4 EXPERIMENTO DE VARIACIÓN DIURNA

Para determinar la intensidad del pastoreo en función de la hora del día (variación diurna), se colocaron aleatoriamente 3-7 postlarvas, de 4 diferentes edades (15, 30, 45 y 60 días), en cajas plásticas estériles previamente inoculadas con *N. incerta* (250 cél/mm²) para edades por debajo de los 45 días, y *N. incerta* (500 cél/mm²) para edades superiores. Este aumento en la densidad de inóculo es necesario por el crecimiento de las postlarvas y el consecuente aumento de la intensidad del pastoreo. Las mediciones de las tasas de pastoreo se hicieron cada 6 horas (4 p.m, 10 p.m, 4 a.m, 10 a.m, 4 p.m y 10 p.m) en 2 réplicas por edad para cada horario.

II.5 EXPERIMENTO DE INANICIÓN

Se colocaron 3-7 postlarvas por unidad experimental, las cuales fueron inoculadas previamente con *N. incerta* a 250 cél/mm² para edades menores de 45 días, y a 500 cél/mm² para edades superiores.

Se determinó el efecto de diferentes períodos de inanición (0, 1, 2, 3 y 4 días) sobre las tasas de pastoreo de *H. fulgens* para 3 edades diferentes de postlarvas (30, 45 y 60 días) con 2 réplicas para cada caso.

Para tal efecto se aislaron cerca de 40 postlarvas en una caja de petri con agua de mar (filtrada a 1 μm e irradiada con UV), con cloranfenicol (10mg/lt), y en condiciones de inanición, de donde eran extraídas para las pruebas después de cada periodo de inanición.

II.6 ANÁLISIS DIGITAL DE IMÁGENES.

Todas las imágenes (postlarvas y áreas clareadas) fueron procesadas en una computadora Apple Macintosh Performa 6200 CD Power PC.

Para la captura de imágenes se utilizó el paquete llamado Apple Video Player, y para la realización de mediciones de longitud y área de pastoreo se utilizó el programa NIH Image 1.59.

Cuando se presentaron postlarvas más grandes que la pantalla del monitor (mayores de 1.5 mm) fue posible hacer mediciones más precisas con este programa mediante el ensamble de imágenes.

Aunque es posible contar las diatomeas mediante el comando "Analyze particles" del programa NIH Image, se optó por el conteo manual (6 campos por cámara experimental), ya que los grumos de diatomeas representan un problema para la aplicación del comando de análisis de partículas. Todas las mediciones de áreas clareadas por el pastoreo fueron hechas por duplicado.

II.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para evaluar la significancia de los cambios de las tasas de pastoreo durante la variación diurna y el efecto de diferentes períodos de inanición sobre las tasas de pastoreo de postlarvas se aplicó un análisis de varianza (ANOVA), y la prueba a-posteriori de comparación múltiple de la diferencia mínima significativa (LSD). Previo al ANOVA se verificó la homogeneidad de varianza con la prueba de Bartlett. Las pruebas LSD se realizaron al nivel de significancia (α) necesario para mantener el α global en 0.05 (Jones, 1984).

Se realizaron análisis de regresión y correlación lineal para las tasas de pastoreo y de crecimiento de postlarvas en función de las densidades de las biopelículas de *N. incerta*.

Para poder establecer la manera en que se relacionan tanto la edad como la longitud postlarval con las tasas de pastoreo, fue preciso establecer un criterio de selección de la densidad de diatomeas más adecuada para todos los casos. Este criterio fue el de la tasa de pastoreo máxima. La relación entre edad y longitud postlarval con las tasas máximas de pastoreo se evaluó mediante un ANOVA y la prueba de la diferencia mínima significativa (LSD).

III. RESULTADOS

III.1 CRECIMIENTO DE POSTLARVAS EN EL SISTEMA DE CULTIVO

La medición de longitud postlarval en las condiciones de cultivo (cubetas de 20 lt., iluminación constante de 50 μ E, temperatura de $17 \pm 1^{\circ}\text{C}$) para cada edad experimental establece una relación altamente lineal entre ambas variables (figura 1). Los resultados de la regresión lineal realizada se expresan en la ecuación siguiente: $Y = 30.488X + 137.97$. El coeficiente de correlación ($r = 0.992$) fue altamente significativo ($P < 0.01$).

A pesar de que la relación entre edad y longitud es bastante lineal, puede observarse la existencia de 2 fases en la curva de crecimiento (figura 1). La primera fase incluye el período de crecimiento 0-15 días de edad con una tasa promedio de 14.9 $\mu\text{m}/\text{día}$, y una segunda fase puede apreciarse en el período 15-60 días con una tasa promedio de 33.4 $\mu\text{m}/\text{día}$.

La longitud máxima alcanzada por las postlarvas en las condiciones experimentales fue de 2 mm a los 60 días (anexo A).

III.2 TASAS DE PASTOREO EN DIFERENTES DENSIDADES DE *N. incerta*

La evaluación de las tasas de pastoreo en distintas densidades de diatomeas arrojó información valiosa en cuanto a la manera en que se relacionan pastoreo, densidad de biopelícula y edad de postlarvas de *H. fulgens*. En las figuras relativas

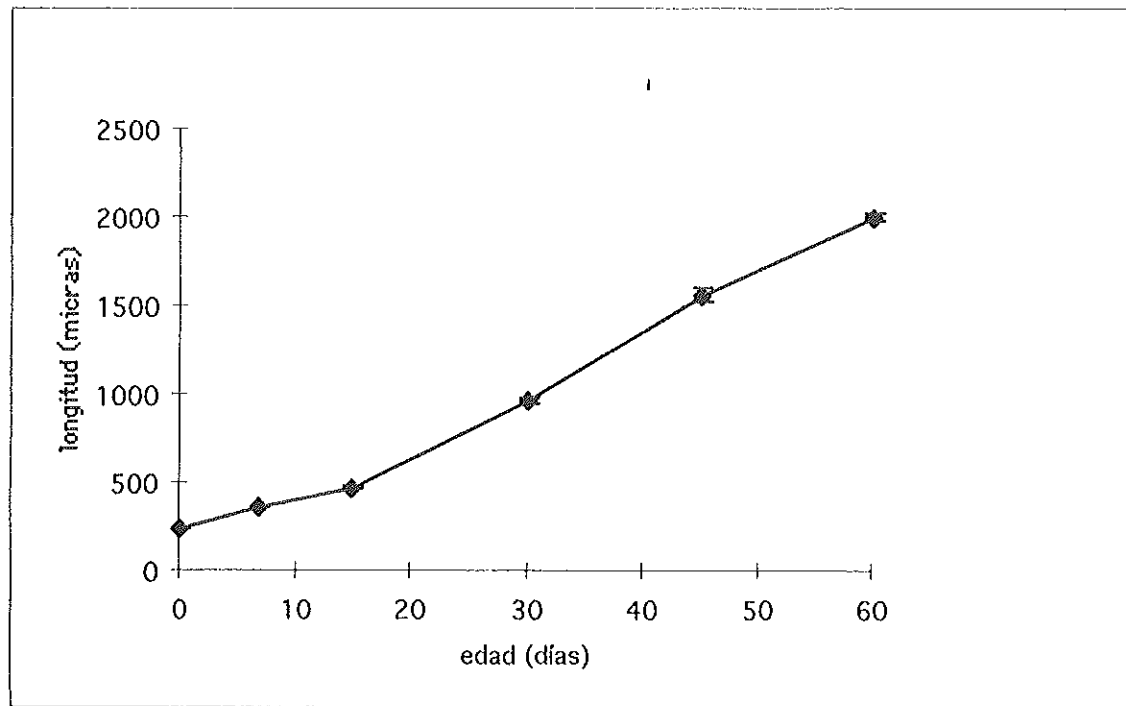


Figura 1. Crecimiento de postlarvas de *H. fulgens* durante el período de estudio en el sistema de cultivo. La edad 0 corresponde al asentamiento. Las barras verticales son errores estándar.

a este tema (figuras 2 a 6) es importante notar que el cambio más brusco en los patrones de las gráficas se da de los 7 a los 15 días de edad postlarvaria. Estamos hablando de una semana de diferencia, en la cual el cambio de comportamiento en cuanto al pastoreo fue notable. Puede decirse que a partir de los 15 días de edad existe una tendencia a aumentar la tasa de pastoreo conforme aumenta la densidad de diatomea. Esto es válido dentro del intervalo usado de densidad ($100-4000 \text{ cél/mm}^2$). Sólo en la figura 4, correspondiente a postlarvas de 30 días, se aprecia una tendencia asintótica en densidades altas de diatomeas, lo cual no afecta la significancia ($P < 0.01$) del coeficiente de correlación para esta edad (tabla I).

A excepción de los resultados obtenidos para postlarvas de 7 días (figura 2), cuyo coeficiente de correlación no fue significativo ($P > 0.05$), para las demás edades se obtuvo alta significancia en los valores de correlación ($P < 0.01$). En general se observa un aumento de los coeficientes de regresión al incrementarse la edad postlarval (tabla I).

Es importante mencionar que se prefirió el uso de puntos en las figuras, representando cada unidad experimental, a causa de la variabilidad en las densidades iniciales de diatomeas, a pesar de los esfuerzos por minimizarla.

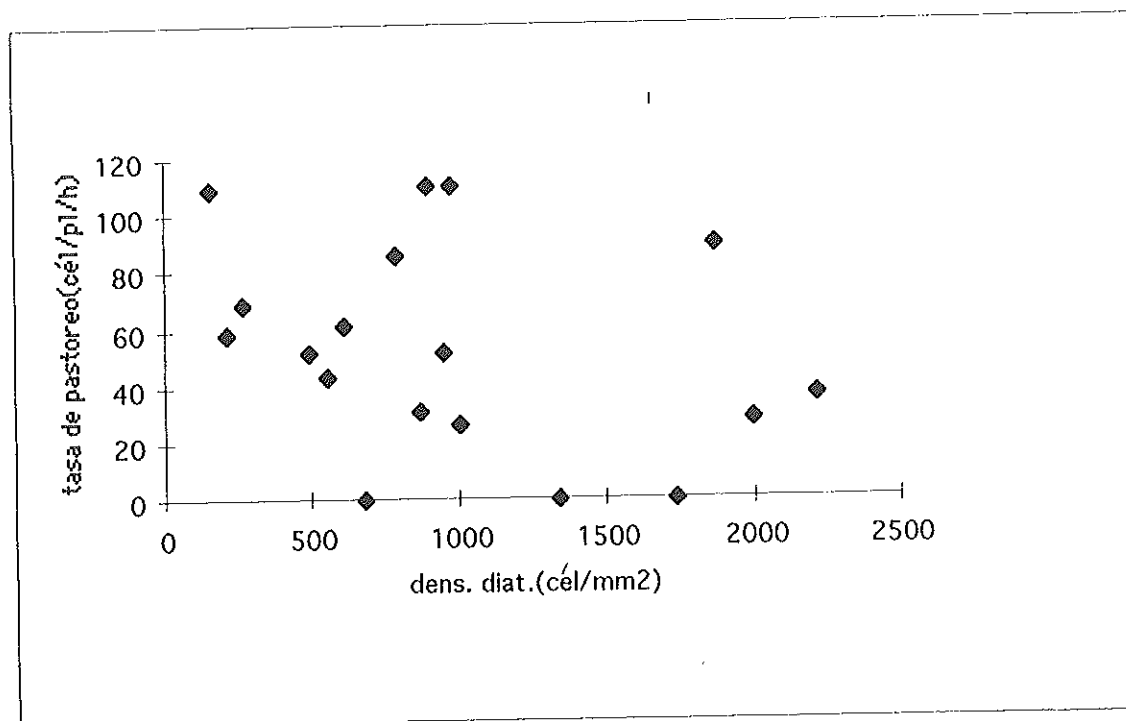


Figura 2. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 7 días de edad en diferentes densidades de la diatomea *N. incerta*. Cada punto representa una unidad experimental.

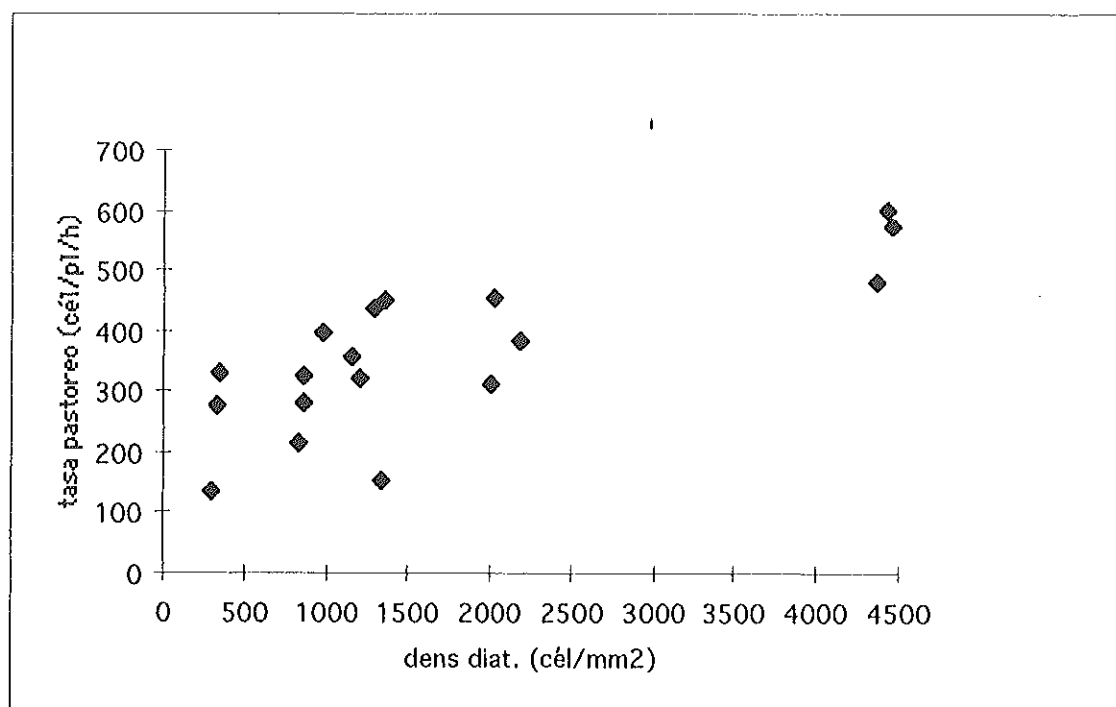


Figura 3. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 15 días de edad en diferentes densidades de la diatomea *N. incerta*. Cada punto representa una unidad experimental.

