



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES  
OCEANOLÓGICAS

POSGRADO EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

**CULTIVO INTENSIVO DE POSTLARVAS DE ABULÓN ROJO *Haliotis rufescens*:**

**EFECTO DEL FLUJO Y LA RUTINA DE ALIMENTACIÓN.**

**T E S I S**

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER  
EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFÍA COSTERA  
PRESENTA**

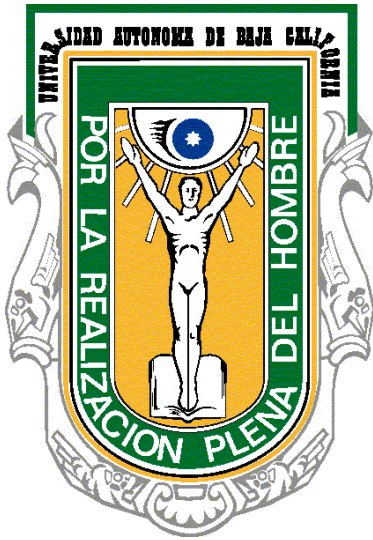
JASMIN CORTÉS MARTINEZ

ENSENADA B.C.



AGOSTO 2013.





**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA  
CALIFORNIA**

**FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES  
OCEANOLÓGICAS**

**CULTIVO INTENSIVO DE POSTLARVAS DE ABULÓN ROJO**

***Haliotis rufescens*:**

**EFFECTO DEL FLUJO Y LA RUTINA DE ALIMENTACIÓN.**

**T E S I S**

**QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS  
NECESARIOS PARA OBTENER EL GRADO DE**

**MAESTRA EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFIA COSTERA**

**PRESENTA**

**JASMIN CORTÉS MARTINEZ**

**ENSENADA, B. C., MÉXICO.**

**AGOSTO, 2013.**

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS  
POSGRADO EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

**CULTIVO INTENSIVO DE POSTLARVAS DE ABULÓN ROJO *Haliotis rufescens*: EFECTO DEL FLUJO Y LA RUTINA DE ALIMENTACIÓN.**

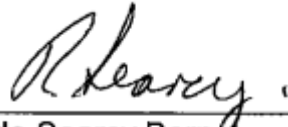
**T E S I S**

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS  
PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

JASMIN CORTÉS MARTINEZ

Aprobada por:



Dr. Ricardo Searcy Bernal  
Director de tesis



Dra. Casandra Anguiano Beltrán

Sinodal



Dr. Enrique Valenzuela Espinoza  
Sinodal

## RESUMEN

Se realizaron dos ensayos experimentales en los cuales se determinó: a) el tiempo de asentamiento de células de *N. incerta* en el fondo de las unidades experimentales (UE) inoculadas en cinco densidades y b) el efecto de las condiciones de cultivo (estático o con flujo) y la rutina de alimentación en el crecimiento y sobrevivencia de postlarvas de abulón rojo (*Haliotis rufescens*). En ambos casos se utilizaron recipientes de 1 L de capacidad. En el ensayo con *N. incerta*, se siguió un diseño de bloques completamente aleatorizados, con 5 densidades de inóculo (100, 500, 2000, 5000 y 10000 cél/mm<sup>2</sup>) y se evaluó la progresión de asentamiento a las 0.5, 1, 2, 3 y 4 h posteriores al inóculo así como las características del asentamiento de las células en el fondo de las UE. En el ensayo experimental con postlarvas de abulón, se usaron tres rutinas de alimentación por medio de un diseño factorial completo en bloques durante 46 días, a una densidad de 5 postlarvas/cm<sup>2</sup>, utilizando raciones alimenticias por postlarva por día, en función de su longitud, obtenidas como resultado de la modificación del estudio realizado por Meza-Tabares (2012). En este ensayo experimental, los factores fueron el flujo de agua (UE con y sin flujo) y la rutina de alimentación (A=ración suministrada en dos dosis, B= ración suministrada en una dosis y C= alimentación libre). En el primer ensayo, se determinó que alrededor de las 2h posteriores a la inoculación, entre un 90-98% del inóculo inicial se encuentra asentado cuando las densidades de inoculación son menores a 2000 cél/mm<sup>2</sup>. En el ensayo con postlarvas, se hicieron conteos semanales para determinar la sobrevivencia, longitud (n=10 por UE), tasa de crecimiento y densidad de organismos. La sobrevivencia fue mayor en condiciones estáticas (5.5%) que con flujo (4.9%), aunque esta diferencia no fue significativa (F=0.22, P=0.64) y fue significativamente mayor en la rutina A (10.5%) que en la B (2.5%) y la C (2.6%) (F=12.44, P=0.0006). Las tasas de crecimiento promedio más altas se registraron en postlarvas sometidas a las rutinas alimenticias B (47.3 µm/día) y C (49.9 µm/día) y la menor en la A (37.8 µm/día), pero este efecto no fue significativo (F=0.92, P=0.39). Aunque al principio del experimento hubo mayor crecimiento en condiciones estáticas que con flujo, esta diferencia no fue significativa al final (F=0.40, P=0.53). La relación tasa de crecimiento-densidad postlarval fue significativa al término del ensayo (F=8.77, P=0.04) sugiriendo un efecto denso-dependiente. Los resultados obtenidos sugieren que la alimentación de postlarvas con raciones basadas en su longitud puede ser más eficiente si se administra dos veces por día.

# AGRADECIMIENTOS

- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por brindarme su enorme apoyo económico durante y para la realización de la Maestría.
- A la Universidad Autónoma de Baja California (UABC), al Instituto de Investigaciones Oceanológicas y a la Facultad de Ciencias Marinas por haberme permitido formar parte del Posgrado en Oceanografía Costera.
- A mi director de tesis al Dr. Ricardo Searcy Bernal quien confió en mi y me permitió ser parte de éste enorme y excelente equipo de trabajo, por su apoyo en todo momento, por su paciencia, sus acertadas correcciones y contribuciones para el enriquecimiento de éste escrito y por que gracias a él adquirí muchos y nuevos conocimientos en el transcurso del posgrado.
- A los miembros de mi comité de tesis quienes fueron pilares tanto en la fase experimental como en la contribución y mejoramiento de éste trabajo. A Dra. Casandra Anguiano Beltrán por su enorme paciencia conmigo, su apoyo incondicional en las fases experimentales, por los largos fines de semana compartidos en el laboratorio, por las charlas

amenas, por compartirme sus conocimientos y por brindarme siempre una sincera amistad y al Dr. Enrique Valenzuela Espinoza quien junto con su equipo de trabajo del Laboratorio de Microalgas nos apoyo en la optimización de mis cultivos de microalgas, por sus valiosos consejos y conocimientos.

- A mis chicos de servicios sociales y ayudantías de investigación: Oceanologos Paul, Gil, Edel y a los Acuacultores Omar, Jazmin, Fernando y Morinau, por ser un gran apoyo en las etapas experimentales, gracias por estar ahí y hacerme pasar ratos agradables.
- Al M.C. Sergio Meza Tabares por la paciencia brindada a mi persona para enseñarme el manejo de los organismos.
- A Dr. Eduardo Santa María por todo el apoyo brindado a lo largo de la Maestría. Por las horas de larga paciencia y conocimientos brindados.
- A L.C.C. Eddie Morales, por estar ahí siempre que tenía problemas de índole tecnológica y por convertirse en un amigo incondicional para mi, gracias por los consejos y las porras.

- A Maestra en Docencia Claudia María Wall Medrano, por su gran apoyo en mi aprendizaje del idioma Inglés, por brindarme su amistad, abrirme las puertas de su hogar y la dicha de conocerla y conocer a su hermosa familia.
  
- A mi compañera y cómplice de grandes aventuras y penurias Hidrobióloga Edna Salamanca Quevedo.
  
- A M.C. Ingrid Camarena, Oceanólogos Sandra Quijano, Mauricio Reyes, Doreni Bobadilla y Luis Segoviano (ICE) por dejarme ser parte de su vida, por formar parte de este proceso, por los consejos y los inolvidables momentos compartidos.
  
- A todos mis compañeros de Maestría de quienes de algún modo he aprendido algo.
  
- A los investigadores del Instituto de Investigaciones Oceanológicas y del Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada (CICESE), quienes contribuyeron de manera importante en mi formación académica.

- A las empresas: Productores Marinos Baja S. A. de C. V. y Abulones Cultivados S. R. L. de C. V., quienes con su valiosa colaboración fue posible obtener los organismos para los experimentos que forman parte de ésta tesis.
  
- A Dafne Linda Moreno Lorenzana por las largas horas de charla, por los consejos, por fortalecer mi espíritu en la distancia y con quien he compartido veleidosas circunstancias.
  
- A mi familia por apoyarme, por creer siempre en mí, en mis ideales y en mis cambiantes metas.
  
- Finalmente mi aprecio para todas aquellas personas que de alguna u otra forma estuvieron presentes en la realización de este trabajo.

# DEDICATORIA

A mi Dios creador y organizador del universo,

A los cómplices y amores de mi vida Amparo Martínez,  
Jesús Cortés, Marisol, Riky y Alberto.

A mis raíces Ofelia Ortiz y  
ángeles guardianes María Martínez, Remedios Vilchis e Isidro  
Martínez (*in memoriam*)

A MI ENORME FAMILIA.

“In memoriam”

Permanece a mi lado cuando se apague mi luz,  
Y la sangre se arrastre;  
Y mis nervios se alteren con punzadas dolientes.  
Y el corazón enfermo,  
Y las ruedas del ser giren lentamente.

Permanece a mi lado,  
Cuando a mi frágil cuerpo le atormenten dolores y aleane la verdad.  
Y el tiempo maníaco siga esparciendo el polvo,  
Y la vida furiosa siga arrojando flamas.

Permanece a mi lado,  
Cuando vaya apagándose y puedas señalarme el final de mi lucha...  
Y en la cabecera de los días eternos  
En el bajo y oscuro borde de la vida...

Fragmento Núm. 50 del poema  
de Alfred Lord Tennyson

	Pág.
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	
1.1 Generalidades	1
1.2 Antecedentes	8
1.3 Objetivos	
1.3.1 Generales	12
1.3.2 Específicos	12
<b>2. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
2.1 Generalidades	13
2.2 Cultivo de <i>Navicula incerta</i> utilizada como alimento para postlarvas	13
2.3 Tiempo de asentamiento de <i>Navicula incerta</i>	15
2.4 Ensayo experimental con postlarvas de <i>H. rufescens</i>	
2.4.1 Origen de los organismos	17
2.4.2 Mantenimiento de larvas, postlarvas y proceso de fijación	18
2.4.3 Descripción del Diseño Experimental	23
2.4.4 Rutinas alimenticias	26
2.5 Análisis de datos	30
<b>3. RESULTADOS</b>	
3.1 Tiempo y características del asentamiento de <i>N. incerta</i> en el fondo de las UE	32
3.2 Evaluación de rutinas de alimentación y flujos de agua (condiciones de cultivo)	38

3.2.1 Sobrevivencia	38
3.2.2 Longitud	43
3.2.3 Tasa de Crecimiento	47
3.2.4 Relación Tasa de Crecimiento – Densidad postlarval	51
3.2.5 Parámetros ambientales	55
<b>4. DISCUSIÓN</b>	
4.1 Asentamiento de <i>Navicula incerta</i>	59
4.2 Efecto de las condiciones de cultivo (estáticas o con flujo)	62
4.2.1 Efecto en la Sobrevivencia	63
4.2.2 Efecto en el Crecimiento	64
4.3 Efecto de la rutina alimenticia	65
4.3.1 Efecto en la Sobrevivencia	65
4.2.2 Efecto en el Crecimiento	66
4.4 Efecto de los parámetros ambientales en la sobrevivencia y crecimiento	69
<b>5. CONCLUSIONES</b>	75
<b>6. COMENTARIOS FINALES Y RECOMENDACIONES</b>	76
<b>7. LITERATURA CITADA</b>	77
<b>8. ANEXOS</b>	85

## LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla I. Densidades de inóculos en las UE, con un área total de fondo de 22500 mm <sup>2</sup>	17
Tabla II. Escala cualitativa utilizada para describir la fijación de <i>N. incerta</i> en el fondo de las UE.	17
Tabla III. IAD asintótico modificado, basada en los datos de Miranda-Saucedo (2009) y de la regresión no lineal de Meza-Tabares (2012) en función de algunas longitudes de postlarvas.	29
Tabla IV. Porcentajes (%) de células de <i>N. incerta</i> estimados en el fondo de las UE para los cinco tiempos de muestreo en las cinco densidades de inóculo (porcentaje basado en el número inicial de células inoculadas en cada densidad).	33
Tabla V. Promedio de las observaciones realizadas de la escala de fijación predominantes en cada densidad de inóculo en los cinco tiempos de muestreo.	36
Tabla VI. Promedio de sobrevivencia (% $\pm$ E.E.) por rutina alimenticia y por flujo utilizados en el ensayo experimental.	42
Tabla VII. Resultados de la prueba de ANOVA de dos vías con los datos de porcentaje transformados de sobrevivencia (%) de postlarvas de abulón rojo alimentadas con <i>N. incerta</i> en el ensayo experimental.	42
Tabla VIII. Promedio de longitud ( $\mu\text{m} \pm$ E.E.) por rutina alimenticia y por flujo del ensayo experimental.	46
Tabla IX. Resultados de la prueba de ANOVA de dos vías con los datos obtenidos de la Longitud ( $\mu\text{m}$ ) del ensayo experimental.	46
Tabla X. Promedio de tasa de crecimiento ( $\mu\text{m}/\text{día} \pm$ E.E.) por rutina alimenticia y por flujo utilizados en el ensayo experimental.	50
Tabla XI. Resultados de la prueba de ANOVA de dos vías con los datos obtenidos de tasa de crecimiento ( $\mu\text{m}/\text{día}$ ) para el ensayo	50

experimental.

Tabla XII. Estimación de células totales en el fondo de las UE en los cinco tiempos de muestreo para las cinco densidades.	85
Tabla XIII. Porcentaje ( $\bar{X} \pm E.E.$ ) de sobrevivencia de postlarvas de abulón rojo con tres rutinas alimenticias con <i>N. incerta</i> y dos condiciones de cultivo (con flujo y estáticas) para el ensayo experimental.	85
Tabla XIV. Análisis de comparaciones múltiples de Tukey para los datos de sobrevivencia de postlarvas transformados.	86
Tabla XV. Longitud ( $\bar{X} \pm E.E.$ ) de postlarvas de abulón rojo con tres rutinas alimenticias con <i>N. incerta</i> y dos condiciones de cultivo (con flujo y estáticas).	87
Tabla XVI. Análisis de comparaciones múltiples de Tukey para los datos de longitud de postlarvas.	88
Tabla XVII. Tasa de crecimiento ( $\bar{X} \pm E.E.$ ) de postlarvas de abulón rojo con tres rutinas alimenticias con <i>N. incerta</i> y dos condiciones de cultivo (con flujo y estáticas).	89
Tabla XVIII. Análisis de comparaciones múltiples de Tukey para los datos de la tasa de crecimiento para el ensayo experimental.	90
Tabla XIX. Análisis de regresión semanal para la relación tasa de crecimiento–densidad postlarval.	91
Tabla XX. Análisis de comparaciones múltiples de Tukey para los datos de intensidad luminosa (LUXES) registrada entre bloques para el ensayo experimental con postlarvas.	91

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. A) Matraz con cepa de la diatomea bentónica <i>N. incerta</i> y B) charolas de cultivo de la diatomea con iluminación constante.	15
Figura 2. Unidades experimentales de plástico utilizadas en el ensayo	20
Figura 3. Sistema de almacenamiento, filtrado y suministro de agua de mar: A) abastecimiento principal de agua de mar, B) filtro de 20µm, C) reservorio de agua, D) manguera conectora reservorio-filtros, E) filtros de 5 y 1µm, F) manguera conectora para filtros-lámpara UV o filtros-suministro a UE, G) lámpara UV y H) salida de agua para cultivo de diatomea.	21
Figura 4. Diseño experimental de la distribución espacial de las UE con las rutinas alimenticias y condiciones de flujo: A C/F= Ración alimenticia administrada en dos porciones en condiciones de flujo, A S/F= Ración alimenticia administrada en dos porciones en condiciones estáticas (sin flujo), B C/F=ración alimenticia administrada en una sola porción en condiciones de flujo, B S/F= Ración alimenticia administrada en una sola porción en condiciones estáticas (sin flujo), C C/F= Ración alimenticia administrada libremente en condiciones de flujo y C S/F= Ración alimenticia administrada libremente en condiciones estáticas (sin flujo).	24
Figura 5. Regresión no lineal modificada del esquema de alimentación basado en la longitud de las postlarvas (modificado de Meza-Tabares, 2012).	28
Figura 6. Progresión del porcentaje de asentamiento de <i>Navicula incerta</i> a lo largo de cuatro horas de monitoreo en las unidades experimentales, tomado como el 100% el inóculo inicial.	35
Figura 7. Ejemplificación de escala cualitativa del estado de las células de <i>N. incerta</i> . 1= células de <i>N. incerta</i> totalmente fijadas y disgregadas, 2= células de <i>N. incerta</i> no fijadas y disgregadas, 3= células de <i>N. incerta</i> fijadas en grumos y 4= células de <i>N.</i>	37

*incerta* no fijadas y en grumos.

- Figura 8. Supervivencia ( $\bar{X} \pm E.E.$ ) de postlarvas de abulón rojo, sometidas a tres rutinas alimenticias (A=rutina alimenticia en dos porciones al día, B=rutina alimenticia en una porción al día y C= rutina alimenticia libre) con *N. incerta* y dos condiciones de cultivo, sistema en condiciones estáticas (S/F) y con flujo (C/F) durante el ensayo experimental. 41
- Figura 9. Longitud ( $\bar{X} \pm E.E.$ ) de postlarvas de abulón rojo, sometidas a tres rutinas alimenticias (A=rutina alimenticia en dos porciones al día, B=rutina alimenticia en una porción al día y C= rutina alimenticia libre) con *N. incerta* y dos condiciones de cultivo, sistema en condiciones estáticas (S/F) y con flujo (C/F) durante el ensayo experimental. 45
- Figura 10. Tasa de Crecimiento ( $\bar{X} \pm E.E.$ ) de postlarvas de abulón rojo sometidas a tres rutinas alimenticias (A=rutina alimenticia en dos porciones al día, B=rutina alimenticia en una porción al día y C= rutina alimenticia libre) con *N. incerta* y dos condiciones de cultivo, sistema en condiciones estáticas (S/F) y con flujo (C/F) durante el ensayo experimental. Cada punto de muestreo representa la progresión de crecimiento entre ese día y el de la semana anterior. 49
- Figura 11. Relación tasa de crecimiento ( $\mu\text{m}/\text{d}$ ) – densidad de postlarvas ( $\text{plvs}/\text{cm}^2$ ): A) semana uno de los 9 a los 15 días de edad, B) semana dos de los 15 a los 22 días de edad, C) semana tres de los 22 a los 29 días y D) semana cuatro de los 29 a los 36 días de edad. 53
- Figura 12. Relación tasa de crecimiento ( $\mu\text{m}/\text{d}$ ) – densidad de postlarvas ( $\text{plvs}/\text{cm}^2$ ): A) semana cinco de los 36 a los 43 días de edad, B) semana seis de los 43 a los 48 días de edad, C) semana siete de los 48 a los 55 días de edad y D) relación final de los 9 a los 55 días de edad. 54
- Figura 13. Registro de A) Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), B) Intensidad Luminosa (LUXES) promedio durante los 46 días de cultivo de las postlarvas de abulón rojo en el ensayo experimental y C) Intensidad Luminosa (LUXES) por bloques. 57

Figura 14. Registro semanal de A) Oxígeno y B) pH durante los 46 días de cultivo del ensayo experimental 58

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 GENERALIDADES

Los abulones son moluscos gasterópodos marinos univalvos, los cuales viven adheridos a las rocas del fondo, desde la zona entre mareas hasta profundidades de 50 metros, dependiendo de la especie. Estos organismos son característicos de aguas frías a templadas, cuyas poblaciones, como en la mayoría de los organismos bentónicos, son de hábitos gregarios, ligados a la heterogeneidad del sustrato, a la discontinuidad en la disponibilidad de su alimento y a la capacidad de dispersión de sus larvas (Astudillo-González, 1993; Ponce-Díaz *et al.*, 2003 a y b). El abulón es herbívoro, se alimenta de diatomeas bentónicas en las primeras etapas de desarrollo y de macroalgas en su etapa adulta (Haaker, *et al.*; 1986).

Alrededor del mundo, existen aproximadamente cien especies de abulón pertenecientes al género *Haliotis*. La mayoría de las especies se encuentran en las costas Australianas, en el archipiélago Japonés y en la costa oeste de América del Norte. En el Pacífico Nororiental, se encuentran desde Alaska hasta el sur de la península de Baja California, México (Astudillo-González, 1993). De las cien especies registradas, sólo diez se consideran de valor comercial y se producen principalmente en Corea, Japón, México, Sudáfrica, Australia del Sur, Nueva Zelanda, E.U.A, Chile y China (Hahn, 1989; FAO / UNDP, 1990). El abulón, es un recurso pesquero importante a nivel mundial

debido a su alto precio en el mercado y a su gran demanda (Secretaría de Pesca, 1994; Leighton, 2000).

En aguas mexicanas, los abulones se distribuyen a lo largo de la costa oeste e islas adyacentes de la península de Baja California, desde la frontera con Estados Unidos hasta Bahía Magdalena, pero las principales poblaciones se encuentran en la parte central de la península (Searcy-Bernal *et al.*, 2010). Siete especies de abulón son las reportadas (Guzmán del Proó, 1992; Morales-Bojórquez *et al.*, 2008) para la península; y más del 99% de la pesca depende de dos: *H. fulgens* Philippi (abulón azul) y *H. corrugata* Wood (abulón amarillo). En la parte norte de la península, *H. rufescens* Swainson (abulón rojo) es la principal especie cultivada comercialmente (Miranda-Saucedo, 2009; Searcy-Bernal *et al.*, 2010) y es una de las más grandes del mundo, habiéndose descrito longitudes máximas de 29 cm aproximadamente (Hahn, 1989, Matamala-Catalan, 2007).

En las décadas de los sesentas y setentas, México fue el principal productor mundial de abulón con capturas reportadas entre 2,000 a 3,000 toneladas anuales promedio (Pérez-Muñoz, 1995; Moreno de la Torre, 2001). Sin embargo, el decline en las capturas de este organismo, reflejan la disminución de sus poblaciones naturales, probablemente como resultado de la sobre pesca (Morales-Bojorquez *et al.*, 2008) y cambios climáticos (Ponce-Díaz *et al.*, 2003<sup>a</sup>). La producción pesquera del abulón se ha registrado alrededor de las

350 toneladas (incluyendo volúmenes de captura y producción acuícola) para el año 2008 (SAGARPA, 2010, Searcy-Bernal, *et al.*, 2010).

