



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA



FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

BIOTECNOLOGÍA EN ACUACULTURA



Conocimiento, Desarrollo y Progreso

USO DE *NAVICULA INCERTA* PARA LA ALIMENTACIÓN DE POSTLARVAS DE *HALIOTIS RUFESCENS* (SWAINSON, 1822) CON RACIÓN PESO ESPECÍFICA Y *AD LIBITUM*

Tesis para obtener el título de

Licenciado de Biotecnología en Acuicultura

Presenta

Jazmine Gutiérrez Castañeda

Ensenada, Baja California, México.

Abril de 2018.

**USO DE *NAVICULA INCERTA* PARA LA ALIMENTACIÓN DE
POSTLARVAS DE *HALIOTIS RUFESCENS* (SWAISON, 1822)
CON RACIÓN PESO ESPECÍFICA Y *AD LIBITUM***

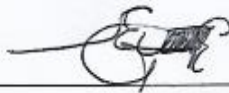
Tesis para obtener el título de

Licenciado de Biotecnología en Acuicultura

Presenta

Jazmine Gutiérrez Castañeda

Aprobada por:



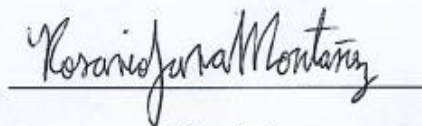
Director de tesis

Dr. Enrique Valenzuela Espinoza



Sinodal

Dr. Mario A. Galaviz Espinoza



Sinodal

M. C. Rosario Jara Montañez

*Soy de los que piensan que la ciencia tiene una gran belleza.
Un científico en su laboratorio no es sólo un técnico, también es un niño colocado
ante fenómenos naturales que lo impresionan como un cuento de hadas.*

Marie Curie

Resumen

Comúnmente, para el cultivo de postlarvas de *Haliotis rufescens* en Baja California, México, se utiliza el sistema de cultivo japonés y americano. En ambos sistemas, el cultivo de postlarvas difieren y dependen del suministro continuo de agua de mar durante 24 horas. En este estudio, se evaluó la factibilidad técnica del cultivo estático sin aireación, sin flujo de agua de mar y el uso de raciones peso específicas y *ad libitum* de *Navicula incerta* para alimentar postlarvas de *H. rufescens*. Reproductores en estado visual gonadal 2 fueron inducidos al desove mediante el método de peróxido de hidrógeno al 6% y solución de Tris 2 molar. La fertilización se realizó mezclando esperma y óvulos en proporción de 10 espermias por óvulo. Como resultado se obtuvieron 1.4×10^6 larva trocófora. Al 4 y 5 día postfertilización la larva se indujo al asentamiento con biopelículas de *N. incerta*. Al quinto día la metamorfosis se completó y el tamaño de la postlarva fue $269.7 \pm 0.45 \mu\text{m}$. Después, postlarvas de 43 días de edad se evaluaron mediante un diseño aleatorio simple con dos tratamientos experimentales y tres réplicas, durante 6 semanas. Diario se recambió el 100% del agua de cultivo y cada semana 10 postlarvas por tratamiento fueron fotografiadas y medidas bajo microscopio con el programa Axiovision LE versión 4.8, para determinar longitud de la concha, tasa de crecimiento y peso seco, el cual se usó para ajustar la ración alimenticia de la postlarva. A partir de la tercera semana la ración se incrementó en un 10% en ambos tratamientos. En la primera semana se registró 94 y 92% de supervivencia en la ración peso específica y *ad libitum*. Al final del estudio la supervivencia (44%) fue mayor y significativa ($P=0.02$) en la ración *ad libitum* con respecto a la peso específica (23%); sin embargo, la longitud de la concha y la tasa de crecimiento no fue significativa entre tratamientos. La irradiación tuvo un efecto adverso en la supervivencia, la cual disminuyó a $67.5 \pm 2.01\%$ y $68.75 \pm 4.5\%$ en la ración peso específica y *ad libitum* en las tres primeras semanas del cultivo, sin diferencias significativas entre tratamientos. También, se observó un efecto significativo ($F= 24.4$, $P=0.001$) del pH en la supervivencia, donde postlarvas alimentadas con ración peso específica registraron mayor concentración de amonio no ionizado que aquellas alimentadas *ad libitum*. Los resultados del método aquí desarrollado son comparables con estudios que usan el sistema de cultivo japonés o americano. Por lo tanto, el método de cultivo estático constituye una alternativa viable para la producción de postlarva y juveniles tempranos de *H. rufescens* en la industria del abulón.

DEDICATORIA

A mis padres, sin ellos nada de esto hubiera sido posible.

Gracias por todo lo que han hecho por mí a lo largo de estos años, gracias por el apoyo, la confianza y la motivación que me brindan día a día. Gracias por creer en mí.

A mi papá, gracias por todo lo que haces por mí, por brindarme un techo, comida y educación. Gracias por tus consejos, tus regaños y tu confianza.

A mi mamá, gracias por los consejos, la confianza y la dedicación, por ser la persona que eres y por estar siempre pendiente de mí.

Los adoro con todo mi corazón y quiero que sepan que tienen todo mi respeto y admiración. Porque cada cosa que hago y paso que realizo lo hago con el fin de que estén orgullosos de mí y de regresarles una parte de lo que ustedes han hecho.

A mis abuelos, hermanos, familia y todas las personas que han sido testigos de este largo proceso que por fin concluye e inicia uno nuevo.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a la Universidad Autónoma de Baja California (UABC), a la Facultad de Ciencias Marinas y al Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO) por brindarme la oportunidad de participar en proyectos de investigación y proporcionarme las herramientas necesarias para mi formación académica.

De todo corazón, muchas gracias al Dr. Enrique Valenzuela Espinoza por recibirme con los brazos abiertos en el laboratorio de producción de microalgas, por la infinita paciencia, la confianza, la motivación y el conocimiento que me proporcionó durante mi formación académica. Gracias por ayudarme y alentarme durante este largo proceso, pero sobre todo gracias por compartir su conocimiento sin guardarse nada. Gracias por despertar en mí el interés de la investigación y la inquietud de buscar la respuesta a lo desconocido. No existen palabras que expresen mi admiración, respeto y gratitud por todo lo que aportó en mi formación académica y personal.

A mis sinodales. La Maestra Rosario Jara Montañez, muchísimas gracias por su apoyo y sus consejos a lo largo de mi estancia en el laboratorio, por la paciencia y la motivación para terminar este proyecto. Al Dr. Mario Alberto Galaviz Espinoza, quien fue mi tutor y maestro durante la licenciatura, gracias por el apoyo y los consejos.

Al Ocean. Filiberto Cebrero Núñez, por las pláticas, la amistad y las risas durante mi estancia en el laboratorio, gracias por enseñarme a no preocuparme tanto cuando algo no salía bien.

Al Ocean. Marco Aurelio González Gómez, muchas gracias por el conocimiento que me proporcionó, por las pláticas durante las horas de trabajo y la paciencia. Mi respeto y admiración, fue un placer trabajar con usted.

También quiero agradecer al M.C. José Carlos Garduño Franco a quien conocí durante la realización de mis prácticas profesionales. Gracias por la oportunidad, la confianza, los consejos, las largas jornadas de trabajo que me enseñaron muchísimo. Gracias por hacerme sentir parte del equipo y sobre todo gracias por darme la oportunidad de conocerlo.

Por último, quiero agradecer a mis compañeros de licenciatura, amigos, directivos, maestros, técnicos de laboratorio, personas con las que trabajé durante mis prácticas profesionales, servicio social y a todas las personas que directa o indirectamente me apoyaron en la realización de este proyecto, pero sobre todo a mis padres que sin ellos nada de esto hubiera sido posible.

¡Muchas gracias!

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Diseño experimental aleatorio simple con dos tratamientos (peso específico y <i>ad libitum</i>) y tres réplicas cada uno.	11
Figura 2. Desarrollo embrionario, larval, postlarval y juvenil de <i>Haliotis rufescens</i> cultivado en sistema estático y alimentado con ración peso específica y <i>ad libitum</i> .	14
Figura 3. Temperatura promedio durante el cultivo postlarval de <i>H. rufescens</i> alimentado con ración peso específica y <i>ad libitum</i> . La barra vertical indica el error estándar (n=3).	16
Figura 4. Valores promedio de pH durante el cultivo postlarval de <i>H. rufescens</i> alimentado con ración peso específica y <i>ad libitum</i> . La barra vertical indica el error estándar (n=3).	17
Figura 5. Valores promedio de oxígeno disuelto durante el cultivo postlarval de <i>H. rufescens</i> alimentado con ración peso específica y <i>ad libitum</i> . La barra vertical indica el error estándar (n=3).	18
Figura 6. Valores promedio en la concentración de amonio no ionizado durante el cultivo postlarval de <i>H. rufescens</i> alimentado con ración peso específica y <i>ad libitum</i> . La barra vertical indica el error estándar (n=3).	19
Figura 7. Valores promedio en la supervivencia durante el cultivo postlarval de <i>H. rufescens</i> alimentado con ración peso específica y <i>ad libitum</i> . La barra vertical indica el error estándar (n=3).	21
Figura 8. Valores promedio en la longitud durante el cultivo postlarval de <i>H. rufescens</i> alimentado con ración peso específica y <i>ad libitum</i> . La barra vertical indica el error estándar (n=3).	22
Figura 9. Tasa de crecimiento promedio de postlarvas de <i>H. rufescens</i> durante el cultivo postlarval de <i>H. rufescens</i> alimentado con ración peso específica y <i>ad libitum</i> . La barra vertical indica el error estándar (n=3).	24
Figura 10. Peso seco promedio de postlarvas de <i>H. rufescens</i> alimentado con ración peso específica y <i>ad libitum</i> . La barra vertical indica el error estándar (n=3).	26

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla I. Análisis de varianza de una vía para datos de longitud de la concha de postlarvas de <i>H. rufescens</i> alimentadas con <i>N. incerta</i> en base a raciones peso específica y <i>ad libitum</i> .	22
Tabla II. Tasa de crecimiento diaria en términos de longitud de concha calculada de acuerdo a Capinpin y Corre (1996) para la ración peso específica.	23
Tabla III. Tasa de crecimiento diaria en términos de longitud de concha calculada de acuerdo a Capinpin y Corre (1996) para la ración <i>ad libitum</i> .	23
Tabla IV. Valores promedio de peso seco de postlarvas de <i>H. rufescens</i> alimentadas con raciones peso específica y <i>ad libitum</i> .	25
Tabla V. Análisis de varianza de una vía para datos de peso seco de postlarvas de <i>H. rufescens</i> alimentadas con raciones peso específica y <i>ad libitum</i> .	25

CONTENIDO

	Pág.
1. Introducción	1
2. Antecedentes	3
3. Hipótesis	6
4. Objetivo	6
4.1. Objetivos específicos	6
5. Materiales y métodos	7
5.1. Cultivo de <i>Navicula incerta</i>	7
5.2. Cuantificación celular	8
5.3. Obtención de reproductores de <i>H. rufescens</i>	8
5.4. Determinación del peso húmedo seco y de postlarvas de <i>H. rufescens</i>	9
5.5. Desarrollo experimental de la dieta peso específica de postlarva	10
5.6. Parámetros ambientales e irradianza	10
5.7. Sistema de cultivo	11
5.8. Condición de cultivo	11

5.9. Análisis estadístico	12
6. Resultados	13
6.1. Desarrollo postlarval de <i>H. rufescens</i>	13
6.2. Condiciones ambientales del cultivo	15
6.2.1. Temperatura	15
6.2.2. Potencial Hidrógeno (pH)	16
6.2.3. Oxígeno disuelto	17
6.2.4. Amonio no ionizado (NH ₃)	18
6.2.5. Irradianza	19
6.3. Supervivencia	20
6.4. Longitud y tasa de crecimiento	21
6.5. Peso seco de postlarvas de <i>H. rufescens</i>	24
7. Discusión	26
8. Conclusiones	32
9. Literatura citada	33