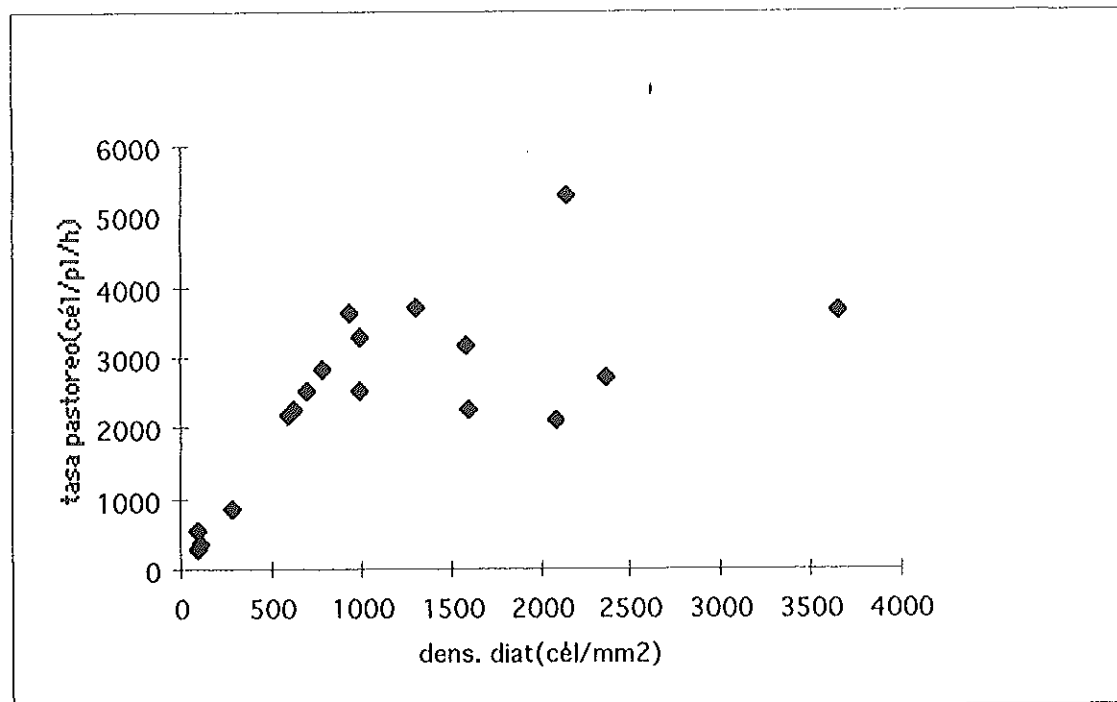


Figura 4. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 30 días de edad en diferentes densidades de la diatomea *N. incerta*. Cada punto representa una unidad experimental.

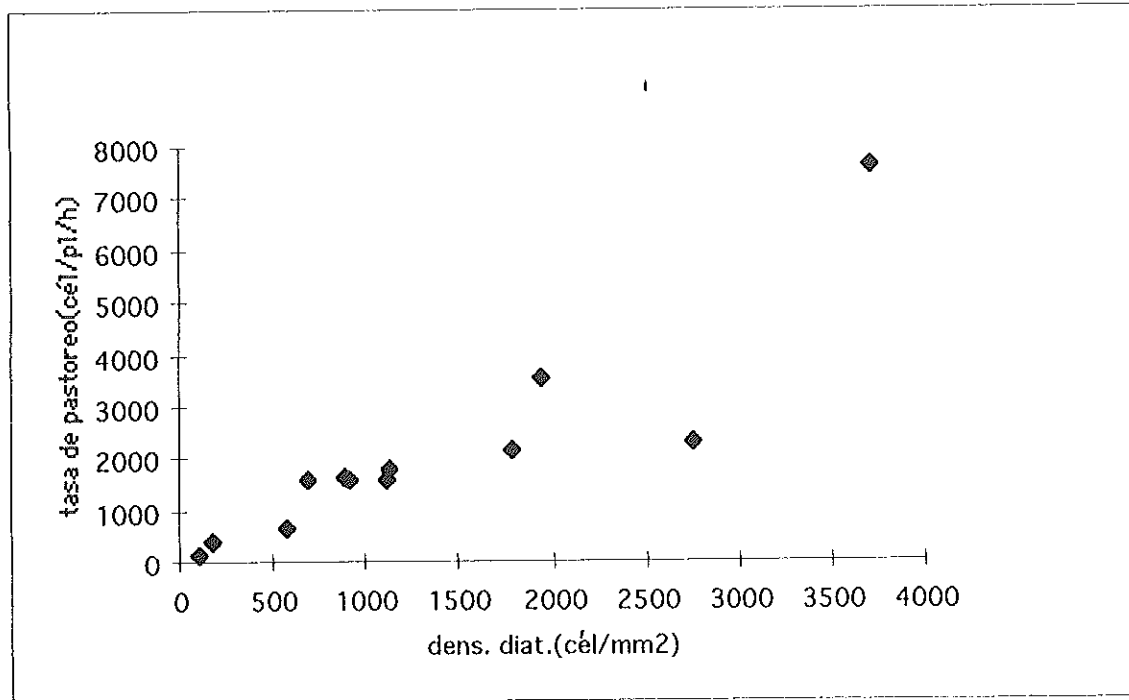


Figura 5. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 45 días de edad en diferentes densidades de la diatomea *N. incerta*. Cada punto representa una unidad experimental.

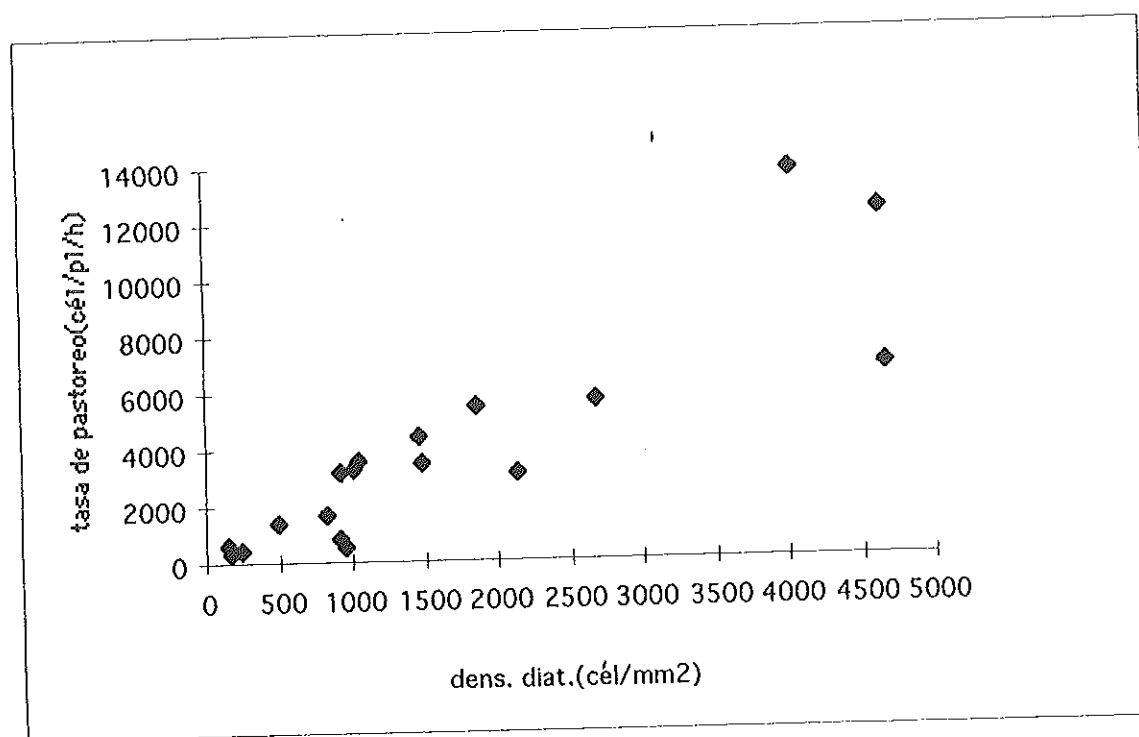


Figura 6. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 60 días de edad en diferentes densidades de la diatomea *N. incerta*. Cada punto representa una unidad experimental.

Tabla I. Regresiones lineales (a=coef. de regresión; b=ordenada al origen) y coeficiente de correlación (r) para las tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* en relación con las diferentes densidades de *N. incerta*. (n.s) indica no significativo; (*) representa $P < 0.05$; (**) indica $P < 0.01$.

Edad (d)	Regresión lineal		
	a	b	r
7	-0.019	72.173	0.319 (n.s)
15	0.072	241.41	0.773 (**)
30	0.913	1415.3	0.654 (**)
45	1.658	-75.982	0.899 (**)
60	2.359	108.96	0.854 (**)

La tasa máxima de pastoreo para las diferentes edades fue de 87.1, 553.2, 4206.2, 4984.5 y 10998.7 cél/pl/h a los 7, 15, 30, 45 y 60 días, respectivamente. A excepción de las postlarvas de 7 días de edad, donde la tasa máxima se localizó en la menor densidad de diatomeas, en el resto de las edades la tasa máxima de pastoreo se encontró en las densidades más altas.

La técnica empleada en la preparación de las biopelículas de diatomea resultó apropiada, a juzgar por las densidades y homogeneidad de las mismas. En casi todos los casos se obtuvieron densidades de diatomea bastante cercanas a lo deseado. En sí pudo observarse un mayor error en las densidades bajas (100 y 250 cél/mm²), y esto pudo deberse a la dificultad de manejar volúmenes pequeños de inóculos.

No se observaron variaciones importantes entre la densidad evaluada con hematocitómetro y la obtenida a partir de las imágenes videogradas.

En la tabla II se expone una evaluación cualitativa de las biopelículas de *N. incerta* al término del período experimental. Puede observarse en esta tabla que en la densidad más baja el clareo fue casi total al término de una semana, así como también sobresale el hecho de que las postlarvas de 60 días de edad clarearon ampliamente los fondos de las cámaras experimentales en una semana de pastoreo.

Tabla II. Estado cualitativo de la biopelícula de *N. incerta* a los 7 días de pastoreo por postlarvas de *H. fulgens* de 15, 30, 45 y 60 días. 0 representa clareo total; 1 significa diatomeas aisladas; 2 representa parches aislados; y 3 indica biopelícula con amplia cobertura; # indica ausencia de datos.

Edad	Período días	Densidad de inóculo (cél/mm ²)						
		100	250	500	750	1000	2000	4000
15	6	1	2	2	2	3	3	3
30	8	1	1	1	1	1	2	2
45	7	1	#	1	1	1	2	2
60	7	1	#	1	1	1	1	2

Con la técnica y metodología utilizadas en el experimento se obtuvieron sobrevivencias mayores al 95% dentro del período experimental.

III.3 CRECIMIENTO EN DIFERENTES DENSIDADES DE *N. incerta*

En las figuras 7 a 10, puede observarse una tendencia a aumentar el crecimiento conforme aumenta la densidad de diatomeas desde los 30 días de edad postlarval. Sin embargo en las postlarvas de 30 días el coeficiente de correlación no fue significativo ($P>0.05$). En este resultado seguramente influye el valor extremo correspondiente a la densidad de diatomeas de 3700 cél/mm² (figura 8). Los coeficientes de correlación fueron significativos para las edades 45 y 60 con $P<0.01$ y $P<0.05$ respectivamente (tabla III).

La mayor tasa de crecimiento se registró a los 30 días de edad alcanzando las 54 $\mu\text{m}/\text{día}$ (figura 8). Si se comparan las tasas de crecimiento en las cámaras experimentales (figuras 7 a 10) con las obtenidas en las condiciones de cultivo en cubetas (figura 1), se observa que en ambos casos se registró un incremento en las tasas después de los 15 días de edad postlarval.