Actualmente la gran demanda y precio alto en el mercado, posiciona al abulón como un molusco de gran importancia para la economía de Baja California y Baja California Sur. El cultivo del abulón es una actividad económica en plena expansión mundial (Ebert, 1992; Durazo-Beltrán, 1997; Moreno de la Torre, 2001) ya que para satisfacer la demanda creciente del mercado, el cultivo de abulón ha crecido tanto en los cultivos terrestres como en los marítimos (Huchette *et al.*, 2003). La investigación sobre el desarrollo de la acuicultura del abulón se inició durante la década de los 70's y no fue hasta los 80's que estos esfuerzos retomaron mayor fuerza, cuando granjas de cultivo comenzaron a ser impulsadas por el gobierno mexicano, así como por cooperativas pesqueras para el repoblamiento del abulón (Salas-Garza y Searcy-Bernal, 1992; Muciño Díaz *et al.*, 2007; Searcy-Bernal *et al.*, 2010).

El cultivo de este molusco en nuestro país ha alcanzado su mayor desarrollo en los últimos 16 años, contando con el apoyo académico de la UABC y otras instituciones, así como de cooperativas pesqueras y sector privado (Salas-Garza y Searcy-Bernal, 1992). Actualmente en Baja California operan tres granjas privadas que producen abulón rojo a nivel comercial: Abulones Cultivados, Productores Marinos Baja, ambas en el Ejido Eréndira y la Asociación Pesquera REGASA en El Rosario. Además, en el sector cooperativo operan varios laboratorios de producción de larva y semilla que son destinadas

principalmente al repoblamiento en la costa occidental de la península (Searcy-Bernal *et al.*, 2010).

El abulón es una especie dioica, cuya diferenciación sexual está dada por el color de las gónada al momento de la madurez. Estos gasterópodos producen de 0.5 a 3 millones de huevos por hembra, su reproducción es por fecundación externa, los gametos son liberados al medio, de donde nace un larva lecitotrófica; es decir, una larva capaz de absorber nutrientes del vitelo y además es capaz de incorporar nutrientes tomados directamente del agua de mar (Hahn, 1989). Al cabo de 4 a 15 días la larva será competente (dependiendo de la especie, en el caso de abulón rojo es de 6 a 8 días) para su metamorfosis e iniciar la exploración del fondo marino. Después de la metamorfosis inicia su vida bentónica como postlarva, el periodo postlarval continuará hasta la formación del primer poro respiratorio, que ocurre entre uno y tres meses de edad, lo cual define la transición a la etapa juvenil (Leighton, 2000; Searcy-Bernal *et al.*, 2001; Matamala-Catalan, 2007).

Es en la etapa postlarval en la que los organismos se alimentan activamente de diatomeas bentónicas, cuya presencia tanto en cantidad como calidad puede limitar su crecimiento, además de la densidad de los organismos de cultivo. En este periodo es cuando la sobrevivencia del abulón es menor, con tasas de mortalidad que pueden supera el 90% durante los dos primeros meses del estadio postlarval (Searcy-Bernal *et al.*, 1992).

Una de las principales causas que ha limitado la producción de los cultivos de abulón en la península de Baja California es la gran mortalidad que presentan estos organismos durante los estadíos tempranos. En la etapa larvaria la sobrevivencia puede ser hasta del 90%; sin embargo, en la transición de postlarva a juvenil puede disminuir hasta menos del 10% (Leighton, 2000).

Es por ello que el cultivo postlarval sigue siendo la etapa más crítica y la que recibe el mayor esfuerzo de investigación; ya que los abulones en condiciones de cultivo, están sujetos a la variación e influencia de diferentes factores tanto físico-químicos como el pH, oxígeno disuelto, calidad de agua, temperatura, salinidad, gasto de nitrógeno (Huchette *et al.*, 2003), flujo de agua e intensidad de luz; como biológicos como lo son la cantidad y calidad de alimento (Correa-Reyes *et al.*, 2009), densidad de siembra (Daume *et al.*, 2004), presencia de protozoarios y factores genéticos (Van der Merwe *et al.*, 2011), de los cuales hasta el momento, algunos de ellos no han podido ser totalmente controlados y que son causantes de las tasas de mortalidad elevadas por lo que deben ser entendidos claramente (Hahn, 1989).

La producción de juveniles de abulón comprende varias fases: maduración de reproductores, inducción al desove (por medio de métodos físicos y químicos) y fertilización; eclosión y cultivo larval; asentamiento y metamorfosis y por último el cultivo postlarval y juveniles.

Las postlarvas se alimentan activamente de diatomeas bentónicas y su crecimiento se ve influenciado por las tasas de ingestión, disponibilidad, valor

nutricional (calidad del alimento) y digestibilidad de las diatomeas bentónicas (Kawamura *et al.*, 1995, Kawamura *et al.*, 1998; Searcy-Bernal *et al.*, 2001; Daume, 2006; Viana *et al.*, 2007).

A su vez, la sobrevivencia antes del estadio juvenil, puede estar influenciada por las condiciones de flujo de agua, presencia de protozoarios ciliados, tratamiento del agua de mar que entra al cultivo, temperatura e iluminación, entre otros factores tanto bióticos como abióticos (Searcy-Bernal, 1996; Kawamura *et al.*, 1998; Searcy-Bernal *et al.*, 2003; Roberts *et al.*, 2007; Searcy-Bernal y Gorrostieta-Hurtado, 2007).

Las especies de diatomeas utilizadas como fuente alimenticia para el abulón son muy variadas, por lo que el desarrollo de su cultivo es primordial para asegurar el crecimiento y composición bioquímica óptimos para el buen desarrollo postlarval del abulón (Rojo-Salazar, 2002). Además de la importancia de las diatomeas como primera fuente alimenticia, se ha documentado que el material extracelular producido por las microalgas y bacterias presentes en la biopelícula constituyen una fuente alterna de alimento para los abulones con una longitud menor a 800  $\mu\text{m}$  (Kawamura y Takami, 1995).

Existe muy poca información relacionada con los requerimientos de diatomeas para producir un crecimiento óptimo de las postlarvas en sistemas de cultivo; la rutina de alimentación utilizada en las granjas es el inocular diatomeas ocasionalmente durante el ciclo de producción, cuando se “considera” que hacen falta, es decir, se carece de rutinas de alimentación

cuantitativas que especifiquen la cantidad de diatomeas y la periodicidad de alimentación para optimizar el crecimiento de las postlarvas en función de su etapa de desarrollo y densidad de cultivo (Meza-Tabares, 2012).

Una opción posible para resolver o mitigar el problema de la mortalidad alta y avanzar en esta área de producción, es utilizar raciones de alimento de acuerdo al estado de desarrollo ontogénico del organismo para que éste no llegue a ser limitante. Periódicamente, el alimento llega a ser escaso o limitante y en respuesta a esta condición, el metabolismo del organismo se reduce y utiliza reservas endógenas hasta que el alimento nuevamente está disponible (Jara-Montañez, 2012). Por otra parte, la falta de alimento afecta las condiciones fisiológicas tales como la salud del organismo, la formación y la calidad del músculo, que es el órgano utilizado como alimento en el mercado (Durazo-Beltrán *et al.*, 2004).

Las diatomeas que se utilizan para alimentar a los abulones durante las primeras etapas de su desarrollo en las granjas mexicanas incluyen especies de la región como *Navicula incerta*, *Nitzchia spp.*, *Cocconeis spp.* y *Amphipora spp.* (Ponce-Díaz *et al.*, 2003b; Correa-Reyes *et al.*, 2009).

Estudios previos han demostrado que la diatomea *Navicula incerta*, es una de las microalgas que reúnen de manera óptima los requerimientos nutricionales para alimentar a las postlarvas de abulón en sus primeros meses de vida y es utilizada en granjas nacionales y del extranjero (Martínez-Ponce y Searcy-Bernal, 1998; Searcy-Bernal *et al.*, 2001; Searcy-Bernal *et al.*, 2003;

Miranda-Saucedo, 2009). Se han reportado contenidos de 35 % de proteínas, 13 % de carbohidratos y 15 % de lípidos por Correa-Reyes *et al.* (2001); y de 52% de proteína, 23% lípidos y 8.76% carbohidratos por Kang, *et al.* (2011).

## 1.2 ANTECEDENTES

El cultivo de abulón ya se encuentra apoyado por varias décadas de investigación en aspectos como biología, ecología, nutrición y diseño de sistemas (Leighton, 2000). El desarrollo de las técnicas de cultivo de abulón en diversas partes del mundo, ha mostrado el potencial que la acuicultura tiene para incrementar los volúmenes de producción (Kawamura *et al.*, 1998). En México, parte del proceso del cultivo ya se tiene dominado, sin embargo se siguen teniendo aún tasas de mortalidad altas en la fase de postlarva y/o juvenil temprano (Ponce-Díaz *et al.*, 2003b).

Tratando de mejorar la eficiencia en la etapa postlarval, se han desarrollado distintos trabajos evaluando aspectos que se consideran de gran importancia en su desarrollo como son: el efecto de la iluminación (Searcy-Bernal *et al.*, 2003; Searcy-Bernal y Gorrostieta-Hurtado, 2007), organismos patógenos (Anguiano-Beltrán *et al.*, 1998; Daume, 2006), aspectos relacionados con su alimentación (Viana, 2002; Viana *et al.*, 2007; Correa-Reyes *et al.*, 2009, Miranda-Saucedo, 2009, Meza-Tabares, 2012), condiciones de flujos de agua (Fleming *et al.*, 1997; Roberts *et al.*, 2007; Searcy-Bernal y Gorrostieta-Hurtado, 2007); el efecto de la morfología de las diatomeas sobre las postlarvas (Roberts *et al.*,

2007) y la densidad de cultivo, aspecto sobre el cual la mayoría de los autores señalan que densidades altas de postlarvas al inicio del cultivo, producen un efecto negativo en la sobrevivencia y el crecimiento, asociado a la competencia por alimento y espacio (Daume *et al.*, 2004; Day *et al.*, 2004, Huchette *et al.*, 2003; Miranda-Saucedo, 2009; Wu *et al.*, 2009; Meza-Tabares, 2012).

Searcy-Bernal (1996) menciona que, las diatomeas deben estar disponibles en cantidades suficientes para optimizar el crecimiento de las postlarvas de abulón, pero densidades muy altas pueden tener un impacto negativo en la supervivencia y crecimiento de las postlarvas debido a concentraciones de oxígeno extremas y otras condiciones ecológicas adversas.

Las postlarvas de *Haliotis* spp. presentan preferencias por ingerir diatomeas pequeñas (<35µm) como *Navicula incerta* y *Pinnularia biceps*, en presencia de diferentes especies de diatomeas (Siqueiros-Beltrones y Voltolina, 2000). Especies como *Navicula incerta* son un alimento excelente para el desarrollo de las postlarvas de abulón debido a su tamaño (14.5 x 5.5 µm); a su cultivo fácil y crecimiento rápido, el cual llega a alcanzar hasta 1.18 divisiones por día y por su alto contenido de proteína (Correa-Reyes *et al.*, 2001; Kang *et al.*, 2011).

Gracias a estudios basados en las tasas de pastoreo como los realizados por Martínez-Ponce y Searcy-Bernal (1998) y Searcy-Bernal *et al.* (2001), se ha logrado proponer rutinas de alimentación con *Navicula incerta*. Rojo-Salazar (2002) utilizó los datos del pastoreo postlarval, estableciendo rutinas de alimentación en ensayos con condiciones estáticas a pequeña escala (10 ml)

alimentadas con las diatomeas *Amphora ovalis*, *Nitzschia commutata*, *Navicula incerta* y mezcla de éstas. Por su parte y dando continuidad al trabajo de Rojo-Salazar (2002), Miranda-Saucedo (2009) realizó un experimento con varias rutinas de alimentación intensiva pero a una escala de cultivo mayor (2L), en condiciones con y sin flujo de agua de mar. Como resultado de este trabajo, se calculó un Índice de Alimento Disponible (IAD), del cual se puede derivar el requerimiento de diatomeas por postlarva por día para diferentes etapas de su desarrollo y al realizar una comparación con las tasas de crecimiento por periodos, sus resultados sugieren un límite de asimilación del alimento en las postlarvas.

Por otra parte Meza-Tabares (2012) procesó los datos de Miranda-Saucedo (2009) para calcular una ecuación curvilínea que permite estimar el IAD óptimo con base en la edad y en la longitud de las postlarvas, y probó su efectividad en condiciones experimentales con aireación constante en unidades experimentales con y sin flujo.

Referente a las condiciones de cultivo (efecto del flujo de agua de mar), se han reportado estudios en los que se sugiere que el cultivo de postlarvas en condiciones estáticas aseguran una mayor sobrevivencia, sin embargo se reportan tasas de crecimiento menores bajo estas condiciones (Huchette, 2003; Roberts *et al.*, 2007; Searcy-Bernal y Gorrostieta-Hurtado, 2007, Miranda-Saucedo, 2009). Estos trabajos sugieren que la densidad de cultivo afecta al

crecimiento de manera directa a través de la competencia por espacio y alimento, e indirectamente por la progresiva degradación de la calidad del agua.

Dando continuidad al trabajo y con el objetivo de poder determinar una rutina cuantitativa óptima para la alimentación de postlarvas de abulón rojo (*Haliotis rufescens*), el trabajo de Meza-Tabares (2012), pone en evidencia dos puntos: a) la importancia de una rutina alimenticia basada en la longitud de las postlarvas, ya que conforme incrementan su longitud, las postlarvas incrementan su tasa de pastoreo de diatomeas y b) la dificultad de manejar las raciones alimenticias elevadas que requieren las postlarvas mayores cultivadas en densidades altas, así como las micro condiciones que se generan al suministrar densidades elevadas de diatomeas y las consecuencias adversas producidas por éstas.

Es por ello que el presente estudio tiene como objetivo avanzar en el establecimiento de rutinas de alimentación con *Navicula incerta* para el cultivo intensivo de postlarvas de *Haliotis rufescens* en densidades altas. Se realizaron nuevos ajustes en la ecuación para el cálculo de las raciones alimenticias óptimas, sugiriendo así la posibilidad de alimentar a las postlarvas de abulón mayores de un mes (aproximadamente de un milímetro de longitud) dos veces al día, en lugar de una como se ha venido haciendo (es decir, dividir la ración diaria en dos dosis).

### 1.3 OBJETIVOS.

#### 1.3.1 General

Evaluar y comparar el efecto de tres rutinas intensivas de alimentación con *Navicula incerta* en cultivos estáticos y con flujo de agua de mar en el crecimiento y sobrevivencia de postlarvas de abulón rojo cultivadas en altas densidades.

#### 1.3.2 Específicos

- a. Determinar el tiempo de asentamiento de distintas densidades de *Navicula incerta* en el fondo de las unidades experimentales, para establecer el tiempo adecuado para reiniciar el flujo continuo de agua después de la administración del alimento.
- b. Evaluar el efecto en la sobrevivencia y crecimiento en postlarvas de abulón rojo, de tres rutinas intensivas de alimentación con *Navicula incerta* basadas en la longitud postlarval.
- c. Evaluar el efecto de las condiciones de cultivo estáticas y con flujo en la sobrevivencia y crecimiento de las postlarvas de abulón rojo.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Generalidades

Para la realización de ésta tesis, el ensayo con diatomeas se llevó a cabo en el mes de Octubre y el ensayo con postlarvas en el periodo comprendido entre Noviembre y Diciembre del 2011, en las instalaciones del Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO) de la UABC, dentro de los laboratorios de Bioensayos 5 y 6 del edificio de Acuacultura, ubicados en la ciudad de Ensenada, Baja California.

### 2.2 Cultivo de *Navicula incerta* utilizada como alimento para postlarvas

Cada semana nos fueron proporcionadas cepas de *Navicula incerta* por el Laboratorio de Microalgas del IIO en donde fueron cultivadas a  $19\pm 1$  °C en medio f/2 de Guillard en matraces Erlenmeyer de 125 mL con 100 mL de la cepa (Fig.1<sup>a</sup>). Con las cepas proporcionadas, se realizaron los cultivos en charolas de plástico en 10 L en medio de cultivo f/2 de Guillard (Fig. 1B).

Como procedimiento para asegurar un monocultivo de *N. incerta* y evitar el crecimiento bacteriano (que no fuera el proveniente de la cepas), así como la proliferación de protozoarios u otras diatomeas, el agua de mar utilizada para los medios de cultivo fue filtrada a 1  $\mu\text{m}$  e irradiada con una lámpara de luz ultravioleta de 25 W y se le adicionaron  $0.25 \text{ mL L}^{-1}$  de cloro al 41.6% (416 ml de hipoclorito de sodio, aforado a 1L de agua destilada) por cada litro de agua

de mar. Después de 24 h se agregaron  $0.1 \text{ mL L}^{-1}$  de tiosulfato de sodio<sup>1</sup> (solución preparada con 258.1 gr de tiosulfato de sodio en 1L de agua destilada) por cada litro de agua en las charolas y se puso aireación constante por dos horas para eliminar el cloro. Trascorridas las dos horas, se procedió a la adición de nutrientes (medio de cultivo f/2 de Guillard) y la inoculación de la cepa.

Tanto los reactivos como las soluciones para la preparación de los nutrientes fueron proporcionados por el laboratorio de producción de Microalgas del IIO.

Los cultivos, se mantuvieron en periodos de 3 a 4 días, a una temperatura de  $17 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ , con iluminación constante por lámparas fluorescentes (Fig. 1B) de luz de día ( $37 \mu\text{E/m}^2/\text{s}$ ) previo a su cosecha. La cosecha de *N. incerta* se hizo con ayuda de un pincel y se colectó en vasos de precipitados de 1L con 700 mL del mismo medio de cultivo.

Para cuantificar de la densidad celular de la cosecha (cél/mL) y calcular la cantidad de alimento (en mL) a suministrar en cada una de las raciones alimenticias, la muestra de 700 mL se sonicó (sonicador Fisher Scientific FS6) por un periodo entre 1.5 – 3 min, acompañado de un leve burbujeo con una pipeta plástica de 10 mL, con el fin de homogenizar la muestra y disgregar las células de *N. incerta*, haciendo un conteo por duplicado con un hematocitómetro (de 0.1 mm de profundidad) al microscopio invertido MEIJI.

---

<sup>1</sup> Este reactivo se mantuvo en un lugar oscuro para evitar su degradación, se recomienda su utilización máxima de 30 días posteriores a su preparación.

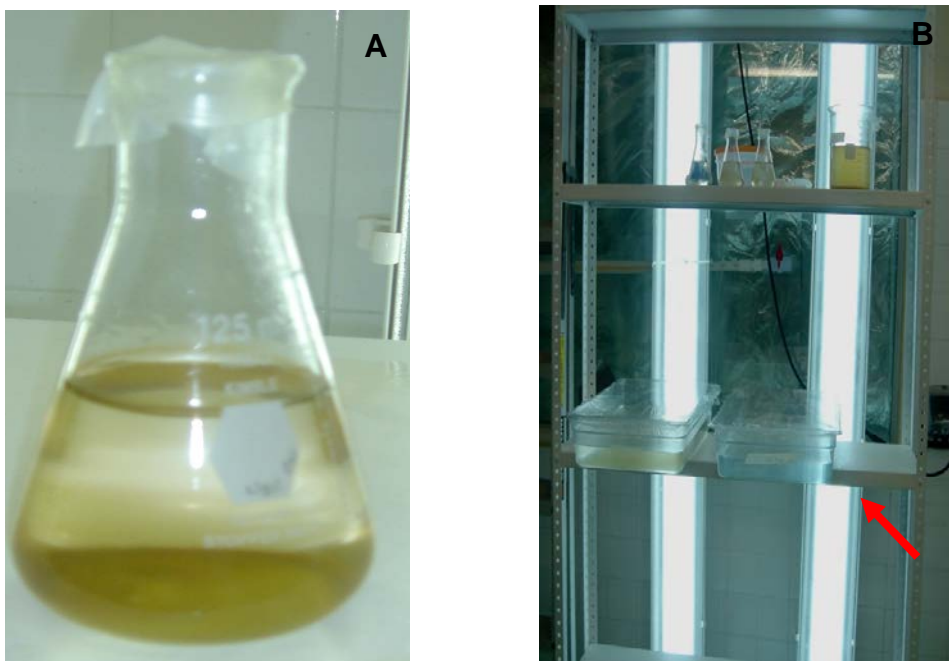


Figura 1. A) Matraz con cepa de la diatomea bentónica *N. incerta* y B) charolas de cultivo de la diatomea con iluminación constante.

### 2.3 Tiempo de asentamiento de *Navicula incerta*

Se determinó el tiempo de asentamiento de *N. incerta* para conocer el tiempo óptimo en el cual es pertinente re-abrir el flujo de agua después de haber suministrado el alimento a las postlarvas de abulón, mismo que se aplicó en las rutinas de alimentación (ensayo experimental con postlarvas). Con un diseño experimental en bloques completamente aleatorizados, se probaron cinco densidades de inóculo de la diatomea (Tabla I) con tres réplicas para cada densidad (teniendo un total de 3 bloques). Los inóculos de células totales de *N. incerta*, se determinaron con base en el área de fondo de los recipientes o unidades experimentales (UE).

Previo al experimento se realizó un monocultivo de *N. incerta* de 3 días (procedimiento descrito en la parte de cultivo de *N. incerta*), para así poder obtener el número de células suficientes para cada densidad de inóculo con sus respectivas réplicas.

Este experimento se llevó a cabo en 15 unidades experimentales (UE) de plástico con capacidad de 2 L, los recipientes fueron llenados a 1 L con agua de mar filtrada a 5  $\mu\text{m}$ , simulando las condiciones de cultivo en laboratorio a las cuales se mantienen las postlarvas y se realizaron los inóculos en las densidades correspondientes (Tabla I). Una vez realizados los inóculos en cada UE, se realizaron observaciones al microscopio invertido trinocular (Meiji Techno) después de 0.5, 1, 2, 3 y 4 h procurando el menor movimiento posible al transportar las UE y ponerlas bajo del microscopio. Se tomaron fotos de cinco campos de cada UE, mediante una cámara (Sony SSC-C374) para hacer conteos y estimaciones posteriores del número de células en el fondo del recipiente. Con los datos obtenidos de los conteos y observaciones de las fotos durante el ensayo, se determinó: a) el tiempo de asentamiento de las diatomeas, b) que tan bien se fija la diatomea en el fondo mediante una escala cualitativa con base en observaciones de las células de *N. incerta* en el fondo (Tabla II), y c) se comparó la estimación de diatomeas totales basada en los conteos realizados en el fondo con los inóculos proporcionados.

Tabla I. Densidades de inóculos en las UE, con un área total de fondo de 22500 mm<sup>2</sup>.

Densidad de Inóculo (cél/mm <sup>2</sup> )	células totales inoculadas por UE
100	2,250,000
500	11,250,000
2,000	45,000,000
5,000	112,500,000
10,000	225,000,000

Tabla II. Escala cualitativa utilizada para describir la fijación de *N. incerta* en el fondo de las UE.

