



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA.

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS.

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLOGICAS.

**"INTENSIDAD DEL PASTOREO DE POSTLARVAS DE ABULON
ROJO *Haliotis rufescens* (MOLLUSCA: GASTROPODA) EN
CONDICIONES DE CULTIVO."**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO
EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFIA COSTERA**

PRESENTA:

Daniel Ranulfo Martínez Ponce.

ENSENADA, B.C.

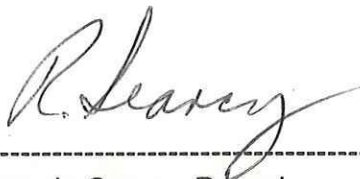
ENERO DE 1998.

"INTENSIDAD DEL PASTOREO DE POSTLARVAS DE ABULON ROJO *Haliotis rufescens* (MOLLUSCA: GASTROPODA) EN CONDICIONES DE CULTIVO".

Tesis que presenta

Daniel Ranulfo Martínez Ponce.

Aprobada por :



M.C. Ricardo Searcy-Bernal.
Presidente del jurado.



M.C. Zaúl García Esquivel.
Sinodal.



Dr. Guillermo Villareal Chavéz.
Sinodal.

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

INTENSIDAD DEL PASTOREO DE POSTLARVAS DE ABULON ROJO
Haliotis rufescens (MOLLUSCA: GASTROPODA) EN CONDICIONES DE
CULTIVO.

TESIS

Que para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Oceanografía Costera

presenta:

Daniel Ranulfo Martínez Ponce

Ensenada, B.C. , enero 1998.

Dedicatoria

A mis señores padres, Columba Ponce y Geminiano Martínez, y mi abuelita Elvira, por darme su entusiasmo y alegría para poder llegar a la meta que me he trazado.

Para Ignacio Uciel, Angélica Marina, Gerardo, Genaro Abel, Juan José, Gemito, Rita Melina y Daniela Mónica, por su apoyo y confianza que a distancia me han dado.

A Marina Mondragón por permitirme disfrutar de su compañía, amor y motivación.

Alejandra Martínez Mondragón, desde tú llegada has intensificado gran parte de mi vida.

A mis sobrinos : Alan, Viridiana, Fátima, Israel y María José.

A Jorge, Esperanza (por su amistad y demás) e Ixchetl por su amistad.

Cassandra Anguiano por su compañerismo y opiniones de trabajo durante mi estancia en el laboratorio de moluscos.

A los compañeros de generación con los que les doy mi gratitud por haber compartido parte de su tiempo durante los cursos y reuniones, en especial a los M's.C's. Margarita Cervantes, Francisco Muñoz, Lucía Villegas, Alejandra Mora, Fernando Garza y Marco Antonio Gonzalez.

AGRADECIMIENTOS.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por darme el apoyo económico durante mis estudios de maestría.

A la Universidad Autónoma de Baja California y en especial a la Facultad de Ciencias Marinas que hicieron posible mis estudios.

Al Instituto de Investigaciones Oceanológicas por el apoyo en instalaciones, equipo para la realización de este estudio.

Al M.C. Ricardo Searcy Bernal por confiarme su idea para desarrollarla y sobre todo su tiempo, paciencia y confianza durante la elaboración de este trabajo.

A mi hermano Gerardo por dar su apoyo moral y económico para finalizar esta tesis.

A mis sinodales por su tiempo empleado en las revisiones y correcciones de este trabajo.

A la empresa Abulones Cultivados de S.A. de C.V. por los lotes de larvas porporcionados.

A Dios por darme vida y guiarme en el camino.

"Nosotros, los pescadores de la luna, ascendemos por la corriente del tiempo, y recolectamos almas e imágenes en nuestras redes"...

RESUMEN

Se realizaron dos ensayos para determinar las tasas de pastoreo en postlarvas de abulón rojo (*Haliotis rufescens*) de diferentes edades (2-30 días), utilizando la diatomea bentónica *Navicula incerta* como alimento. Las postlarvas fueron introducidas en cámaras experimentales de 10ml previamente inoculadas con esta diatomea. Dos horas después, se realizaron videograbaciones al microscopio invertido bajo diferentes magnificaciones. Las imágenes fueron procesadas mediante análisis digital para estimar áreas pastoreadas, densidad de diatomeas y tasas de pastoreo. Adicionalmente se evaluó el crecimiento y migración de *N. incerta* en el mismo tipo de cámaras experimentales sin la presencia de postlarvas.