III.4 CAMBIOS EN EL PASTOREO DURANTE LA VARIACIÓN DIURNA

En las figuras 11 a 14 se presenta la variación en la tasa de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de diferentes edades. Aunque la tasa más alta aparece a

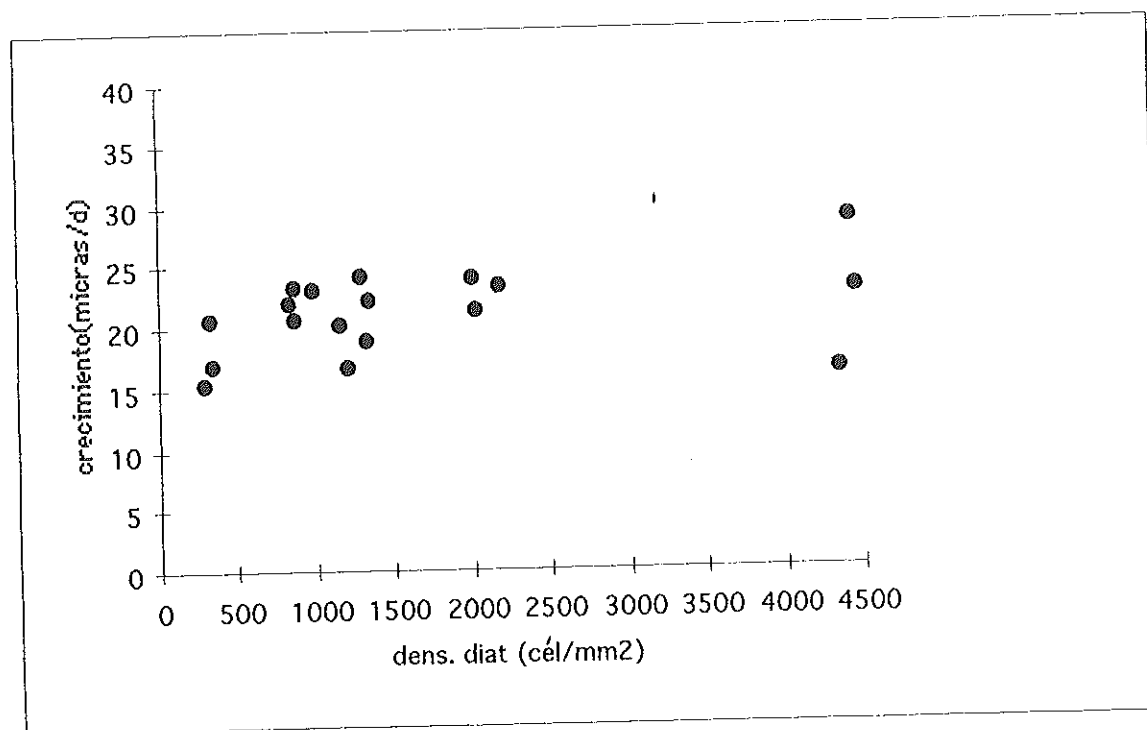


Figura 7. Tasas de crecimiento de postlarvas de *H. fulgens* con edad inicial de 15 días en diferentes densidades de la diatomea *N. incerta* después de un período experimental de 8 días. Cada punto representa una unidad experimental.

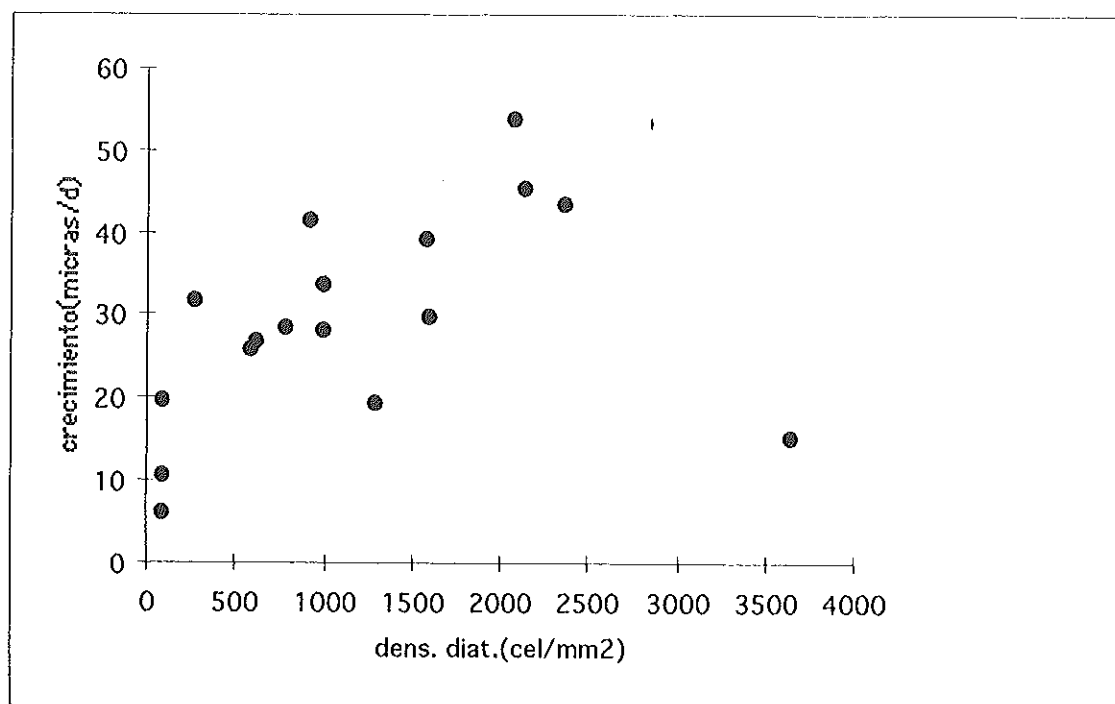


Figura 8. Tasas de crecimiento de postlarvas de *H. fulgens* con edad inicial de 30 días en diferentes densidades de la diatomea *N. incerta* después de un periodo experimental de 6 días. Cada punto representa una unidad experimental.

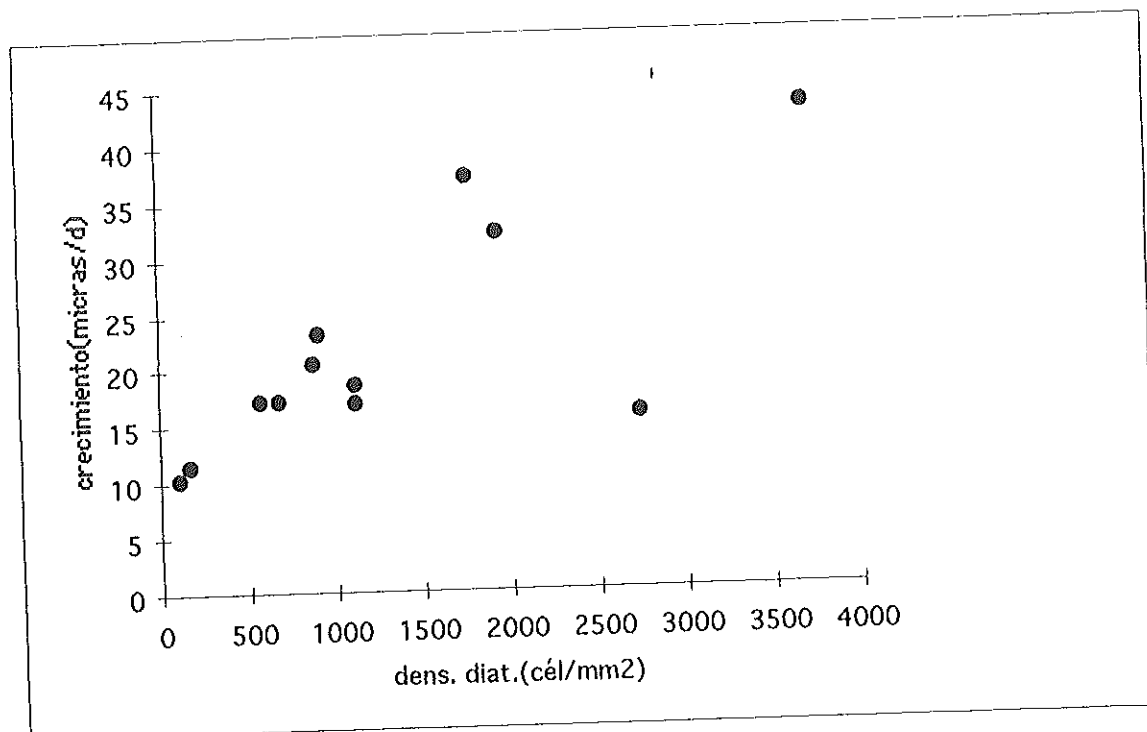


Figura 9. Tasas de crecimiento de postlarvas de *H. fulgens* con edad inicial de 45 días en diferentes densidades de la diatomea *N. incerta* después de un período experimental de 7 días. Cada punto representa una unidad experimental.

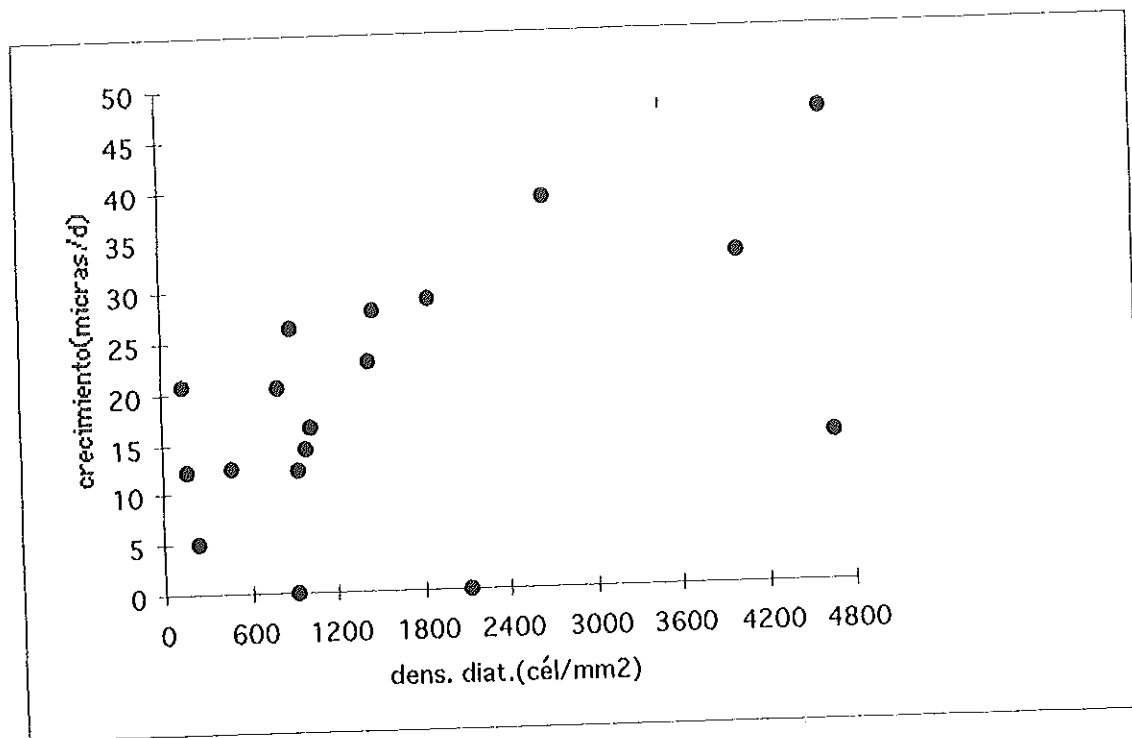


Figura 10. Tasas de crecimiento de postlarvas de *H. fulgens* con edad inicial de 60 días en diferentes densidades de la diatomea *N. incerta* después de un período experimental de 7 días. Cada punto representa una unidad experimental.

Tabla III. Regresiones lineales ($y=ax+b$) y coeficientes de correlación (r) para las tasas de crecimiento de postlarvas de *H. fulgens* en relación con las diferentes densidades de la biopelícula de *N. incerta*. (n.s) indica no significativo; (*) indica $P<0.05$; (**) indica $P<0.01$

Edad (d)	Regresión lineal		
	a	b	r
15	0.0008	19.716	0.344 (n.s)
30	0.006	19.766	0.373 (n.s)
45	0.007	12.645	0.744 (**)
60	0.0046	12.012	0.533 (*)

las 4 pm en las figuras 11, 12 y 14, esta solo es significativa, según se muestra en la tabla IV, en las postlarvas de 15 días de edad. Por otro lado, la menor variación en la tasa de pastoreo es notable en la figura 13 que representa a las postlarvas de 45 días. Esta homogeneidad se refleja en la $P=0.832$, la cual es la más alta de esta tabla.

III.5 EFECTO DE DIFERENTES PERÍODOS DE INANICIÓN

En este experimento (figuras 15, 16 y 17) pudo verificarse la resistencia de las postlarvas a períodos de inanición de hasta 5 días (mortalidad=0), así como el aumento natural en su tasa de pastoreo. Aunque gráficamente se observa una tendencia de aumento en las tasas de pastoreo conforme aumentan los días de inanición para postlarvas de 30 y 45 días (figuras 15 y 16), el ANOVA y la prueba de LSD (tabla V) indican que no hay diferencias significativas en las postlarvas de 45 días. Interesante resulta la figura 17, donde se aprecia una tasa de pastoreo máxima después del segundo día de inanición, aunque estadísticamente la prueba LSD indica que el pastoreo no es significativamente diferente para el segundo, tercero y cuarto día de inanición.