Escala	Características de las células de <i>N. incerta</i>
1=	células de <i>N. incerta</i> totalmente fijadas y disgregadas
2=	células de <i>N. incerta</i> no fijadas y disgregadas
3=	células de <i>N. incerta</i> fijadas en grumos
4=	células de <i>N. incerta</i> no fijadas y en grumos

## 2.4 Ensayo experimental con postlarvas de *H. rufescens*.

### 2.4.1 Origen de los organismos

Para el ensayo experimental con postlarvas de abulón rojo (*Haliotis rufescens*), las larvas fueron donadas por la empresa “Productores Marinos Baja S.A.” ubicada en el Ejido Eréndira a 100 Km al sur del puerto de Ensenada, B. C. Las larvas se obtuvieron del desove llevado a cabo el día 20 de Octubre del 2011. Aproximadamente 80,000 larvas de cinco días de edad fueron trasladadas de la granja hacia las instalaciones del edificio de Acuicultura en tres contenedores plásticos de 4 L con agua de mar filtrada

(pasada por un filtro de 1  $\mu\text{m}$ ) y cloranfenicol a una concentración de 10  $\text{mg L}^{-1}$ , a una temperatura controlada de 16 °C. Los contenedores plásticos fueron transportados dentro de una hielera y la temperatura se reguló por medio del monitoreo constante con termómetros digitales adheridos a la hielera y con ayuda de bolsas de gel refrigerante.

#### **2.4.2 Mantenimiento de larvas, postlarvas y proceso de fijación.**

Una vez en el laboratorio de bioensayos, las larvas se transfirieron a cubetas con un volumen de 15 L de agua de mar filtrada a 1  $\mu\text{m}$  e irradiada con una lámpara de luz ultravioleta (UV) y antibiótico (cloranfenicol) a una concentración de 10  $\text{mg L}^{-1}$ , para evitar la proliferación bacteriana. Las larvas se mantuvieron con cambios de agua de mar, antibiótico en la misma concentración y monitoreo diario por tres días. Este mantenimiento se proporcionó hasta que las larvas tuvieron la aparición de túbulos en los tentáculos cefálicos (presencia de 3-4 ramificaciones), una actividad natatoria baja y un comportamiento mayormente con aglomeración de organismos en el fondo de las cubetas; estas tres características son los indicadores utilizados ya de manera rutinaria tanto en granjas como en experimentos de investigación para determinar que las larvas son competentes para la inducción a la metamorfosis, lo cual sucedió a los 7 días después del desove.

El ensayo experimental fue llevado a cabo en recipientes plásticos (unidades experimentales) con espacio de 2 L pero llenados solamente a 1 L de su capacidad ( $225 \text{ cm}^2$  área de fondo y área total de  $460 \text{ cm}^2$ ) (Fig.2)

Las unidades experimentales (UE) fueron colocadas sobre una charola de fibra de vidrio en el laboratorio de Bioensayos. Las UE fueron provistas de una manguera para aireación y a la mitad de estas, se les adaptó adicionalmente otra manguera para flujo de agua (60 ml/min). El agua de mar filtrada con la que se abastecieron las UE, se mantuvo a una temperatura de  $17 \pm 1^\circ\text{C}$ ; con ayuda de un sistema de suministro constante de agua de mar y un sistema de aire acondicionado dentro del laboratorio. El sistema de suministro de agua de mar estuvo conformado primero por un filtro de cartucho de  $20 \mu\text{m}$ , un estanque (reservorio) con capacidad de 50 L, un filtro de 5 y  $1 \mu\text{m}$ , una lámpara de luz UV (la cual solo se activa para el cultivo de diatomeas y mantenimiento de larvas), así como una iluminación constante (Fig. 3).



Figura 2. Unidades experimentales de plástico utilizadas en el ensayo.

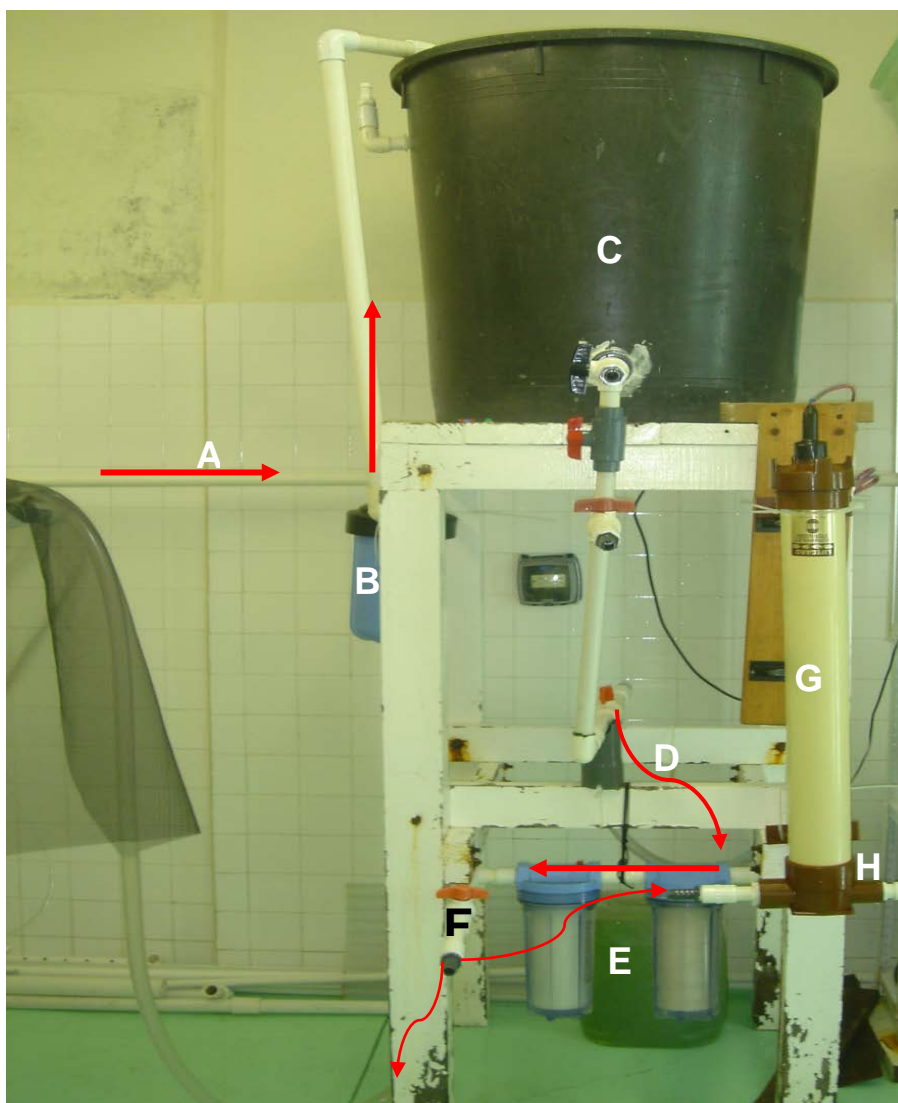


Figura 3. Sistema de almacenamiento, filtrado y suministro de agua de mar: A) abastecimiento principal de agua de mar, B) filtro de 20  $\mu\text{m}$ , C) reservorio de agua, D) manguera conectora reservorio-filtros, E) filtros de 5 y 1  $\mu\text{m}$ , F) manguera conectora para filtros-lámpara UV o filtros-suministro a UE, G) lámpara UV y H) salida de agua para cultivo de diatomea.

Una vez que las larvas se consideraron competentes para la metamorfosis, fueron trasladadas de las cubetas a las UE. Este procedimiento se llevó a través de una homogenización previa del agua de las cubetas que contenían las larvas con ayuda de un agitador plástico. Una vez homogenizada la columna de agua, se tomaron 6 alícuotas de 1 mL para cuantificar el número de larvas por mililitro, extrapolar el promedio de las alícuotas al volumen contenido en las cubetas y así poder colocar 5 larvas/cm<sup>2</sup>.en cada UE.

Previo a la inducción a la metamorfosis, se colocaron 2300 larvas/UE, adicionando un 30% más de la densidad calculada para compensar la mortalidad larval ( $\approx 3,000$  larvas totales por UE); ya que en experiencias previas se ha determinado un porcentaje similar de mortalidad durante la primer semana después de la fijación (Searcy-Bernal y Anguiano-Beltrán, 1998). Antes de iniciar el experimento se cuantificó el número de postlarvas y se ajustó al número inicial que se requería para tener la densidad de 5 postlarvas/cm<sup>2</sup> en cada UE. A las UE que les faltaron postlarvas se les agregaron organismos que se mantuvieron en las mismas condiciones que en las UE.

Las larvas fueron inducidas a la metamorfosis directamente en las UE adicionando ácido gamma-aminobutírico (GABA) a una concentración final de 1.5  $\mu$ M (Searcy-Bernal y Anguiano-Beltrán, 1998) y se empezó a alimentar a las postlarvas con *N. incerta* a las 48 h posteriores al asentamiento a una densidad de 30 cél/mm<sup>2</sup>, siguiendo procedimientos previamente estandarizados (Rojo-Salazar, 2002; Miranda-Saucedo, 2009).

### **2.4.3 Descripción del Diseño Experimental**

El ensayo experimental con postlarvas, se inició 9 días después del asentamiento y tuvo una duración de 46 días siguiendo un diseño factorial completo con dos factores. El primer factor (flujo de agua) tuvo dos niveles (unidades experimentales sin y con flujo) y el segundo factor (rutina de alimentación) tuvo tres niveles: A) rutina de alimentación diaria basada en la longitud del organismo administrada en dos dosis diarias en postlarvas mayores de un mes, B) la rutina anterior pero administrada en una dosis y C) alimentación libre (agregando alimento conforme se considere conveniente en función de observaciones directas y conteos al microscopio del fondo de las UE); teniendo en total seis tratamientos con cuatro réplicas que fueron distribuidos en cuatro bloques aleatorizados (Fig. 4). Las UE fueron colocadas en una charola de fibra de vidrio de 250 x 80 x 10 cm. El suministro de agua y aire fue por medio de tubos de PVC con llaves de paso por donde se conectaron mangueras para cada una de las UE.

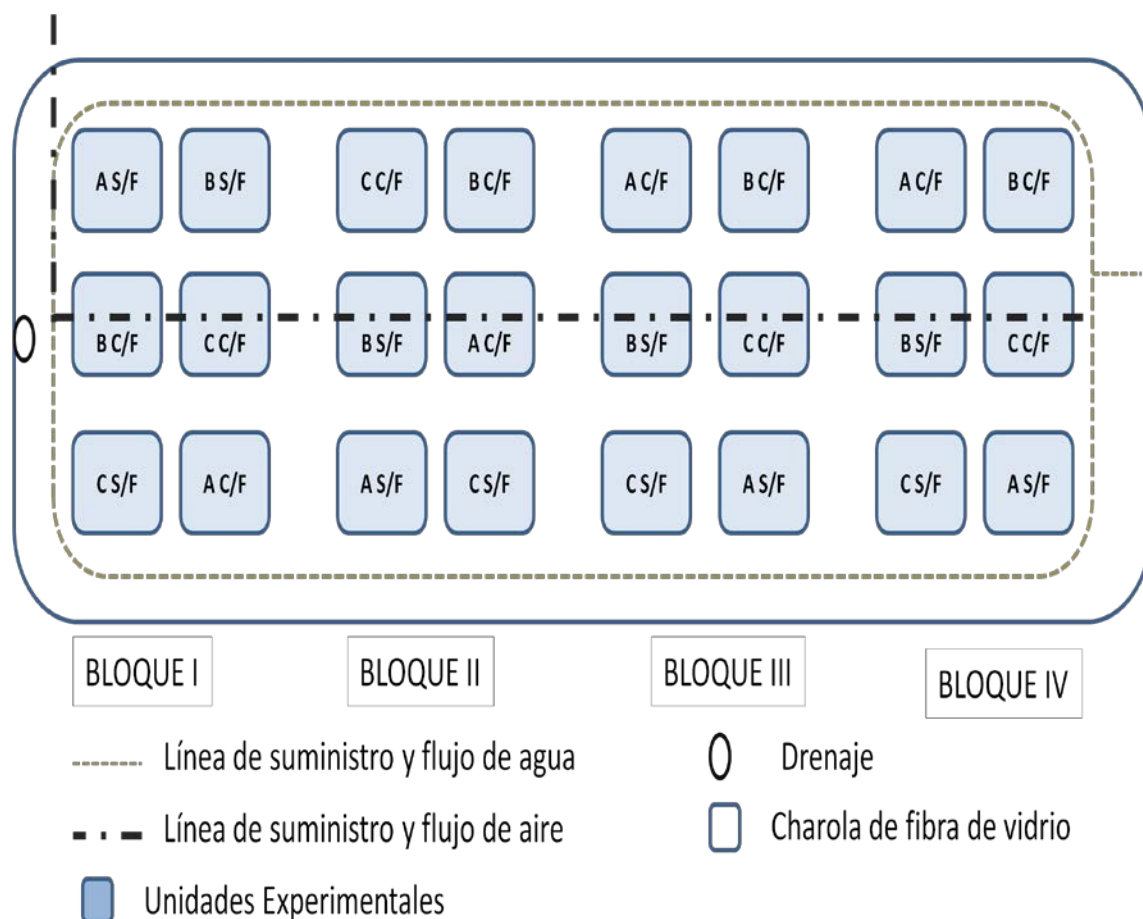


Figura 4. Diseño experimental de la distribución espacial de las UE con las rutinas alimenticias y condiciones de flujo: A C/F= Ración alimenticia administrada en dos porciones en condiciones de flujo, A S/F= Ración alimenticia administrada en dos porciones en condiciones estáticas (sin flujo), B C/F= Ración alimenticia administrada en una sola porción en condiciones de flujo, B S/F= Ración alimenticia administrada en una sola porción en condiciones estáticas (sin flujo), C C/F= Ración alimenticia administrada libremente en condiciones de flujo y C S/F= Ración alimenticia administrada libremente en condiciones estáticas (sin flujo).

En las UE con flujo abierto (C/F) de agua de mar, éste se mantuvo de forma constante con excepción de los periodos requeridos para la alimentación. Sólo a las UE con condiciones sin flujo (estáticas) se les hicieron cambios de agua diarios<sup>2</sup> antes de la alimentación. Asimismo, cada semana se llevó a cabo el lavado<sup>3</sup> de todas las UE, tanto a las que tenían condiciones estáticas como a las UE con flujo; a la par de este procedimiento semanal, se realizaron las evaluaciones de sobrevivencia y crecimiento de las postlarvas, con un total de 8 muestreos a lo largo del experimento.

La sobrevivencia fue estimada por conteos directos del número de postlarvas en cada una de las UE. El crecimiento se obtuvo por medio de fotografías realizadas con una cámara de video (Sony SSC-C374) conectada al microscopio invertido (Meiji Techno). Al azar, se tomaron fotografías de 10 postlarvas en el fondo de cada UE, que se procesaron con el programa Image J ver 1.42 para obtener la longitud de la concha. A partir de los datos de sobrevivencia (%) y longitud ( $\mu\text{m}$ ), se realizaron otros cálculos como las tasas de crecimiento (las cuales se estimaron dividiendo la diferencia de longitudes de cada par de muestreos consecutivos entre el número de días transcurridos entre estos, expresada en  $\mu\text{m día}^{-1}$ ), y el ajuste de las raciones de alimento semanal. Por otra parte, se realizó una estimación de la concentración de *N. incerta* en el fondo de cada UE, tomado cinco fotos al azar del fondo de las UE para hacer

---

<sup>2</sup> El agua de las UE se hizo pasar por un tamiz de 140  $\mu\text{m}$  de abertura de malla, se dieron ligeros enjuagues con una piseta en el fondo de los recipientes y se volvieron a llenar a 1 L de agua de mar filtrada.

<sup>3</sup> Procedimiento similar a los cambios de agua, sólo que en éste, antes de volver a llenar las UE, tanto el fondo como las paredes de las UE se limpiaron, con un pincel para remover alimento viejo acumulado, heces o filamentos de macroalgas.

un conteo directo de células en cada una de las fotografías y extrapolar al área del fondo de las UE y así administrar la ración complementaria requerida en cada UE.

Se mantuvo un registro diario de la temperatura (T°C) ambiental y en agua con termómetros digitales y convencionales; así como la medición semanal de parámetros fisicoquímicos como oxígeno disuelto (OD mg/L) con un oxímetro OAKTON DO-100, pH con un potenciómetro CORNING 425 (las mediciones de OD y pH se realizaron antes y una hora después de alimentar), e intensidad luminosa (luxes) con un fotómetro digital de sensor plano (INS DX-100).

#### **2.4.4 Rutinas alimenticias**

Las rutinas alimenticias utilizadas en el ensayo experimental se basaron en la modificación de los valores asintóticos de las curvas del Índice de Alimento Disponible (IAD) relacionado con la tasa de crecimiento de Miranda-Saucedo (2009) para diferentes etapas de desarrollo postlarval y que fueron retomadas por Meza-Tabares (2012) basadas en la longitud de las postlarvas.

Miranda-Saucedo (2009) agrupó la edad postlarval en periodos de dos semanas con cinco periodos de muestreo, Meza-Tabares tomó el dato medio de edad, longitud, tasa de crecimiento e IAD asintótico para cada periodo, y realizó dos regresiones no lineales para relacionar, el IAD con la edad y el IAD con la longitud usando los datos de los cinco periodos.

La modificación a los datos de Miranda-Saucedo (2009) y ecuación de Meza-Tabares (2012) con base en la longitud, se realizó por medio de una regresión no lineal excluyendo el último dato del periodo de muestreo de Miranda-Saucedo (2009) y el último dato de la gráfica de Meza-Tabares (2012) (Fig. 5).

Una vez iniciado el ensayo experimental, las raciones alimenticias a las que se sometieron las postlarvas después de la primera semana de experimentación, fueron las correspondientes a la ecuación del IAD antes mencionado en función de la longitud de las postlarvas (Fig. 5 y Tabla III).

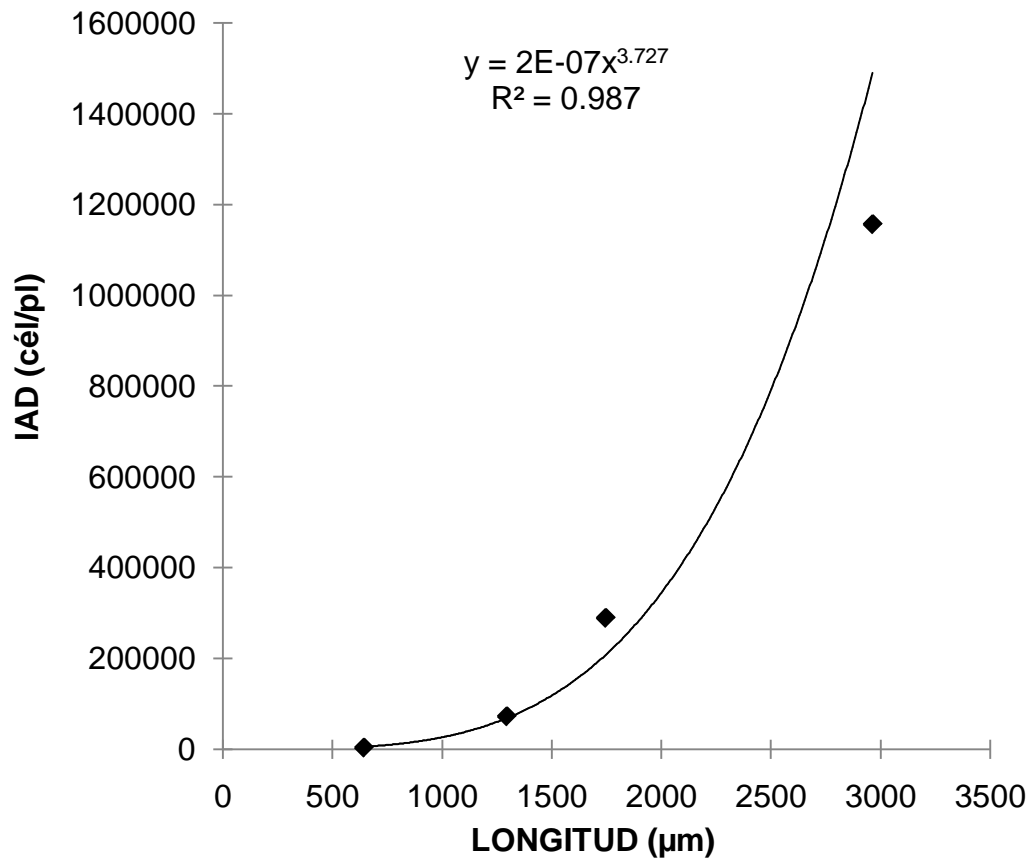


Figura 5. Regresión no lineal modificada del esquema de alimentación basado en la longitud de las postlarvas (modificado de Meza-Tabares, 2012).

Tabla III. IAD asintótico modificado, basado en los datos de Miranda-Saucedo (2009) y de la regresión no lineal de Meza-Tabares (2012) en función de algunas longitudes de postlarvas.

Longitud ( $\mu\text{m}$ )	IAD (cél/pl/d)
500	2,298
700	8,056
800	13,253
900	20,557
1,000	30,446
1,200	60,073
1,400	106,714
1,600	175,545
1800	272,307

En todas las rutinas de alimentación a las que se sometieron las postlarvas dentro del ensayo experimental (A, B y C), se les suministro el total del IAD calculado. Para la C (o libre) se tomó como punto de partida el IAD disponible, aumentando un 50%, una vez suministrado se llevó un registro y observaciones de la progresión en el consumo de esta cantidad de diatomea en las UE, haciendo los ajustes que se consideraron convenientes. Por lo general, las postlarvas de este tratamiento se mantuvieron con una ración alimenticia mayor que el IAD calculado.

El alimento fue suministrado diariamente en cada UE y haciendo observaciones y conteos diarios se estimaba la falta o exceso de alimento. Con cada muestreo semanal, dependiendo de la mortalidad de postlarvas, se realizaban ajustes en la cantidad de células suministradas en cada UE.

## 2.5 Análisis de Datos.

Todos los datos de sobrevivencia, longitud, tasa de crecimiento, densidad de postlarvas y densidad de diatomeas fueron ordenados y tratados previamente con el programa Excel 2007. Las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas (supuestos básicos para los análisis paramétricos), los de análisis de varianza (ANOVA) y las pruebas de comparaciones múltiples (Tukey) se realizaron con el paquete estadístico STATISTICA 8.0 con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$ .

Para las pruebas ANOVA de los datos de sobrevivencia (%), éstos se procesaron previamente con la transformación arco-seno dada por la relación:

$$y = \arcsen \sqrt{\frac{P}{100}}$$

En donde:

$y$  = valor del porcentaje de sobrevivencia transformado

$P$  = porcentaje de sobrevivencia calculado

La mayoría de los datos de sobrevivencia, longitud y tasa de crecimiento presentaron homogeneidad de varianzas por lo cual se procedió al análisis de varianza de dos vías, para evaluar el efecto de la ración alimenticia, la condición de flujo e interacciones entre estas sobre las postlarvas.

Si los resultados arrojados por el ANOVA para cualquiera de los factores a evaluar mostraban diferencias significativas, se realizaron pruebas a posteriori de comparaciones múltiples mediante la prueba de Tukey determinando así las diferencias entre las condiciones de cultivo y de alimentación.