Las tasas de pastoreo fluctuaron entre 20 y 724 células/postlarva/hora y fueron significativamente diferentes entre ensayos. Las tasas mínimas se registraron durante los primeros días post-asentamiento, incrementándose abruptamente durante la segunda y tercer semanas, en el primer y segundo ensayo, respectivamente. Este incremento del pastoreo ocurrió cuando las postlarvas alcanzaron longitudes entre 0.4 y 0.6mm.

La metodología utilizada para la realización de esta tesis resulto satisfactoria para lograr el objetivo planteado y podría ser utilizada en estudios similares con otros organismos de hábitos alimenticios similares.

CONTENIDO

I. INTRODUCCION.	1
I.1 Antecedentes.	4
I.2 Objetivos	6
II. MATERIALES Y METODOS.	7
II.1 Origen y cultivo de larvas y postlarvas de abulón rojo (<i>H. rufescens</i>).	7
II.2 Obtención y manejo de la diatomea bentónica <i>N. incerta</i> .	8
II.3 Crecimiento de <i>N. incerta</i> en recipientes experimentales.	8
II.4 Ensayos sobre la determinación de la intensidad del pastoreo.	9
II.5 Ensayo sobre recolonización de <i>N. incerta</i> .	10
II.6 Análisis digital de imágenes.	11
II.7 Análisis estadístico	12
III. RESULTADOS.	13
III.1 Crecimiento de diatomeas en las unidades experimentales.	13
III.2 Crecimiento de postlarvas de abulón rojo (<i>H. rufescens</i>).	13
III.3 Determinación de tasas de pastoreo.	22
III.4 Recolonización de <i>N. incerta</i> en areas libres.	23
IV. DISCUSION.	33
IV.1 Crecimiento de <i>N. incerta</i> en recipientes experimentales	33
IV.2 Crecimiento de postlarvas de <i>H. rufescens</i>	35
IV.3 Estimaciones de tasas de pastoreo.	36
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	41
VI. LITERATURA CITADA.	42
VII. ANEXOS	47

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Crecimiento de *N. incerta* en tres diferentes densidades en unidades experimentales sin postlarvas con su respectivo error estándar. _____ 15
- Figura 2. Tasa de crecimiento específico de *N. incerta* en cada una de las tres densidades con respecto al tiempo. _____ 17
- Figura 3. Comparación del crecimiento de postlarvas de abulón rojo (*H. rufescens*) entre los dos ensayos realizados con su respectivo error estándar. _____ 20
- Figura 4. Relación entre el área pastoreada y la densidad de diatomeas en el fondo de las unidades experimentales con respecto a cada edad evaluada (ensayo 1, septiembre 1995). _____ 26
- Figura 5. Relación entre el área pastoreada y la densidad de diatomeas en el fondo de las unidades experimentales con respecto a cada edad evaluada (ensayo 2, junio 1996). _____ 27
- Figura 6. Comparación de las tasas de pastoreo entre los dos ensayos en función de la edad postlarval con su respectivo error estándar. _____ 28
- Figura 7. Comparación de las tasas de pastoreo en los dos ensayos en función de la longitud postlarval con su respectivo error estándar. _____ 30
- Figura 8. Recolonización de *N. incerta* en áreas clareadas manualmente en tres diferentes densidades, sin efecto de pastoreo. _____ 32

LISTA DE TABLAS

- Tabla I. Coeficientes de las regresiones lineales en el ensayo de crecimiento de *Navicula incerta* en distintas densidades iniciales (r^2 = coeficiente de determinación, a = pendiente, b= ordenada al origen). _____ 16
- Tabla II. Longitud (mm) de postlarvas de abulón rojo (*H. rufescens*) alimentadas con *N. incerta* para cinco diferentes edades (primer ensayo, septiembre de 1995, $17\pm 1^\circ\text{C}$). _____ 18
- Tabla III. Longitud (mm) de postlarvas de abulón rojo (*H. rufescens*) alimentadas con *N. incerta* para seis diferentes edades(segundo ensayo, junio de 1996, $14\pm 1^\circ\text{C}$). _____ 19
- Tabla IV. Resultados de comparaciones múltiples LSD con respecto a la longitud de concha postlarval realizadas para cada uno de los ensayos. _____ 21
- Tabla V. Area pastoreada y tasa de pastoreo promedio para cinco diferentes edades en el primer ensayo, septiembre de 1995, (\pm Error estándar). _____ 24
- Tabla VI. Area pastoreada y tasas de pastoreo para seis diferentes edades en el segundo ensayo, junio de 1996, (\pm Error estándar). _____ 25
- Tabla VII. Resultados de comparaciones múltiples LSD con respecto a la tasa de pastoreo postlarval realizadas para cada uno de los ensayos. _____ 29
- Tabla VIII. Recolonización promedio de *N. incerta* a areas manualmente clareadas, después de 2, 4 y 12 horas (iluminación constante). _____ 31
- Tabla IX. Comparación de tasas de crecimiento de postlarvas del abulón rojo (*H. rufescens*) según diversos autores. _____ 38