1. Introducción

El abulón es un molusco gasterópodo de origen marino que pertenece al género *Haliotis*, se caracteriza por tener una concha ovalada en forma de oreja, la cual contiene una serie de orificios que van desde 4 a 10 cercanos a la curvatura de la concha. (López-Landavery, 2015). El fondo marino donde habitan cuenta con un papel crucial en la supervivencia, un substrato rocoso con una configuración adecuada les provee a los organismos la protección necesaria para evitar la depredación. Comúnmente habitan en zonas rocosas con presencia de oleaje, las poblaciones se distribuyen en agregaciones que se encuentran relacionadas con la discontinuidad en los mantos algales, ya que su alimentación es estrictamente herbívora y son de vida bentónica. Dependiendo de la especie se pueden encontrar en profundidades que van desde los 13 hasta los 50 metros (Leighton, 2000). En particular *H. rufescens* se puede localizar desde el medio litoral hasta los 100 metros de profundidad, donde la mayor concentración se centra en los 6 y 18 metros (Instituto Nacional de Pesca, 2006). Este molusco es longevo y de lento crecimiento con un tiempo de vida media de aproximadamente 35 años (Haaker et al. 1986) y una historia de vida dependiente de condiciones ambientales principalmente la temperatura y el fotoperiodo (Arriagada, 2007). Son organismos dioicos, fáciles de identificar ya que la coloración de la gónada tiende a ser color crema en los machos, mientras que en las hembras es oscura. Los productos sexuales se expulsan por medio de contracciones musculares al medio acuático donde son fecundados (Leighton, 2000; 2008). En el ambiente marino la larva de los haliotidos se encuentra formando parte del zooplancton y después de 4-6 días de desarrollo se encuentra competente para la metamorfosis iniciando así su vida bentónica, en este periodo comienza el reconocimiento y exploración del fondo marino y comúnmente es conocida como postlarva. En esta etapa, condiciones ambientales como temperatura, luz y disponibilidad

de alimento determinan el tiempo de desarrollo postlarval que puede variar meses dependiendo de las condiciones antes mencionadas. Después de este tiempo, inicia el estadio juvenil con la presencia del primer poro respiratorio el cual generalmente aparece después de 40-60 días post asentamiento, incrementando la tasa de crecimiento, el consumo de alimento y la velocidad de desplazamiento, en esta etapa el organismo comienza a desarrollarse en áreas de baja luminosidad lo que se conoce como comportamiento de hábitos nocturnos (Hahn, 1989; Leighton, 2000).

En la actualidad el abulón representa una gran parte de la economía en diversos países tales como China, Taiwán, Australia, Nueva Zelanda, Sudáfrica, Chile y México (Cook, 2016). Existen alrededor de 100 especies de las cuales solo 13 tienen interés comercial y se localizan en zonas templadas. Entre las especies que destacan comercialmente se encuentran: *Haliotis fulgens*, *Haliotis corrugata*, *Haliotis cracherodii*, *Haliotis sorenseni*, *Haliotis discus hannai*, *Haliotis ruber*, *Haliotis iris*, *Haliotis rufescens* entre otros (Viana, 2000). Este último es originario de las costas del pacífico de Norteamérica y se distribuye desde bahía Sunset, Oregón (USA) hasta bahía Tortugas, Baja California Sur (México), por lo cual México cuenta con aproximadamente un tercio de la distribución de este molusco (Pérez-Muñoz, 1995). *Haliotis rufescens* o mejor conocido como abulón rojo es una de las especies con mayor crecimiento y tiene una amplia aceptación en el mercado. En los estados de Baja California y Baja California Sur *H. rufescens* representa parte de la economía tanto por acuicultura como por captura del medio natural, constituyendo un recurso acuícola y pesquero importante, del cual se aprovecha su carne y la concha para realizar actividades como la orfebrería (Instituto Nacional de Pesca, 2006). Hoy en día, el cultivo de abulón rojo no solo se realiza en los estados antes mencionados, sino que también es una especie que ha sido introducida en otros países como Chile el cual ocupa el

tercer lugar entre los países productores de abulón en el mundo (Cisternas, 2013; Cook, 2016).

2. Antecedentes

El abulón representa una importante fuente de ingresos en diferentes países, debido a la demanda de este molusco, se comenzó con la implementación de estudios para comprender diferentes procesos en el organismo y poder realizar su cultivo. En cuanto al abulón rojo se han llevado a cabo diversas investigaciones, la cual se considera de relevancia económica debido a su alto valor en el mercado, la demanda de este recurso supera la oferta y propicia la generación de empleos. Sin embargo, la sobre-explotación de *H. rufescens* aunado con su lento crecimiento ha causado que el precio en el mercado aumente, volviendo el cultivo de la especie atractivo tanto para engorda en granjas como para repoblamiento en su hábitat natural (Viana, 2000). Para realizar el cultivo en granja y/o repoblamiento se necesita la producción de semilla en condiciones de laboratorio. Estudios realizados por Anguiano-Beltrán (2007) mencionan que los primeros meses de vida constituyen una de las etapas críticas para la producción de semilla debido a la disponibilidad de alimento requerido para el cultivo de postlarva. Otros estudios indican mortalidades del 80 al 95% en el estadio postlarval después del asentamiento y metamorfosis (Searcy-Bernal, 1996; Hone et al. 1997).

Con el objetivo de desarrollar nuevas técnicas y mejoras en el cultivo de abulón se ha estudiado el efecto de la luz en el desarrollo postlarval (Gorrostieta-Hurtado y Searcy-Bernal, 2009), el cultivo de postlarvas en diferentes densidades con flujos continuos (Vivanco et al. 2011), efecto de distintas intensidades de luz en el cultivo de postlarvas (Gorrostieta-Hurtado y Searcy-Bernal, 2004) y el cultivo de postlarvas en un sistema

estático (Valenzuela, 2009 com.pers.). También, se han realizado estudios comparativos sobre el uso de biopelículas con microalgas multiespecíficas como inductores a la metamorfosis de *H. rufescens* con respecto al método químico que consiste en el uso de GABA el cual se considera más efectivo (Searcy- Bernal, 1996; Simental et al. 2004). Otras investigaciones se han enfocado en conocer la cantidad de alimento consumido por postlarva, específicamente se han realizado evaluaciones sobre tasas de pastoreo en *Haliotis fulgens* y *H. rufescens* alimentados con diferentes densidades de diatomea y variantes en la condición de luz-obscuridad (Searcy-Bernal y Gorrostieta-Hurtado, 2007). Por su parte, Martínez-Ponce y Searcy-Bernal (1998) estudiaron las tasas de pastoreo en las primeras semanas de vida y mencionan que son mínimas debido al incipiente desarrollo de la rádula. Sin embargo, indican que después de tres semanas esta estructura se ha desarrollado por completo y la tasa de pastoreo se intensifica considerablemente, lo que se vuelve una etapa crítica en el cultivo. Con el fin de poder abastecer esta demanda en postlarvas y reducir el consumo de alga fresca en juveniles y adultos se han elaborado dietas que contengan los nutrientes necesarios para el crecimiento de abulón (Viana, 2000; 2002). Sin embargo, uno de los puntos críticos en la adaptación a estos alimentos es la estabilidad del mismo en el agua, ya que se ha observado una respuesta lenta del abulón en el consumo de alimento inerte. En dietas elaboradas para *Haliotis rubra* se ha reportado que la dureza del alimento es un factor primario que influye en la tasa de ingestión (McShane et al. 1994).

En granjas y laboratorios de producción uno de los principales problemas a los que se enfrentan es satisfacer los requerimientos nutricionales del organismo en las primeras etapas de su vida. Para satisfacer esta demanda, las granjas recurren a promover el crecimiento de diatomeas bentónicas en el estanque de cultivo, las cuales en la mayoría de los casos resultan insuficientes. Otra alternativa es el cultivo monoespecífico de *Navicula*

incerta, la cual es una diatomea marina pennada de 18µm de largo y 4µm de ancho, que comúnmente es utilizada en laboratorios comerciales de abulón como alimento en las primeras etapas de vida de *H. rufescens*. También, estudios realizados por Porta-Vales (2009) menciona que esta diatomea tiene beneficios en el crecimiento y supervivencia de postlarvas de *Haliotis tuberculata*.

Estudios al respecto han sido relacionados al micro-habitad del organismo (Searcy-Bernal, 1996) y diferentes rutinas de alimentación (Miranda-Saucedo, 2009; Jara-Montañez, 2012) para explicar la alta mortalidad de postlarvas. Aunque los trabajos antes mencionados han contribuido al conocimiento en la alimentación de postlarvas y juveniles de abulón, todavía existen limitantes para la producción de semilla en condiciones de laboratorio, ya que en la etapa de postlarva se presenta una alta mortalidad y diferencias en el crecimiento. Martínez-Ponce y Searcy-Bernal (1998) mencionan que dentro de los factores de importancia en el cultivo se encuentran la temperatura y la intensidad luminosa ya que modifican la tasa de pastoreo. Por este motivo es necesario realizar estudios encaminados a conocer raciones peso específicas para el suministro adecuado de nutrientes orgánicos que satisfagan los requerimientos nutricionales de postlarvas de abulón con relación a los factores ambientales, si bien la luz puede favorecer el crecimiento de las diatomeas también puede influir sobre el pastoreo de las mismas.

Estudios recientes confirman que la supervivencia de postlarvas en cultivo estático es mayor al 50% (Anguiano-Beltrán y Searcy-Bernal, 2013). Otros trabajos estudian el efecto de las tasas de pastoreo en total oscuridad y luz continua (Searcy-Bernal y Gorrostieta-Hurtado, 2007). Los autores antes citados afirman que distintos factores modifican las tasas de pastoreo, pero pocos han realizado cultivos de postlarvas de *H. rufescens* en un sistema estático con luz continua y raciones de alimento peso-específicas. El conocer la ración

peso-específica de alimento requerido por postlarva es uno de los factores importantes debido a que la ración alimenticia influye en la tasa de crecimiento y supervivencia de postlarvas y juveniles de *H. rufescens*.

3. Hipótesis

Cambios en el sistema de cultivo y uso de raciones peso-específicas de alimento podrán incrementar el crecimiento y supervivencia de postlarvas y juveniles de *Haliotis rufescens*.

4. Objetivo

Determinar crecimiento, supervivencia y factibilidad del cultivo estático de postlarvas y juveniles de *Haliotis rufescens* alimentados con *Navicula incerta* con base a una ración peso específica y otra *ad libitum*.

4.1. Objetivos específicos

- Determinar el crecimiento de postlarvas de *Haliotis rufescens* de acuerdo a la dieta peso específica.
- Determinar la supervivencia de postlarvas de *Haliotis rufescens* de acuerdo a la dieta peso específica.
- Determinar semanalmente los cambios en la dieta peso-específica hasta obtener la talla juvenil.
- Estimar la cantidad óptima de alimento en relación con la talla y el peso de la postlarva.

5. Materiales y métodos:

5.1. Cultivo de *Navicula incerta*

La cepa de esta especie se obtuvo del laboratorio de cultivo de microalgas del Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO-UABC), lugar donde se desarrolló el experimento. El laboratorio se mantuvo a temperatura controlada de $19\pm 1^\circ\text{C}$, utilizando el medio F/2 de Guillard (1975) e irradianza de $73 \mu\text{moles quantam}^{-2} \text{s}^{-1}$. El cultivo de *N. incerta* se realizó en matraz Erlenmeyer de 150 mL. En este nivel se utilizaron los nutrientes especificados en el medio F/2. El medio de cultivo (matraz Erlenmeyer) fue esterilizado en autoclave a 121°C , 1.05 kg cm^{-2} de presión durante 15 minutos. Después, a cada Erlenmeyer se agregó asepticamente 150 μL de vitaminas B₁₂, biotina y tiamina y 5 mL de *N. incerta* como inóculo. El tiempo de cultivo fue de cuatro días, con iluminación continua a una irradianza fotosintéticamente activa de $73 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Biospherical Instruments Inc., modelo QSL-100, sensor de 4π), proporcionada por lámparas fluorescentes (Osram de 75 W). El cultivo de *N. incerta* continuó en contenedores de polipropileno con capacidad de 10 litros. Previo a la inoculación de *N. incerta*, el agua de mar utilizada fue irradiada con lámparas de ultravioleta de 25 W, tratada con hipoclorito de sodio y tiosulfato de sodio, para lo cual se prepararon soluciones de hipoclorito de sodio (416 mL de NaOCl al 6% aforado a 1 L con agua destilada) y tiosulfato de sodio (248.1 g aforado a 1 L con agua destilada). De la solución de hipoclorito de sodio se adicionó 0.75 mL L^{-1} al contenedor de 10 L y se dejó reposar 24 horas; posteriormente, se neutralizó el cloro adicionando 0.3 mL de tiosulfato de sodio por litro de agua de mar. Finalmente, se introdujo aireación por dos horas para completar la reacción (Pruder y Bolton, 1978). Después de este tratamiento, los nutrientes y vitaminas se adicionaron a razón de un mililitro por litro de agua de mar. En este volumen

de cultivo, se utilizó fertilizantes agrícolas preparados de acuerdo a Valenzuela-Espinoza et al. (1999), una vez homogenizados los nutrientes se retiró la aireación y cada contenedor de 10 L recibió 300 mL de inóculo (obtenido del nivel Erlenmeyer) en condiciones asépticas y el tiempo de cultivo fue de cuatro días a una irradianza de $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La biomasa obtenida fue utilizada como alimento durante la etapa experimental.