El análisis de la relación tasa de crecimiento – densidad postlarval, se llevó a cabo por medio de regresiones lineales. Tanto en las gráficas como en las tablas de sobrevivencia, longitud y tasa de crecimiento, los días se refieren a la edad de las postlarvas.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Tiempo y características del asentamiento de *N. incerta* en el fondo de las UE.

La cantidad de células estimadas para los cinco tiempos de muestreo se pueden observar en la tabla XII (Anexos). Para los porcentajes calculados, se tomó como un 100% el total de células iniciales inoculadas en cada densidad en cada UE (Tabla I).

En las densidades de los inóculos de 100 y 500 cél/mm<sup>2</sup>, a las 0.5 h, se estimó que alrededor del 64 y 63% respectivamente de células de *N. incerta* estaban en el fondo de las UE, mientras que para los inóculos de las densidades de 2,000, 5,000 y 10,000 cél/mm<sup>2</sup> se observaron asentamientos menores (44, 35 y 17% respectivamente), (Tabla IV). Para los tiempos de 1 y 2 horas, se estimó un porcentaje de 85 y 98% para la densidad de 100 cél/mm<sup>2</sup> respectivamente; un 96 y 97% para la densidad de 500 cél/mm<sup>2</sup>, mientras que para la densidad de 2,000 cél/mm<sup>2</sup> se registró un asentamiento de 77 y 90%, para la densidad de 5,000 cél/mm<sup>2</sup> un 38 y 48%; y para la densidad de 10,000 cél/mm<sup>2</sup> 19 y 20% respectivamente.

En los dos tiempos restantes de 3 y 4 h posteriores al inóculo, para las densidades de 100, 500 y 2,000 cél/mm<sup>2</sup> se estimó un asentamiento de células de *N. incerta* mayor al 100% (ver Discusión); en la densidad de inóculo 5,000 cél/mm<sup>2</sup> se estimó un 50 y 52% de células de diatomea asentadas y para la densidad de 10,000 cél/mm<sup>2</sup> un 23 y 25% para estos dos tiempos de muestreo.

En la figura 6 se muestra la progresión a lo largo de los cinco periodos de muestreo, en donde se puede observar que las densidades inoculadas de 100, 500 y 2,000  $\text{cél}/\text{mm}^2$  alcanzan el 100% de asentamiento de células inoculadas entre la primera y segunda hora posterior al ser inoculadas dentro de las UE. Las densidades con mayor cantidad de  $\text{cél}/\text{mm}^2$  (5,000 y 10,000) mostraron un asentamiento menor al 50% para todos los tiempos de muestreo. Así mismo para los tiempos de 3 y 4 horas, en las densidades de 100, 500 y 2,000  $\text{cél}/\text{mm}^2$  se estimaron cantidades mayores al 100% de células de *N. incerta* en el fondo de las UE.

Tabla IV. Porcentajes (%) de células de *N. incerta* estimados en el fondo de las UE para los cinco tiempos de muestreo en las cinco densidades de inóculo (porcentaje basado en el número inicial de células inoculadas en cada densidad)

Densidad de Inóculo ( $\text{cél}/\text{mm}^2$ )	Tiempo (h) después del inóculo				
	0.5	1	2	3	4
100	64	85	98	125	156
500	63	96	97	121	129
2000	44	77	90	113	111
5000	35	38	48	50	52
10000	17	19	20	23	25

De acuerdo con la escala cualitativa (Tabla II) que se utilizó para describir las características o estados a evaluar de las células de *N. incerta*, en las observaciones realizadas al respecto se determinó que: en la primera observación (0.5 h) para las densidades de 100, 500 y 2,000 cél/mm<sup>2</sup> la condición predominante fue la condición 2 (Tabla II), mientras que para las densidades de 5,000 y 10,000 cél/mm<sup>2</sup> fue la 4 en el mismo tiempo de muestreo; en el tiempo de 1h, las condiciones predominantes de las células en el fondo de las UE fueron similares que las presentadas a la 0.5 h para cada una de las densidades de inóculo (Fig. 7).

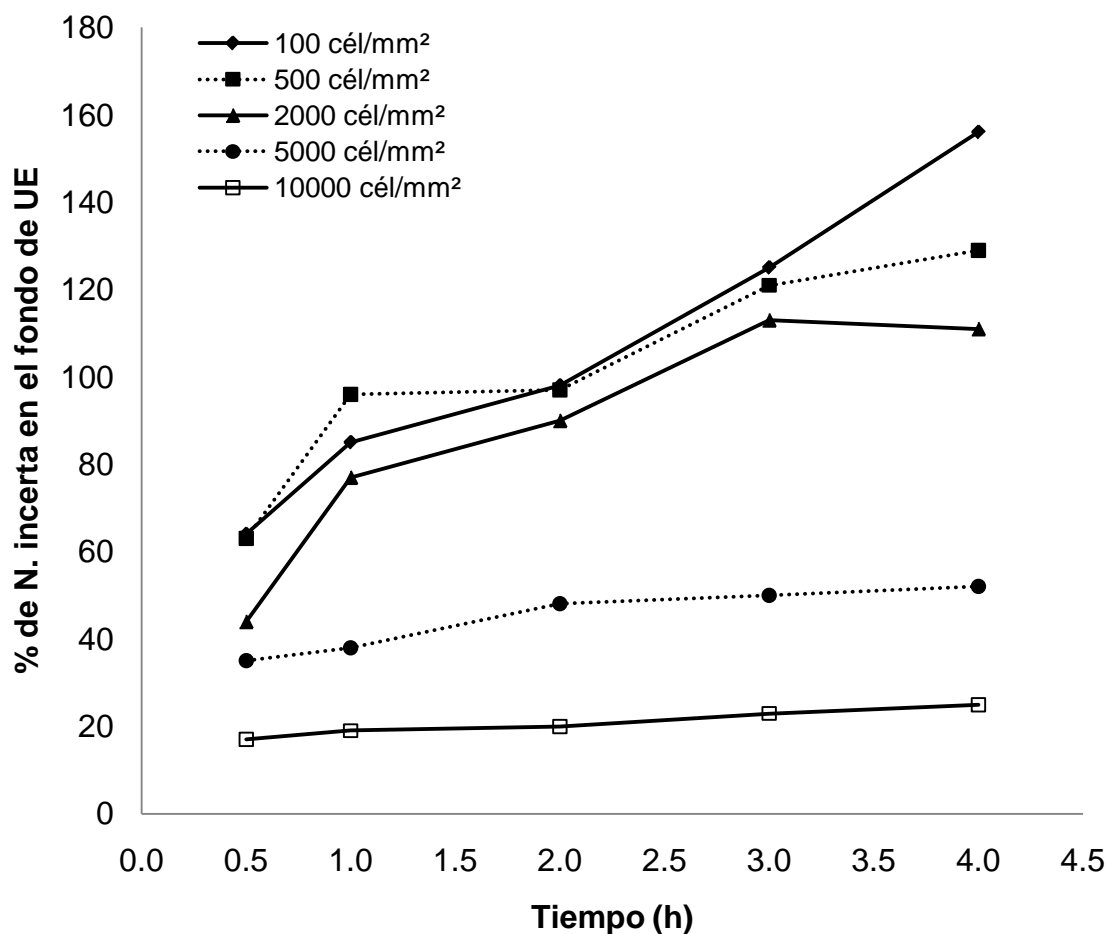


Figura 6. Progresión del porcentaje de asentamiento de *Navicula incerta* a lo largo de cuatro horas de monitoreo en las unidades experimentales, tomado como el 100% el inóculo inicial.

En las observaciones realizadas para los tiempos de 2, 3 y 4 h, la condición predominante en los inóculos de 100 y 500 cél/mm<sup>2</sup> fue la 1, mientras que para el inóculo de 2,000 cél/mm<sup>2</sup> las condiciones oscilaron entre la 1 y 2. En los inóculos de 5,000 y 10,000 cél/mm<sup>2</sup> se volvió a presentar predominantemente la condición 4 para los tiempos restantes (Tabla V). En algunas de las

observaciones realizadas presentaron hasta tres de las cuatro condiciones de la escala cualitativa, pero a la observación realizada se le asignó el número de la escala de la condición más predominante. Por ejemplo, para los inóculos de mayor concentración de células (5,000 y 10,000 cél/mm<sup>2</sup>) en el tiempo de dos horas, en el fondo de las UE se podía observar células fijadas y células en pequeños grumos (condiciones 1 y 2), pero en su mayoría habían muchos grumos que flotaban ya que al mover un poco las UE se podía observar que estos grumos no estaban fijos (condición 4) al fondo; así que para esta observación se le asignó la característica 4 (Fig. 7).

Tabla V. Promedio de las observaciones realizadas de la escala de fijación predominantes en cada densidad de inóculo en los cinco tiempos de muestreo.

Densidad de Inóculo (cél/mm <sup>2</sup> )	Tiempo (h) después del inóculo				
	0.5	1	2	3	4
100	2	2	1	1	1
500	2	2	1	1	1
2000	2	2	1	2	1
5000	4	4	4	4	4
10000	4	4	4	4	4

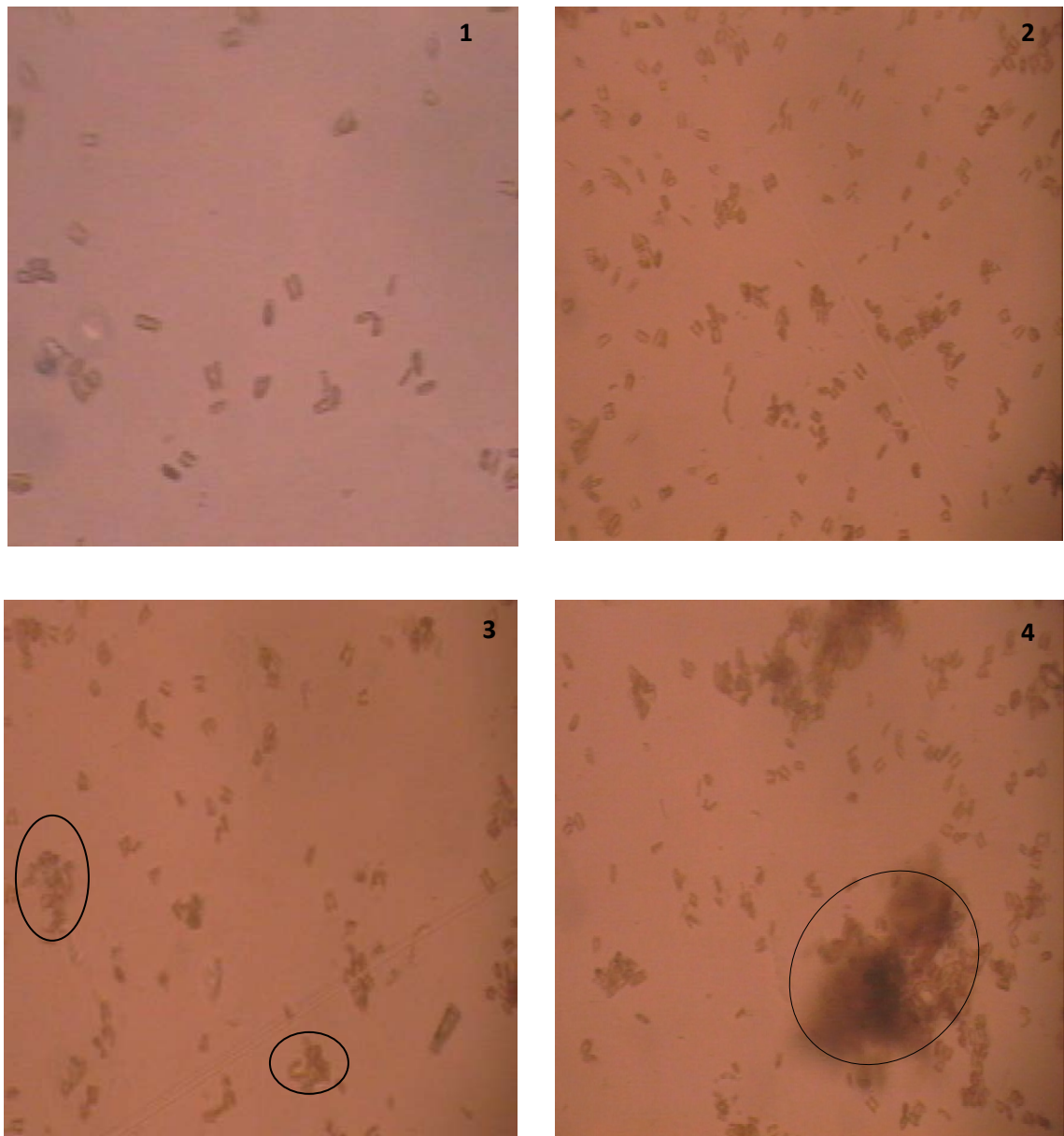


Figura 7. Ejemplificación de escala cualitativa del estado de las células de *N. incerta*. 1= células de *N. incerta* totalmente fijadas y disgregadas, 2= células de *N. incerta* no fijadas y disgregadas, 3= células de *N. incerta* fijadas en grumos y 4= células de *N. incerta* no fijadas y en grumos.

## 3.2 EVALUACIÓN DE RUTINAS DE ALIMENTACIÓN Y FLUJOS DE AGUA (CONDICIONES DE CULTIVO)

La nomenclatura descrita de las rutinas alimenticias en la metodología, es la misma que se utilizó para la presentación y descripción de los resultados del ensayo experimental:

- **A C/F:** Rutina alimenticia administrada en dos porciones en condiciones de flujo.
- **A S/F:** Rutina alimenticia administrada en dos porciones en condiciones estáticas (sin flujo).
- **B C/F:** Rutina alimenticia administrada en una sola porción en condiciones de flujo
- **B S/F:** Rutina alimenticia administrada en una sola porción en condiciones estáticas (sin flujo).
- **C C/F:** Rutina alimenticia administrada libremente en condiciones de flujo.
- **C S/F:** Rutina alimenticia administrada libremente en condiciones estáticas (sin flujo).

### 3.2.1 Sobrevivencia

La sobrevivencia dentro de los primeros 15 días se mantuvo por encima del 70% para todas las condiciones experimentales. Fue a partir de los 22 días de edad de las postlarvas cuando la sobrevivencia disminuyó en todas las

condiciones experimentales de manera considerable. Las rutinas que presentaron una sobrevivencia similar y mayor que el resto de las rutinas fueron los C S/F y B S/F con un 56.5 y 55.1% respectivamente, seguido de las A S/F con un 43.8% y la A C/F con 39.7%; los tratamientos con menor sobrevivencia para esos mismos días (a partir del día 22) fueron de 36.2 y 35.9% en los tratamientos de C C/F y B C/F respectivamente (Fig. 8 y Tabla XIII anexos).

La disminución en la sobrevivencia persistió hasta el término del experimento con valores finales inferiores al 12%. En la rutina A S/F fue donde se registró la mayor sobrevivencia (11.9%), mientras que en la condición experimental B S/F, se registró la menor sobrevivencia con un 1.4% (Tabla XIII, Anexos).

Al final del experimento los datos agrupados por factores (Tabla VI), muestran una sobrevivencia mayor para la ración alimenticia A con un 10.5%, seguida de la ración C y B con un 2.6 y 2.5% respectivamente; en cuanto al factor de flujo, las condiciones estáticas (sin flujo), mostraron una sobrevivencia mayor con un 5.5% en contraste con el 4.9% de las condiciones con flujo.

El efecto por el tipo de ración alimenticia fue significativo ( $P < 0.05$ ) a partir de los 36 días de edad de las postlarvas y, el efecto de las condiciones de cultivo (condiciones estáticas y con flujo), sólo resultó significativo a los 22 y 36 días de edad. En ambos casos se presentó una sobrevivencia mayor en las

condiciones estáticas. Los bloques mostraron diferencias sólo en la semana uno del experimento (Tabla VII).

De acuerdo con las pruebas de contrastes múltiples (Tabla XIV, Anexos) para los días 22 y 36 hubo una diferencia significativa dada por las condiciones de cultivo, con una sobrevivencia mayor en las condiciones estáticas en comparación con las condiciones con flujo. Del día 36 al día 55 se presentaron diferencias entre las rutinas alimenticias A y las otras dos rutinas (B y C); siendo la A la rutina alimenticia que presentó una mayor sobrevivencia (Tabla VI).

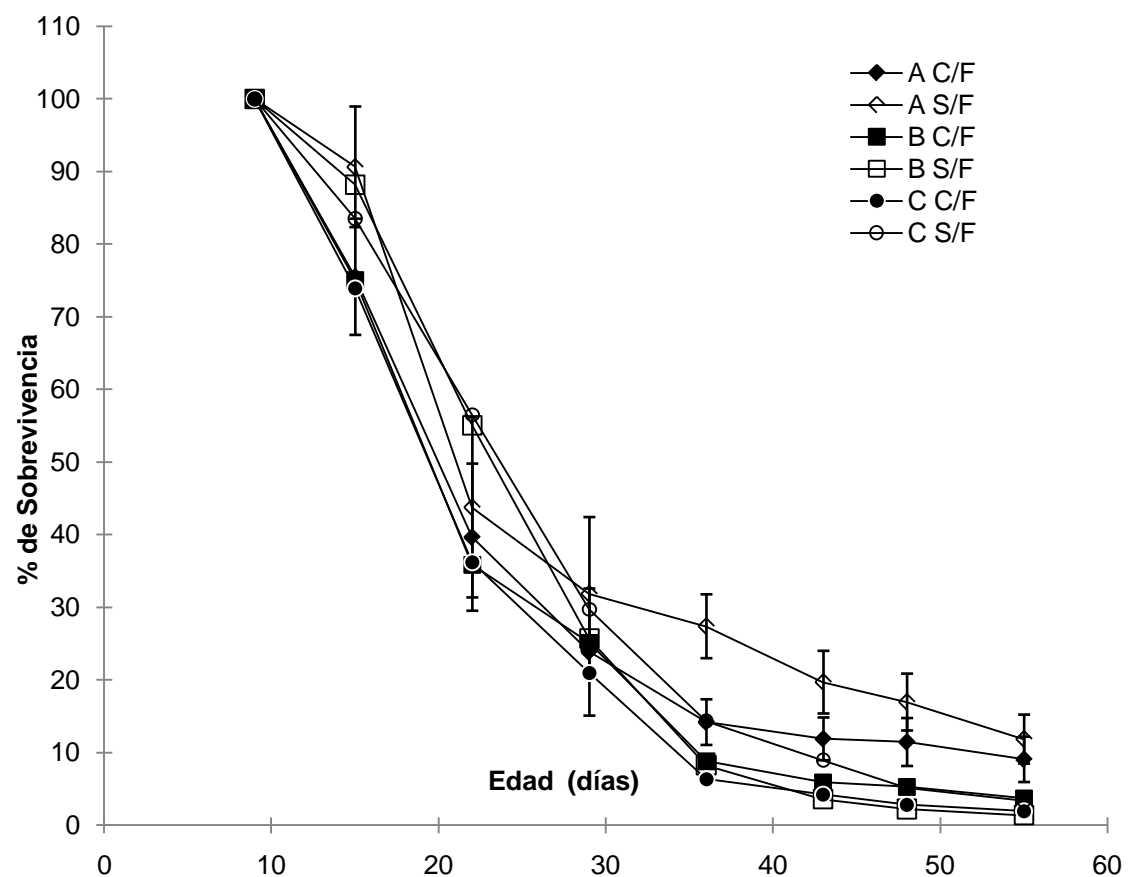


Figura 8. Supervivencia ( $\bar{X} \pm E.E.$ ) de postlarvas de abulón rojo, sometidas a tres rutinas alimenticias (A=rutina alimenticia en dos porciones al día, B=rutina alimenticia en una porción al día y C= rutina alimenticia libre) con *N. incerta* y dos condiciones de cultivo, sistema en condiciones estáticas (S/F) y con flujo(C/F) durante el ensayo experimental.

Tabla VI. Promedio de sobrevivencia (%  $\pm$  E.E.) por rutina alimenticia y por flujo utilizados en el ensayo experimental.

Edad (días)	RUTINA ALIMENTICIA			FLUJO	
	A	B	C	C/F	S/F
9	100	100	100	100	100
15	83.1 $\pm$ 8.6	81.6 $\pm$ 9.8	78.7 $\pm$ 7.0	74.8 $\pm$ 8.3	87.5 $\pm$ 7.1
22	41.7 $\pm$ 10.5	45.5 $\pm$ 7.3	46.3 $\pm$ 7.7	37.2 $\pm$ 6.0	51.8 $\pm$ 9.0
29	27.8 $\pm$ 9.2	25.4 $\pm$ 4.4	25.3 $\pm$ 7.4	23.3 $\pm$ 5.8	29.1 $\pm$ 8.0
36	20.8 $\pm$ 5.0	8.5 $\pm$ 2.2	10.3 $\pm$ 3.0	9.8 $\pm$ 2.9	16.6 $\pm$ 5.0
43	15.8 $\pm$ 4.0	4.8 $\pm$ 1.7	6.6 $\pm$ 3.3	7.3 $\pm$ 2.6	10.7 $\pm$ 4.8
48	14.2 $\pm$ 3.7	3.8 $\pm$ 1.9	4.0 $\pm$ 1.5	6.5 $\pm$ 2.9	8.1 $\pm$ 4.0
55	10.5 $\pm$ 3.1	2.5 $\pm$ 1.4	2.6 $\pm$ 0.9	4.9 $\pm$ 2.5	5.5 $\pm$ 3.0

Tabla VII. Resultados de la prueba de ANOVA de dos vías con los datos de porcentaje transformados de sobrevivencia (%) de postlarvas de abulón rojo alimentadas con *N. incerta* en el ensayo experimental.

Edad (días)	RUTINA		FLUJO		BLOQUES		RUTINA*FLUJO	
	F	P	F	P	F	P	F	P
9	—	—	—	—	—	—	—	—
15	0.173	0.842731	3.483	0.081678	<b>7.012</b>	<b>0.003599</b>	0.234	0.794293
22	0.3303	0.723805	<b>5.0090</b>	<b>0.040812</b>	2.1460	0.137145	0.6894	0.517077
29	0.0052	0.994862	0.5747	0.460127	2.4053	0.107966	0.0780	0.925334
36	<b>11.8442</b>	<b>0.000820</b>	<b>10.5994</b>	<b>0.005321</b>	2.5508	0.094653	2.3821	0.126354
43	<b>9.1031</b>	<b>0.002580</b>	1.6179	0.222748	1.6155	0.227719	1.4583	0.263801
48	<b>11.6893</b>	<b>0.000871</b>	0.5995	0.450785	1.8168	0.187342	1.4987	0.255037
55	<b>12.4429</b>	<b>0.000652</b>	0.2212	0.644901	3.2159	0.053089	1.3559	0.287551

### 3.2.2 Longitud

La longitud promedio de las postlarvas de *H. rufescens* al inicio del ensayo experimental fue de 431  $\mu\text{m}$  a los 9 días de edad. La longitud promedio de los organismos en el transcurso de los 46 días del ensayo experimental se pueden observar en la Figura 9 y en la Tabla XV, Anexos. La longitud máxima registrada al final del ensayo experimental fue de 1997.7  $\mu\text{m}$  para la B S/F, seguida de la C S/F con 1984.0  $\mu\text{m}$ , C C/F con 1851.8  $\mu\text{m}$ , B C/F con 1753.4, A C/F con 1705.0 y la A S/F fue de 1657.8  $\mu\text{m}$  (Tabla XV, Anexos).