Las tasas máximas de pastoreo fueron 3861 (día 5), 6986 (día4) y 10643 cél/pl/h (día2) para las edades 30, 45 y 60 días, respectivamente (anexo E).

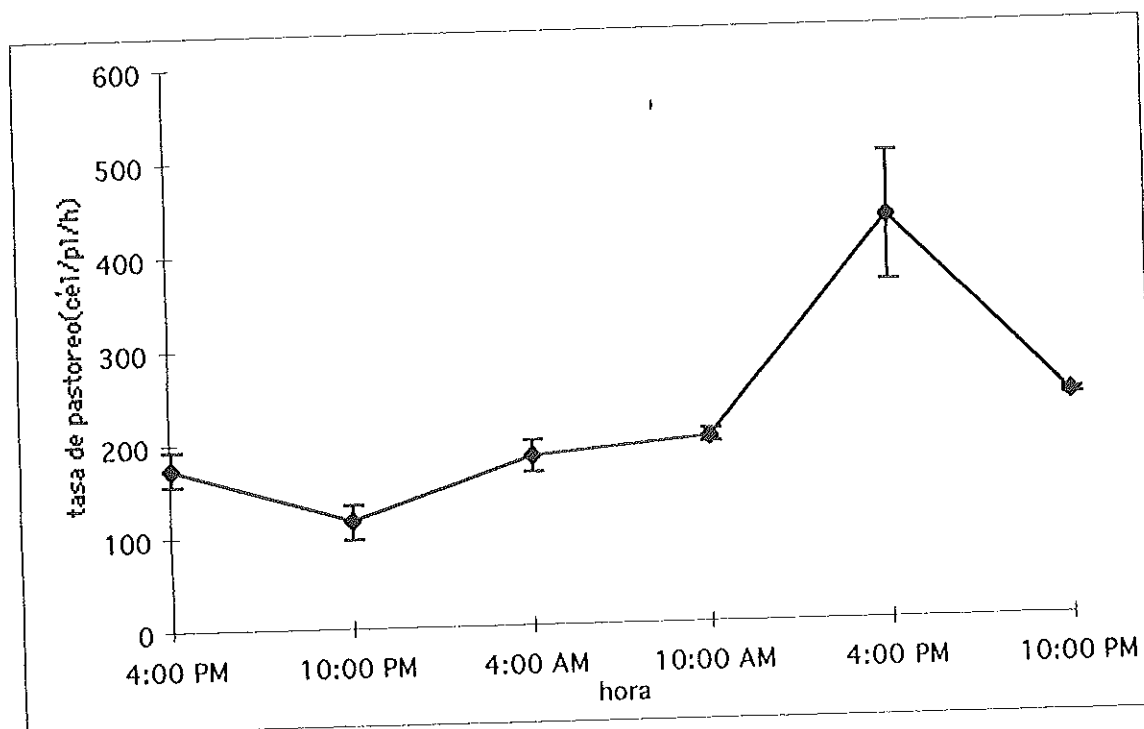


Figura 11. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 15 días de edad a diferentes horas, alimentadas con *N. incerta*. Las barras indican el error estándar.

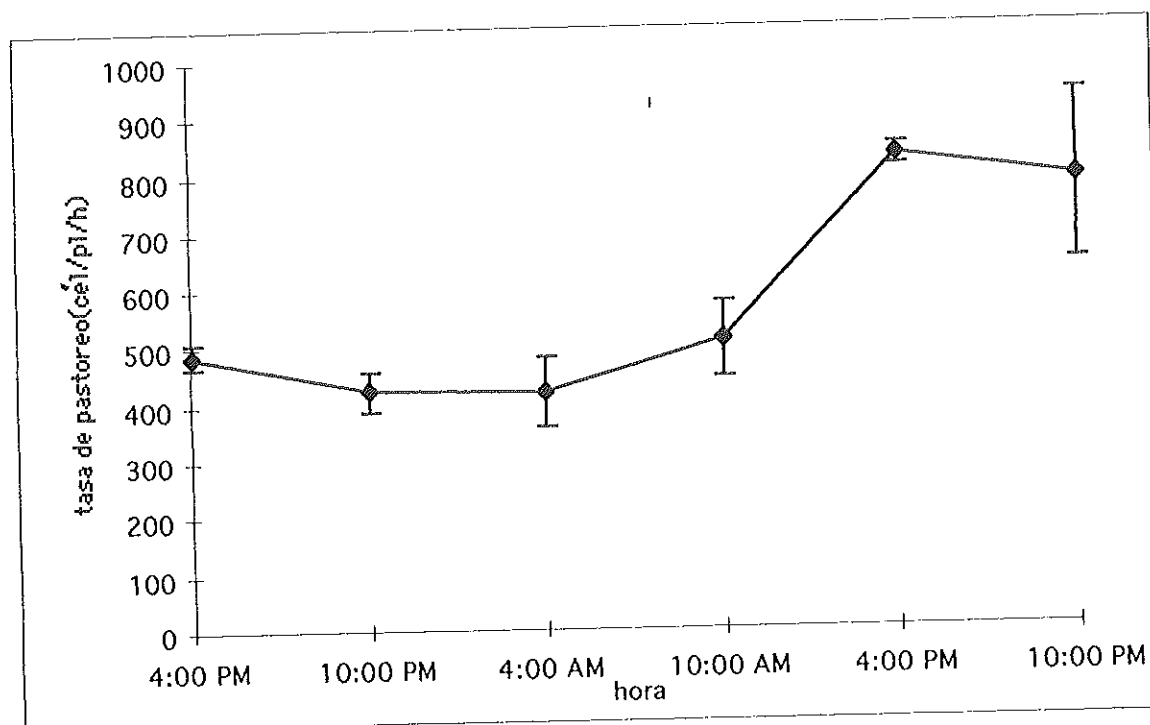


Figura 12. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 30 días de edad a diferentes horas, alimentadas con *N. incerta*. Las barras indican el error estandar.

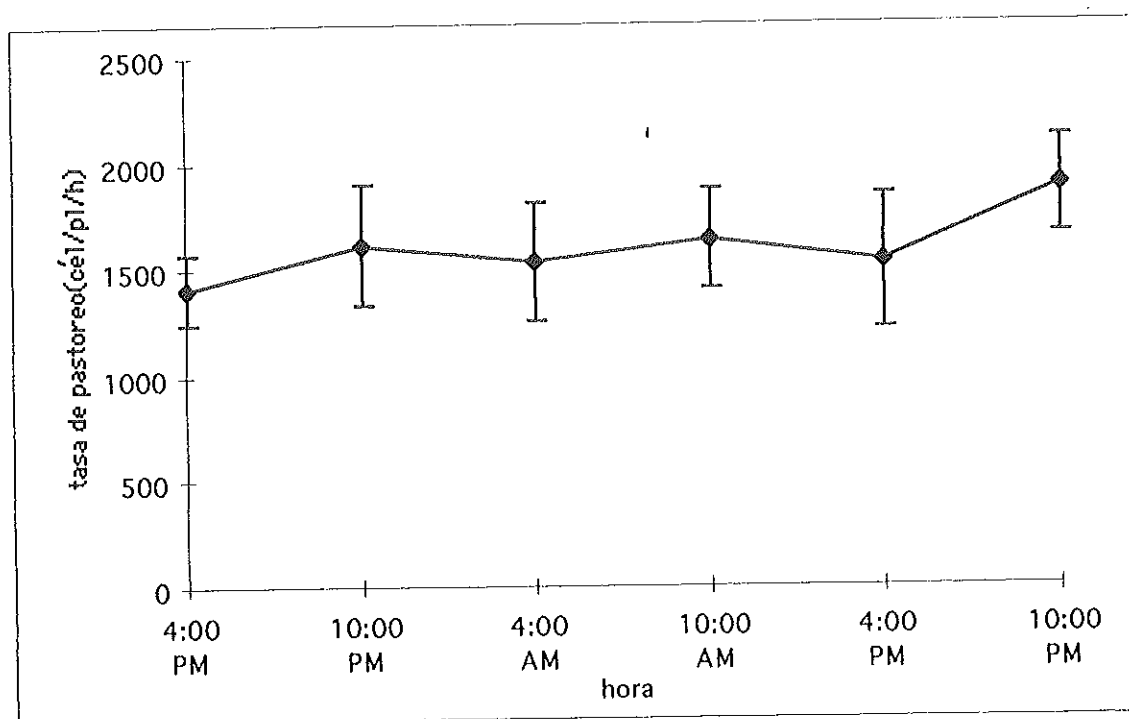


Figura 13. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 45 días de edad a diferentes horas, alimentadas con *N. incerta*. Las barras indican el error estándar.

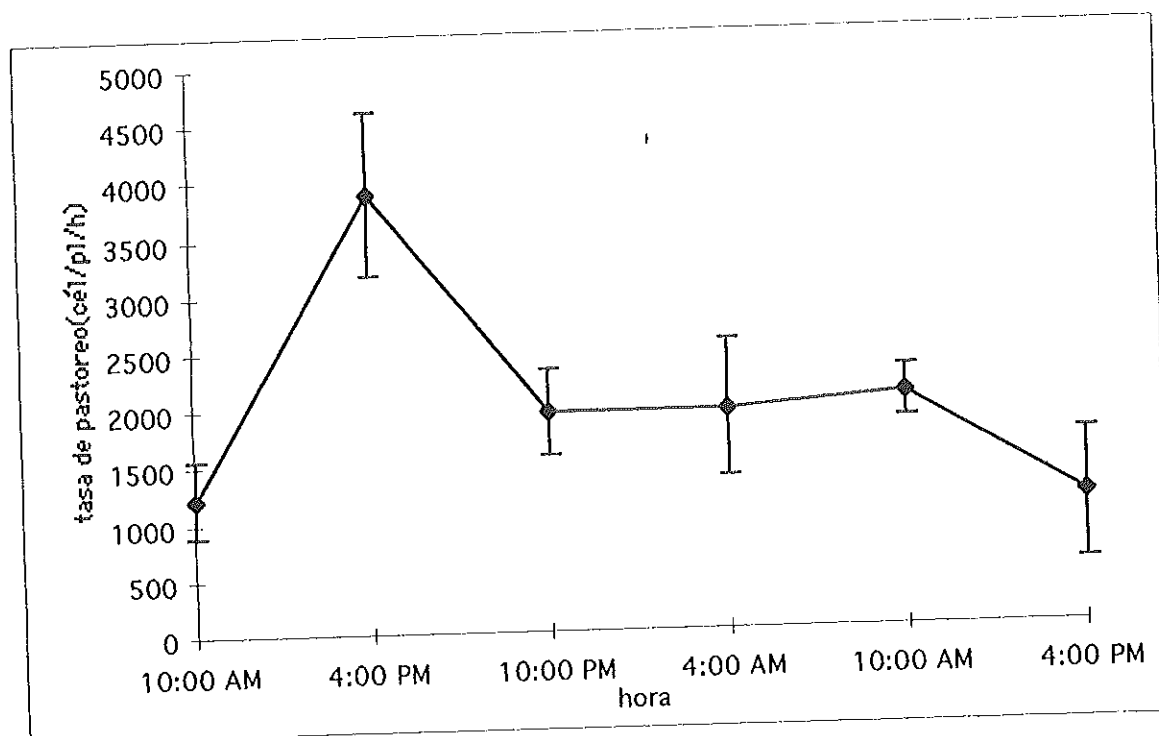


Figura 14. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 60 días de edad a diferentes horas, alimentadas con *N. incerta*. Las barras indican el error estándar.

Tabla IV. Resultados de ANOVA y LSD ($\alpha = 0.0034$ indicado para 6 tratamientos) con respecto a tasas de pastoreo de *H. fulgens* en diferentes horarios, para postlarvas de 15, 30, 45 y 60 días.