5.2. Cuantificación celular

Los cultivos de *N. incerta* en contenedores de polipropileno (10 litros) fueron cosechados después de cuatro días de crecimiento, el agua contenida fue decantada y con agua de mar filtrada e irradiada por luz ultravioleta fue desprendida la diatomea (con ayuda de un pincel), una vez que fue desprendida se recolectó en un matraz (1L) del cual se tomó un mililitro y fue diluido (20 mL) en agua de mar y fijado con lugol. Después de este procedimiento se realizó el conteo celular en una cámara Neubauer de 0.1 mm de profundidad bajo un microscopio Carl Zeiss (AxioLab. A1).

Esta metodología se realizó diario, durante el periodo del experimento para tener un control de la cantidad de células suministradas y así ajustar la ración peso-específica con respecto al incremento en peso de la postlarva de *H. rufescens*.

5.3. Obtención y desove de reproductores de *H. rufescens*

Se trasladaron reproductores de *H. rufescens* de la empresa Nautilus ubicada en San Quintín al laboratorio de Bioensayos 5 en el Instituto de Investigaciones Oceanológicas. Estos fueron lavados con agua de mar filtrada a $1 \mu\text{m}$ e irradiada con luz UV y colocados en charolas independientes (2 machos y 7 hembras) para su inducción al desove con una solución de peróxido de hidrógeno 6%, la cual se dejó actuar por dos horas en total

obscuridad. Una vez que los organismos comenzaron con la estimulación y desove, se decantó el agua que contenía la solución de peróxido y se reemplazó con agua de mar fresca previamente filtrada e irradiada con luz ultravioleta para el desove total. Cuando los organismos expulsaron una parte significativa de gametos, estos fueron colectados en un tamiz de 100 μm para hacer la mezcla y fecundación en recipientes de 18 litros.

5.4. Determinación del peso húmedo y peso seco de postlarvas de *H. rufescens*

De cada unidad experimental fueron retirados semanalmente 10 organismos tomados al azar, los cuales se colocaron en cajas Petri (Por unidad experimental), fotografiados y medidos mediante el programa Axiovision LE versión 4.8, realizando así la biometría de los organismos. El exceso de agua contenido en las navecillas de aluminio se eliminó para pesar en húmedo a los organismos en una balanza analítica Sartorius y posteriormente fueron introducidos en una estufa de vacío CurtinMathesonScientific durante 24 horas a $50\pm 1^\circ\text{C}$. Transcurrido este tiempo las navecillas que contenían las postlarvas fueron retiradas de la estufa y colocadas en un desecador durante media hora. Después, se pesaron en una balanza analítica Sartorius, para determinar el peso seco por organismo. Para realizar los cálculos de alimentación se tomó en cuenta el peso seco de cada postlarva y el peso orgánico celular de *N. incerta* (8.54×10^{-10} g). Una vez realizado lo antes mencionado, se determinó el número de células requerido para cada postlarva de *H. rufescens* en base al 60 % de su peso específico y *ad libitum* que corresponde al doble de la ración peso específica, misma que fue modificada a la tercera semana de cultivo (días 57-64) proporcionando al organismo el 70% de su peso específico y el doble para la ración *ad libitum*

5.5. Desarrollo experimental de la dieta peso específica de postlarva

Para evaluar el efecto de la dieta peso específica se realizaron dos tratamientos experimentales: Alimentación *ad libitum* y Alimentación con respecto al peso seco de la postlarva de *H. rufescens*. Cada tratamiento se realizó por triplicado con un total de seis unidades de evaluación de polipropileno (11.6 cm x 11.2 cm), cada unidad contenía una densidad de cuatro postlarvas por cm². Para propósitos de muestreo se adicionaron a cada unidad de evaluación sesenta postlarvas y cada semana se usaron 10 organismos para determinar el peso seco promedio de las postlarvas de *H. rufescens*. Las unidades experimentales fueron colocadas al azar para evitar el efecto de algún gradiente (temperatura, pH u otro factor) que pudiera modificar los fines del experimento, la ración de alimento fue adicionada diario con respecto al peso seco de la microalga y el peso seco del organismo.

5.6. Parámetros ambientales e irradianza

Durante el desarrollo experimental se llevaron registros diarios de variables ambientales importantes para el cultivo de postlarvas de *H. rufescens*. El oxígeno disuelto se determinó mediante una tabla de equivalencias (Benson y Krause, 1984), la temperatura del agua con un termómetro digital HER-425, el potencial de hidrógeno (pH) con un potenciómetro Orionstar A11, la salinidad con un refractómetro Reichert, el amonio no ionizado mediante una tabla de equivalencia (Bower y Bidwell, 1978) y la irradianza con un lector sensor PAR fotosintéticamente activo Biospherical Instruments Inc.

5.7. Sistema de cultivo

El sistema de cultivo estático contó con seis charolas de 500 mL cada una, las cuales fueron colocadas al azar, la temperatura en el área del cultivo fue $18\pm 1^{\circ}\text{C}$ controlada con un equipo de refrigeración marca tranee. En cada unidad experimental se colocaron en total 520 postlarvas más 60 organismos adicionales, los cuales equivalen a las postlarvas extraídas para biometría. Cada semana se muestrearon al azar 10 organismos por unidad experimental para determinar el peso seco promedio de las postlarvas de *H. rufescens*.



Figura 1. Diseño experimental aleatorio simple con dos tratamientos (peso específico y *ad libitum*) y tres réplicas cada uno.

5.8. Condición del cultivo

- Seis unidades de cultivo (500 mL cada una)
- 520 organismos por unidad + 60 organismos para muestreo
- Registro diario de parámetros (salinidad, pH, temperatura, amonio no ionizado, oxígeno disuelto)
- Tiempo de cultivo 6 semanas
- Luz ambiental continua
- Recambio de agua cada 24 horas (Cultivo estático)

- Biometrías por semana
- Alimentación diaria con diatomea bentónica *Navicula incerta*

5.9. Análisis estadístico

Con base en los resultados obtenidos de la aplicación de procedimientos estadísticos estándar, se procedió al análisis de los resultados de supervivencia de la ración peso específica y *ad libitum*, mediante la prueba análoga no paramétrica de varianza de una vía Kruskal-Wallis. Previo a este análisis los datos de supervivencia expresados en porcentaje se transformaron mediante la siguiente relación:

$$y = \arcsen \sqrt{p/100}$$

Dónde: y= Valor del porcentaje de supervivencia transformado
P= Porcentaje de supervivencia

Los resultados del crecimiento y peso de la postlarva de *H. rufescens* se analizaron mediante los procedimientos estadísticos estándar, todos a un intervalo de confianza del 95% ($\alpha=0.05$). Se aplicó el análisis de varianza de una vía factor simple para determinar diferencias entre tratamientos.

El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo mediante el paquete estadístico SigmaStat 3.5 a un nivel de significancia de $\alpha= 0.05$.

6. Resultados

6.1. Desarrollo postlarval de *H. rufescens*

Los resultados del desarrollo temprano en la etapa de vida y cultivo larval de *H. rufescens* fueron documentados y fotografiados como se muestra en la figura 2, en la cual se registró un tamaño promedio de $214.7 \pm 2.8 \mu\text{m}$ del huevo fecundado, con la presencia del primer cuerpo polar (Fig. 2A). Después de esta etapa comienza lo que se conoce como división de cuerpo polar en 2 (Fig. 2B) y 4 (Fig. 2C). Transcurridas 24 horas postfertilización se registraron las primeras larvas trocóforas (Fig. 2D). Al día 2 y 5 de cultivo se observaron larvas veliger en etapa temprana y tardía (Fig. 2E) con una longitud promedio de $269.7 \pm 2.5 \mu\text{m}$. La etapa de metamorfosis se completó alrededor del 5 y 6 día postfertilización (Fig. 2F). A partir de este tiempo, las postlarvas se mantuvieron en cultivo estático y fueron alimentadas *ad libitum* con *N. incerta*. Para este experimento se cuantificaron 3480 postlarvas de *H. rufescens* y el ensayo experimental inició con postlarvas de 43 días de edad (Fig. 2H). A los 57 días de cultivo en ambas raciones (Fig. 2I), se registró la formación del primer poro respiratorio, lo cual indica el inicio de la etapa juvenil de *H. rufescens*. En las siguientes 4 semanas de cultivo se observó el incremento en los poros respiratorios y la apertura de estos (Figs. 2J, K). El periodo experimental terminó en los días 78-85 con una longitud final de $3084 \pm 94 \mu\text{m}$ en la ración *ad libitum* y $3125 \pm 295 \mu\text{m}$ en la ración peso específica (Fig. 2L).