A partir de los 48 días de edad, se pudo observar el desarrollo del primer poro respiratorio en postlarvas de las rutinas alimenticias B y C, mientras que en las de la ración A se pudo observar al hacer la última evaluación a los 55 días de edad. De acuerdo con la tabla VIII de datos agrupados por factores, la rutina alimenticia en la que las postlarvas presentaron la longitud final mayor fue la C con organismos de 1917.9  $\mu\text{m}$ , seguida de la B con organismos de 1875.6  $\mu\text{m}$  y la A con organismos de 1681.4  $\mu\text{m}$ . La condición de flujo que presentó organismos de mayor longitud al finalizar el ensayo experimental fue la estática (S/F) con 1879.8  $\mu\text{m}$  mientras que las condiciones con flujo (C/F) presentaron organismos de 1770.1  $\mu\text{m}$  en promedio.

Los resultados del análisis de varianza mostraron efectos significativos de la rutina alimenticia al día 55 de edad en la longitud, mientras que a los 15 y 29 días se presentó una diferencia significativa en el efecto del flujo (Tabla IX). Al finalizar el ensayo experimental (día 55), los resultados de las comparaciones

múltiples mostraron una longitud significativamente menor ( $P < 0.05$ ) de los organismos en la rutina A que en la B y la C, mientras que para los días 15 y 29, el efecto de la condición de cultivo (con flujo o estáticas) produjo organismos de mayor talla en las condiciones de cultivo estáticas (Tabla XVI, Anexos).

Para los bloques, se presentaron efectos significativos en varias evaluaciones, mientras que para la interacción rutina - flujo no se presentó efecto alguno (Tabla IX).

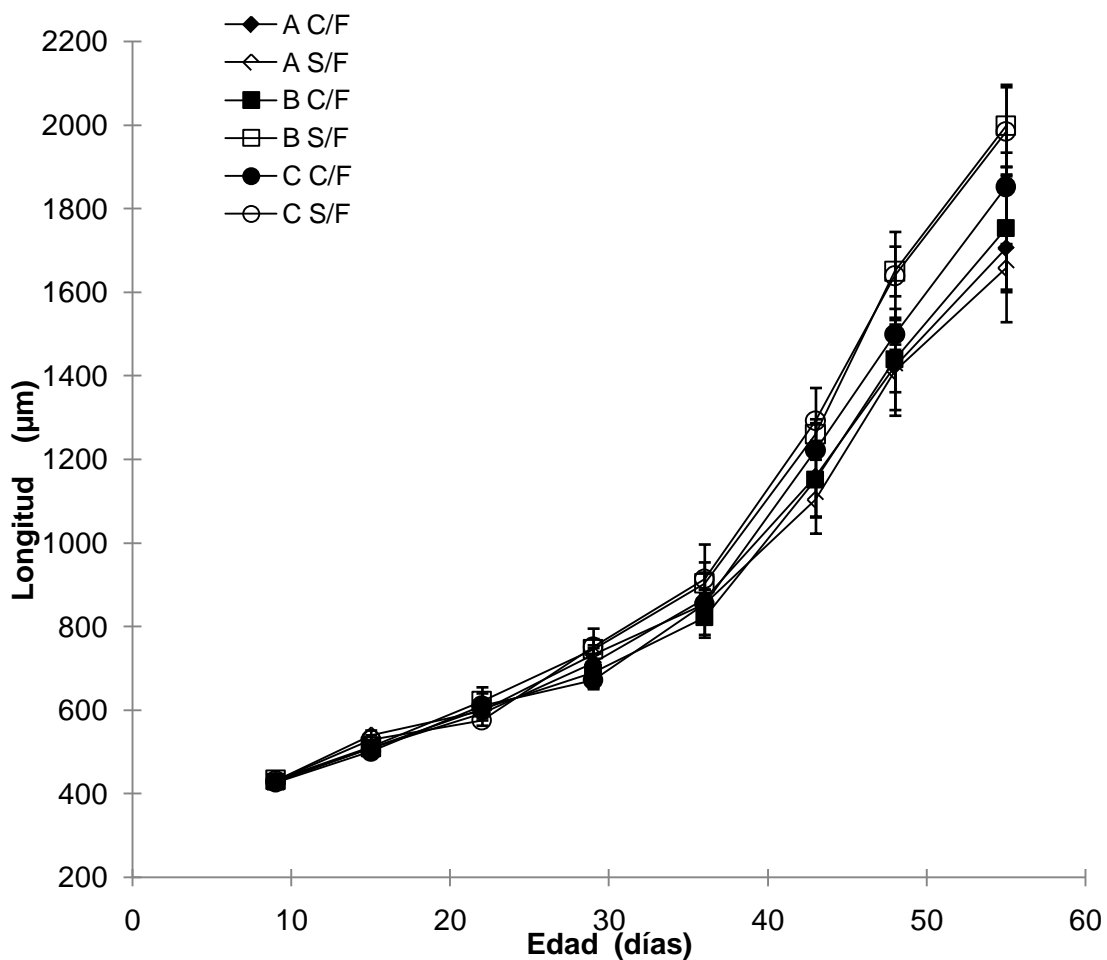


Figura 9. Longitud ( $\bar{X} \pm E.E.$ ) de postlarvas de abulón rojo, sometidas a tres rutinas alimenticias (A= rutina alimenticia en dos porciones al día, B= rutina alimenticia en una porción al día y C= rutina alimenticia libre) con *N. incerta* y dos condiciones de cultivo, sistema en condiciones estáticas (S/F) y con flujo (C/F) durante el ensayo experimental.

Tabla VIII. Promedio de longitud ( $\mu\text{m} \pm \text{E.E.}$ ) por rutina alimenticia y por flujo del ensayo experimental.

Edad (días)	RUTINA ALIMENTICIA			FLUJO	
	A	B	C	C/F	S/F
9	431.7 $\pm$ 5.2	431.4 $\pm$ 3.6	429.4 $\pm$ 6.5	429.4 $\pm$ 5.9	432.3 $\pm$ 4.1
15	524.8 $\pm$ 12.9	511.2 $\pm$ 6.4	515.3 $\pm$ 11.0	507.1 $\pm$ 7.2	527.1 $\pm$ 11.0
22	595.7 $\pm$ 13.1	612.6 $\pm$ 23.2	593.3 $\pm$ 22.8	602.3 $\pm$ 18.9	598.8 $\pm$ 21.5
29	723.0 $\pm$ 39.5	718.0 $\pm$ 21.6	711.6 $\pm$ 38.6	691.9 $\pm$ 35.2	743.2 $\pm$ 25.5
36	860.8 $\pm$ 61.1	862.7 $\pm$ 41.7	884.7 $\pm$ 60.4	847.9 $\pm$ 55.6	890.9 $\pm$ 50.2
43	1131.8 $\pm$ 94.6	1205.6 $\pm$ 67.7	1257.1 $\pm$ 56.9	1177.4 $\pm$ 87.7	1218.9 $\pm$ 64.7
48	1416.8 $\pm$ 83.6	1544.6 $\pm$ 104.7	1568.9 $\pm$ 80.0	1453.4 $\pm$ 90.5	1566.8 $\pm$ 89.3
55	1681.4 $\pm$ 122.2	1875.6 $\pm$ 133.0	1917.9 $\pm$ 94.8	1770.1 $\pm$ 131.4	1879.8 $\pm$ 115.6

Tabla IX. Resultados de la prueba de ANOVA de dos vías con los datos obtenidos de la Longitud ( $\mu\text{m}$ ) del ensayo experimental.

Edad (días)	RUTINA		FLUJO		BLOQUES		RUTINA*FLUJO	
	F	P	F	P	F	P	F	P
9	0.14	0.873474	0.59	0.454784	<b>3.57</b>	<b>0.039711</b>	0.08	0.920996
15	1.48	0.258683	<b>9.06</b>	<b>0.008804</b>	2.41	0.107123	1.76	0.206036
22	0.785	0.473960	0.065	0.802948	<b>4.167</b>	<b>0.024730</b>	1.468	0.261589
29	0.087	0.917046	<b>5.290</b>	<b>0.036225</b>	<b>3.845</b>	<b>0.031790</b>	0.577	0.573596
36	0.150	0.861789	1.178	0.294878	3.265	0.050936	0.526	0.601743
43	1.925	0.180289	0.627	0.440753	<b>3.671</b>	<b>0.036514</b>	0.901	0.426870
48	2.737	0.097010	3.956	0.065273	<b>4.453</b>	<b>0.019922</b>	1.304	0.300634
55	<b>3.766</b>	<b>0.047266</b>	2.140	0.164172	<b>4.936</b>	<b>0.013999</b>	1.281	0.306548

### 3.2.3 Tasa de Crecimiento

La tasa de crecimiento a lo largo de todo el ensayo experimental fue variable para todas las rutinas alimenticias y en ambas condiciones de cultivo (Fig. 10 y Tabla XVII, Anexos). En las dos primeras semanas de cultivo, (del los 9 a los 22 días) la tasa de crecimiento se mantuvo por debajo de los 13.8  $\mu\text{m}/\text{d}$ . Para la semana del día 22 al 29, todas las rutinas alimenticias mostraron un incremento moderado en la tasa de crecimiento, (en la mayoría se registró un incremento de casi el doble que la tasa de crecimiento registrada en los días del 15 al 22), con excepción de los organismos en la rutina C C/F (Tabla XVII, Anexos). Para la semana de los 36 a los 43 días, se volvió a registrar un incremento en la tasa de crecimiento, mientras que para la semana siguiente de los 43 a los 48 días se registró una disminución en el crecimiento a excepción de los organismos de la rutina alimenticia B S/F.

En la última semana del ensayo experimental la tasa de crecimiento registrada fue mayor en las rutinas C C/F y B S/F con 50.4 y 49.7  $\mu\text{m}/\text{d}$  respectivamente, seguidas de las rutinas C S/F y B C/F con 49.3 y 44.9  $\mu\text{m}/\text{d}$ ; mientras que en las rutinas A C/F y A S/F se observaron menores tasas de crecimiento con 40.4 y 35.2  $\mu\text{m}/\text{d}$  respectivamente (Tabla XVII, Anexos).

En la tabla X se presentan las tasas de crecimiento promedio agrupadas por factores. Los resultados de los ANOVAs para las tasas de crecimiento mostraron un efecto ( $P=0.006$  y  $0.023$ ) dado por la condición de flujo (con y sin flujo) para los días 9 al 15 y del 22 al 29. El factor de los bloques también

mostró un efecto para los días 15 al 22 ( $P=0.01$ ) y del 22 al 29 ( $P=0.02$ ) las interacciones rutina – flujo no mostraron ningún efecto significativo (Tabla XI).

Las pruebas a posteriori (pruebas de Tukey, Tabla XVIII, Anexos) para la tasa de crecimiento mostraron una diferencia para los días del 9 al 15 y 22 al 29 debido al flujo, con una tasa de crecimiento mayor en las postlarvas cultivadas en condiciones estáticas (S/F) (Tabla X). La tasa de crecimiento promedio total (9 a 55 días) no mostró diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla XI).

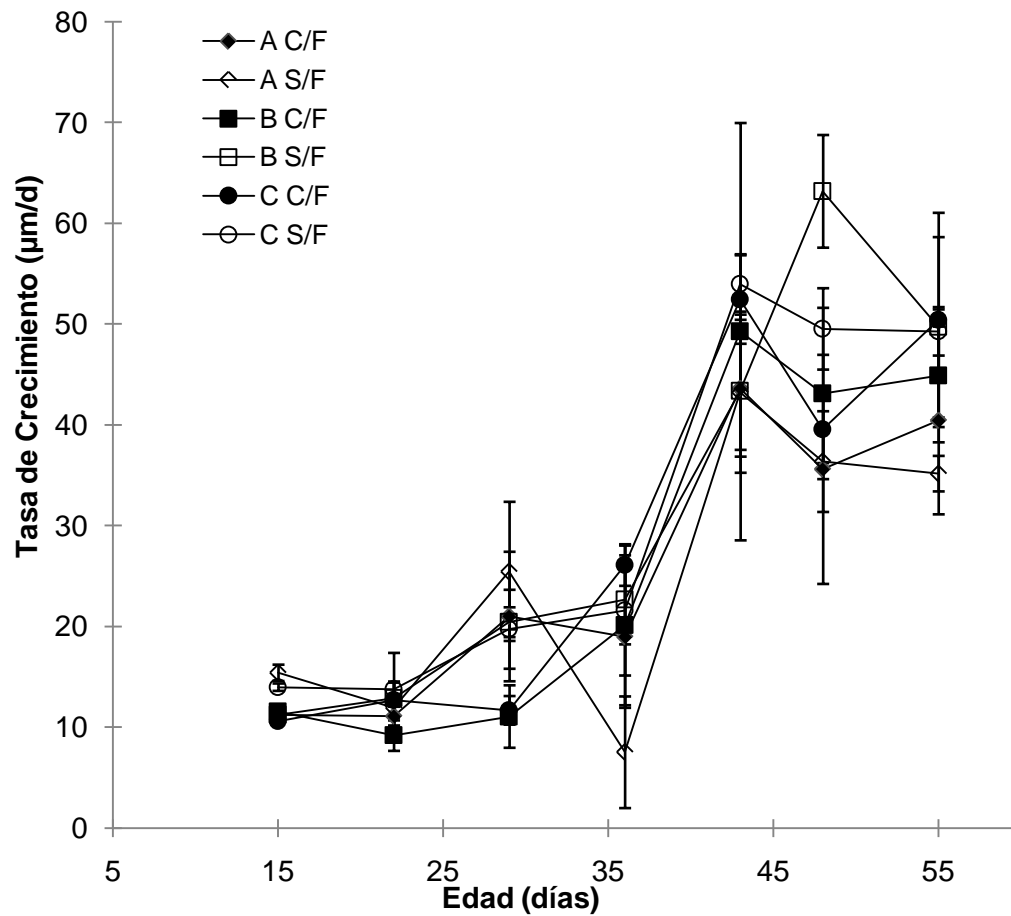


Figura 10. Tasa de Crecimiento ( $\bar{X} \pm \text{E.E.}$ ) de postlarvas de abulón rojo sometidas a tres rutinas alimenticias (A=rutina alimenticia en dos porciones al día, B=rutina alimenticia en una porción al día y C= rutina alimenticia libre) con *N. incerta* y dos condiciones de cultivo, sistema en condiciones estáticas (S/F) y con flujo (C/F) durante el ensayo experimental. Cada punto de muestreo representa la progresión de crecimiento entre ese día y el de la semana anterior.

Tabla X. Promedio de tasa de crecimiento ( $\mu\text{m}/\text{día} \pm \text{E.E.}$ ) por rutina alimenticia y por flujo utilizados en el ensayo experimental.

Edad (días)	RUTINA ALIMENTICIA			FLUJO	
	A	B	C	C/F	S/F
<b>9-15</b>	6.7 $\pm$ 0.8	5.7 $\pm$ 0.4	6.1 $\pm$ 0.5	5.6 $\pm$ 0.3	6.8 $\pm$ 0.7
<b>15-22</b>	11.5 $\pm$ 1.8	11.0 $\pm$ 1.7	13.2 $\pm$ 2.6	11.0 $\pm$ 1.5	12.9 $\pm$ 2.5
<b>22-29</b>	23.2 $\pm$ 6.3	15.7 $\pm$ 3.4	15.7 $\pm$ 3.5	14.6 $\pm$ 4.5	21.9 $\pm$ 4.4
<b>29-36</b>	13.3 $\pm$ 9.8	21.4 $\pm$ 6.0	23.8 $\pm$ 4.6	21.7 $\pm$ 5.9	17.2 $\pm$ 8.4
<b>36-43</b>	43.5 $\pm$ 6.9	46.3 $\pm$ 14.2	53.2 $\pm$ 3.5	48.5 $\pm$ 11.8	46.9 $\pm$ 6.0
<b>43-48</b>	36.0 $\pm$ 8.1	53.2 $\pm$ 8.6	44.5 $\pm$ 4.3	39.4 $\pm$ 7.8	49.7 $\pm$ 7.2
<b>48-55</b>	37.8 $\pm$ 6.4	47.3 $\pm$ 7.4	49.9 $\pm$ 7.1	45.2 $\pm$ 8.4	44.7 $\pm$ 6.1
<b>9-55</b>	25.4 $\pm$ 2.6	28.7 $\pm$ 2.7	29.5 $\pm$ 1.9	26.6 $\pm$ 2.7	28.6 $\pm$ 2.4

Tabla XI. Resultados de la prueba de ANOVA de dos vías con los datos obtenidos de tasa de crecimiento ( $\mu\text{m}/\text{día}$ ) para el ensayo experimental.

Edad (días)	RUTINA		FLUJO		BLOQUES		RUTINA*FLUJO	
	F	P	F	P	F	P	F	P
<b>9-15</b>	2.029	0.165978	<b>9.797</b>	<b>0.006882</b>	0.386	0.764785	3.139	0.072657
<b>15-22</b>	0.9430	0.411386	1.8327	0.195861	<b>4.9409</b>	<b>0.013948</b>	0.4370	0.653946
<b>22-29</b>	2.9730	0.081741	<b>6.3167</b>	<b>0.023870</b>	<b>4.3476</b>	<b>0.021555</b>	0.2523	0.780281
<b>29-36</b>	0.97946	0.398289	0.48295	0.497712	0.26548	0.849211	0.38838	0.684779
<b>36-43</b>	0.4644	0.637260	0.0353	0.853455	0.5616	0.648570	0.0681	0.934490
<b>43-48</b>	2.8469	0.089512	3.0559	0.100875	0.5019	0.686649	0.8980	0.428186
<b>48-55</b>	1.8472	0.191801	0.0097	0.923022	2.6223	0.088783	0.2956	0.748327
<b>9-55</b>	0.9298	0.396777	0.4007	0.527633	1.1475	0.331756	0.3219	0.725217

### 3.2.4 Relación Tasa de Crecimiento – Densidad postlarval

La relación tasa de crecimiento – densidad postlarval, se muestran en las figuras 11 y 12. De acuerdo con los análisis de regresión (Tabla XIX, Anexos), sólo hubo regresiones lineales significativas ( $P < 0.05$ ) en la semana cuatro (Fig. 11D) y siete (Fig. 12C), donde se observó que la densidad tiene un efecto negativo en la tasa de crecimiento.

De de los 29 a los 36 días (semana cuatro del ensayo) las postlarvas de las rutinas alimenticias A y C en condiciones estáticas (S/F) presentaron tasas de crecimiento menores con  $7.5$  (a  $1.4$  postlarvas/cm<sup>2</sup>) y  $21.6$   $\mu\text{m d}^{-1}$  (a  $0.7$  postlarvas/cm<sup>2</sup>) respectivamente, en comparación con las presentadas en condiciones de flujo (C/F) de las mismas rutinas de alimentación que fueron de  $19.0$  (a  $0.7$  postlarvas/cm<sup>2</sup>) y  $26.1$   $\mu\text{m d}^{-1}$  (a  $0.3$  postlarvas/cm<sup>2</sup>) respectivamente. En la rutina B en esa misma semana la tasa de crecimiento fue ligeramente mayor en condiciones estáticas ( $22.6$   $\mu\text{m d}^{-1}$ ) que en condiciones con flujo ( $20.1$   $\mu\text{m d}^{-1}$ ) a una densidad de  $0.4$  postlarvas/cm<sup>2</sup> en ambas condiciones experimentales (Tabla XVII, Anexos y Fig. 11D)

En la semana siete (48 a los 55 días) las rutinas alimenticias B y C en ambas condiciones de cultivo presentaron mayores tasas de crecimiento con respecto a la rutina A. La rutina B con tasas de crecimiento de  $44.9$  y  $49.7$   $\mu\text{m d}^{-1}$ , y la rutina C con  $50.4$  y  $49.3$   $\mu\text{m d}^{-1}$ , para condiciones con y sin flujo, respectivamente, presentaron densidades de  $0.1$  a  $0.2$  postlarvas/cm<sup>2</sup>. Las

rutinas de alimentación A C/F y A S/F presentaron tasas de crecimiento menores ( $40.4$  y  $35.2 \mu\text{m d}^{-1}$  respectivamente) pero con mayores densidades de cultivo de postlarvas ( $0.5$  y  $0.6$  postlarvas/cm<sup>2</sup>) (Fig. 12C y Tabla XVII, Anexos).

La regresión lineal de la relación tasa de crecimiento contra – la densidad de los 9 a los 55 días (Fig. 12D) fue significativa ( $P=0.041$ ) (Tabla XIX, Anexos).

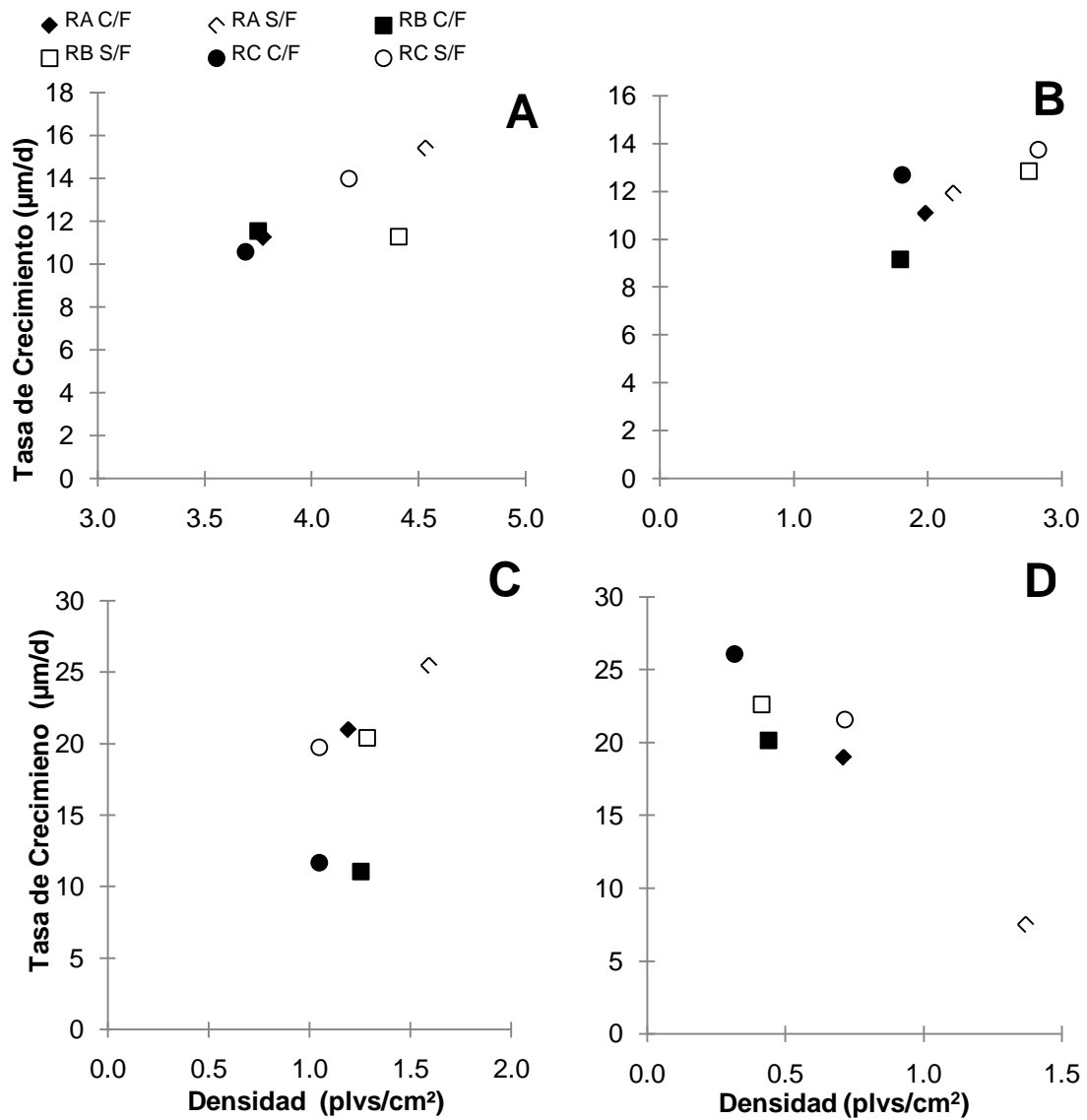


Figura 11. Relación tasa de crecimiento ( $\mu\text{m/d}$ ) – densidad de postlarvas ( $\text{plvs/cm}^2$ ): A) semana uno de los 9 a los 15 días de edad, B) semana dos de los 15 a los 22 días de edad, C) semana tres de los 22 a los 29 días y D) semana cuatro de los 29 a los 36 días de edad.