Edad (d)	F	P	LSD
15	12.537	0.003	4 P.M., 2 ^o ciclo, diferente del resto
30	6.171	0.023	todas iguales
45	0.401	0.832	todas iguales
60	3.85	0.065	todas iguales

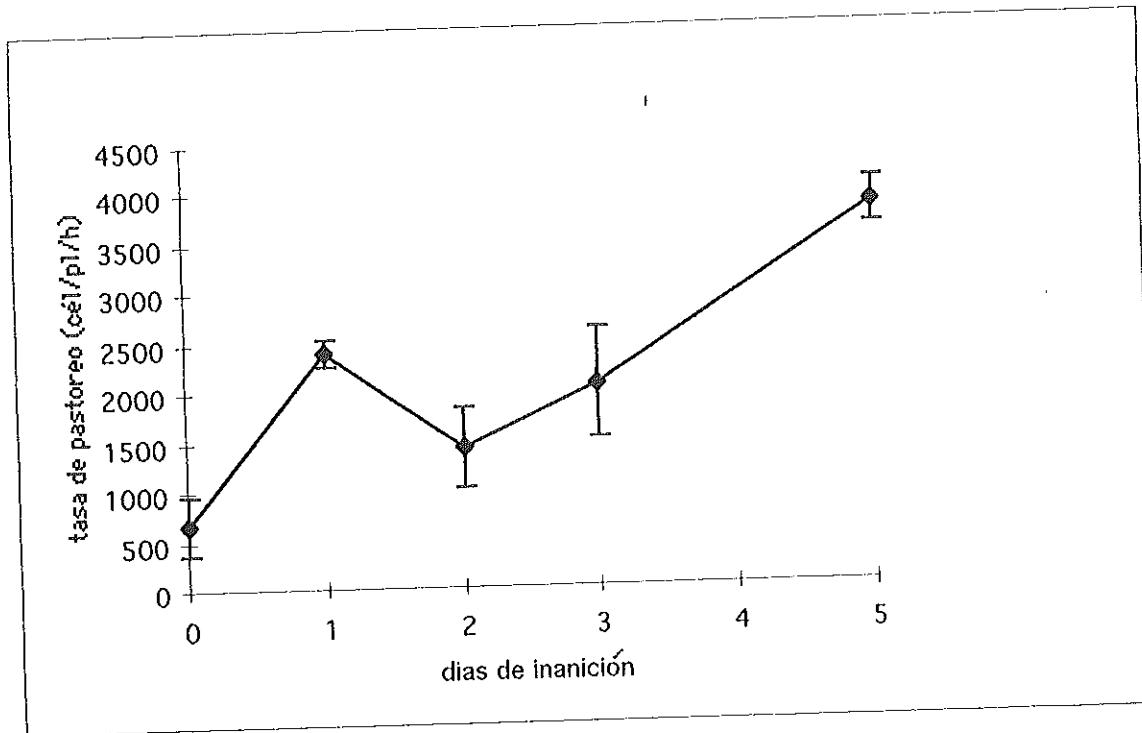


Figura 15. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 30 días de edad sobre biofilms de la diatomea *N. incerta*, sometidas a diferentes períodos de inanición. Las barras indican error estándar.

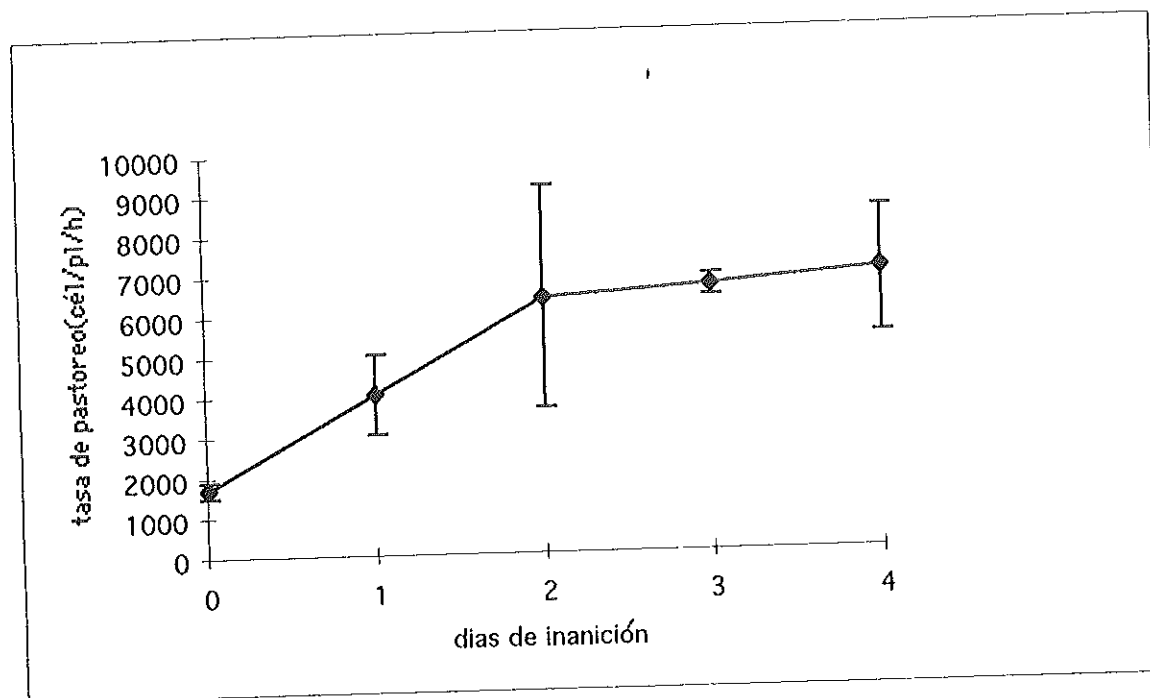


Figura 16. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 45 días de edad sobre biofilms de la diatomea *N. incerta*, sometidas a diferentes períodos de inanición. Las barras indican error estándar.

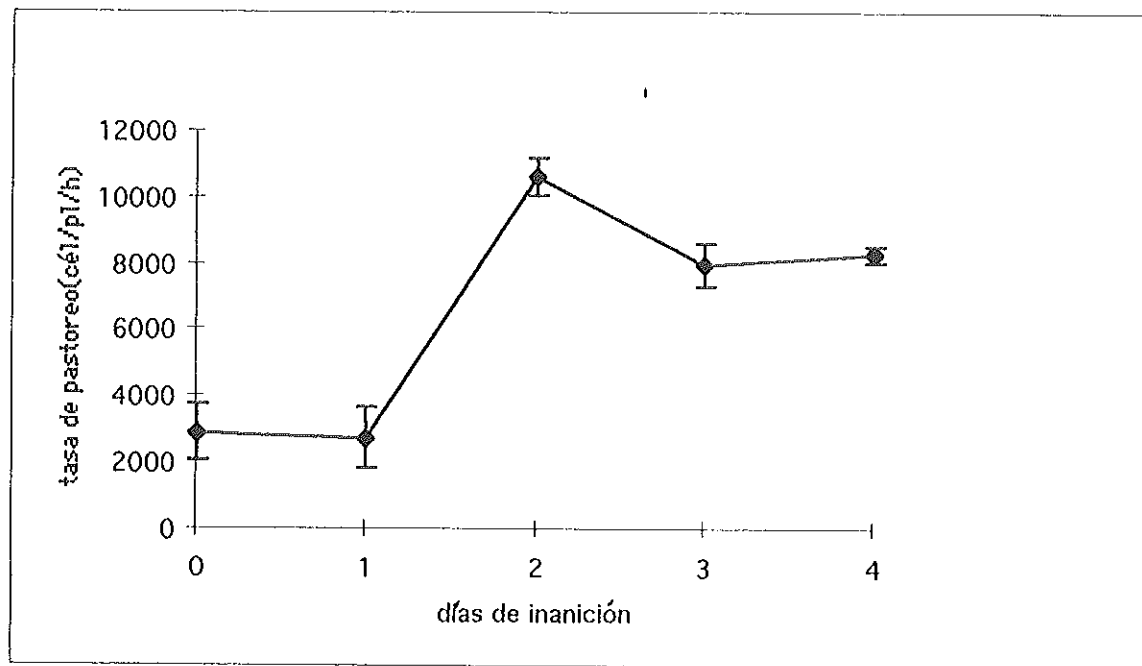


Figura 17. Tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* de 60 días de edad sobre biofilms de la diatomea *N. incerta*, sometidas a diferentes períodos de inanición. Las barras indican error estándar.

Tabla V. Resultados de ANOVA y LSD ($\alpha = 0.005$ indicado para 5 tratamientos) con respecto a tasas de pastoreo de *H. fulgens* en diferentes períodos de inanición, para postlarvas de 30, 45 y 60 días.

Edad (d)	F	P	LSD
30	11.207	0.0104	5 ^o día de inanición diferente significativamente de los días 0 y 2
45	2.265	0.1969	todas iguales
60	26.517	0.0015	días 0 y 1 diferentes de días 2, 3, y 4

III.6 TASAS DE PASTOREO EN FUNCIÓN DE LA EDAD Y LA LONGITUD

POSTLARVAL

La relación de la edad y de la longitud, fungiendo como variables independientes, con respecto a las tasas de pastoreo (figuras 18 y 19), fue muy semejante entre sí. La regresión lineal aplicada en ambos casos dió los mismos valores de F (11.752) y P (0.0012). En la prueba de LSD las postlarvas de 60 días y 2 mm de longitud tuvieron tasas máximas de pastoreo significativamente diferentes al resto.

La tasa de pastoreo mínima fue de 78.9 cél/pl/h a los 7 días de edad, y la máxima fue de 10998.6 cél/pl/h a los 60 días de vida postlarvaria (valores basados en promedios, anexo F).

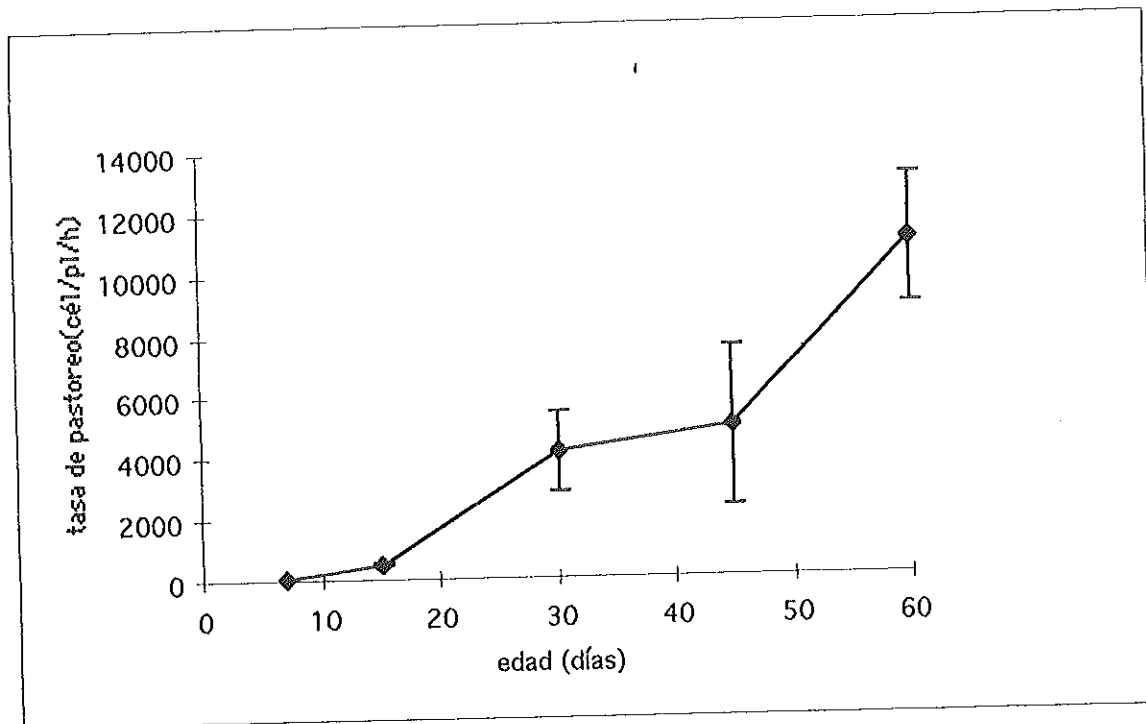


Figura 18. Tasas de pastoreo máximas de postlarvas de *H. fulgens* en distintas edades. Las barras indican el error estándar.

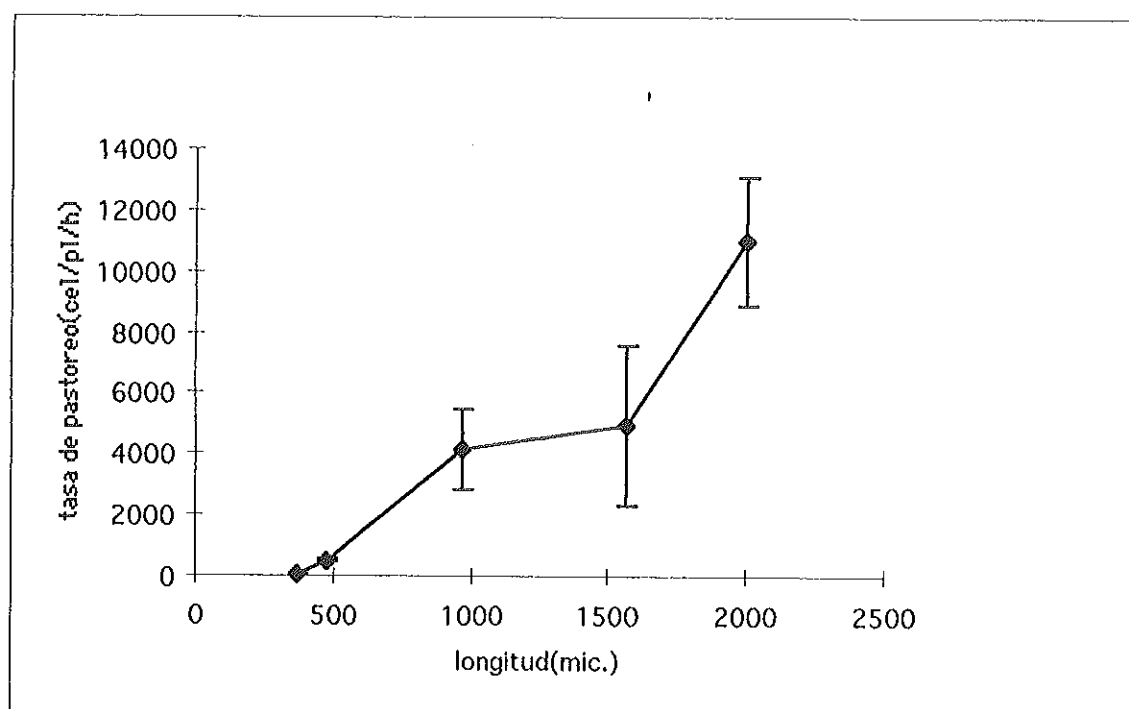


Figura 19. Relación entre tasas de pastoreo máximas y longitud de postlarvas de *H. fulgens*. Las barras indican el error estándar.