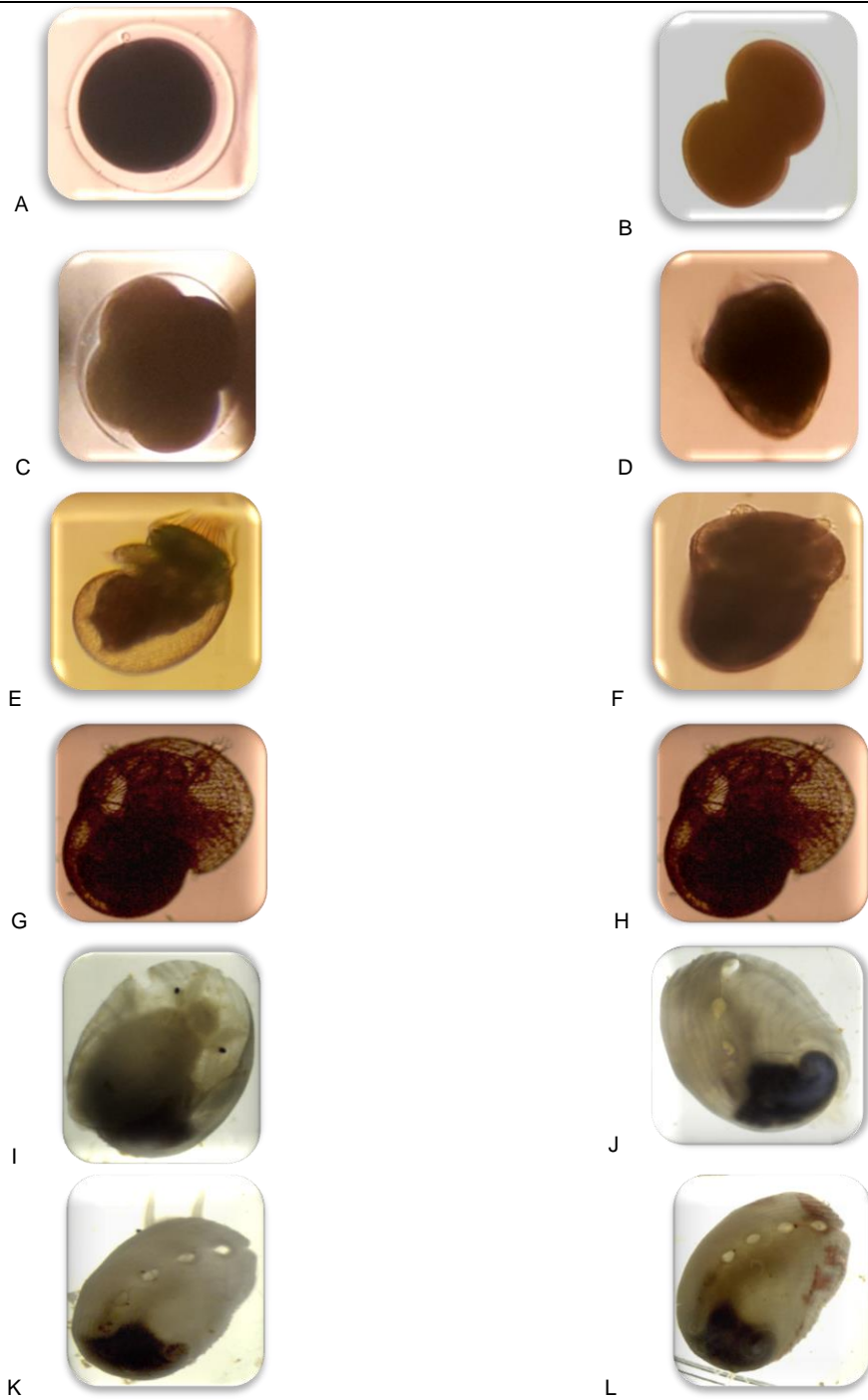


Figura 2. Desarrollo embrionario, larval, postlarval y juvenil de *Haliotis rufescens* cultivado en sistema estático y alimentado con ración peso específica y *ad libitum*: A) óvulo fertilizado con primer cuerpo polar, B) etapa dos células, C) etapa cuatro células, D) larva etapa trocófora, E) larva etapa veliger, F) postlarva recién metamorfoseada, G) postlarva de siete días de edad, H) postlarva un mes de edad, I) postlarva de un mes y dos semanas, formación del primer poro respiratorio e inicio de la etapa juvenil, J) juvenil de dos meses de edad, K) juvenil de tres meses y una semana de edad, L) juvenil de cuatro meses y tres semanas de edad.

6.2. Condiciones ambientales del cultivo

En este estudio, las condiciones de cultivo (Salinidad, temperatura, potencial hidrógeno, oxígeno disuelto, amonio no ionizado, irradianza), supervivencia, crecimiento y peso seco de las postlarvas de *H. rufescens* fueron registradas diario durante un periodo de seis semanas, tiempo en el cual se desarrolló el experimento y cuyos resultados se muestran a continuación: En cuanto a la salinidad, está no presento variaciones significativas durante el periodo evaluado, se mantuvo en 34 ups en ambos tratamientos experimentales.

6.2.1. Temperatura

Con respecto a la temperatura (Fig.3) se observó un patrón similar en los resultados de esta variable tanto para el tratamiento peso específico como *ad libitum*. No se observaron diferencias significativas ($F=0.16$, $P=0.68$) entre tratamientos durante todo el periodo de cultivo postlarval y juvenil de *H. rufescens*. El valor promedio de temperatura registrada en las unidades experimentales fue $15.7\pm 0.93^{\circ}\text{C}$, con valores mínimos de $14\pm 0.02^{\circ}\text{C}$ y máximos de $17.3\pm 0.33^{\circ}\text{C}$. Estos resultados se correlacionan con los reportados por otros estudios (Leighton, 2008) como parámetros ideales en la calidad de agua requerida para el cultivo de abulón.

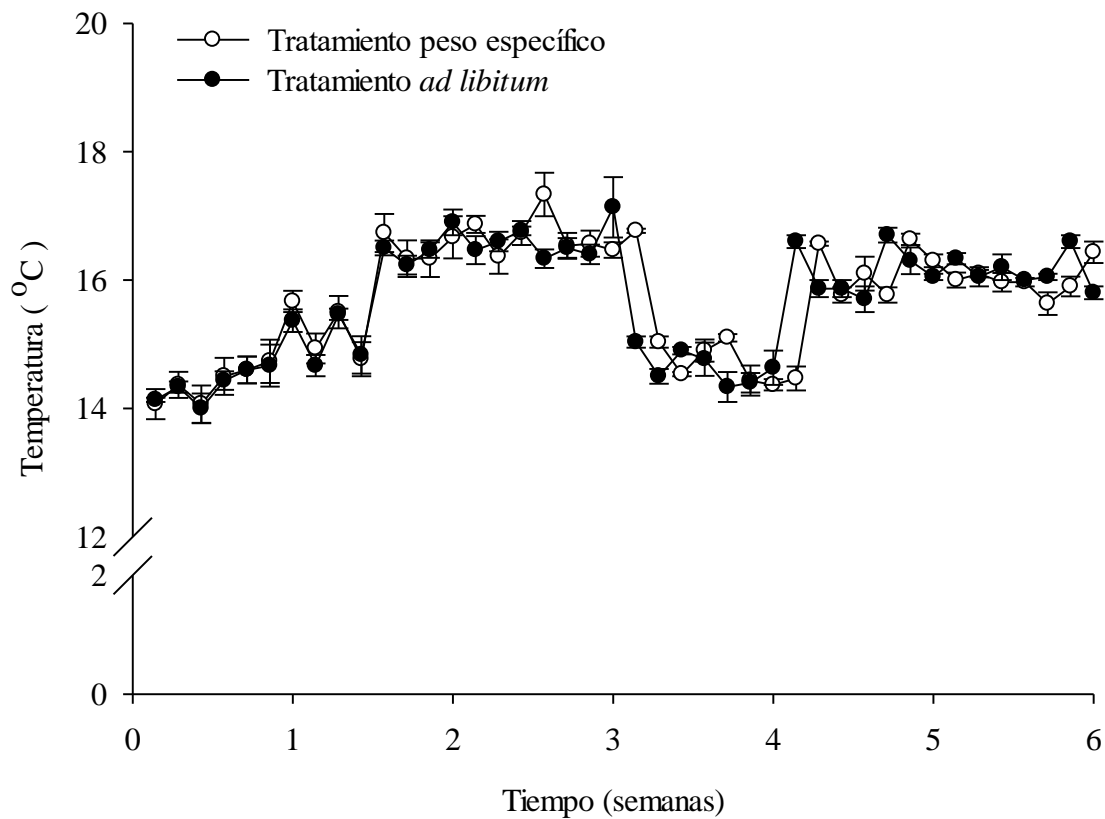


Figura 3. Temperatura promedio durante el cultivo postlarval de *H. rufescens* alimentado con ración peso específica y *ad libitum*. La barra vertical indica el error estándar (n=3).

6.2.2. Potencial Hidrógeno (pH)

El pH durante el periodo de evaluación en los cultivos de postlarvas de *H. rufescens* alimentadas con ración peso específica fueron mayores y significativos ($F= 24.4$, $P=0.001$) con respecto a los observados en la ración *ad libitum* (Fig. 4), con valores máximos en el intervalo de 8.74 ± 0.1 a 8.9 ± 0.08 y mínimos de 7.7 ± 0.21 a 8.2 ± 0.001 unidades respectivamente.

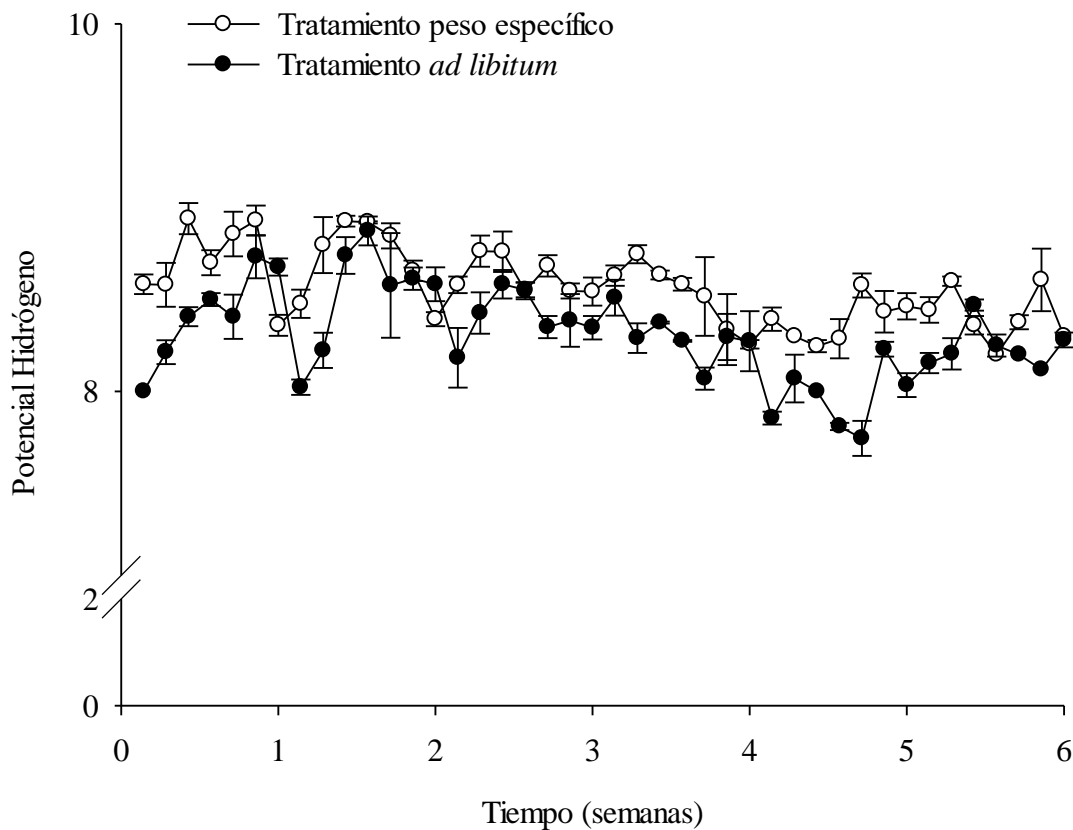


Figura 4. Valores promedio de pH durante el cultivo postlarval de *H. rufescens* alimentado con ración peso específica y *ad libitum*. La barra vertical indica el error estándar (n=3).

6.2.3. Oxígeno disuelto

El consumo de oxígeno disuelto en el cultivo de postlarvas que recibió la ración *ad libitum* fue mayor y significativo ($P < 0.05$) que el registrado en la ración peso específica, con máximos de 8.3 ± 0.01 a $8.47 \pm 0.10 \text{ mg L}^{-1}$ y mínimos de 7.7 ± 0.05 a $7.9 \pm 0.01 \text{ mg L}^{-1}$ de oxígeno disuelto respectivamente. Asimismo, es importante mencionar que cambios en la concentración de oxígeno disuelto (Fig.5), se encuentran correlacionadas con cambios en la temperatura (Fig.3) del cultivo de *H. rufescens* en ambos tratamientos.