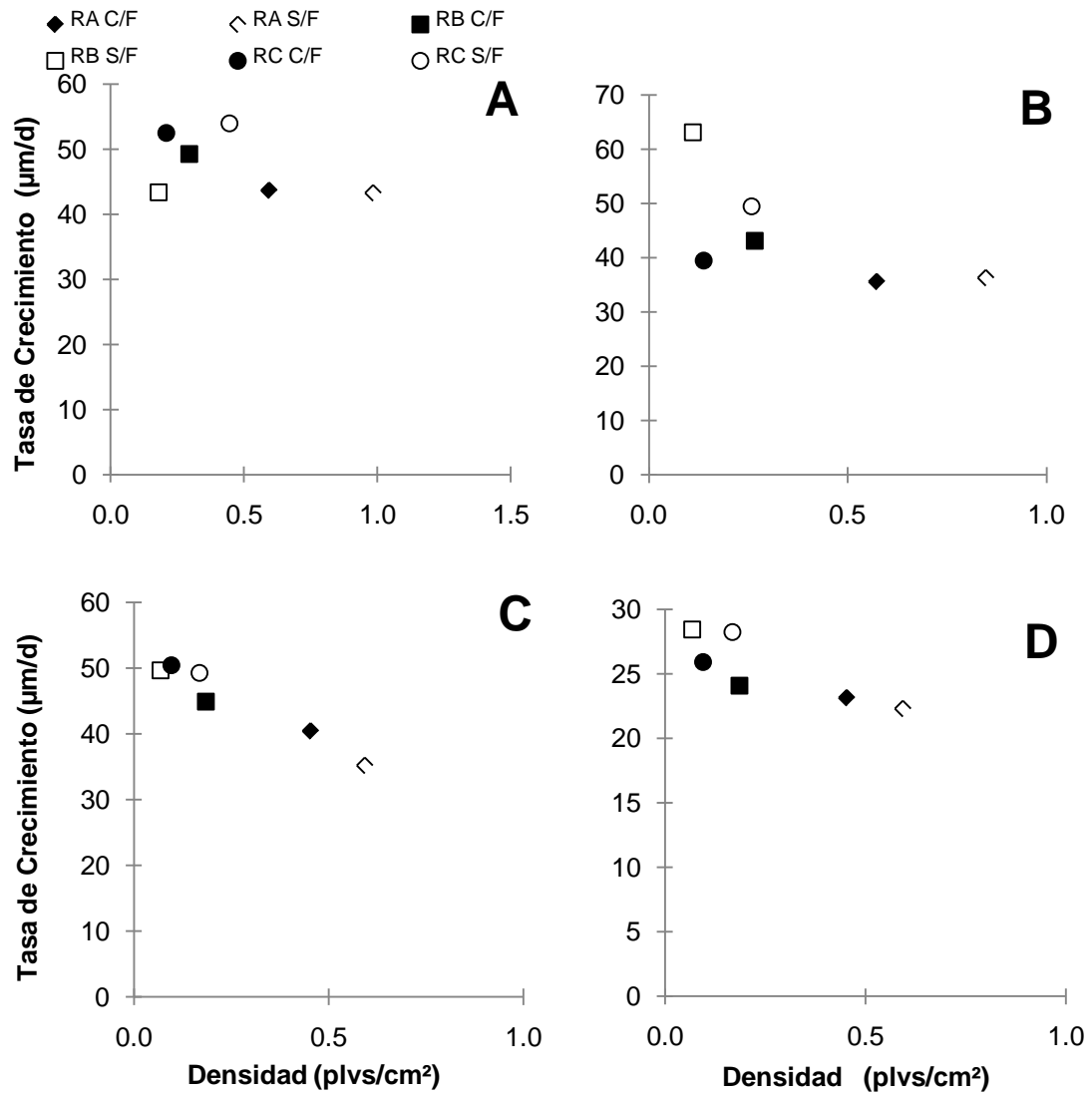


Figura 12. Relación tasa de crecimiento ( $\mu\text{m/d}$ ) – densidad de postlarvas ( $\text{plvs/cm}^2$ ): A) semana cinco de los 36 a los 43 días de edad, B) semana seis de los 43 a los 48 días de edad, C) semana siete de los 48 a los 55 días de edad y D) relación final de los 9 a los 55 días de edad.

### 3.2.5 Parámetros Ambientales

En la figura 13 A, se presentan los registros de temperatura ( $T^{\circ}\text{C}$ ), durante el ensayo experimental. La temperatura promedio en el agua se registró en  $16.8 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ , mientras que la ambiental fue de  $17.8 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ . La intensidad luminosa (luxes) se registró en el intervalo de 192 – 360 luxes, con promedio general de 253 luxes (Fig. 13B); la intensidad luminosa promedio para cada uno de los bloques fue de  $206 \pm 4$  luxes en el B1, de  $231 \pm 5$  luxes en el B2,  $272 \pm 5$  luxes para el B3 y de  $302 \pm 18$  luxes en el B4 (Fig. 13C). Los bloques presentaron diferencias significativas entre ellos por efecto de la intensidad luminosa (ANOVA g.l. =3,27,  $F=33.74$ ,  $P=8.9\text{E}-9$ ). Los contrastes múltiples de Tukey mostraron que los bloques B1 y B2 son los bloques que no presentan diferencias de la intensidad luminosa entre ellos ( $P=0.107$ ), mientras que en el resto de las comparaciones entre bloques sí hay diferencias significativas (Tabla XX, Anexos).

Las variaciones del oxígeno disuelto (OD mg/L) y pH pueden observarse en la figura 14 A y B para el promedio de las UE en condiciones de cultivo estáticas (S/F) y con flujo (C/F) ambas monitoreadas antes (A) y después (D) de suministrar las raciones alimenticias. De manera general las concentraciones de OD, oscilaron en un intervalo de 7.62 – 9.65 mg/L (Fig. 14 A). Se registró una concentración promedio general de OD de  $7.9 \pm 0.1$  y  $8.0 \pm 0.2$  mg/L para las condiciones de cultivo estáticas y con flujo respectivamente antes de suministrar las raciones alimenticias, después de suministrar el alimento, el OD

promedio general fue de  $8.3 \pm 0.3$  y  $8.2 \pm 0.3$  mg/L para las condiciones estáticas y con flujo respectivamente.

El pH se registró en un intervalo general de 7.6 – 8.4. Durante el transcurso del ensayo experimental el promedio de pH registrado fue de  $7.9 \pm 0.1$  antes de alimentar a las postlarvas en ambas condiciones de cultivo (S/F y C/F), después de suministrar la ración alimenticia, el pH fue de  $8.0 \pm 0.1$  igualmente para ambas condiciones de cultivo (Fig. 14B).

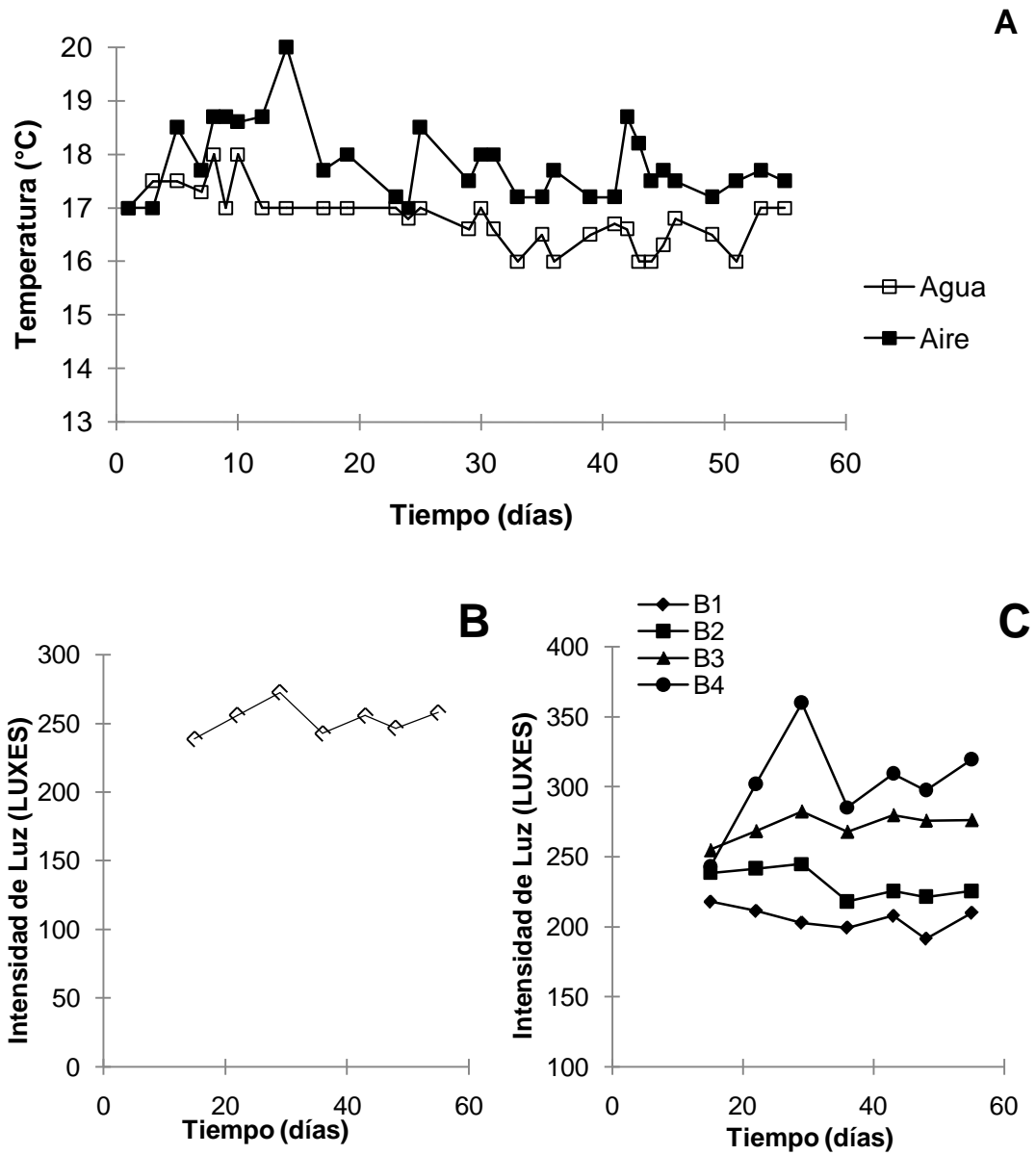


Figura 13. Registro de A) Temperatura (°C), B) Intensidad Luminosa (LUXES) promedio durante los 46 días de cultivo de las postlarvas de abulón rojo en el ensayo experimental y C) intensidad luminosa (LUXES) por bloques.

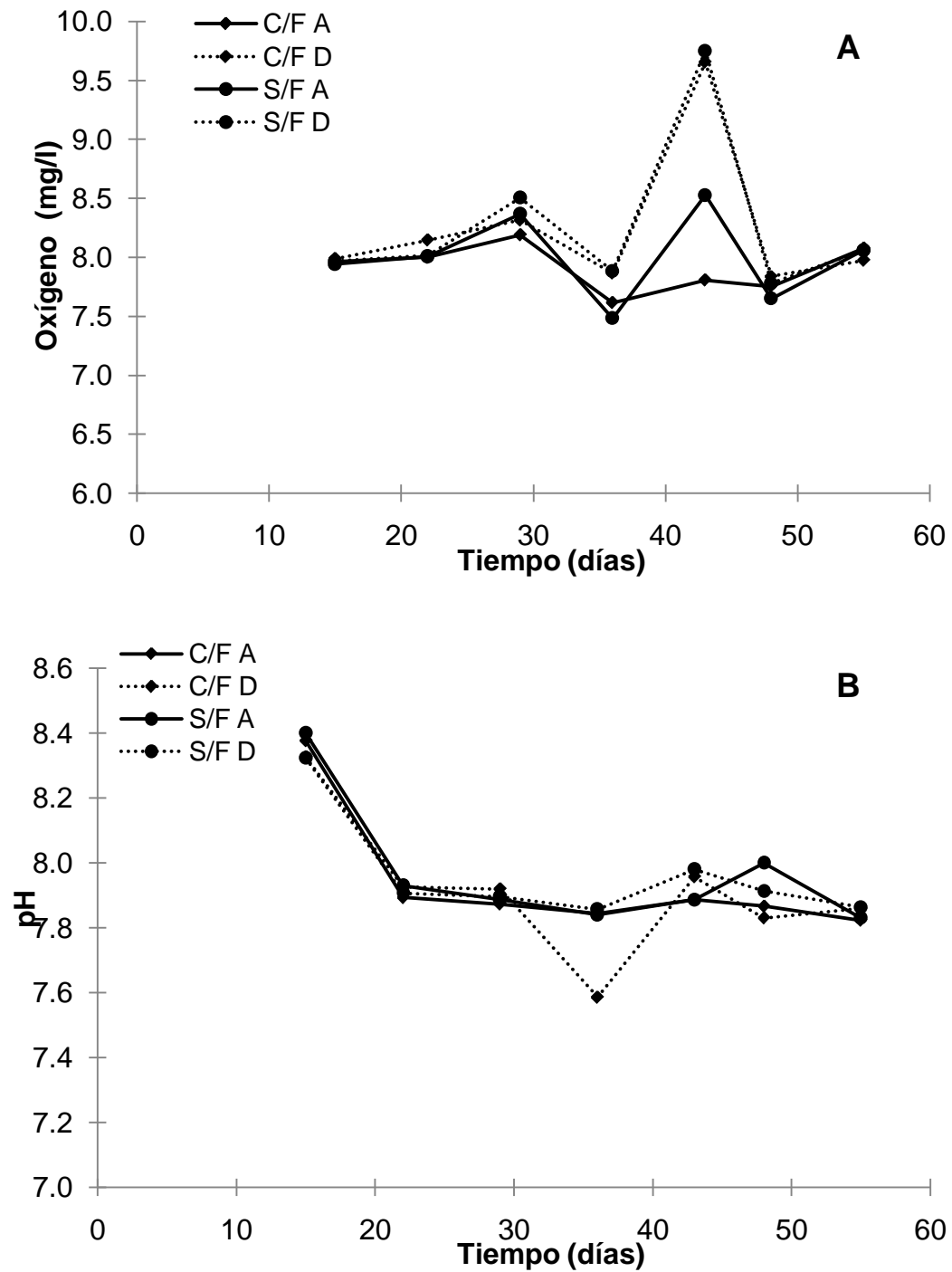


Figura 14. Registro semanal de A) Oxígeno y B) pH durante los 46 días de cultivo del ensayo experimental.

## 4. DISCUSIÓN

### 4.1 Asentamiento de *Navicula incerta*.

Las microalgas son los mayores productores primarios en los ecosistemas acuáticos. Las diatomeas bentónicas se consideran un grupo poco estudiado y muy rico en diversas formas, géneros y especies, con un alto potencial para ser usado como fuente de alimento vivo para los organismos que se cultivan con interés comercial y que presenten hábitos bentónicos, al menos, en alguna fase de su ciclo de vida. Las especies más estudiadas están representadas por los géneros *Navicula* y *Nitzschia*, seguidas de *Amphora* (Siqueiros-Beltrones, 1994, Leal *et al.*, 2010).

Las diatomeas bentónicas en cultivo tienen la capacidad de colonizar toda la superficie del reservorio donde habitan y forman biopelículas, que al aumentar su concentración, crean pequeños grumos de células que se desprenden y suspenden en el agua y constituyen partículas de diferentes tamaños, de las que se pueden alimentar algunos organismos (Leal *et al.*, 2012). No todas las especies tienen la misma adhesión al sustrato entre ellas o cuando forman colonias (Roberts *et al.* 2000); por ejemplo, Leal *et al.* (2012) mencionan que, las células de *Navicula* sp., ante un burbujeo fuerte se logran desprender de las paredes del recipiente y además se separan entre sí; sin embargo, *Amphora* sp. no se comporta del mismo modo.

De acuerdo con los datos de la tabla IV, más del 90% de células de *N. incerta* llegan al fondo de las UE alrededor de las dos horas posteriores a su

inoculación, para las densidades de inoculación menores a 2000 cél/mm<sup>2</sup>, mientras que en densidades mayores a 5000 cél/mm<sup>2</sup>, el tiempo es mayor. Es por ello que en el caso de las UE con flujo abierto este se re-estableció dos horas después de suministrar las raciones alimenticias. Cabe resaltar que en este ensayo con *N. incerta* en la cuantificación de células se tomaron más en cuenta aquellas que se encontraban entre las características 1-3 (Tabla II y Fig. 7 A, B y C) de la escala cualitativa que se describió para este ensayo; por dos razones: 1) se considera de acuerdo a observaciones que, las células disgregadas fijadas o no al sustrato son células que podrán estar fácilmente disponibles para las postlarvas y 2) a pesar de formar pequeñas acumulaciones de células, éstas acumulaciones son accesibles para las postlarvas.

La condición 4 de la escala cualitativa registrada (Fig. 7D), no es favorable como alimento para las postlarvas, ya que al haber acumulaciones grandes de diatomeas se forman grumos en la columna de agua y no un tapete de células en el fondo de las UE. Estos grumos son persistentes en el tiempo, ya que las postlarvas no tienen algún mecanismo para deshacer los grumos porque son “muy grandes” para que ellas los puedan disgregar. Adicionalmente, es difícil e imprecisa la cuantificación de diatomeas en grumos grandes. Meza-Tabares (2012) menciona que en uno de sus ensayos experimentales el exceso de alimento (290,000 cél/postlarva/día con una talla de 1700 µm) provocó mortalidad de sus organismos por las condiciones adversas que se crearon. En ocasiones el asentamiento de diatomeas puede formar una capa por encima de

las mismas postlarvas lo que las deja por debajo de la capa límite y posiblemente en condiciones extremas de oxígeno como lo mencionan Harris *et al.* (1999), Roberts *et al.* (2007) y Searcy-Bernal y Gorrostieta-Hurtado (2007). En el transcurso del ensayo experimental se observó que cuando se suministra el alimento, las diatomeas pueden quedarse encima de la concha de las postlarvas, lo que puede ocasionar la acumulación de protozoarios que a la larga afectaran la salud de la postlarva.

Es por ello que a partir de estos resultados, se sugiere que el suministro de diatomeas en inóculos mayores a 5000 cél/mm<sup>2</sup> sea administrado en dos o más dosis.

Los valores mayores al 100% estimados para los tiempos de 3 y 4 h (Fig. 6) pueden deberse parcialmente a la reproducción de diatomeas ya que para *N. incerta* algunos autores como Correa-Reyes *et al.* (2001) reportan una tasa de 1.18 y Kang *et al.* (2011) de 0.6 - 0.8 divisiones por día. Tomando en cuenta la mayor tasa de divisiones celulares reportada por Correa-Reyes *et al.* (2001), a las 4 horas del experimento se esperaría alrededor de un 20% más del inóculo inicial por efecto de la reproducción. Por otro lado, estos valores mayores al 100%, podrían deberse a errores en los conteos de los inóculos iniciales o al realizar el conteo de la densidad de células en el fondo de las UE.

La razón por la cual se registraron menores porcentajes de células presentes a las 4 h (Fig. 6) en el fondo de las UE en las densidades mayores (5000 y 10000 cél/mm<sup>2</sup>) fue porque como ya se ha mencionado, se le dio mayor

importancia a las células que no presentaban la condición 4 de la escala cualitativa (lo cual no quiere decir que no estuvieran presentes el resto de las células inoculadas, sino que por su condición en grumos éstas no están disponibles fácilmente para las postlarvas).

#### **4.2 Efecto de las condiciones de cultivo (estáticas o con flujo)**

Los sistemas de cultivo de postlarvas de abulón, usualmente están provistos con flujo continuo de agua de mar filtrada, aireación e iluminación ya sea natural o artificial para promover el crecimiento microalgal (Ebert y Houk, 1984; Searcy-Bernal, 1996). A pesar de que el flujo abierto se recomienda en el cultivo de abulón debido a que regula la concentración de oxígeno, ayuda eliminando desechos y estimula la alimentación (Roberts *et al.*, 2000); también puede llegar a provocar que las condiciones ecológicas del fondo de los tanques no sean las adecuadas debido a la proliferación bacteriana y de protozoarios, así como la colonización de otras microalgas presentes en el agua suministrada que pueden afectar la sobrevivencia de las postlarvas (Searcy-Bernal *et al.*, 2007). En abulones juveniles se ha demostrado que la tasa de consumo de alimento se incrementa con la velocidad del flujo de agua (Roberts, *et al.*, 2007). Por estos motivos, el flujo de agua puede ser adecuado, pero un flujo de agua excesivo puede llegar a ocasionar pérdida del alimento por arrastrarse y afectar el comportamiento de los abulones (Fleming *et al.*, 1997).

#### 4.2.1 Efecto en la Supervivencia

Desde la primera semana del ensayo experimental, la supervivencia fue significativamente mayor en las UE en condiciones estáticas que en las UE con flujo (Tablas VI y tabla XIII anexos). Las supervivencias obtenidas se registraron por debajo de los porcentajes reportados por otros autores (Miranda-Saucedo, 2009; Gorrostieta-Hurtado, 2005; Meza-Tabares, 2012), sin embargo las densidades postlarvales con las que se trabajó en este ensayo experimental fueron mayores ( $5 \text{ pl/cm}^2$ ) a excepción de Meza-Tabares (2012) que trabajó con  $5.5 \text{ pl/cm}^2$ . La cantidad de alimento suministrada por Meza-Tabares (2012), fue casi dos veces mayor a las cantidades que se manejaron en este ensayo experimental con postlarvas de abulón rojo.