IV. DISCUSIÓN

IV.1 CRECIMIENTO DE POSTLARVAS EN EL SISTEMA DE CULTIVO

En este estudio sobresalen 2 fases de crecimiento en el sistema de cultivo: a) 14.9 $\mu\text{m}/\text{día}$ en los primeros 15 días de vida postlarval, y b) 33.4 $\mu\text{m}/\text{día}$ de los 15 a los 60 días de edad. Martínez-Ponce y Searcy-Bernal (1998), los cuales trabajaron con postlarvas de *H. rufescens* aplicando una metodología similar, obtuvieron una tasa de crecimiento de 37 y 11 $\mu\text{m}/\text{día}$ para 2 experimentos con temperaturas de 17 ± 1 y $14\pm 1^{\circ}\text{C}$, respectivamente. Estas tasas de crecimiento reportadas por estos autores corresponden al primer mes de vida postlarvaria.

En otro experimento con postlarvas de *H. fulgens*, con metodología diferente, Searcy-Bernal *et al.*, (1988) obtuvieron una tasa promedio de crecimiento de 50 $\mu\text{m}/\text{día}$ para el período postlarvario utilizando una asociación de microalgas como alimento, y la metodología estaba dirigida a la evaluación del crecimiento. Este valor es mayor a la tasa obtenida en el presente estudio, el cual está más enfocado a la determinación de la tasa de pastoreo.

En experimentos realizados por Takami *et al.* (1998), postlarvas de *H. discus hannai* cultivadas con *Cocconeis scutellum* alcanzaron una longitud de $2.4\pm 0.1\text{mm}$ en 46 días post-asentamiento. En el presente trabajo, con *N. incerta* como alimento principal se alcanzó una longitud de $2\pm 0.02\text{mm}$ en 60 días post-asentamiento.

Por otro lado, aunque para algunos autores (Morse, 1984; Leighton, 1974; Hanh, 1989) resulta evidente una amplia variabilidad de tallas con respecto a la edad de individuos de *Haliotis sp.* atribuida principalmente a características genéticas propias de la especie, en este estudio se encontró un error estándar muy pequeño en todas las edades en que se evaluó longitud.

Observaciones de Kawamura *et al.* (1998 b) sobre el tema del crecimiento de postlarvas alimentadas con biopelículas de diatomeas indican que en los primeros 10 días después del asentamiento la tasa de crecimiento es de 20-30 $\mu\text{m}/\text{día}$, declinando en las siguientes 1-2 semanas cuando las postlarvas tienen de 500 a 800 μm de longitud. Esta caída se atribuye a la pérdida de energía suplementaria del vitelo y/o la absorción de MOD. Durante este período la tasa de crecimiento es de 10-20 $\mu\text{m}/\text{día}$. Según los mismos autores, alrededor de las 800 μm las tasas de crecimiento responden fuertemente a la dieta y pueden incrementarse rápidamente. Postlarvas de 0.8-2.0 mm, alimentadas a base de diatomeas altamente digeribles, crecen 40-60 $\mu\text{m}/\text{día}$ mientras que aquellas alimentadas con diatomeas de baja digestibilidad crecen 15-30 $\mu\text{m}/\text{día}$. Los resultados obtenidos en el presente estudio no coinciden del todo con la generalización de Kawamura *et al.* (1998 b), pues aquí la relación edad longitud fue altamente lineal (figura 1) desde los 15 días de edad postlarval hasta la aparición del primer poro respiratorio a los 60 días de edad.

Además, las variaciones en las tasas de crecimiento planteadas por los autores japoneses no coinciden con las de este trabajo. Es posible que las aseveraciones de Kawamura *et al.* (1998 b) sean válidas para biopelículas dominadas por *Cocconeis*, pero no necesariamente para otras diatomeas, como por ejemplo *N. incerta*, las cuales pueden ser digeridas por postlarvas menores de 800 μm , tal como lo demuestra este trabajo y otros más (McBride, 1990; Kitting y Morse, 1997; Martínez-Ponce y Searcy-Bernal, 1998).

IV.2 RELACIÓN PASTOREO-DENSIDAD DE DIATOMEAS

En contra de lo que se hipotetizó en el principio de este trabajo, no se apreció un efecto negativo de densidades altas de diatomeas sobre el comportamiento alimenticio de postlarvas de *H. fulgens*.

Kawamura *et al.* (1998 b), en una amplia revisión sobre la alimentación y crecimiento de postlarvas de abulón, encuentran que la sobrevivencia y crecimiento de estas son influenciados no solo por la calidad del alimento, sino también por la cantidad. Al menos en el tiempo de 2 horas fijado para la evaluación de la tasa de pastoreo, no se detectó que la hipotética presión ecológica, representada por altas densidades de diatomea, se reflejara en un obstáculo para una alimentación efectiva de las postlarvas. Se esperaba que la sobresaturación de oxígeno por la fotosíntesis

y la producción de sustancias propias del metabolismo de las diatomeas afectarían el comportamiento alimenticio de las postlarvas de *H. fulgens*, así como sus tasas de crecimiento.

En este punto es importante considerar que en el ambiente donde se ubicaban las cámaras de 10 ml prevalecía una intensidad luminosa baja, de hasta 300 lux en el día y que llegó a 5,000 lux durante exposiciones cortas a la luz del microscopio, sin observar alteraciones importantes en el comportamiento. En términos de energía estamos hablando de 4 μE y de 81 μE respectivamente (Esparza-Hernández, 1999). Esto significa que en altas densidades de diatomeas la fotosíntesis, y una subsecuente sobresaturación de oxígeno, pudieron ser limitadas por las condiciones de baja energía luminosa. De hecho Esparza-Hernández (1999) detectó una mayor sobrevivencia postlarval en intensidades luminosas de 6 μE . Searcy-Bernal (1996) reporta problemas de sobresaturación a 59 μE .

Posiblemente la densidad de 4000 cél/mm² aún es adecuada para el desarrollo de las postlarvas, y efectos negativos de la densidad de diatomea habría que buscarlos en períodos mayores a las 2 horas y con reinoculación de diatomea para mantener las densidades iniciales.

Con base en los resultados de pastoreo obtenidos para postlarvas de 7 días, podría decirse que en algún momento entre la primera y segunda semana de vida

postlarvaria sobreviene un cambio en la conducta alimenticia de *H. fulgens*, en el cual las tasas de pastoreo se vuelven dependientes de la densidad de diatomeas.

Los resultados en las tasas de pastoreo obtenidos en este trabajo solamente pueden compararse con los obtenidos por Martínez-Ponce y Searcy-Bernal (1998), con *H. rufescens*. Las diferencias en las tasas de pastoreo son notables. La tasa de pastoreo máxima obtenida para postlarvas de *H. rufescens* de 30 días de edad fue de 724 cél/pl/h. En el presente estudio las postlarvas de *H. fulgens* de 30 días de edad alcanzaron tasas de pastoreo de 4206 cél/pl/h. Hay que considerar que la densidad de inóculo de estos autores fue de 200 cél/mm² en todos los casos, mientras que en este estudio se inocularon densidades de hasta 4000 cél/mm². Ubicando la tasa de pastoreo de *H. fulgens* en una densidad más cercana a las 200 cél/mm² utilizada por Martínez-Ponce y Searcy-Bernal (1998), se determinó en el presente estudio una tasa de pastoreo de 422 y 1815 cél/pl/h en una densidad promedio de diatomeas de 93 y 520 cél/mm², respectivamente (anexo B).

Estos mismos autores detectaron un incremento abrupto en el pastoreo después de la segunda-tercera semana, cuando las postlarvas alcanzaron una longitud de 470 µm. En el presente estudio un incremento marcado en el pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* acontece entre los 45 y 60 días (figura 19), cuando las postlarvas alcanzaron una longitud de 1564-2000 µm (anexo A).

IV.2.1 Ingestión y digestión de *N. incerta*

Las diatomeas bentónicas han sido reconocidas como la principal fuente de alimento de postlarvas de abulón (Takami *et al.*, 1998). La diatomea utilizada en este trabajo, *N. incerta*, pertenece a un género que se caracteriza por células individuales, postradas, con baja adhesividad y alta movilidad (Kawamura, 1996). La digestibilidad es importante para el crecimiento de las postlarvas, ya que tanto la capacidad digestiva de las postlarvas como la composición bioquímica de las diatomeas puede afectar las tasas de crecimiento. En el presente estudio se observó actividad de pastoreo de las postlarvas de *H. fulgens* desde los 7 días de edad. Esto significa que la capacidad de ingerir células de *N. incerta* pudo haber empezado días antes. Fue posible detectar heces fecales con digestión incompleta en postlarvas de 7 y 15 días a juzgar por la presencia de células de diatomeas con el citoplasma intacto dentro de las heces. Esto nos indica que *N. incerta* puede ser ingerida por postlarvas de *H. fulgens* de 7 días de edad, pero que su capacidad mecánica ó enzimática para romper las tecas es limitada todavía.

Otro factor importante, sugerido por Takami *et al.* (1996), es que la fuerza estructural de las diatomeas puede depender de factores tales como las condiciones de cultivo, lo cual podría explicar la variación temporal en la digestibilidad de ciertas cepas. Como se indicó en la metodología, en este trabajo se emplearon

cepas de diatomea cultivadas con técnicas estándar y con una edad de cultivo similar. Es decir que la única variable presente fue la capacidad digestiva de las postlarvas de *H. fulgens* en su relación con la edad. Según varios estudios (Kawamura, 1996; Takami *et al.*, 1997 a y b; Kawamura *et al.*, 1998b), postlarvas de *H. discus hannai* son capaces de ingerir y metabolizar el contenido de las células de diatomeas desde el día 17 post-asentamiento. Obviamente se trata de una generalización, y establecen que a esta edad las postlarvas deben poseer la capacidad digestiva de romper y metabolizar los polisacáridos contenidos en las células de la diatomea con la que trabajaron (*Cocconeis sp.*).

IV.3 CRECIMIENTO POSTLARVAL EN DIFERENTES DENSIDADES DE DIATOMEAS

Para las postlarvas de *H. fulgens* del presente estudio se obtuvo una tasa de crecimiento máxima de 54 $\mu\text{m}/\text{día}$ a los 30 días de edad en densidades del orden de 2000 $\text{cél}/\text{mm}^2$ en las cámaras experimentales de 10 ml. La tasa promedio de crecimiento en el período postlarval hasta los 60 días fue de 23 $\mu\text{m}/\text{día}$, lo cual pone de manifiesto una disminución en la tasa de crecimiento al segundo mes de vida postlarvaria, comparable a la tasa de crecimiento obtenida en postlarvas de 15 días. Esto podría atribuirse a la insuficiencia del alimento en las cámaras experimentales al aumentar la capacidad de pastoreo con la edad (tabla II).

Aunque los coeficientes de correlación para las tasas de crecimiento en diferentes densidades de diatomeas no son significativas ($P > 0.05$) para postlarvas de 15 y 30 días (tabla III), puede apreciarse una mayor dependencia de la tasa de crecimiento con respecto a la densidad conforme aumenta la edad de las postlarvas. Esta mayor dependencia se refleja en los coeficientes de regresión, los cuales aumentan con la edad, a excepción de la edad 60 donde se observa un ligero descenso en el coeficiente de regresión. La figura 7, correspondiente a la edad de 15 días, representa el único caso en que las tasas de crecimiento no cambian de manera importante con la densidad ni estadística ni gráficamente. En las demás

edades es notable un aumento de la tasa de crecimiento conforme aumenta la densidad de diatomeas.

Si en la figura 8, correspondiente a postlarvas de 30 días de edad, eliminamos el punto extremo ubicado a las 3700 cél/mm² y realizamos la regresión lineal, se obtiene un coeficiente de correlación de 0.642, el cual es altamente significativo ($P < 0.01$). Considerando el patrón del resto de los puntos en la figura 8, puede aceptarse como representativa la significancia obtenida con esta modificación.

IV.4 OTROS FACTORES QUE AFECTAN LAS TASAS DE PASTOREO

La razón de experimentar con los cambios en la tasa de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* durante la variación diurna era determinar si en algún período dentro de la vida postlarvaria se manifestaba un mayor consumo en algún horario en particular, ya que como se sabe, juveniles y adultos tienen hábitos nocturnos de alimentación (Hahn, 1989). Este es el primer intento por establecer si existe tal hábito en postlarvas. Con base a los resultados obtenidos, aunque se encontró predilección significativa en postlarvas de 15 días de edad a las 4 pm (tabla IV), esto no significa que haya predilección por algún horario para alimentarse, a juzgar por los resultados obtenidos para otras edades. Además si observamos la figura 11 (postlarvas de 15 días), el horario correspondiente a las 4 pm del segundo ciclo

diurno fue significativamente mayor al resto de los horarios, incluyendo las 4 pm del primer ciclo diurno. Esto apoya la idea que para postlarvas de *H. fulgens* no existen efectos de la variación diurna en sus hábitos alimenticios en base a las tasas de pastoreo obtenidas.