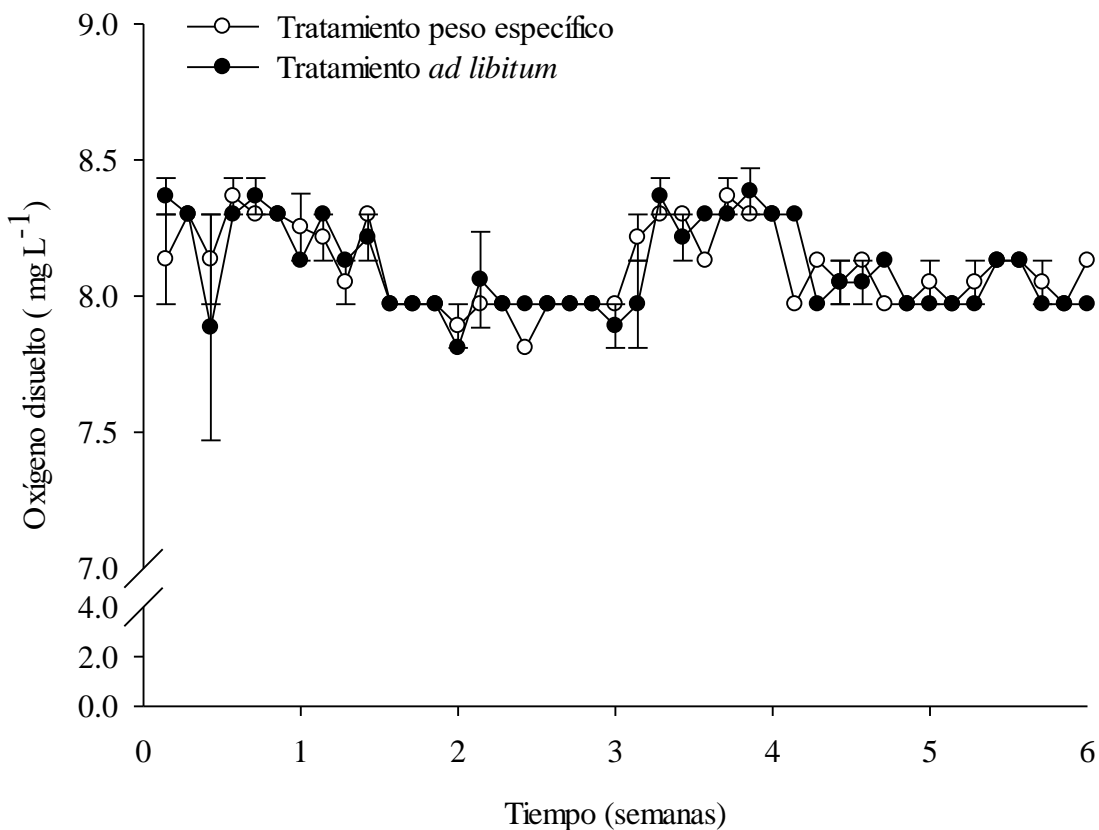


Figura 5. Valores promedio de oxígeno disuelto durante el cultivo postlarval de *H. rufescens* alimentado con ración peso específica y *ad libitum*. La barra vertical indica el error estándar (n=3).

6.2.4. Amonio no ionizado (NH₃)

La concentración de amonio no ionizado (NH₃) en ambos tratamientos experimentales registró máximos de 0.0722 ± 0.004 mgL⁻¹ y mínimos de 0.00624 ± 0.04 mgL⁻¹ (Fig. 6). Así mismo, se encontraron valores significativos ($P < 0.05$) entre ambos tratamientos a partir del veinteavo día de cultivo postlarval de *H. rufescens*. Además, los resultados mostraron que en la ración peso específica presentó similitud entre réplicas y en general, la concentración de NH₃ siempre fue mayor que aquellos de la ración *ad libitum* durante el periodo experimental.

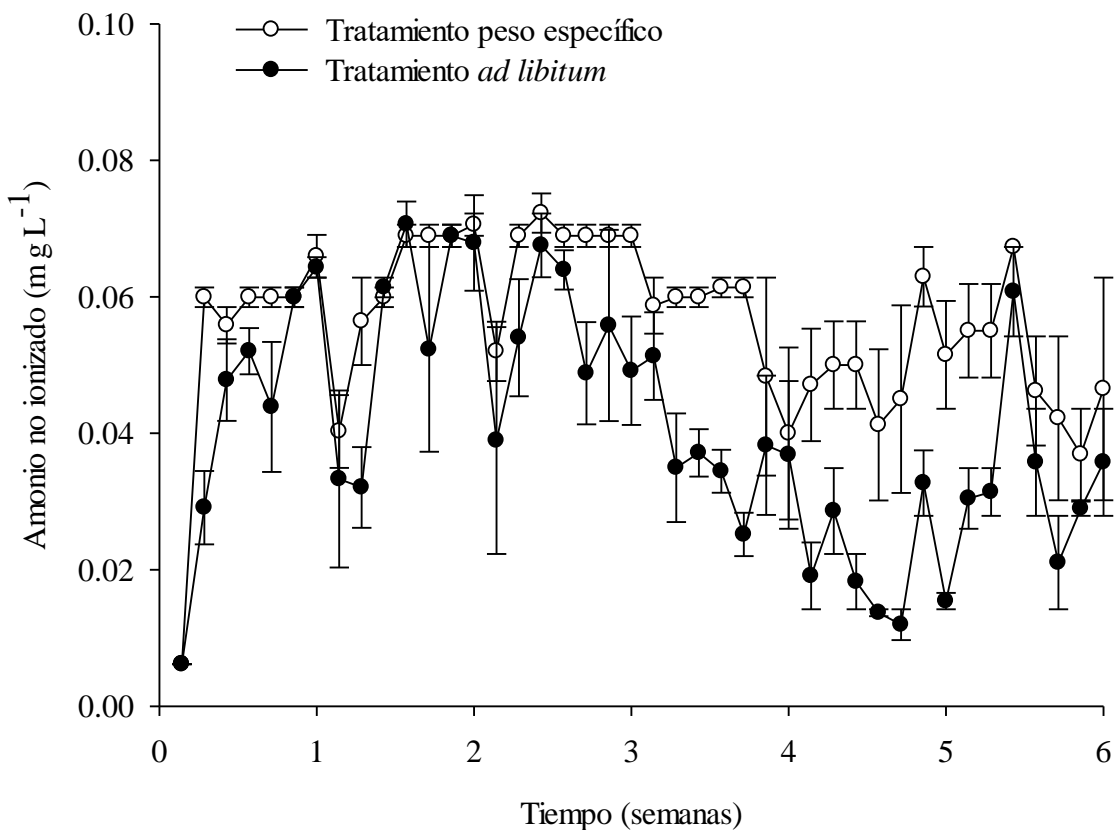


Figura 6. Valores promedio en la concentración de amonio no ionizado durante el cultivo postlarval de *H. rufescens* alimentado con ración peso específica y *ad libitum*. La barra vertical indica el error estándar (n=3).

6.2.5. Irradianza

La irradianza promedio ambiental del laboratorio durante el periodo experimental fue de $21.15 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Los sitios de menor irradianza fueron en promedio de $8.85 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, mientras que, la mayor irradianza promedio ($39.53 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) se registró en el lugar donde se realizó el ensayo experimental. Esta irradianza originó una mortalidad progresiva durante la segunda semana del cultivo de postlarvas de *H. rufescens*. Debido a lo antes mencionado, la irradianza se redujo de $39.53 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a $15.35 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en el área experimental.

6.3. Supervivencia

La figura 7 muestra los resultados de supervivencia de postlarvas de *H. rufescens* alimentados con raciones peso específica y *ad libitum* de *Navicula incerta*. Durante las primeras tres semanas de cultivo no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($P > 0.05$). Sin embargo, de la cuarta hasta la sexta semana del experimento se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$).

En la primera semana de cultivo no hubo cambios significativos en la supervivencia entre ambas raciones ($95\% \pm 1.07$ peso específica, $92.5\% \pm 1.44$ *ad libitum*). Pero de la segunda y tercera semana de cultivo en ambos tratamientos se observó un cambio significativo ($68.7\% \pm 4.5$, $67.05\% \pm 2.01$).

En las tres primeras semanas en ambos tratamientos experimentales, se observó una disminución similar en la supervivencia de postlarvas de *H. rufescens*, pero a partir de este tiempo, la supervivencia en la ración peso específica fue menor que la ración *ad libitum* (Fig. 7), observándose en las últimas semanas supervivencias promedio de $23.39\% \pm 7.49$ y $44.7\% \pm 3.36$ para la ración peso específica y *ad libitum* respectivamente.

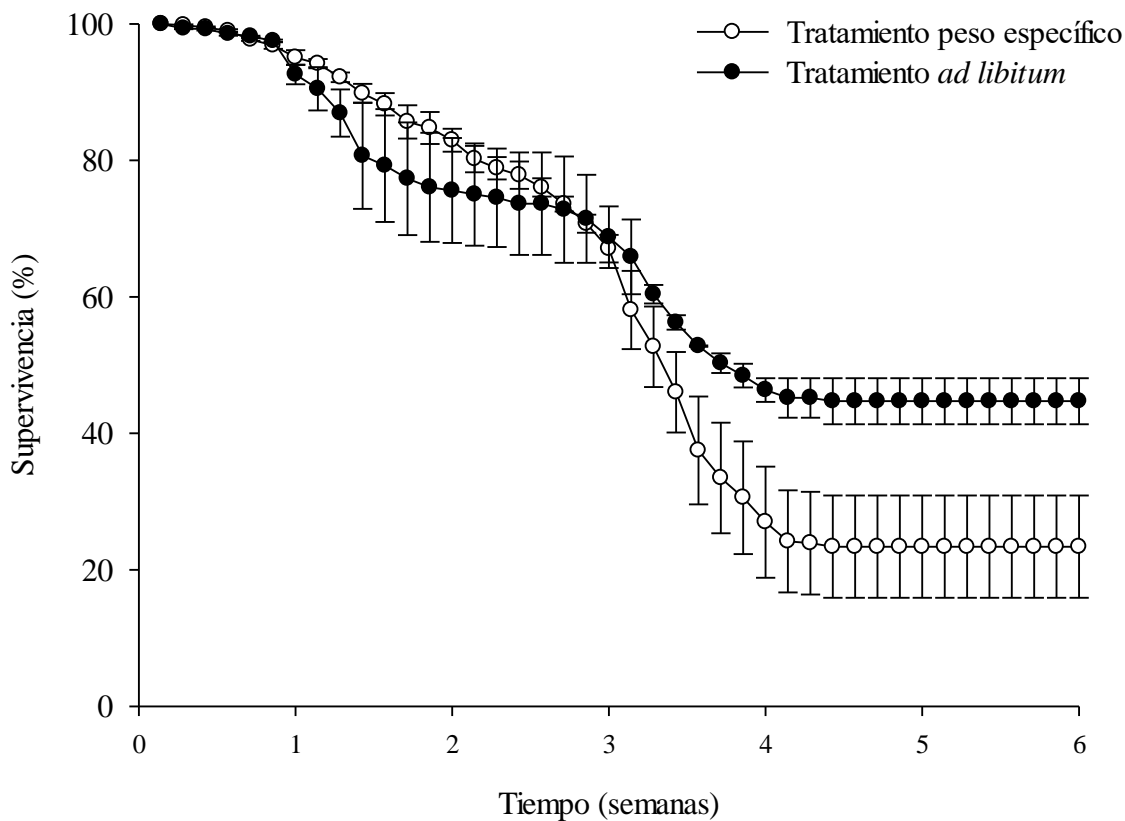


Figura 7. Valores promedio en la supervivencia durante el cultivo postlarval de *H. rufescens* alimentado con ración peso específica y *ad libitum*. La barra vertical indica el error estándar (n=3).

6.4. Longitud y tasa de crecimiento

La longitud inicial promedio de postlarvas de *H. rufescens* fue $1250.32 \pm 0.0 \mu\text{m}$. Después de 6 semanas de evaluación los organismos registraron longitud promedio final de 3125.68 ± 295.17 y $3084.68 \pm 94.04 \mu\text{m}$ en la ración peso específica y *ad libitum* respectivamente (Tabla II y III). Ambas raciones presentaron un crecimiento longitudinal similar, denotándose a lo largo del periodo experimental un crecimiento exponencial (Fig. 8) y sin diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos (tabla 1).