Al final del ensayo experimental se reportaron supervivencias mayores en las UE de las rutinas A y C sin flujo, mientras que para la B ocurrió de manera inversa (Tabla VI). Un factor que pudo haber influido en la supervivencia de las postlarvas quizá fue la persistente marea roja que se presentó en las aguas de la Bahía Todos Santos en las fechas en las que se realizaba el ensayo experimental, que pudo afectar la calidad del agua (Cortés-Altamirano y Licea-Duran, 1999; Leiva-Cerezo, 2008) y facilitar la persistente frecuencia de protozoarios observada a pesar de los cambios de agua diarios. En las UE con flujo, al ser lavadas sólo de manera semanal se dan condiciones como la proliferación de protozoarios por organismos muertos, acumulación de heces y alimento. El hecho de que en las condiciones experimentales sin flujo

(estáticas) se hayan registrado sobrevivencias mayores, refuerza la hipótesis de que estas condiciones de cultivo son mejores que las condiciones de cultivo con flujo (por lo menos para los primeros meses de cultivo de postlarvas); lo que puede ser un beneficio para los productores por un menor gasto energético (bombeo de agua de mar hacia los estanques), que se ve reflejado en menores costos de producción.

#### **4.2.2 Efecto en el crecimiento**

La tasa de crecimiento final no mostró diferencias significativas entre los tratamientos (Tablas X y XI). El flujo tiende a promover un desarrollo en la biopelícula de diatomeas, aporte de nutrientes y la disminución de la capa límite (Searcy-Bernal y Gorrostieta-Hurtado, 2007). Al igual que otros animales marinos, los abulones pueden incorporar los minerales disueltos en el agua, de esta manera el flujo de agua permite que los abulones pueden cubrir sus necesidades minerales, tales como la incorporación de calcio, que es el mineral necesario para la formación de su concha (CAICYT, 1987); aunque algunos trabajos sugieren que los cultivos de abulón pueden llevarse a cabo de manera exitosa en condiciones de cultivo estáticos (Rojo-Salazar, 2002; Uriarte et al., 2006; Jara-Montañez, 2012, Meza-Tabares, 2012).

### **4.3 Efecto de la rutina alimenticia**

El alimento es el factor más importante que se debe tomar en cuenta tanto para el cultivo de abulón como para otros organismos. Generalmente la alimentación de postlarvas de abulón se hace *ad libitum* sin considerar el alimento requerido por organismo (Carbajal-Miranda *et al.* 2005; Correa-Reyes *et al.*, 2009). Cuando no se consideran factores como la edad, talla o peso de los organismos, el desarrollo de éstos se puede ver comprometido., Rojo-Salazar (2002), Gorrostieta-Hurtado (2005); Miranda-Saucedo (2009); Jaramontañez (2012) y Meza-Tabares (2012) han propuesto esquemas de alimentación con base en la edad, longitud o peso de las postlarvas, las cuales han mejorado tanto la sobrevivencia como el crecimiento de las postlarvas de abulón rojo.

#### **4.3.1 Efecto en la sobrevivencia**

Se encontraron diferencias significativas en la sobrevivencia dadas por la rutina alimenticia suministrada. El efecto de las rutinas se hizo evidente alrededor del día 36 de edad de las postlarvas (Tabla VI y VII), que es alrededor del tiempo en el que se empezó a suministrar la rutina alimenticia dividida en dos porciones (Fig. 8); la sobrevivencia mayor se registró en la rutina A (Tabla VI), que es la rutina de alimentación que divide el IAD en dos porciones.

La determinación de que se empezara a alimentar con la rutina alimenticia en dos dosis en postlarvas de 30 días de edad, fue por que de acuerdo con los

resultados calculados por Meza-Tabares (2012), es alrededor del día 30 de edad cuando se incrementa de manera exponencial la cantidad de alimento a suministrar y menciona los efectos negativos en la sobrevivencia al suministrar altas cantidades de alimento.

Meza-Tabares (2012) menciona que durante el desarrollo de su segundo ensayo experimental se observó que la rutina alimenticia utilizada con base en la longitud y en una sola dosis, pudo haber afectado la sobrevivencia de manera negativa, ya que el aumentar un 50% la cantidad de alimento dio como resultado que al día 63, al tener más de 1,000 postlarvas en las unidades experimentales de densidad alta, la cantidad excesiva de alimento se concentrara en el fondo de la unidad experimental provocando que la mayoría de las postlarvas que estaban en el fondo murieran, mientras que las que quedaron vivas se desplazaron hacia la parte alta de los recipientes.

Es por ello que se sugiere que los datos de Meza-Tabares (2012) resultaron en una sobre-estimación de la ración alimenticia óptima, mientras que la calculada en este trabajo pudiera resultar en una mejor estimación (Tabla III).

#### **4.3.2 Efecto en el crecimiento**

Estadísticamente el efecto de la rutina de alimentación no mostró diferencias significativas en las tasas de crecimiento (Tabla XI). Varios autores (Huchette *et al.*, 2003; Daume *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2009) sugieren que la tasa de crecimiento se ve afectada directamente por la densidad postlarval ya que hay

una fuerte competencia por alimento y espacio, pero un efecto indirecto de altas densidades es la acumulación de productos de desecho. Este efecto se ve posiblemente reflejado en los resultados de crecimiento en donde en la rutina A que es donde se registró la mayor sobrevivencia, se tuvieron las tasas de crecimiento menores (Tabla X), mientras que en las rutinas B y C las sobrevivencias fueron menores con mayores tasas de crecimiento (Tabla X y Fig. 10). Huchette *et al.* (2003) mencionan que cuando hay densidades altas de cultivo de postlarvas, se producen cantidades mayores de desechos orgánicos como el amonio y que cuando se expone a las postlarvas a concentraciones crónicas de amonio, éste resulta tóxico para los organismos. La toxicidad del amonio en los organismos acuáticos se atribuye a la especie química de amonio no ionizado o amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) que está en función principalmente del pH, temperatura, alcalinidad, salinidad y obviamente de la concentración total del amonio medido. Para la temperatura y pH promedios registrados en este estudio (16.8 °C y 8.2, respectivamente), sólo un 3% del amonio total se encuentra en formas no ionizada (Huguenin y Colt, 2002). Por otro lado las diatomeas presentes pueden metabolizar el amonio como nutriente (Tuchkovenko y Calero, 2003; Votolinia *et al.*, 2013). Por lo anterior, aunque en este estudio no se midió este parámetro, se puede suponer que no tuvo un efecto determinante en la tasa de crecimiento ni en la sobrevivencia de las postlarvas.

La relación tasa de crecimiento - densidad probablemente es el elemento de mayor importancia económica en el cultivo de abulón, ya que los costos disminuyen mientras mayor es la tasa de crecimiento (Hahn, 1989). El análisis de regresión en la última semana de experimentación y el promedio final para ésta relación fue significativo (Fig. 12 C y D, Tabla XIX anexos), lo que confirma una relación inversa entre el crecimiento y la densidad de cultivo del abulón (Daume *et al.*, 2004; Huchette *et al.*, 2003; Miranda-Saucedo, 2009; Wu *et al.*, 2009), independientemente del efecto directo de las rutinas alimenticias a las que se sometieron las postlarvas. Aunque este patrón está asociado generalmente a una competencia por el alimento y/o espacio, en este ensayo experimental, aparentemente, el alimento no fue un factor limitante en el crecimiento de las postlarvas, ya que al alimentar se tomó en cuenta el número de postlarvas presentes en cada UE, así que en teoría la cantidad de alimento disponible era la misma para todas las postlarvas. Esto sugiere que la competencia pudo haber sido más importante para explicar este efecto de la densidad de cultivo (Huchette *et al.*, 2003; Lloyd y Bates, 2008).

Los resultados obtenidos al someter a las postlarvas a las rutinas alimenticias aquí utilizadas, pueden ser de gran importancia para los productores de abulón rojo, ya que como en cualquier tipo de producción, la meta es obtener el mayor número de organismos tanto en cantidad como en calidad de producción optimizando y aprovechando al máximo los recursos con los que se cuentan.

El hecho de que con una rutina alimenticia proporcionada en dos dosis se obtengan mayores sobrevivencias durante el periodo postlarval, pudiera ayudar a incrementar la producción en las granjas; sin embargo como ya se ha mencionado, prevalecería el efecto de denso-dependencia.

#### **4.4 Efecto de los parámetros ambientales en la sobrevivencia y crecimiento.**

Si bien los parámetros físico-químicos para ensayos experimentales dentro de los laboratorios se tratan de controlar, la variación de estos ocurre. Los datos obtenidos de los parámetros físico-químicos predominantes durante los ensayos experimentales medidos en la columna de agua, se encontraron dentro de los intervalos óptimos reportados para el cultivo de abulón rojo (Hahn, 1989; Leighton, 1974; Leighton, 2000; Rojo-Salazar 2002, Gorrostieta-Hurtado, 2005; Jara-Montañez, 2012; Meza-Tabares 2012). La temperatura en el agua se mantuvo en los  $16.8 \pm 0.5$  °C promedio, mientras que la temperatura medida en el aire se mantuvo levemente por encima de la registrada en el agua de las UE, pero dentro de los intervalos óptimos descritos para su cultivo ( $17.8 \pm 0.3$  °C) (Fig. 13 A)

Se sabe que la sobrevivencia, la tasa de pastoreo y por ende el crecimiento se ven influenciados de manera importante por la intensidad de luz a las que son cultivadas las postlarvas de abulón (Searcy-Bernal, *et al.*, 2003; Gorrostieta-Hurtado, 2005) y uno de los parámetros ambientales que presentó

mayor variación tanto en tiempo como en espacio fue la intensidad de luz a la que fueron expuestas las postlarvas (Fig. 13 B y C). Estas variaciones dieron como resultado diferencias significativas en las intensidades de luz entre los bloques (ver resultados, apartado de parámetros físico-químicos), sin embargo a pesar de esta diferencia en las intensidades luminosas, la sobrevivencia y el crecimiento por efecto de la intensidad luminosa no presentó diferencias estadísticamente significativas.

Los promedios de longitud en las postlarvas del B2 y del B1 fueron mayores (2026 y 1917  $\mu\text{m}$  respectivamente) en comparación con los B3 y B4 (1806 y 1847  $\mu\text{m}$  respectivamente); las tasas de crecimiento fueron mayores en los B1 y B2 ( $\bar{X}$ = 29 y 35  $\mu\text{m d}^{-1}$  respectivamente), mientras que en los bloques 3 y 4 fueron menores ( $\bar{X}$ = 25 y 26  $\mu\text{m d}^{-1}$  respectivamente). Como se puede ver en la figura 13C, los B1 y B2 presentaron intensidades de luz menores que los B3 y B4. A pesar de que en la semana cuatro se trató de disminuir esta variación entre bloques con una malla oscura, la diferencia aunque menor, se mantuvo. Estas condiciones probablemente provocaron una disminución de las tasa de pastoreo en los bloques más iluminados, que se sabe son significativamente mayores en la oscuridad (Ebert y Houk 1984; Gorrostieta-Hurtado, 2005) debido a que las postlarvas podrían tener hábitos nocturnos desde esta etapa. (Gorrostieta-Hurtado, 2005; Searcy-Bernal y Gorrostieta-Hurtado, 2007).

Las condiciones de OD y pH en la columna de agua (Fig. 14 A y B), se registraron dentro del intervalo óptimo para su cultivo registrado por otros

autores (Hanh, 1989; Searcy-Bernal, 1996; Leighton, 2000; Meza-Tabares, 2012), No obstante, en el fondo de las UE, las concentraciones de oxígeno y pH pueden ser diferentes al resto de la columna de agua. Tomando en cuenta que en la etapa postlarval los organismos miden entre 250  $\mu\text{m}$  hasta 2500  $\mu\text{m}$ , éstos usualmente habitan dentro de lo que algunos autores denominan como la capa límite (Searcy-Bernal, 1996; Gorrostieta-Hurtado, 2005; Roberts, *et al.*, 2000 y 2007). Searcy Bernal (1996) y Roberts, *et al.* (2007), definen la capa límite como la interface entre un sólido y un fluido, que tiene un espesor de unos cuantos micrómetros a varios milímetros y varía en función de la velocidad del flujo y la aireación de las UE. Dentro de la capa límite, el transporte de solutos se realiza principalmente por difusión; de esta forma en condiciones normales de iluminación, debido a la fotosíntesis en la biopelícula asociada ya sea en el fondo marino o en las UE donde se cultivan las postlarvas, la concentración de oxígeno puede llegar a ser mucho mayor dentro de la capa límite que en la columna de agua; sin embargo, en condiciones de obscuridad o poca luz, la concentración de OD puede ser menor que en la columna de agua, debido al proceso que consumen oxígeno (Searcy-Bernal, 1996; Roberts *et al.*, 2000). Por lo anterior y con base en la literatura antes mencionada, es posible que en este trabajo las postlarvas de abulón hayan estado expuestas a concentraciones de oxígeno muy diferentes a las medidas en la columna de agua; sin embargo, no fue posible hacer mediciones dentro de la capa límite para confirmar esta hipótesis.

Los registros tanto de OD como de pH muestran una variación muy pequeña a lo largo del experimento; con excepción de las mediciones realizadas alrededor del día 40. Esta variación en el OD y en el pH pudo haber estado relacionado por una parte al reemplazo del electrodo por uno nuevo en el potenciómetro y por otra, al proceso de mantenimiento del oxímetro (se realizó un cambio de la membrana y solución electrolítica en la tapa de la sonda), lo que pudo haber llevado a errores de calibración en ambos aparatos.

El OD, mostró un ligero incremento en su concentración después de suministrar el alimento, posiblemente debido a la fotosíntesis de las diatomeas (Fig. 14 A). Gorrostieta-Hurtado (2005) menciona que, la concentración de oxígeno aumenta al incrementar el flujo de agua tanto en condiciones de luz como en la obscuridad y que la presencia de flujo de agua permite que las concentraciones de oxígeno no bajen tanto como sucede en UE sin flujo de agua. Fleming *et al.* (1997) mencionan que velocidades de flujo de agua menores al óptimo pueden disminuir la concentración de oxígeno, trayendo condiciones no saludables para el cultivo y el crecimiento de los abulones puede ser inhibido. El haber tenido una aireación constante en este experimento, sugiere que el OD no fue un factor que haya influido críticamente en el desarrollo de las postlarvas ya que en el transcurso del ensayo la concentración de OD promedio tanto en condiciones estáticas y como con flujo fue de  $8.3 \text{ mg L}^{-1}$ .

Harris *et al.* (1999) mencionan que concentraciones menores a 6.16 mg DO L<sup>-1</sup> pueden afectar significativamente la tasa de crecimiento de juveniles del abulón *H. laevigata*; sin embargo, no hay datos similares para postlarvas de *H. rufescens*. Al mantener a los organismos en condiciones de hipoxia la tasa de ingesta de alimento disminuye, teniendo así un menor crecimiento y sobrevivencia Aunque las altas intensidades de luz en una biopelícula pueden ocasionar una supersaturación de oxígeno que pudiera afectar a las postlarvas (Searcy-Bernal, 1996; Gorrostieta-Hurtado y Searcy-Bernal, 2004) hay evidencia de que éstas pueden tolerar hasta un 150% de saturación de oxígeno (Loipersberg, 1996).

En el pH, no se observó una diferencia evidente antes y después de suministrar el alimento (Fig. 14 B), Meza-Tabares (2012), menciona que en uno de sus ensayos experimentales los registros de pH aumentaron conforme se aumentó la cantidad de diatomeas vertidas en sus tratamientos en condiciones sin flujo; debido posiblemente a que los inóculos densos de diatomeas provocaron la disminución del ácido carbónico por efecto de la fotosíntesis (Byrne *et al.*, 2010). Este es el comportamiento que se esperaba observar en el pH después de suministrar densidades altas de alimento y que no fue evidente (Fig. 14B); lo cual posiblemente se debió a que aunque en las primeras semanas se tenía una densidad alta de postlarvas (5 pl/cm<sup>2</sup>), la cantidad de diatomeas por postlarvas por día fue baja (aproximadamente 65 cél/mm<sup>2</sup>), mientras que en las últimas semanas del ensayo experimental se incrementó la

cantidad de células de diatomea por postlarval por día (18,000 cél/mm<sup>2</sup>) pero la sobrevivencia y por ende la densidad de postlarvas fue menor (0.1-0.8 postlarvas/cm<sup>2</sup>).

## 5. CONCLUSIONES

- En concentraciones menores a 2000 cél/mm<sup>2</sup> de *N. incerta* se registró una mejor disponibilidad de diatomeas en el fondo de las UE para las postlarvas.
- Concentraciones mayores a 2000 cél/mm<sup>2</sup> forman grumos, lo cual provocan una la disminución en la disponibilidad para las postlarvas.
- El tiempo óptimo registrado para re- abrir el flujo de agua después de alimentar a las postlarvas de abulón rojo con la diatomea *Navicula incerta*, es de aproximadamente 2 horas.
- Se obtuvo una mayor sobrevivencia cuando las postlarvas se alimentaron con la rutina alimenticia correspondiente pero suministrado en dos dosis (rutina A con 10.5 % de sobrevivencia final).
- Las condiciones óptimas de cultivo para el abulón rojo son las condiciones estáticas, combinadas con cambios de agua diarios, ya que en estas condiciones es cuando se obtienen mayores sobrevivencias.
- Las tasas de crecimiento mayores se registraron en las UE con menores densidades postlarvales, lo cual sugiere un patrón de denso-dependencia.

## 6. COMENTARIOS FINALES Y RECOMENDACIONES

- Si se utiliza una ración alimenticia con base en la longitud del organismo, es recomendable que se suministre en dos dosis al día, para postlarvas mayores de un mes de edad.
- Es posible que una sola curva de la ración alimenticia en función de la longitud no cubra los requerimientos alimenticios de las postlarvas y se requiera una rutina combinando los datos calculados por Meza-Tabares con los del presente trabajo.
- Es necesario implementar estudios de este tipo a escala comercial y estimar si éste tipo de rutinas de alimentación son eficientes y el costo-beneficio resultante.

## 7. LITERATURA CITADA

- Anguiano-Beltrán, C., R. Searcy-Bernal y M.L. Lizárraga-Partida, 1998. Pathogenic effects of *Vibrio alginolyticus* on larvae and postlarvae of the red abalone (*Haliotis rufescens*). Dis. Aquat. Org. 33: 111-118.
- Astudillo-González, J.M., 1993. Aspectos reproductivos del abulón azul en tres zonas: La Bocana, San Juanico y la Poza, B.C.S. México en un ciclo anual. Tesis de Licenciatura en Biología Marina, UABCS, La Paz, B.C.S., México. 71 pp.
- Byrne, M., M. Ho, E. Wong, N.A Soars, P. Selvakumaraswamy, N. Shepard-Brennan, S.A Dworjanyn y A.R Davis, 2010. Unshelled abalone and corrupted urchins: development of marine calcifiers in a changing ocean. Proceeding of Royal Society B. On line Published Enero 24, 8pp.
- CAICYT, 1987. Nutrición en Acuicultura II. Plan de Formación de Técnicos Superiores en Acuicultura. J. Espinoza de los Monteros y U. Labarta Editores. Madrid, España. 330 pp.
- Carbajal-Miranda, M., M.P Sánchez-Saavedra y J.A Simental, 2005. Effect of monospecific and mixed benthic diatom cultures on the growth of red abalone *Haliotis rufescens* (Swainson 1822). J. Shellfish Res. 24(2):401-405.
- Correa-Reyes, J.G., M.P Sánchez-Saavedra, D. Siqueiros-Beltrones y N. Flores-Acevedo, 2001. Isolation and growth of eight strains of benthic diatoms cultured under two Light conditions. J. Shellfish Res. 20: 603-610.
- Correa-Reyes, J.G., M.P Sánchez-Saavedra, M.T Viana, N. Flores-Acevedo, y C. Vásquez-Peláez, 2009. Effect of eight benthic diatoms as feed on the growth of red abalone (*Haliotis rufescens*) postlarvae. J. Appl. Phycology 21: 387-393.
- Cortés-Altamirano, R. y S. Licea-Duran, 1999. Florecimientos de microalgas nocivas en estanques para cultivo semi-intensivo de camarón en México. Revista Latinoamericana de Microbiología, 41:157-166.
- Daume, S., S. Huchette, S. Ryan y R.W. Day, 2004. Nursery culture of *Haliotis rubra*: The effect of cultured algae and larval density on settlement and juvenile production. Aquaculture 236: 221–239.

- Daume, S., 2006. The roles of bacteria and micro and macro algae in abalone aquaculture: A Review. *J. Shellfish Res.* 25 (1): 151-157.
- Day, R., P. Gilmour y S. Huchette, 2004. Effects of Density and food supply on postlarval abalone: Behaviour, Growth and Mortality. *J. Shellfish Res.* 23 (4): 1009-1018.
- Durazo-Beltrán, E., 1997. El uso de ficocoloides en dietas artificiales para abulón. Tesis de Maestría. Posgrado en Oceanografía Costera. Facultad de Ciencias Marinas. UABC, Ensenada, B. C., México. 70pp.
- Durazo-Beltrán, E., M.T. Viana, L.R. D'Abrahamo y J.F. Toro-Vázquez, 2004. Effects of starvation and dietary lipid on the lipid and fatty acid composition of muscle tissue of juvenile green abalone (*Haliotis fulgens*). *Aquaculture* 238: 329–341.
- Ebert, E.E. y J.L. Houk, 1984. Elements and innovations in the cultivation of red abalone *Haliotis rufescens*. *Aquaculture* 39: 375– 392.
- Ebert, E. E., 1992. Abalone aquaculture: a North America regional review. En: S.A. Shepher, M. J. Tegner y S. A. Guzmán del Prío (eds.). *Abalone of the World: Biology, Fisheries and Culture. First International Symposium on abalone*, La Paz, México, 1989. Fishing New Books. Oxford. 570-582p.
- FAO/UNDP, 1990. Training Manual on Artificial Breeding of Abalone (*Haliotis discus hannai*). Shallow Seafarming Research Institute in Kosong, Korea DPR. Training Manual 7, FAO/UNDP Regional Sea farming Project. 105p.
- Fleming, A., P. Hone y J. Higman, 1997. The effect of water velocity on consumption and growth of greenlip abalone in tanks. *Abalone Aquaculture Sub-program Proceeding of the 4<sup>th</sup> Annual Abalone*.
- Gorrostieta-Hurtado, E. y R. Searcy-Bernal, 2004. Combined effects of light condition (constant illumination or darkness) and diatom density on postlarval survival and growth of the abalone *Haliotis rufescens*. *J. Shellfish Res.* 23(4): 1001-1008.
- Gorrostieta-Hurtado, E., 2005. Efecto de la Densidad de alimento, la luz y el flujo de agua en el crecimiento de las postlarvas de abulón *Haliotis spp.* Tesis de Doctorado. Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada. Ensenada B. C. México. pp.: 243

- Guzmán del Proó, S.A., 1992. A review of the biology of abalone and its fishery in Mexico. In: S. A. Shepherd, M. J. Tegner & S.A. Guzmán del Proó, editors. *Abalone of the world: biology, fisheries and culture*. Oxford: Fishing News Books. pp. 341–360.
- Haaker, P. L., K.C. Henderson y D.O. Parker, 1986. *California Abalone*. Marine Resources Leaflet No. 11, California. 16p.
- Hahn, K. O., 1989. *Handbook of culture of abalone and other marine gastropods*. CRC Press. Boca Raton, Florida. 348 pp.
- Harris, J.O., G.B. Maguire, S.J. Edwards y D.R. Johns, 1999. Low dissolved oxygen reduces growth rate and oxygen consumption rate of juvenile greenlip abalone, *Haliotis laevigata* Donovan. *Aquaculture* 174: 265-278.
- Huchette, S. M., C.S. Koh y R.W. Day, 2003. Growth of juvenile blacklip abalone (*Haliotis rubra*) in aquaculture tanks: effects of density and ammonia. *Aquaculture* 219: 457 – 470.
- Huguenin, J. y J. Colt, 2002. *Design and operating guide for aquaculture seawater systems*. 2nd. Edition. Elsevier. Amsterdam, Netherlands. 327pp.
- Jara-Montañez, R., 2012. Producción intensiva de postlarvas de abulón (*Haliotis rufescens*) en cultivo estático utilizando raciones de alimento peso- específicas y distintas densidades postlarvales. Tesis de Maestría. Posgrado en Oceanografía Costera. Facultad de Ciencias Marinas. UABC, Baja California, México. 84 pp.
- Kang, K.H., Z. Quian, B. Ryu y S. Kim, 2011. Characterization of growth and protein contents from microalgae *Navicula incerta* with the investigation of antioxidant activity of enzymatic hydrolysates. *Food Sci. Biotechnology* 20(1): 183-191.
- Kawamura, T. y H. Takami, 1995. Analysis of feeding and growth rate of newly metamorphosed abalone *Haliotis discus hannai* fed four species of benthic diatom. *Fisheries Science* 61: 357 – 558.
- Kawamura, T., T. Saido, H. Takami y Y. Yamashita, 1995. Dietary value of benthic diatoms for the growth of post-larval abalone *Haliotis discus hannai*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 194:189–199.