Otra prueba realizada por primera vez en los estudios sobre ecología alimenticia de postlarvas de abulón, fue el determinar el efecto de distintos períodos de inanición sobre las tasas de pastoreo. En las figuras 15, 16 y 17 se observa la clara tendencia al aumento en el pastoreo conforme aumentan los días de inanición, pero estadísticamente vemos que: a) a los 30 días de edad el pastoreo fue significativamente mayor al quinto día de inanición; b) que a los 45 días de edad no aumentó significativamente el pastoreo durante los 4 días de inanición; c) que en las postlarvas de 60 días el pastoreo no aumentó después del segundo día de inanición. Ahora, si se compara la tasa máxima de pastoreo bajo inanición con la tasa de pastoreo máxima del experimento principal, en el cual las postlarvas no son sometidas a inanición (anexo F), vemos que las diferencias son pequeñas (tabla VI). Metodológicamente esto último resulta interesante, y sugiere la posibilidad de dejar a las postlarvas en inanición por períodos cortos (1-2 días) con la finalidad de evaluar la capacidad real de pastoreo de las postlarvas de diferentes edades, pues recordemos que estas llegaban a las cámaras experimentales procedentes de cubetas

Tabla VI. Comparación entre las tasas de pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* obtenidas después de un período de inanición y las tasas evaluadas en altas densidades de diatomeas.

Edad postlarval (días)	T.máx. inanición (cél/pl/h)	T. máx.- altas dens. de diat. (cél/pl/h)
30	3861	3903
45	6986	4985
60	10643	10998
Dens. inóculo (cél/mm ²)	250 - 500	4000

con abundante alimento. Claro es que debe existir un período en el cual la inanición afecte irreversiblemente al organismo, aspecto que quedaría por determinarse en otro estudio.

Una de las razones que motivaron el diseño de la prueba de inanición fue el determinar la capacidad máxima de pastoreo sobre las biopelículas de *N. incerta*, pero es posible aprovechar la metodología utilizada en este trabajo para evaluar también longitud postlarval durante los períodos de inanición y hacer observaciones sobre el crecimiento en estas condiciones.

V. CONCLUSIONES

- * Las postlarvas de *H. fulgens* pastorearon vigorosamente y tuvieron una sobrevivencia mayor al 95% (en la semana de experimentación) en densidades de *N. incerta* de hasta 4000 cel/mm².
- * La tasa de pastoreo de *H. fulgens* se incrementó en función directa de la densidad de diatomeas desde los 15 días de edad postlarval
- * Se observó un incremento marcado en el pastoreo de postlarvas de *H. fulgens* entre los 45 y 60 días de edad.
- * La tasa de crecimiento de las postlarvas de *H. fulgens* se incrementó al aumentar la densidad de diatomeas desde los 30 días de edad.
- * No se detectaron cambios significativos en la tasa de pastoreo de las postlarvas de *H. fulgens* durante la variación diurna.

* La tasa de pastoreo máxima obtenida en periodos de inanición de 1-5 días, con densidad de diatomeas de 250-500 cél/mm², fue similar a la tasa máxima encontrada para postlarvas no sometidas a inanición con densidad de diatomeas de 4000 cél/mm².

VI. RECOMENDACIONES

En futuros estudios que pretendan probar la hipótesis del efecto negativo de altas densidades de diatomeas sobre el comportamiento alimenticio y sobrevivencia de postlarvas, se recomienda incrementar el intervalo de densidades de diatomeas (hasta 10,000 cél/mm², por ejemplo), así como incluir la reinoculación periódica para mantener estable la densidad de la biopelícula. Sería conveniente también ensayar diferentes intensidades luminosas.

Para complementar el experimento de inanición sería interesante aumentar los días de aislamiento de las postlarvas, en ausencia de alimento, hasta períodos letales. Así mismo, es recomendable medir longitudes de conchas para establecer si existe crecimiento compensatorio.

Para la videograbación de áreas clareadas por postlarvas mayores de 30 días se sugiere implementar un sistema óptico que incluya objetivos oculares de mayor cobertura, debido a que en áreas muy grandes se complica la medición.

Por último, para los experimentos de variación diurna sería conveniente completar por lo menos dos ciclos diurnos.

VII. LITERATURA CITADA

- Barlow, L.A. y Truman, J.W. (1992). Patterns of serotonin and SCP immunoreactivity during metamorphosis of the nervous system of the red abalone, *Haliotis rufescens*. J. Neurobiol. 23: 829-844.
- Cox, W. (1962). California Abalones, Family Haliotidae. Calif. Fish and Game. Fish Bull. 118, 130 pp.
- Crofts, D.R. (1929). *Haliotis*. Liverpool Marine Biology Committee Memoirs on Typical British Marine Plants and Animals 29: 1-174.
- Douros, W. (1985). Density, growth, reproduction and recruitment in an intertidal abalone: Effects of intraspecific competition and prehistoric predation. M.A. Thesis, University of California, Santa Barbara, California. 140 pp.
- Ebert, E.E. y Houk, J.L (1984). Elements and innovations in the cultivation of red abalone (*Haliotis rufescens*). Aquaculture (39): 375-392.
- Erasmus, J.H., Cook, P.A. y Coyne, V.E. (1997). The role of bacteria in the digestion of seaweed by the abalone *Haliotis midae*. Aquaculture 155: 377-386.
- Esparza-Hernández, A. (1999). Efecto de diferentes irradiancias sobre la sobrevivencia y crecimiento de poslarvas de abulón azul *Haliotis fulgens* (Mollusca: Gastropoda), alimentadas con la diatomea *Navícula incerta*. Tesis de Maestría, Fac. De Ciencias Marinas, U.A.B.C., Ensenada, B.C., 51 pp.
- García, M.E. (1991). Comparación a escala piloto de técnicas de producción de abulón azul (*Haliotis fulgens* Philippi, 1845). Tesis de Licenciatura, Fac. De Ciencias Marinas, U.A.B.C., Ensenada, B.C., 104 pp.

- Garland , D.C. y Cooke, L.S. (1985). Ingestion of the bacteria on the cuticle of crustose (non articulated) coralline algae by postlarval and juvenile abalone (*Haliotis ruber*) from Tasmanian waters. J. Exp. Mar. Biol. and Ecol., 91: 137-149.
- Guzmán del Proó, S.A. (1992). A review of the biology of abalone and its fishery in Mexico. In: Shepherd, S.A., Tegner, M.J. y Guzmán del Proo, S.A. (Editors), Abalone of the world. Biology, Fisheries and Culture. Fishing News Book, Oxford, pp. 341-360.
- Hahn, K.O. (ed). (1989). Handbook of culture of abalone and other marine gastropods. CRC Press, Boca Raton, Florida. 349 pp.
- Hooker, N. y Morse, D.E (1985). Abalone: The emerging development of commercial cultivation in the United States. p: 365-413 In: Hunger, J.V. y Brown, E.E. Crustacean and mollusk aquaculture in the United States. AVI Publishers, Westport, USA.
- Hur, S.B. (1991). The selection of optimum phytoplankton species for rotifer culture during cold and warm seasons and their nutritional value for marine finfish larvae. p:206 In: Fulks, H.I.W. y Main, K.L. (eds). Rotifer and Microalgae Culture Systems. Argent Lab.
- Imai, T. (1977). Mass production of mollusks by means of rearing the larvae in tanks. Venus, 25(3): 159-167.
- Jaekle, W.B. y Manahan, D.T. (1989a). Feeding by an "non-feeding" larvae: uptake of dissolved aminoacids from seawater by lecithotropic larvae of the gastropod *Haliotis rufescens*. Mar. Biol., 103: 87-94.
- Jaekle, W.B. y Manahan, D.T. (1989b). Growth and energy imbalance during the development of a lecithotropic molluscan larva (*Haliotis rufescens*). Biol. Bull., 177: 237-246.

- Jones, D. (1984). Use, misuse, and role of multiple-comparison procedures in ecological and agricultural entomology. *Forum: Environmental Entomology*, 13(3): 635-649.
- Kawamura, T. y Takami, H. (1995). Analysis of feeding and growth rate of newly metamorphosed abalone *Haliotis discus hannai* fed four species of benthic diatom. *Fish. Sci.* 61: 357-358.
- Kawamura, T. (1996). The role of benthic diatoms in early life stages in the Japanese abalone *Haliotis discus hannai*. P:355-367 In: Watanabe, Y., Yamashita, Y. Y Oozeki, Y. (Eds.). *Survival strategies in early life stages of marine resources*. Yokohama, Japan.
- Kawamura, T., Roberts, R.D. y Nicholson, C.M. (1998a). Factors affecting the food value of diatom strains for postlarval abalone *Haliotis iris*. *Aquaculture* 160: 81-88.
- Kawamura, T., Roberts, R.D. y Takami, H. (1998b). A review of the feeding and growth of postlarval abalone. *Journal of Shellfish Research*, vol. 17, no. 3, December 1998. Third International Symposium of Abalone Biology, Fisheries and culture.
- Kitting, C. y D.E. Morse. (1997). Feeding effects of postlarval red abalone, *Haliotis rufescens* (Mollusca: Gastropoda) on encrusting coralline algae. *Moll. Res.* 18: 183-196.
- Leighton, D.L. (1974). The influence of temperature on larval and juvenile growth in three species of southern California abalones. *Fish. Bull.* 72(4): 1137-1145.
- Manahan, D.L. y Jaeckle, W.B. (1992). Implications of dissolved organic material in seawater for the energetics of abalone larvae *Haliotis rufescens*: A review. pp. 95-106. In: Shepherd, S.A., Tegner, M.J. y Guzmán del Proío, S.A. (eds.). *Abalone of the world*. Fishing News Book, Oxford.

- McBride, C.S. (1990). The relative effects of diet and irradiance on the growth and survival of post-larval red abalone *Haliotis rufescens*. M. Sc. Thesis. Dept. of Biology. San Jose State University. 45 pp.
- Martínez-Ponce, D.R. (1998). Intensidad de pastoreo de postlarvas de abulón rojo *Haliotis rufescens* (Mollusca: Gastropoda) en condiciones de cultivo. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, México, 49 pp.
- Martínez-Ponce, D.R. y Searcy-Bernal, R. (1998). Grazing rates of red abalone (*Haliotis rufescens*) postlarvae feeding on the benthic diatom *Navícula incerta*. Journal of Shellfish Research.
- Morse, A.N.C. y Morse, D.E. (1984). Recruitment and metamorphosis of *Haliotis* larvae induced by molecules uniquely available at the surfaces of crustose red algae. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 75: 191-215.
- Morse, D.E. (1984). Biochemical and genetic engineering for improved production of abalones and other valuable moluscs. Aquaculture, 39: 263-282.
- Morse, D.E. (1992). Molecular mechanisms controlling metamorphosis and recruitment in abalone larvae. Pp. 107-119. In: Sheperd, S.A., Tegner, M.J. y Guzmán del Proo, S.A. (eds). Abalone of the world: Ecology, fisheries and culture. Blackwell, Oxford, UK
- Morse, D.E., Hooker, N., Duncan, H. y Jensen, L. (1979). γ -Aminobutyric acid, a neurotransmitter, induces planktonic abalone larvae to settle and begin metamorphosis. Science 204: 407-410.

Morse, D.E., Tegner, M., Duncan, H. Hooker, N., Trevelyan, G. y Cameron, A. (1980).

Induction of settling and metamorphosis by planktonic molluscan (*Haliotis*) larvae. III.

Signaling by metabolites of intact algae is dependent on contact. Pp. 67-86. In Muller-Schwarze, D. And Silverstein, R.M. (eds). Chemical signals. Plenum Press, New York, USA..

Norman-Boudreau, K., Burns, D., Cooke, C.A. y Austin, A. (1986). A simple technique for detection of feeding in newly metamorphosed larvae. *Aquaculture* 51: 313-317.

Pérez Muñoz, G.E. (1995). Cultivo de abulón en México: Desarrollo histórico, estado actual y sus perspectivas. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, México, 121 pp.

Roberts, R.D. y Nicholson C.M. (1997). Variable response from abalone larvae (*Haliotis iris*, *H. Virginea*) to a range of settlement cues. *Moll. Res.* 18: in press.

Rocha, E. (1985). Diagnóstico de la pesquería de Abulón *Haliotis spp.* en Baja California de los años 1972-73 a 1981-82, por medio de modelos globales de rendimiento. Tesis de licenciatura. Escuela Superior de Ciencias Marinas, UABC, Ensenada, B.C., 191 pp.

Saito, K. (1981). The appearance and growth of 0-year-old Ezo abalone. *Bulletin of the Japanes Society of Scientific Fisheries* 47: 1393-1400.

Searcy-Bernal, R. (1994). Current use of gamma-aminobutyric acid (GABA) in masive-scale seed production. Presentation at the Second International Symposium on Abalone, Hobart, Australia, February 7-11, 1994, 9 pp.

Searcy-Bernal, R. (1996). Boundary layers and abalone postlarval culture: Preliminary Studies. *Aquaculture* 140: 129-137.