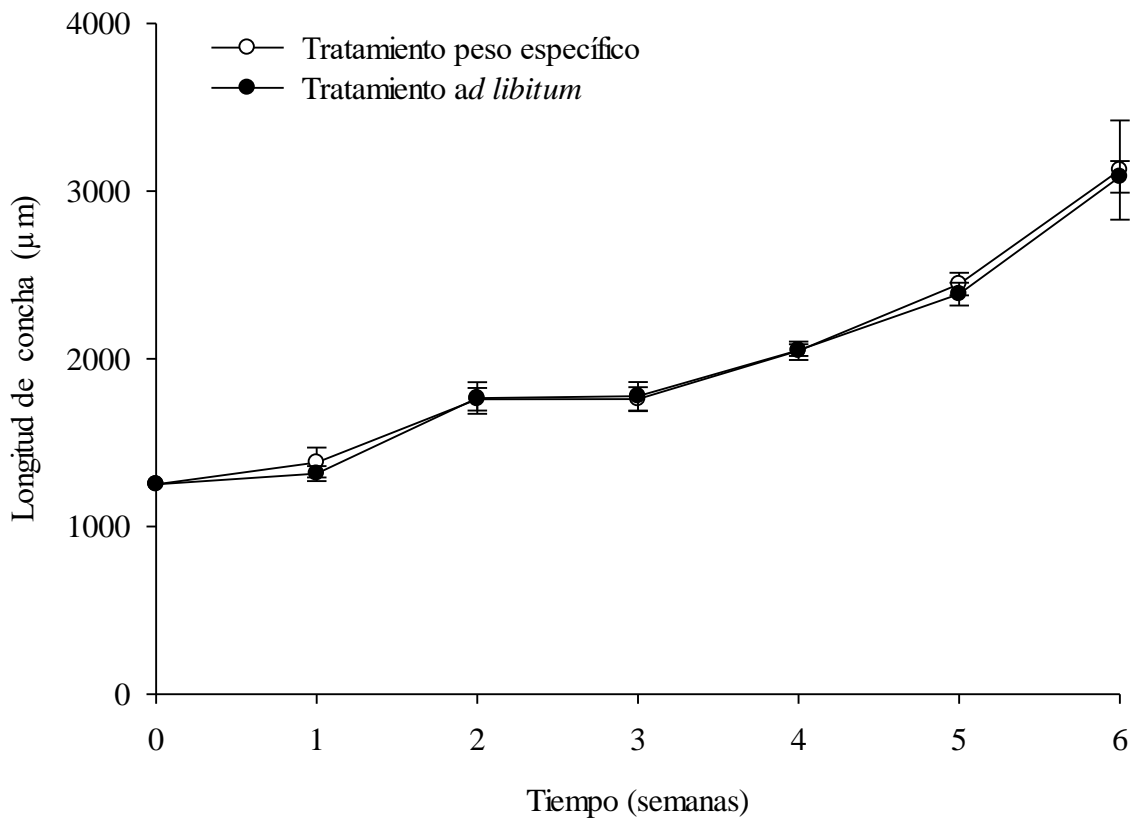


Figura 8. Valores promedio en la longitud durante el cultivo postlarval de *H. rufescens* alimentado con ración peso específica y *ad libitum*. La barra vertical indica el error estándar (n=3).

Tabla I.- Análisis de varianza de una vía para datos de longitud de la concha de postlarvas de *H. rufescens* alimentadas con *N. incerta* en base a raciones peso específica y *ad libitum*.

Semana	F	P	$p (\alpha=0.05)$
1	1.32	0.31	NS
2	0.01	0.9	NS
3	0.06	0.8	NS
4	0.006	0.94	NS
5	0.93	0.4	NS
6	0.032	0.86	NS

*NS= no significativo

En la primera semana de cultivo la tasa de crecimiento de postlarvas de *H. rufescens* fue 18.71 y 9.21 $\mu\text{m día}^{-1}$, con incrementos en la longitud de la concha de 131 μm y 64 μm al suministrar ración peso específica y *ad libitum* respectivamente (Tabla II, III). Mientras que, en la segunda semana estos valores se triplican y en la tercera semana ocurre lo contrario ya que la tasa de crecimiento disminuyó, probablemente debido a la irradianza incidente en los cultivos. En la cuarta semana de cultivo comenzó el desarrollo del primer poro respiratorio y la tasa de crecimiento fue similar en ambos tratamientos. También, a partir de la cuarta semana se observó en los organismos el mayor incremento en la longitud de concha. Al final del estudio, los organismos alimentados con ración peso específica registraron tasas de crecimiento mayores que aquellos alimentados *ad libitum* (Fig. 9; Tabla II, III).

Tabla II.- Tasa de crecimiento diaria en términos de longitud de concha calculada de acuerdo a Capinpin y Corre (1996) para la ración peso específica.

Tiempo (días)	Longitud promedio inicial de la concha ($\mu\text{m} \pm \text{E.E.}$)	Longitud promedio final de la concha ($\mu\text{m} \pm \text{E.E.}$)	Incremento en la concha por semana (μm)	Tasa crecimiento ($\mu\text{m día}^{-1}$)
43-50	1250 \pm 0.001	1381 \pm 89.49	131	18.71 \pm 7.38
50-57	1381 \pm 89.49	1758.70 \pm 38.86	377.7	53.96 \pm 1.89
57-64	1758.70 \pm 38.86	1759.05 \pm 71.74	0.35	0.3 \pm 0.15
64-71	1759.05 \pm 71.74	2047.70 \pm 55.12	288.65	41.24 \pm 1.46
71-78	2047.70 \pm 55.12	2445.43 \pm 67.40	397.73	56.82 \pm .42
78-85	2445.43 \pm 67.40	3125.27 \pm 295.17	679.84	124.74 \pm 19.25

Tabla III.- Tasa de crecimiento diaria en términos de longitud de concha calculada de acuerdo a Capinpin y Corre (1996) para la ración *ad libitum*.

Tiempo (días)	Longitud promedio inicial de la concha ($\mu\text{m} \pm \text{E.E.}$)	Longitud promedio final de la concha ($\mu\text{m} \pm \text{E.E.}$)	Incremento en la concha por semana(μm)	Tasa crecimiento ($\mu\text{m}/\text{día}$)
43-50	1250 \pm 0.001	1314.53 \pm 44.75	64.53	9.21 \pm 3.69
50-57	1314.53 \pm 44.75	1765.61 \pm 94.16	451.08	64.44 \pm 4.0
57-64	1765.61 \pm 94.16	1776.02 \pm 85.60	10.41	2.22 \pm 0.9
64-71	1776.02 \pm 85.60	2051.38 \pm 35.31	275.36	34.76 \pm 5.72
71-78	2051.38 \pm 35.31	2385.62 \pm 68.04	334.24	47.74 \pm 3.30
78-85	2385.62 \pm 68.04	3084.68 \pm 94.04	699.06	99.86 \pm 2.62

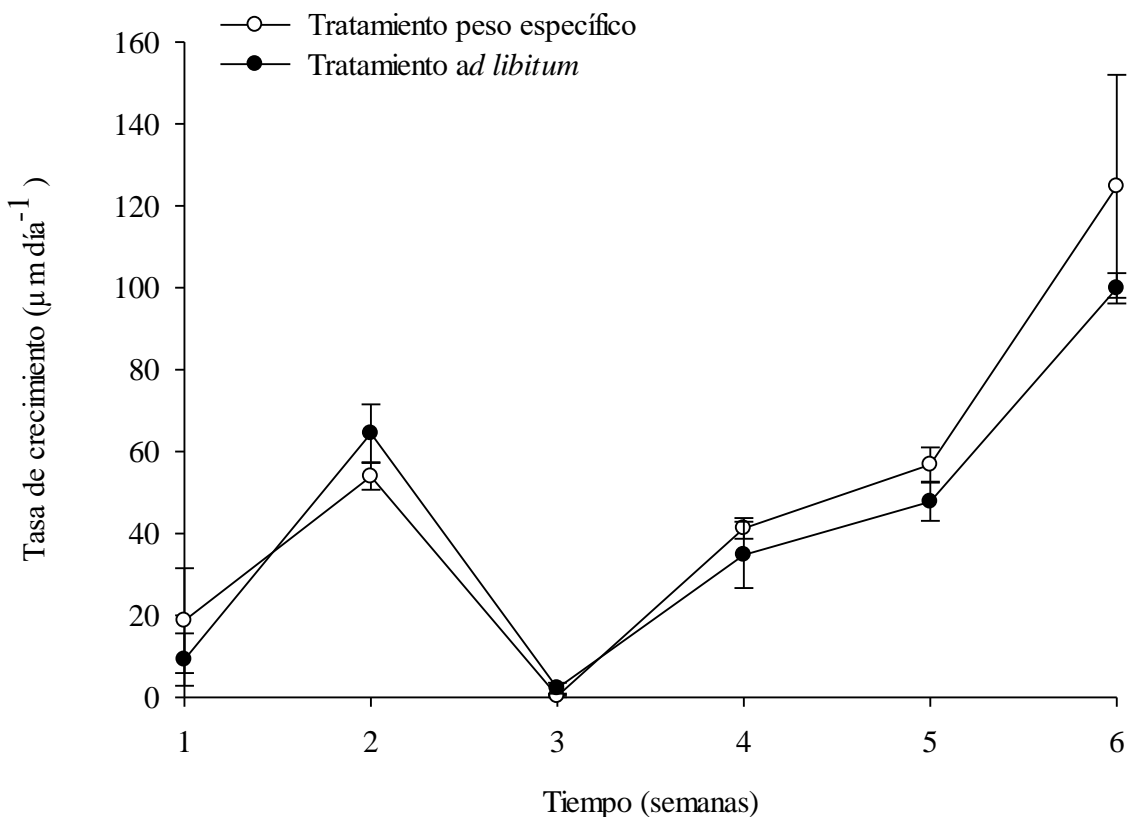


Figura 9. Tasa de crecimiento promediado durante el cultivo de postlarvas de *H. rufescens* alimentado con ración peso específica y *ad libitum*. La barra vertical indica el error estándar (n=3).

6.5. Peso seco de postlarvas de *H. rufescens*

La figura 10 muestra los resultados en peso seco de postlarvas de *H. rufescens* durante el periodo experimental. En general, se observó en ambos tratamientos un incremento progresivo en el peso de los organismos durante el tiempo de cultivo. Pero, durante la tercera semana (días 57-64), los resultados en ambos tratamientos fueron significativos ($F=8.87$, $P=0.041$). Debido a los cambios observados en la tercera semana de cultivo, se incrementó en un 10% el alimento con respecto al peso seco de los organismos, tanto en la condición peso específica como en la *ad libitum* y como respuesta a este cambio, se observó un incremento en peso seco en las últimas semanas, con valores de 5 y 13.1×10^{-4}

g; 4.8 y 12.25×10^{-4} g para la ración peso específica y *ad libitum* respectivamente (Tabla IV).

Tabla IV.- Valores promedio de peso seco de postlarvas de *H. rufescens* alimentadas con raciones peso específica y *ad libitum*.

Tiempo (días)	Peso seco ración peso específica				Peso seco ración <i>ad libitum</i>			
	Peso seco inicial (g x 10 ⁻⁴)	Peso seco final (g x 10 ⁻⁴)	incremento en peso seco por semana (g x 10 ⁻⁴)	incremento peso seco por día (g x 10 ⁻⁴)	Peso seco inicial (g x 10 ⁻⁴)	Peso seco final (g x 10 ⁻⁴)	incremento en peso seco por semana (g x 10 ⁻⁴)	incremento peso seco por día (g x 10 ⁻⁴)
43-50	1.8±0	2.5±0.5	0.7	0.10	1.8±0	2.6±0.2	0.8	0.114
50-57	2.5±0.5	5.2±0.4	2.7	0.39	2.6±0.2	5.13330.2	2.53333	0.362
57-64	5.2±0.4	9.3±0.7	4.1	0.58	5.1333±0.2	6.9±0.6	1.7	0.24
64-71	9.3±0.7	9.0±0.05	0.3	0.04	6.9±0.6	8.6±0.3	1.7	0.243
71-78	9.0±0.05	14.0±0.5	5.0	0.71	8.6±0.3	13.4±1	4.8	0.686
78-85	14.0±0.5	27.1±2.6	13.1	1.88	13.4±1	25.950±5	12.55	1.79

Tabla V.- Análisis de varianza de una vía para datos de peso seco de postlarvas de *H. rufescens* alimentadas con raciones peso específica y *ad libitum*.