- Kawamura, T., R.D. Roberts y C.M. Nicholson, 1998. Factors affecting the food value of diatom strains for post-larval abalone *Haliotis iris*. *Aquaculture* 160:81-88.
- Leal, S., A. Miranda, R. Curbelo y J. Hernández, 2010. Las diatomeas bentónicas como fuente de alimento en el cultivo larvario del camarón y otros organismos acuáticos. *Avances en Nutrición Acuícola X Memorias del X Simposio Internacional de Nutrición Acuícola*. San Nicolás de los Garza, N. L., México. ISBN 978-607- 433-546-0. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México, pp. 598-619.
- Leal, S., R. Curbelo, X. Vega, N. Nuñez y J. Hernández, 2012. Método de dispersión de biopelículas en cultivos de la diatomea bentónica *Amphora sp.* para facilitar el conteo directo. *Serie Oceanológica*, 10:1-7.
- Leighton, L.D., 1974. The influence of the temperature on larval a juvenile growth in three species of southern California abalones. *Fishery Bulletin*, 72(4): 1137-1145.
- Leighton, L. D., 2000. The biology and culture of the California abalones. Dorrance Publishing Co. Pittsburgh, Pennsylvania. 216 pp.
- Leiva-Cerezo, A.V., 2008. Eventos de marea roja ocurridos en el Océano Pacífico de Guatemala. Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología del Medio Ambiente. Facultad de Ingeniería. Universidad de San Carlos de Guatemala. 50 pp.
- Lloyd, M. J. y A.E. Bates, 2008. Influence of density-dependent food consumption foraging and stacking behavior on the growth rate of the Northern abalone, *Haliotis kamtschatkana*. *Aquaculture* 277: 24-29.
- Loipesberger, M., 1996. "The effect of enhanced oxygen levels on abalone survival and feeding behavior". Presentation at the third Annual Abalone Proceedings Aquaculture Workshop. August 1996. Port Lincoln, Australia.
- Martínez-Ponce, D.R. y R. Searcy-Bernal, 1998. Grazing rates of red abalone (*Haliotis rufescens*) postlarvae feeding on the benthic diatom *Navicula incerta*. *J. Shellfish Res.* 17:627-630.
- Matamala-Catalan L., 2007. Cultivo de postlarvas de abulón rojo (*Haliotis rufescens*) en sistema abierto mediante microalgas y macroalgas

- bentónicas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Escuela de Biología Marina, Universidad Austral de Chile. 61 pp.
- Meza-Tabares, S. O., 2012. Alimentación intensiva de postlarvas de Abulón (*Haliotis spp.*) en tres densidades de cultivo. Tesis de Maestría. Posgrado en Oceanografía Costera. Facultad de Ciencias Marinas. UABC, Baja California, México. 119 pp.
- Miranda-Saucedo, C.M., 2009. Supervivencia y crecimiento de postlarvas y juveniles de *Haliotis rufescens* (Swainson, 1822) con diferentes rutinas de alimentación con *Navicula incerta*. Tesis de Licenciatura en Biología Marina, UABCS, La Paz, B. C. S., 56 pp.
- Morales-Bojórquez, E., M.O. Muciño-Díaz y J.A. Vélez-Barajas, 2008. Analysis of the decline of the abalone fishery along the west central coast of the Baja California peninsula, México. J. Shellfish Res. 27:865–870.
- Moreno de la Torre, R., 2001. Supervivencia y crecimiento del abulón rojo *Haliotis rufescens* (Swainson, 1822) en un sistema de cultivo comercial, alimentado con tres dietas balanceadas y la macroalga *Macrocystis pyrifera*. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. Baja California, México. 50 pp.
- Muciño Díaz, M.O., Turrubiates Morales, J.R. y Ayala Murillo R., 2007. Situación actual de las poblaciones de abulón azul (*Haliotis fulgens*) y abulón amarillo (*H. corrugata*) de Punta Prieta a San Hipólito, B.C.S., México, temporada 2007. INAPESCA, Dirección General de Investigación Pesquera en el Pacífico Norte.
- Pérez Muñoz, G. E., 1995. El cultivo de abulón en México: desarrollo histórico, estado actual y sus perspectivas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. UABC. Ensenada, B.C., México. 121 pp.
- Ponce-Díaz, G., S.E. Luch-Cota, J.J. Bautista-Romero y D. Lluch- Belda, 2003<sup>a</sup>. Caracterización multiescala de la temperatura del mar en una zona de bancos de abulón (*Haliotis spp.*) en Bahía Asunción, Baja California Sur, México. Ciencias Marinas 29:291–303.
- Ponce-Díaz, G., S. Sánchez-Hernández y E. Yuen-Sánchez, 2003<sup>b</sup>. Alternativas para fortalecer la cadena productiva de la pesquería de abulón. CONAPESCA – CIBNOR-BANCOMEXT. La Paz, México: 215 pp.

- Roberts, R., T. Kawamura y H. Tanaki, 2000. Diatoms for abalone culture: A workshop for abalone farmers. New Zealand, 4<sup>th</sup> International Abalone Symposium, Cawthron Report No. 547, Cawthron Institute, 28p.
- Roberts, R., N.P. Revsbech y L.R. Damgaard, 2007. Effect of water velocity and benthic diatom morphology on the water chemistry experienced by postlarval abalone. *J. Shellfish Res.* 26(3):745-750.
- Rojo-Salazar, G., 2002. Sobrevivencia y crecimiento de postlarvas y juveniles de *Haliotis rufescens* alimentadas con diatomeas betónicas. Tesis de Maestría. Posgrado en Oceanografía Costera. Facultad de Ciencias Marinas, UABC, Ensenada, 103 pp.
- Salas-Garza, A. E. y R. Searcy-Bernal, 1992. Development and present status of Abalone culture in México. En: S. A. Shepherd, M. J. Tegner & S. A. Guzmán del Proó, editors. *Abalone of the world: biology, fisheries and culture*. Oxford: Fishing News Books. pp. 538–546.
- Searcy-Bernal, R., A.E. Salas-Garza, R. Flores-Aguilar y P.R. Hinojosa-Rivera, 1992. Simultaneous comparison of methods for settlement and metamorphosis induction in the red abalone (*Haliotis rufescens*). *Aquaculture* 105: 241-250.
- Searcy-Bernal, R., 1996. Boundary layers and abalone postlarval culture. Preliminary studies. *Aquaculture*. 140: 129-137.
- Searcy-Bernal, R. y C. Anguiano-Beltrán, 1998. Optimizing the concentration of gamma-aminobutyric acid (GABA) for inducing larval metamorphosis in the red abalone *Haliotis rufescens*. *J. World Aquac. Soc.* 29:463-470.
- Searcy-Bernal, R., L.A. Vélez-Espino y C. Anguiano-Beltrán, 2001. Effect of biofilm density on grazing and growth rates of *Haliotis fulgens* postlarvae. *J. Shellfish Res.* 20(2): 587-591.
- Searcy-Bernal, R., C. Anguiano-Beltrán y A. Esparza-Hernández, 2003. The effect of irradiance on the survival and growth of abalone postlarvae *Haliotis fulgens* fed *Navicula incerta*. *Aquaculture* 228: 237–248.
- Searcy-Bernal, R. y E. Gorrostieta-Hurtado, 2007. Effect of darkness and water flow rate on survival, grazing and growth rates of abalone *Haliotis rufescens* postlarvae. *J. Shellfish Res.* 26(3):789-794.

- Searcy-Bernal, R., E. Pérez-Sánchez, C. Anguiano-Beltran y R. Flores-Aguilar, 2007. Metamorphosis and postlarval growth of abalone *Haliotis rufescens* in a Mexican commercial hatchery. J. Shellfish Res. 26 (3): 783-787.
- Searcy-Bernal, R., M.R. Ramalde-Villanueva y B. Altamira, 2010. Current Status of Abalone Fisheries and Culture in Mexico. J. Shellfish Res. 29(3):573-576.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), 2010. Anuario Estadístico de Pesca. México, 21 pp.
- Secretaría de Pesca, 1994. Desarrollo Científico y Tecnológico del Cultivo del Abulón. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., México, 77 p.
- Siqueiros-Beltrones, D., 1994. Asociaciones de diatomeas bentónicas marinas: análisis de su estructura y aplicación. Universidad Autónoma de Baja California Sur, Tópicos Selectos sobre Microalgas, Serie Científica 2(1): 59-71.
- Siqueiros-Beltrones, D. y D. Voltolina, 2000. "Grazing selectivity of red abalone *Haliotis rufescens* postlarvae on benthic diatom films under culture conditions. J. World Aquac. Soc. 31: 239-246 p.
- Tuchkovenko, Y.S. y Calero, L.A., 2003. Modelo matemático del ecosistema de la Ciénaga Grande de Santa Marta. Bol. Invest. Mar. Cost., 32:145-167.
- Uriarte, I., R. Roberts y A. Farías, 2006. The effect supplementation on the biochemical composition of benthic diatoms and the growth and survival of post-larval abalone. Aquaculture, 261: 423 – 429.
- Van der Merwe, M., P. Franchini y R. Roodt-Wilding, 2011. Differential growth-related gene expression in abalone (*Haliotis midae*). Mar Biotechnol, 13:1125-1139.
- Viana, M.T., 2002. Avances en la Nutrición, Fisiología Digestiva y Metabolismo del Abulón. Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Cancún, Quintana Roo, México.
- Viana, M.T., J.P. Lazo, R. Frías Díaz, E. Durazo Beltrán y C. Vásquez Peláez, 2007. Fisiología digestiva y metabolismo durante el destete del

abulón azul *Haliotis fulgens* alimentado con tres diferentes microalgas bentonitas. XIII Congreso Bienal Amena, Veracruz 2007 Dr. Alberto Rivera Brechu.

Votolinia, D., J.M. Audelo-Naranjo, E. Romero-Beltrán, M.R. Pacheco-Marges y L. López-Valenzuela, 2013. Promoción del perifiton para el cultivo de camarón blanco: Hacia una acuicultura ecológica. Bol. Inst. Pesca, Sao Paulo. 39(2): 179-186.

Wu, F., Liu, X., G. Zhang y C. Wang, 2009. Effects of the initial size, stocking density and sorting on the growth of juvenile Pacific abalone, *Haliotis discus hannai* Ino. Aquaculture Research 40: 1103 – 1110.

## 8. ANEXOS

Tabla XII. Estimación de células totales en el fondo de las UE en los cinco tiempos de muestreo para las cinco densidades.

Densidad de Inóculo (cél/mm <sup>2</sup> )	Tiempo (h) de inóculo				
	0.5	1	2	3	4
<b>100</b>	1,448,020	1,918,317	2,215,347	2,821,782	3,514,851
<b>500</b>	7,054,455	10,792,079	10,891,089	13,663,366	14,504,950
<b>2000</b>	19,585,396	34,826,733	40,433,168	51,051,980	50,061,881
<b>5000</b>	39,362,624	42,995,050	53,948,020	56,299,505	58,650,990
<b>10000</b>	39,090,347	43,118,812	44,591,584	51,831,683	55,631,188

Tabla XIII. Porcentaje ( $\bar{X} \pm E.E.$ ) de sobrevivencia de postlarvas de abulón rojo con tres rutinas alimenticias con *N. incerta* y dos condiciones de cultivo (con flujo y estáticas) para el ensayo experimental.

Edad (días)	A C/F	A S/F	B C/F	B S/F	C C/F	C S/F
<b>9</b>	100	100	100	100	100	100
<b>15</b>	75.5 ± 8.0	90.6 ± 8.3	75.1 ± 10.1	88.2 ± 9.6	73.9 ± 9.3	83.5 ± 3.5
<b>22</b>	39.7 ± 10.1	43.8 ± 12.4	35.9 ± 4.0	55.1 ± 7.0	36.2 ± 3.0	56.5 ± 7.8
<b>29</b>	23.8 ± 8.7	31.8 ± 10.6	25.1 ± 6.3	25.7 ± 2.1	20.9 ± 1.4	29.7 ± 10.7
<b>36</b>	14.2 ± 3.1	27.4 ± 4.4	8.8 ± 3.3	8.3 ± 0.5	6.3 ± 0.6	14.3 ± 3.1
<b>43</b>	11.9 ± 2.9	19.7 ± 4.3	5.9 ± 2.3	3.6 ± .6	4.2 ± 0.8	8.9 ± 4.6
<b>48</b>	11.5 ± 3.3	17 ± 3.9	5.3 ± 2.6	2.2 ± 0.3	2.8 ± 0.7	5.2 ± 2.0
<b>55</b>	9.1 ± 3.1	11.9 ± 3.4	3.7 ± 1.9	1.4 ± 0.2	1.9 ± 0.7	3.4 ± 1.1

Tabla XIV. Análisis de comparaciones múltiples de Tukey para los datos de sobrevivencia de postlarvas transformados.

<b>Día</b>	<b>COMPARACIONES</b>	<b>P</b>
<b>9</b>	—	—
<b>15</b>	B1-B2	<b>0.015404</b>
	B1-B3	0.881569
	B1-B4	0.990757
	B2-B3	<b>0.003722</b>
	B2-B4	<b>0.027282</b>
	B3-B4	0.734941
<b>22</b>	CF-SF	<b>0.040934</b>
<b>29</b>	—	—
<b>36</b>	CF-SF	<b>0.005464</b>
	A-B	<b>0.001167</b>
	A-C	<b>0.005113</b>
	B-C	0.716301
<b>43</b>	A-B	<b>0.003324</b>
	A-C	<b>0.012566</b>
	B-C	0.780178
<b>48</b>	A-B	<b>0.001782</b>
	A-C	<b>0.002990</b>
	B-C	0.959015
<b>55</b>	A-B	<b>0.001443</b>
	A-C	<b>0.002229</b>
	B-C	0.970440

Tabla XV. Longitud ( $\bar{X} \pm E.E.$ ) de postlarvas de abulón rojo con tres rutinas alimenticias con *N. incerta* y dos condiciones de cultivo (con flujo y estáticas).

Edad (días)	A C/F	A S/F	B C/F	B S/F	C C/F	C S/F
9	431.2 ± 7.9	432.1 ± 1.1	429.2 ± 4.5	433.6 ± 2.6	427.6 ± 6.7	431.2 ± 7.3
15	509.8 ± 9.6	539.8 ± 12.0	510.0 ± 7.0	512.4 ± 6.9	501.6 ± 5.7	529.1 ± 11.2
22	592.6 ± 16.8	598.8 ± 10.5	603.0 ± 10.8	622.3 ± 32.8	611.2 ± 29.3	575.4 ± 12.1
29	712.8 ± 57.6	733.2 ± 15.9	690.6 ± 22.0	745.4 ± 10.2	672.2 ± 21.6	751.0 ± 44.5
36	867.2 ± 86.6	854.3 ± 34.1	821.5 ± 47.7	903.9 ± 25.6	854.9 ± 34.1	914.6 ± 82.1
43	1159.5 ± 136.8	1104.1 ± 40.5	1150.7 ± 89.3	1260.5 ± 26.5	1222.1 ± 22.6	1292.2 ± 78.9
48	1421.9 ± 117.2	1411.6 ± 50.7	1439.3 ± 121.0	1649.8 ± 59.4	1498.9 ± 23.9	1639.0 ± 105.4
55	1705.0 ± 176.6	1657.8 ± 57.5	1753.4 ± 47.1	1997.7 ± 98.5	1851.8 ± 82.1	1984.0 ± 106.4

Tabla XVI. Análisis de comparaciones múltiples de Tukey para los datos de longitud de postlaravas.

Día	COMPARACIONES	P
<b>9</b>	B1-B2	0.952829
	B1-B3	0.950882
	B1-B4	0.095040
	B2-B3	0.724108
	B2-B4	<b>0.036253</b>
	B3-B4	0.230104
<b>15</b>	CF-SF	<b>0.008969</b>
<b>22</b>	B1-B2	0.104436
	B1-B3	0.983730
	B1-B4	0.897159
	B2-B3	0.054482
	B2-B4	<b>0.028721</b>
<b>29</b>	CF-SF	<b>0.036352</b>
	B1-B2	<b>0.036537</b>
	B1-B3	0.995612
	B1-B4	0.708480
	B2-B3	0.056288
	B2-B4	0.241489
B3-B4	0.831306	
<b>36</b>	—	—
<b>43</b>	B1-B2	<b>0.024445</b>
	B1-B3	0.660985
	B1-B4	0.626431
	B2-B3	0.197647
	B2-B4	0.216828
	B3-B4	0.999932
<b>48</b>	B1-B2	<b>0.012829</b>
	B1-B3	0.304364
	B1-B4	0.608584
	B2-B3	0.322686
	B2-B4	0.131985
	B3-B4	0.939715
<b>55</b>	A-B	0.051823
	A-C	<b>0.021177</b>
	B-C	0.651240
	B1-B2	<b>0.008093</b>
	B1-B3	0.329106
	B1-B4	0.183700
	B2-B3	0.208290
	B2-B4	0.366298
B3-B4	0.979919	

Tabla XVII. Tasa de crecimiento ( $\bar{X} \pm E.E.$ ) de postlarvas de abulón rojo con tres rutinas alimenticias con *N. incerta* y dos condiciones de cultivo (con flujo y estáticas).

Edad (días)	A C/F	A S/F	B C/F	B S/F	C C/F	C S/F
<b>9-15</b>	11.2 ± 0.7	15.4 ± 1.6	11.5 ± 0.9	11.3 ± 0.7	10.6 ± 0.2	14.0 ± 0.7
<b>15-22</b>	11.1 ± 1.0	11.9 ± 2.6	9.2 ± 1.5	12.9 ± 1.6	12.7 ± 1.7	13.8 ± 3.6
<b>22-29</b>	21.0 ± 6.4	25.5 ± 6.9	11.1 ± 3.1	20.4 ± 1.5	11.7 ± 1.4	19.7 ± 3.9
<b>29-36</b>	19.0 ± 7.1	7.5 ± 12.3	20.1 ± 8.0	22.6 ± 4.4	26.1 ± 2.1	21.6 ± 6.4
<b>36-43</b>	43.6 ± 6.8	43.3 8.0	49.3 ± 20.7	43.4 ± 5.8	52.5 ± 4.4	53.9 ± 3.0
<b>43-48</b>	35.6 ± 11.4	36.4 ± 5.0	43.1 ± 8.5	63.2 ± 5.6	39.5 ± 3.3	49.5 ± 4.0
<b>48-55</b>	40.4 ± 9.3	35.2 ± 1.8	44.9 ± 6.6	49.7 ± 8.9	50.4 ± 10.6	49.3 ± 2.4
<b>9-55</b>	23.2 ± 3.1	22.3 ± 1.0	24.1 ± 2.6	28.4 ± 1.8	25.9 ± 1.6	28.2 ± 1.8

Tabla XVIII. Análisis de comparaciones múltiples de Tukey para los datos de la tasa de crecimiento para el ensayo experimental.

<b>Día</b>	<b>COMPARACIONES</b>	<b>P</b>
<b>9</b>	— —	—
<b>9-15</b>	CF-SF	<b>0.007032</b>
<b>15-22</b>	B1-B2	<b>0.022658</b>
	B1-B3	0.999902
	B1-B4	0.960969
	B2-B3	<b>0.025725</b>
	B2-B4	0.057150
	B3-B4	0.974132
<b>22-29</b>	CF-SF	<b>0.024011</b>
	B1-B2	<b>0.024169</b>
	B1-B3	0.981001
	B1-B4	0.381311
	B2-B3	<b>0.049668</b>
	B2-B4	0.401623
	B3-B4	0.592132
<b>29-36</b>	— —	—
<b>36-43</b>	— —	—
<b>43-48</b>	— —	—
<b>48-55</b>	— —	—

Tabla XIX. Análisis de regresión semanal para la relación tasa de crecimiento – densidad postlarval.

SEMANA	y	r <sup>2</sup>	F	Valor Critico de F
1	3.697x - 2.6725	0.4997	3.9957	0.1163
2	2.5233x + 6.3041	0.5105	4.1719	0.1106
3	20.512x - 8.6367	0.5132	4.2171	0.1092
4	-15.752x + 29.897	0.9051	38.1346	<b>0.0035</b>
5	-6.9357x + 50.789	0.1865	0.9173	0.3924
6	-23.734x + 53.234	0.4264	2.9740	0.1597
7	-28.019x + 52.296	0.9465	70.7573	<b>0.0011</b>
<b>FINAL</b>	<b>-10.162x + 28</b>	<b>0.6869</b>	<b>8.7737</b>	<b>0.0415</b>

Tabla XX. Análisis de comparaciones múltiples de Tukey para los datos de intensidad luminosa (LUXES) registrada entre bloques para el ensayo experimental con postlarvas.

COMPARACIONES	P
B1-B2	0.107780
B1-B3	<b>0.000174</b>
B1-B4	<b>0.000161</b>
B2-B3	<b>0.003047</b>
B2-B4	<b>0.000170</b>
B3-B4	<b>0.038686</b>