- 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.
- Searcy-Bernal, R., Salas-Garza, A. y Flores-Aguilar, R. (1992a). Investigaciones en México sobre la etapa crítica de la producción de semilla de abulón (*Haliotis spp.*). p: 547-560 In: Shepherd, S.A., Tegner, M.J. and Guzmán del Proo, S.A. (eds.). Abalone of the world. Fishing News Book. Oxford.
- Searcy-Bernal, R. y Anguiano Beltrán, C. (1998). Optimizing the concentration of Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) for inducing larval metamorphosis in red abalone *Haliotis rufescens* (Mollusca: Gasteropoda). Journal of the World Aquaculture Society. 29(4): 463-470.
- Seki, T. (1980). An advanced biological engineering system for abalone seed production. Proc. Inter. Symp. On Coastal Pacific Marine Life, Oct. 15-16, 1979. 45-54.
- Seki, T. (1997). Biological studies on the seed production of the northern Japanese abalone, *Haliotis discus hannai* Ino. (In Japanese with English abstract). Bull. Tohoku Natl. Fish. Res. Inst. 59: 1-71.
- Shepherd, S.A. (1973). Studies on the southern australian abalone (genus *Haliotis*). Ecology of five sympatric species. Australian Journal of Marine and Freshwater Research 24: 217-257.
- Shepherd, S.A. y Turner, J.A. (1985). Studies on southern australian abalone (genus *Haliotis*). VI. Habitat preference, abundance and predators of juveniles. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 93: 285-298.

- Shepherd, S.A. y Daume, S. (1996). Ecology and survival of juvenile abalone in a crustose coralline habitat in South Australia. Pp. 297-313. In: Watanabe, Y. Yamashita, Y. y Oozeki, Y. (Eds). Survival strategies in early life stages of marine resources. A.A. Balkema Publ., Rotterdam, Netherlands and Brookfield, VT, USA.
- Shilling, F.M., Hoegh-Guldberg y Manahan, D.T. (1996). Sources of energy for increased metabolic demand during metamorphosis of the abalone *Haliotis rufescens* (Mollusca). Biol. Bull. 191: 402-412.
- Stein, J.R. (1973). Handbook of Phycological Methods. Culture methods and growth measurements. Cambridge University Press.
- Takahashi, K. y Obata, C. (1986). The relationships between development of respiratory pores and shell length of *Haliotis discus hannai* (in Japanese). Business Report of Miyagi Prefectural Sea-Farming Center in 1982-83: 32-33.
- Takami, H., Kawamura, T. y Yamashita, Y. (1996). Dietary value of benthic diatoms for the growth of juvenile abalone *Haliotis discus hannai* (in Japanese with English abstract). Suisanzoshoku 44: 211-216.
- Takami, H., Kawamura, T. y Yamashita, Y. (1997a). Survival and growth rates of postlarval abalone *Haliotis discus hannai* fed conspecific trail mucus and/or benthic diatom *Cocconeis scutellum* var. parva. Aquaculture 152: 129-138.
- Takami, H., Kawamura, T. y Yamashita, Y. (1997b). Contribution of diatoms as food sources for postlarval abalone *Haliotis discus hannai* on a crustose coralline alga. Moll. Res. 18: 143-151.

Takami, H., Kawamura, T. y Yamashita, Y. (1998). Development of polysaccharide degradation activity in postlarval abalone *Haliotis discus hannai*. Journal of Shellfish Research, Vol. 17, No. 3, 723-727.

VIII. ANEXOS

Anexo A. Resultados de longitud (μm) de postlarvas de *H. fulgens* en las diferentes edades experimentales (longitud inicial=250 μm).

Edad	7	15	30	45	60
n	18	18	18	12	18
media	363.4043033	473.5450683	963.0653759	1563.742389	2000.740454
desv. est.	8.693839527	34.03388799	68.15533175	130.2314392	97.10334803
error est.	2.049157628	8.02186433	16.06436575	37.59457824	22.88747862

Anexo B. Tasas de pastoreo (cél/pl/h) de postlarvas de *H. fulgens* en diferentes densidades de diatomeas (cél/mm²).

PL-7 DIAS dens. diat. réplicas		209	546	783	974	1649	1677
1 2 3		109.19	61.02	110.54	52.42	30.90	0.00
		58.83	43.70	0.00	26.73	90.23	28.55
		68.76	51.97	86.10	110.09	37.24	0.00
media		87.15	52.40	60.86	63.40	55.42	8.00
desv. est.		26.67	8.67	58.06	42.69	32.58	16.49
error est.		15.40	5.00	33.52	24.65	18.81	9.52
PL-15DIAS dens. diat. réplicas		317	854	1142	1295	2066	4406
1 2 3		280.42	282.89	398.46	450.46	313.53	576.44
		139.08	215.28	360.18	154.95	387.55	483.66
		331.91	326.17	439.39	324.34	455.51	600.49
media		250.47	274.78	399.34	309.92	385.53	553.53
desv. est.		99.84	55.89	39.61	148.28	71.01	61.70
error est.		57.64	32.27	22.87	85.61	41.00	35.62
PL-30 DIAS dens. diat. réplicas		93	520	843	1021	1745	2715
1 2 3		385.27	2527.94	3319.11	3722.40	2126.50	3672.95
		560.59	2196.27	3626.59	2553.30	3191.65	2729.27
		319.32	859.36	2269.91	2846.42	2268.48	5306.96
media		421.77	1814.81	3080.69	3101.73	2606.48	4206.25
desv. est.		124.70	883.32	711.33	608.28	578.35	1304.17
error est.		71.99	509.98	410.69	351.19	333.91	752.96
PL-45 DIAS dens. diat réplicas		138	626	997	1017	1860	3222
1 2 3		392.11	1596.35	1792.52	1668.06	385.27	7631.18
		153.35	668.21	1611.48	1574.26	3626.59	2337.78
		272.73	1132.28	1702.00	1621.16	2005.93	4984.48
media		272.73	1132.28	1702.00	1621.16	2005.93	4984.48
desv. est.		168.83	656.30	128.01	66.33	2291.96	3743.00
error est.		119.38	464.07	90.52	46.90	1620.66	2646.70
PL-60 DIAS dens. diat. réplicas		185	739	964	1305	2219	4435
1 2 3		695.98	1439.99	3235.00	3347.18	3136.32	13799.49
		362.09	895.04	3613.28	4458.15	5526.81	12334.12
		454.37	1717.52	582.66	3491.17	5705.86	6862.47
media		504.15	1350.85	2476.98	3765.50	4789.67	10998.69
desv. est.		172.42	418.42	1651.40	604.16	1434.63	3656.24
error est.		99.55	241.58	953.44	348.81	828.29	2110.93

Anexo C. Tasas de crecimiento promedio ($\mu\text{m/d}$) de postlarvas de *H. fulgens* en diferentes densidades de diatomea (cél/mm^2) en diferentes edades.

PL-15DIAS	dens. diat.	317	854	1142	1295	2066	4406
período 0-8	replicas						
	1	20.64	20.58	23.08	22.09	23.99	22.79
	2	15.30	22.06	20.30	18.95	23.26	16.33
	3	17.01	23.38	24.19	16.69	21.25	28.66
	media	17.65	22.01	22.52	19.24	22.83	22.59
	desv. est.	2.73	1.40	2.01	2.71	1.42	6.17
	error est.	1.58	0.81	1.16	1.57	0.82	3.56
PL-30 DIAS	dens. diat.	93	520	843	1021	1745	2715
período 0-6	replicas						
	1	19.83	-12.78	33.71	19.50	53.72	15.17
	2	10.86	25.82	41.66	28.33	39.34	43.62
	3	6.01	31.84	26.78	28.48	29.94	45.55
	media	12.24	14.96	34.05	25.44	41.00	34.78
	desv. est.	7.01	24.21	7.44	5.14	11.97	17.01
	error est.	4.05	13.98	4.30	2.97	6.91	9.82
PL-45 DIAS	dens. diat.	138	626	997	1017	1860	3222
período 0-7	replicas						
	1	11.58	17.31	18.56	20.69	31.99	43.13
	2	10.24	17.22	23.17	16.99	37.16	15.70
	media	10.91	17.27	20.86	18.84	34.58	29.42
	desv. est.	0.94	0.06	3.25	2.62	3.66	19.39
	error est.	0.67	0.05	2.30	1.85	2.59	13.71
PL-60 DIAS	dens. diat.	185	739	964	1305	2219	4435
período 0-7	replicas						
	1	20.72	12.44	16.36	14.30	28.94	33.02
	2	12.28	26.35	12.16	22.88	38.72	46.94
	3	5.05	20.39		28.04		14.79
	media	12.69	19.73	14.26	21.74	33.83	31.59
	desv. est.	7.84	6.98	2.97	6.94	6.91	16.12
	error est.	4.53	4.03	1.71	4.01	3.99	9.31

Anexo D. Tasas de pastoreo (cél/pl/h) de postlarvas de *H. fulgens* en distintos horarios y diferentes edades.

15 DIAS						
réplicas		4:00 PM	10:00 PM	4:00 AM	10:00 AM	4:00 PM 10:00 PM
1		194.92	132.76	199.02	208.60	363.17 237.09
2		156.93	97.72	165.17	193.33	500.79 241.84
media		175.92	115.24	182.10	200.96	431.98 239.47
desv. est.		26.86	24.78	23.94	10.80	97.31 3.36
error e.		18.99	17.52	16.93	7.63	68.81 2.37
30 DIAS						
réplicas		4:00 PM	10:00 PM	4:00 AM	10:00 AM	4:00 PM 10:00 PM
1		460.72	461.26	363.47	574.75	805.12 938.42
2		503.42	390.46	485.07	440.39	842.83 641.33
media		482.07	425.86	424.27	507.57	823.97 789.88
desv. est.		30.19	50.07	85.98	95.00	26.66 210.08
error e.		21.35	35.40	60.80	67.18	18.85 148.55
45 DIAS						
réplicas		4:00 PM	10:00 PM	4:00 AM	10:00 AM	4:00 PM 10:00 PM
1		1246.1	1338.2	1814.6	1410.9	1230.7 2121.8
2		1577.2	1905.6	1264.3	1882.1	1850.8 1661.7
media		1411.6	1621.9	1539.4	1646.5	1540.7 1891.7
desv. est.		234.1	401.2	389.1	333.2	438.5 325.3
error e.		165.5	283.7	275.1	235.6	310.0 230.0
60 DIAS						
réplicas		10:00 AM	4:00 PM	10:00 PM	4:00 AM	10:00 AM 4:00 PM
1		891.24	3178.08	2343.73	2565.07	1861.55 573.86
2		1579.26	4614.09	1576.36	1364.14	2310.84 1725.56
media		1235.25	3896.08	1960.05	1964.61	2086.20 1149.71
desv. est.		486.50	1015.41	542.61	849.18	317.70 814.37
error e.		344.01	718.00	383.69	600.46	224.64 575.85

Anexo E. Tasas de pastoreo (cél/pl/h) de postlarvas de *H. fulgens* después de diferentes períodos de inanición.

30 DIAS		días inanición				
réplicas		0	1	2	3	5
1		981.44	2535.17	1020.77	1521.60	3625.25
2		370.30	2274.67	1834.15	2619.92	4097.17
media		675.87	2404.92	1427.46	2070.76	3861.21
desv. est.		432.15	184.20	575.15	776.63	333.70
error est.		305.57	130.25	406.69	549.16	235.96
45 DIAS		días inanición				
réplicas		0	1	2	3	4
1		1528.80	5082.34	9175.68	6907.21	8556.99
2		1919.02	3088.69	3676.00	6413.65	5416.34
media		1723.91	4085.51	6425.84	6660.43	6986.66
desv. est.		275.93	1409.73	3888.86	349.00	2220.78
error est.		195.11	996.83	2749.84	246.78	1570.33
60 DIAS		días inanición				
réplicas		0	1	2	3	4
1		3753.91	3684.87	10098.46	8605.82	8042.93
2		2059.41	1814.58	11189.14	7365.71	8542.44
media		2906.66	2749.73	10643.80	7985.76	8292.68
desv. est.		1198.20	1322.49	771.23	876.89	353.21
error est.		847.25	935.14	545.34	620.06	249.75

Anexo F. Resultados de pastoreo máximo (cél/pl/h) observado en las distintas edades postlarvales.

réplicas	Edad				
	7	15	30	45	60
1	109.1864259	576.4366711	3672.945763	7631.179703	13799.49022
2	58.83376934	483.6553904	2729.265136	2337.779585	12334.12073
3	68.76178278	600.4942754	5306.964883		6862.47212
media	78.92732601	553.528779	3903.058594	4984.479644	10998.69436
desv.est.	26.6711681	61.69610935	1304.165608	3742.999119	3656.238195
error est.	15.39860608	35.62026534	752.9603648	2646.700059	2110.930106

Anexo G. Resultados de pastoreo máximo (cél/pl/h) en relación con la longitud (µm) postlarval.

replicas	Longitud				
	363.404	473.545	963.065	1563.742	2000.74
1	109.1864259	576.4366711	3672.945763	7631.179703	13799.49022
2	58.83376934	483.6553904	2729.265136	2337.779585	12334.12073
3	68.76178278	600.4942754	5306.964883		6862.47212
media	78.92732601	553.528779	3903.058594	4984.479644	10998.69436
desv.est.	26.6711681	61.69610935	1304.165608	3742.999119	3656.238195
error est.	15.39860608	35.62026534	752.9603648	2646.700059	2110.930106