Tiempo (días)	Valor F	Valor P	p (α=0.05)
43-50	0.06	0.8	NS
50-57	0.03	0.86	NS
57-64	8.87	0.041	S
64-71	2.59	0.206	NS
71-78	0.31	0.61	NS
78-85	0.1	0.7	NS

*NS= no significativo

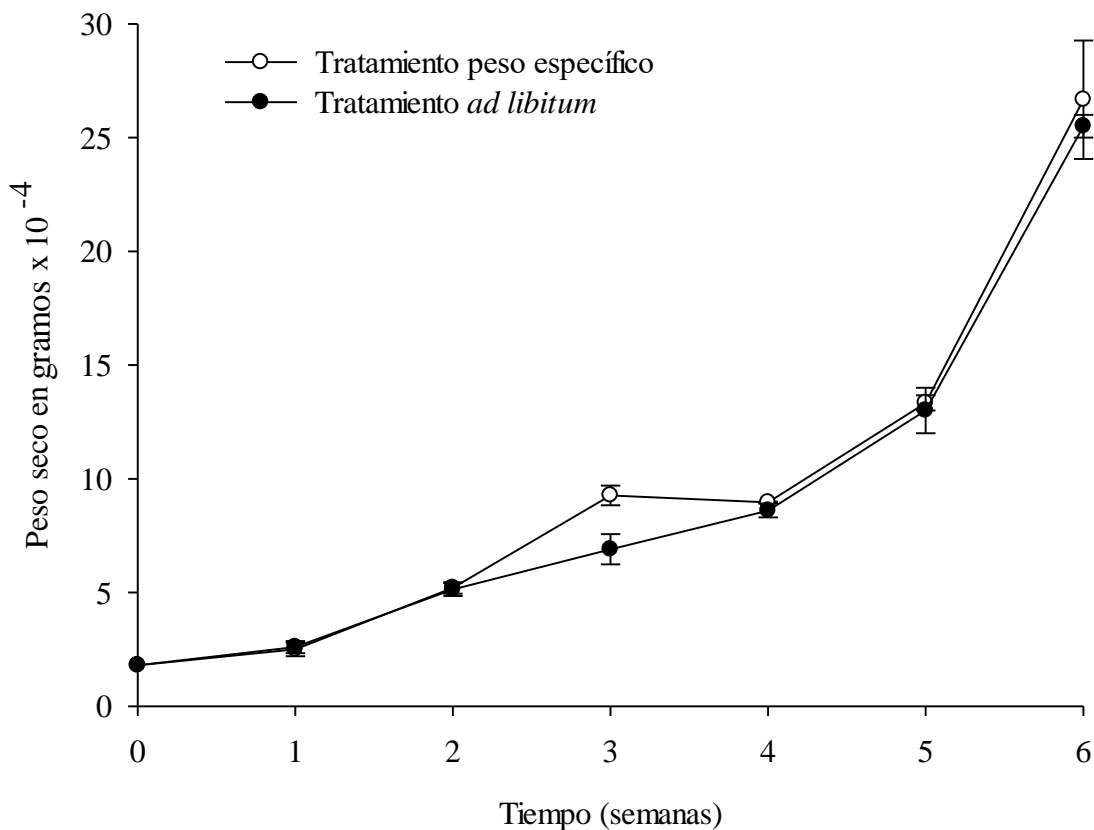


Figura 10. Peso seco promedio de postlarvas de *H. rufescens* alimentado con ración peso específica y *ad libitum*. La barra vertical indica el error estándar (n=3).

7. Discusión

Con base en los resultados de las variables fisicoquímicas expuestas en este trabajo, se encontró que las condiciones ambientales durante el periodo experimental fueron similares a la calidad de agua requerida para el cultivo postlarval de *H. rufescens* (Leighton, 1974, 2000, 2008). Aunque es importante mencionar que el método de cultivo utilizado por Leighton (sistema de recirculación) es diferente al utilizado en el presente trabajo (Cultivo estático sin aireación y sin flujo de agua).

La salinidad, no presentó variación significativa durante el periodo de cultivo, se mantuvo en 34 ± 1 unidades prácticas de salinidad (UPS), cerca del límite de 35 ups como lo recomienda Leighton (2008). Observaciones realizadas por Rojo-Salazar (2002); Correa-

Reyes (2002) y Muñoz-Castro (2010), indican que el cultivo de postlarvas de *H. rufescens* en salinidades de 32-34 ups son condiciones apropiadas para el cultivo de esta especie. Esto concuerda con los resultados de este estudio, ya que la salinidad estuvo dentro de las condiciones aceptables. No obstante, Jara-Montañez (2012) cultivó postlarvas de *H. rufescens* en salinidades de 30 ups y no observó un efecto significativo en el crecimiento y supervivencia de esta especie, probablemente debido a que esta se mantuvo constante a lo largo del período experimental. Estudios realizados con otras especies de abulón (*H. diversicolor*) mencionan que a salinidades menores a 30 ups, los organismos son más susceptibles a enfermedades e incluso en salinidades cercanas a 20 ups la mortalidad se incrementa hasta en un 100% (Winton et al. 2004).

En la actualidad, también se conoce que la temperatura modifica la tasa de crecimiento del abulón. Autores como Hanh (1989) y Leighton (1974; 2000) reportan que la especie tiene una tolerancia termal de 10 a 19.5°C, con condiciones óptimas en 15±1°C, lo cual concuerda con los resultados de este estudio. Por otra parte, temperaturas similares (16±1°C) han sido documentadas por Martínez-Ponce y Searcy-Bernal (1998) para el cultivo de postlarvas de *H. rufescens*. Por su parte, Rojo-Salazar (2002) registró supervivencias mayores (69%) que las obtenidas en este estudio, al utilizar *Navicula incerta* y temperatura de 16±1°C. Anguiano-Beltrán y Searcy-Bernal (2013), obtienen supervivencias de *H. rufescens* de 35.1%, con tasas de crecimiento de 47.6 µm día⁻¹ en cultivos estáticos sin aireación y densidades de 0.25 postlarvas cm⁻² durante 63 días. En el presente trabajo, al final del experimento la densidad de postlarvas fue 0.92 y 1.8 por cm², durante 85 días post asentamiento, al suministrar una ración peso específica y *ad libitum*, con supervivencia de 23.3% y 44.7% respectivamente y tasas de crecimiento de 97.12 µm día⁻¹ y 99.86 µm día⁻¹. Por lo tanto, la ración *ad libitum* en condiciones de cultivo

estático presentó supervivencia, densidad y tasas de crecimiento mayores que las reportadas por Anguiano-Beltrán y Searcy-Bernal (2013), mientras que, la ración peso específica a pesar de presentar menor supervivencia (23.3%), mostró valores de densidad y tasa de crecimiento mayor que las reportadas por citados autores.

Por otra parte, la formación del primer poro respiratorio se observó a los 56 días post asentamiento, tanto en tratamiento peso específico y *ad libitum*. Kawamura et al. (1998), menciona que no hay una definición clara entre la frontera de postlarvas y juveniles de abulón. Sin embargo, la formación del primer poro respiratorio o el tamaño del organismo al cual el poro respiratorio es cerrado, son puntos de referencia útiles para identificar la transición de postlarva a juvenil. Asimismo, el poro respiratorio les proporciona a los organismos juveniles una mayor eficiencia en la circulación, la oxigenación, un incremento en la secreción de enzimas digestivas y la consolidación de la rádula para la alimentación del organismo (Kawamura et al. 1998; Muñoz-Castro, 2010). En este contexto, los organismos bajo estudio, en la segunda semana de su cultivo, mostraron un incremento de 2.8 y 7 veces en la longitud de la concha en ambos tratamientos experimentales. Anguiano-Beltrán y Searcy-Bernal (2013) en su estudio, indican la aparición del poro respiratorio a los 51 días post asentamiento, pero sus tasas de crecimiento fueron menores que las obtenida en el presente trabajo.

También, es importante mencionar, que los valores de temperatura se correlacionan con la concentración de oxígeno disuelto registrado en el cultivo experimental. La concentración de oxígeno disuelto es mayor a bajas temperaturas. De acuerdo a estos resultados, se considera que el oxígeno disuelto en los cultivos estáticos de postlarvas, no fue un factor limitante en el crecimiento y supervivencia de *H. rufescens*. Estos resultados, concuerdan

con las condiciones de parámetros ideales en la calidad de agua para el cultivo de abulón (Leighton, 2008).

Por otra parte, se conoce que el pH modifica la tasa de crecimiento, supervivencia y consumo de oxígeno en abulón. Esta variable puede ser modificada, ya sea por la actividad fotosintética de *N. incerta* usada como alimento o por el consumo de alimento por parte de postlarvas de *H. rufescens*, que origina un aumento en desechos metabólicos en los cultivos experimentales (Harris et al. 1999). Durante el periodo experimental se registraron valores de pH entre 7.5 y 9. En general, el pH fue mayor a 8.5 en las primeras dos semanas de cultivo en ambos tratamientos experimentales. A partir de este tiempo y hasta el final del cultivo, los valores de pH fueron menores que 8.5. A este respecto, se ha documentado que la irradianza favorece la actividad fotosintética y el consumo de CO₂ por parte de la diatomea *N. incerta* usada como alimento, con el subsecuente incremento del pH en las primeras dos semanas del experimento en ambos tratamientos. Estudios realizados por Gorrostieta- Hurtado y Searcy- Bernal (2009) mencionan que alta irradianza provoca una progresiva inanición en las postlarvas de *H. rufescens*. Resultados similares fueron encontrados en este estudio, ya que la irradianza de 39 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ tuvo un impacto importante en la tasa de crecimiento y supervivencia durante las primeras dos semanas del cultivo de *H. rufescens*. Cuando la irradianza se redujo hasta un 50% (15.35 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en los cultivos experimentales, se incrementó el consumo de alimento y los valores de pH fueron menores que 8.5. Esta observación concuerda con estudios realizados por Harris et al. (1999), quienes reportan que pH mayores de 8.75 y menores a 7.5 existen modificaciones en el consumo de oxígeno y reducción de hasta un 50% en el crecimiento de juveniles de *Haliotis laevigata* y *Haliotis rubra*. Los resultados de este estudio mostraron que la postlarva de *H. rufescens* es más sensible a cambios de pH por arriba de

8.5, ya que el crecimiento durante las primeras tres semanas fue menor que durante las últimas tres semanas.

Los resultados de la concentración de amonio no ionizado (NH_3), no fueron significativos entre tratamientos ($F=0.74$; $P=0.39$) para la segunda semana del cultivo de postlarvas de *H. rufescens*. En general, los cultivos que recibieron ración peso-específica registraron mayor concentración de amonio no ionizado (NH_3), que aquellos cultivos alimentados *ad libitum*. Esto puede ser atribuido al pH, ya que, a mayor pH en el agua de cultivo, se incrementa la forma tóxica (NH_3), mientras que a menor pH, el amonio está en la forma ionizada (Harris et al. 1998; Leighton, 2008). De acuerdo con Millero (1996), temperatura y pH elevados, el amonio se vuelve más tóxico, debido a que el equilibrio de disociación se desplaza hacia la forma no ionizada (NH_3). Este compuesto químico puede llegar a ser letal para el cultivo de postlarvas de *H. rufescens*, porque afecta el consumo de oxígeno, función respiratoria y provoca daños en el tejido branquial (Reddy et al. 2006). Esto concuerda con los resultados observados durante las primeras tres semanas de cultivo postlarval de *H. rufescens*, donde concentración de 0.06 mg L^{-1} de amonio no ionizado se registró a pH entre 8.5-9.0. Actualmente se conoce que altos niveles de amonio no ionizado provocan efectos negativos en el crecimiento. Estudios con juveniles de *H. laevigata* muestran que niveles de 0.006 mg L^{-1} de NH_3 reducen el crecimiento en un 5% y valores de 0.188 mg L^{-1} reducen el crecimiento hasta un 50% (Harris et al. 1998).

Aunque Leighton (2008) considera que 0.025 mg L^{-1} es la concentración ideal de amonio no ionizado en un sistema de recirculación para abulón. Los resultados de este estudio mostraron que la concentración máxima registrada de amonio no ionizado (0.07 mg L^{-1}), no es el único factor que afecta la supervivencia y crecimiento de postlarvas de *H. rufescens*,

sino también la irradianza ya que, al disminuirla en casi un 50 %, se observó un consumo total de la biopelícula de *N. incerta*, con un incremento en talla y peso de las postlarvas. Por este motivo se incrementó la ración de alimento en un 10 % en ambos tratamientos a partir de la tercera semana. Otros estudios con distintas especies de abulón, han encontrado que condiciones de baja irradianza o total obscuridad puede promover el consumo de alimento e incrementar el crecimiento y supervivencia (Gorrostieta-Hurtado y Searcy-Bernal, 2004; Searcy-Bernal et al. 2003).

Con base en los resultados de longitud, peso seco de la postlarva y tasa de crecimiento se observó que organismos alimentados con ración *ad libitum* no mostraron diferencias significativas con respecto a aquellos que recibieron la ración peso específica. Estos resultados concuerdan con estudios realizados por (Kawamura et al. 1998; Wen et al. 2010; Jara-Montañez, 2012) quienes consideran que la cantidad y calidad de alimento influye en la supervivencia y crecimiento de postlarvas de abulón. Además, en este trabajo, las postlarvas de *H. rufescens* alimentadas con *N. incerta* en base a raciones peso-específica y *ad libitum*, mostraron mayores tasas de crecimiento que aquellas reportadas en otros estudios (Searcy-Bernal y Gorrostieta-Hurtado, 2007; Correa-Reyes, 2002; Rojo-Salazar, 2002) quienes registran tasas de crecimiento de 30-38 y 37 $\mu\text{m día}^{-1}$ respectivamente, usando como alimento *N. incerta*.

Con base a los resultados de este estudio, se demuestra que es factible el cultivo estático de larvas y postlarvas de *H. rufescens* sin aireación y sin flujo de agua. Esta biotecnología de proceso constituye una alternativa que innova de manera importante los sistemas de cultivo tradicionales en la industria del abulón en Baja California, México. En específico, la etapa larval, postlarval y juveniles tempranos de *H. rufescens*. En comparación con los métodos tradicionales, el método de cultivo estático usado en este trabajo es más simple, el

intercambio diario del agua facilita la limpieza y alimentación de los organismos. También, esta biotecnología reduce el costo de mano de obra requerida para el cultivo, reduce el costo de energía, de infraestructura física, de volumen y flujo de agua de mar y el alimento se proporciona en base al peso específico de postlarva y juveniles de *H. rufescens*. Por lo tanto, el cultivo estático es un método atractivo que puede ser usado en centros acuícolas que se dedican al cultivo del abulón.

8. Conclusiones

- ❖ Por efecto de alta irradianza y pH, la supervivencia de postlarvas de *Haliotis rufescens* en las primeras tres semanas disminuyó a 40 y 30 % en la ración peso-específica y *ad libitum* respectivamente.
- ❖ La supervivencia de postlarvas de *Haliotis rufescens* fue mayor con la ración *ad libitum*.
- ❖ El crecimiento y peso seco de postlarvas de *Haliotis rufescens* no fue significativo al usar una ración peso-específica y *ad libitum* respectivamente.
- ❖ Al final del cultivo, la supervivencia promedio de postlarvas de *Haliotis rufescens* fue 23 y 44 % ración peso-específica y *ad libitum* respectivamente.
- ❖ El método de cultivo estático constituye una alternativa viable para la producción de larva, postlarva y juveniles tempranos de *Haliotis rufescens* en la industria del abulón, al menos durante el tiempo en que se evaluó.

9. Literatura citada

- Anguiano-Beltrán, C. 2007. El papel de las bacterias en la supervivencia y crecimiento de postlarva de abulón rojo *Haliotis rufescens*. Tesis para obtener el grado de doctor. Universidad Autónoma de Baja California. Baja California. 100 pp.
- Anguiano-Beltrán, C. y Searcy- Bernal, R. 2013. Survival and growth of red abalone postlarvae under different static and flow conditions. *J. Shellfish Research*, 32: 29-32.
- Arriagada-Urbina, K. 2007. Identificación y localización de algunos proteoglicanos de la concha del abalón rojo *Haliotis rufescens* (Swainson, 1822). Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias Económicas en Chile. 57 pp.
- Benson, B. y Krause, D. Jr. 1984. The concentration and isotopic fractionation of oxygen dissolved in freshwater and seawater in equilibrium with the atmosphere. *ALSO*. Volume, 29 (3): 620–632.
- Bower, C.E. y J.P. Bidwell. 1978. Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature, pH and salinity. *J. Fish. Res.*, Volume, 35: 1012-1016.
- Capinpin E.C. Jr. y Corre, K.C. 1996. Growth rate of the philippine abalone, *Haliotis asinina* fed an artificial diet and macroalgae. *Aquaculture*, 144: 81-89.
- Cisternas, C. 2013. La introducción del Abalón en Chile, Situación actual y perspectivas. Grupo de investigación de la Pesca Artesanal y Sociedades Costeras. 7 pp.
- Cook, A.P. 2016. Recent Trends in Worldwide Abalone Production. *Journal of Shellfish Research*, 35 (3): 581-583.
- Correa-Reyes, J.G. 2002. Selección de especies de diatomeas bentónicas para el cultivo de abulón. Tesis de doctorado. CISESE. Ensenada, Baja California, México. 137 pp.
- Freeman, A.K. 2001. Aquaculture and related biological attributes of abalone species in Australia. No. 128: Fisheries Research Report.
- Gorrostieta-Hurtado, E. y Searcy-Bernal, R. 2004. Combined effects of light condition (constant illumination or darkness) and diatom density on postlarval survival and growth of the abalone *Haliotis rufescens* postlarvae. *J. shellfish Res.*, 23 (4): 1001-1008.
- Gorrostieta-Hurtado, E. y Searcy-Bernal, R. 2009. Efecto de la obscuridad sobre el desarrollo postlarval inicial del abulón *Haliotis corrugata* alimentado con diferentes densidades de diatomeas. *Ciencias marinas*, 35 (1): 113-122.

- Haaker, P.L., Henderson, K.C., and Parker, D.O. 1986. California Abalone, Marine Resources Leaflet No. 11. State of California, There sources Agency, Department of Fish and Game, Marine Resources Division, Long Beach, CA.
- Hahn, K.O. 1989. Handbook of culture of abalone and other marine Gastropods. CRC press Boca Raton, Florida. 348 pp.
- Harris, J.O., Maguire, G.B., Edwards S.J. & Hindrum S.M. 1998. Effect of ammonia on the growth rate and oxygen consumption of juvenile greenlip abalone, *Haliotis Laevigata* Donovan. *Aquaculture*, 160: 259-272.
- Harris, J.O., Maguire, G.B., Edwards, S.J. y Johns, D.R. 1999. Low dissolved oxygen reduces growth rate and oxygen consumption rate of juvenile greenlip abalone, *Haliotis Laevigata* Donovan. *Aquaculture*, 174: 295-278.
- Hone, W., Madigan, M. y Fleming, A. 1997. Abalone hatchery manual of Australia. South Australian Research and development institute. South Australia. 34 pp.
- Instituto Nacional de Pesca. (2006). Sustentabilidad y pesca responsable en México. 543 pp.
- Jara-Montañez, R. 2012. Producción intensiva de postlarvas de abulón rojo en un cultivo estático utilizando raciones de alimento peso- específicas y distintas densidades postlarvales. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Baja California. Baja California. 84 pp.
- Kawamura, T.R., D. Roberts y H. Takami. 1998. A review of the feeding and growth of postlarval abalone. *J. Shellfish Res.*, 17 (3): 615-625.
- Leighton, D. L. 1974. The influence of temperature on larval and juvenile growth in three species of southern California abalones. *Fishery bulletin*, 72 (4): 1137-1145.
- Leighton, D.L. 2000. The Biology and Culture of the California Abalones. The University of California, USA: Dorrance Publishing Company. 216 pp.
- Leighton, P. 2008. Abalone hatchery manual. Robinson, G, y McGowan, N. (Editors). *Aquaculture Explained*. No. 25. 95 pp.
- López-Landavery, E.A. 2015. Análisis del transcriptoma gonadal del abulón rojo *Haliotis rufescens* cultivado en Baja California, México. Tesis de doctorado. CICESE. Baja California. 156 pp.

- Martínez-Ponce, D.R. y Searcy-Bernal, R. 1998. Grazing rates of red abalone (*Haliotis rufescens*) postlarvae feeding on the benthic *Navicula incerta*. J. Shellfish Res.,17: 627-630.
- McShane, P., Gorfine, H. y Knuckey, I. 1994. Factors influencing food selection in the abalone *Haliotis rubra* (Mollusca: Gastropoda). Journal of experimental marine biology and ecology, 176: 27-37.
- Mgaya, D. 1995. Synopsis of biological data on the European abalone (Ormer), *Haliotis tuberculata* Linnaeus, 1758 (Gastropoda: Haliotidae). FAO Fisheries Synopsis, 156: 36 pp.
- Millero, J. 1996. Chemical Oceanography. University of Miami: Second Edition.496 pp.
- Miranda-Saucedo, C.M. 2009. Sobrevivencia y crecimiento de postlarvas y juveniles de *Haliotis rufescens* (Swainson 1822) con diferentes rutinas de alimentación con *Navicula incerta*. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur. Baja California Sur. 63 pp.
- Muñoz-Castro, G. 2010. Crecimiento postlarval y juvenil de abulón rojo *Haliotis rufescens* en una granja comercial. Tesis de licenciatura. Facultad de biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 39 pp.
- Pérez-Muñoz, G. 1995. Cultivo de Abulón en México. Desarrollo histórico, estado actual y sus perspectivas. Tesis de licenciatura. Facultad de ciencias marinas. UABC. Baja california. 121 pp.
- Porta-Vales, A. 2009. Optimización del cultivo de diatomeas bentónicas para el cultivo de post-larvas de abalon. Tesis de licenciatura. Instituto Canario de Ciencias Marinas. España. 126 pp.
- Pruder, G.D. y Bolton, E.T. 1978. System configuration and performance: Bivalve molluscan mariculture. Proc. 9th Annual Meeting World Mariculture Soc., 747-759.
- Reddy-Lopata, K., Averswald, L., Cook, P. 2006. Ammonia toxicity and its effect on the growth of the South African abalone *Haliotis midae* Linnaeus. Aquaculture, 261: 678-687.
- Rojos-Salazar, G. 2002. Supervivencia y crecimiento de postlarvas y juveniles de *H. rufescens* (Swainson, 1822) alimentadas con diatomeas bentónicas. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Marinas. UABC. Ensenada, B.C. México. 87 pp.

- Searcy-Bernal, R. 1996. Boundary layers and abalone postlarval culture: preliminary studies. *Aquaculture*, 140: 129-137.
- Searcy-Bernal, R. y Gorrostieta-Hurtado E. 2007. Effect of darkness and water flow rate on survival, grazing and growth rates of abalone *Haliotis rufescens* postlarvae. *Journal of Shellfish Research*, 26(3):789-794.
- Searcy-Bernal, R., Anguiano-Beltrán, C., Esparza-Hernández, A. 2003. The effect of irradiance on the survival and growth of abalone postlarva *Haliotis fulgens* fed *Navicula incerta*. *Aquaculture*, 228, 237-248.
- Simental, R., Sánchez, M. y Flores, N. 2004. Growth and survival of juvenile red abalone (*Haliotis Rufescens*) fed with macroalgae enriched with benthic diatom film. *Journal. ShellfishResearch*, (4): 995-999.
- Valenzuela-Espinoza, E., Millán-Núñez, R. y Núñez-Cebrero, F. 1999. Biomass production and nutrient uptake by *Isochrysis* aff. *galbana* (Clone T-ISO) cultured with a low cost alternative to the f/2 medium. *Aquacultural Engineering*, (20): 135-147.
- Viana-Castrillón, M.T. 2002. Avances en la nutrición digestiva y metabolismo del abulón. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3 al 6 de septiembre del 2002. Cancún Quintana Roo, México.
- Viana-Castrillón, M.T. 2000. Avances en nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Noviembre 15-18,1998. La paz, B.C.S. México.
- Wen- Rong C., H. Chi-Yang y S. Shyn-Shin. 2010. Development of formulated diet for post-larval abalone, *Haliotis diversicolor supertexta*. *Aquaculture* 307:89-94.
- Winton cheng, Feng Ming, J., Jiann Chu, C. 2003. The immune response of Taiwan abalone *Haliotis diversicolor supertexta* and its susceptibility to *Vibrio parahemolyticus* at different salinity levels. *Fish and Shellfish Immunology*, (16): 295-306.