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A. Crecimiento de <i>N. incerta</i> en dos diferentes densidades, durante un período de once días. _____	47
ANEXO B. Media y error estándar de la densidad de <i>N. incerta</i> en cada uno de los muestreos realizados en las unidades experimentales sin postlarvas, durante once días. _____	48
ANEXO C. Porcentaje de diatomeas adheridas con respecto al inóculo inicial por mm ² a las 24 horas después de ser aplicado en las unidades experimentales. _____	48
ANEXO D. Análisis de varianza de una vía para las longitudes de ambos ensayos en distintas edades. _____	49
ANEXO E. Análisis de varianza de una vía para las edades similares de ambos ensayos: 4, 6 y 12 días post-asentamiento con respecto a longitud de concha. _____	50
ANEXO F. Longitud postlarval y cálculo de las tasas de pastoreo para seis diferentes edades de postlarvas de <i>H. rufescens</i> (ensayo 1, septiembre de 1995), (E.S.= Error Estándar). _____	51
ANEXO G. Longitud postlarval y cálculo de las tasas de pastoreo para seis diferentes edades de postlarvas de <i>H. rufescens</i> (ensayo 2, junio de 1996), (E.S.= Error Estándar). _____	53
ANEXO H. Análisis de varianza de una vía para las tasas de pastoreo de ambos ensayos, en distintas edades. _____	55
ANEXO I. Análisis de varianza de una vía para las edades similares de ambos ensayos: 4, 6 y 12 días post-asentamiento con respecto a la tasa de pastoreo en una hora. _____	56
ANEXO J. Análisis de varianza de una vía en el ensayo de recolonización de <i>N. incerta</i> en áreas manualmente clareadas con datos transformados (arco seno \sqrt{p}). _____	57

I. INTRODUCCION.

En la actualidad existen aproximadamente 80 especies de abulón (*Haliotis spp.*) que habitan en las costas de climas templados y semitropicales del mundo. Siete de estas especies se encuentran en Norteamérica, dentro de las cuales destaca el abulón rojo (*Haliotis rufescens*) (Hooker y Morse, 1985), que alcanza la mayor longitud dentro del género (hasta 30 cm). Además en el mercado llega a ser muy bien cotizado y la demanda está por debajo de la oferta en países como Japón, China, Taiwan, Estados Unidos, etc. Por estas razones la mayoría de las granjas de abulón que existen en California y Baja California dedican sus esfuerzos para desarrollar el cultivo de esta especie (Hahn, 1989; Ebert, 1992; McBride, 1997).

En México, la importancia del abulón está dada por el hecho de que su pesca, ya sea para alimento u ornato, se ha llevado a cabo desde la época prehispánica, y a que en Baja California este recurso ha sido una de las principales fuentes de trabajo y promotor de la colonización de sus costas e islas, habitadas en la actualidad por un número importante de familias de pescadores y obreros mexicanos (Mateus, 1986; Pérez-Muñoz, 1995).

Debido a la drástica declinación de las capturas de este recurso que se observa desde fines de los setenta, la alternativa de su cultivo ha tomado cada vez mas auge en nuestro país. En especial a partir de la década de los ochenta, han iniciado su operación diversos centros y programas sobre cultivo de abulón, tanto del gobierno federal (laboratorios de Eréndira y Bahía Tortugas), cooperativas pesqueras (laboratorios de La Bocana, B.C.S., Punta Eugenia B.C.S. y Puerto Nuevo B.C.S.), sector privado (Abulones Cultivados, Eréndira y Ensenada, B.C.) y sector académico (Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, B.C.) (Pérez-Muñoz, 1995).

El cultivo del abulón inicia con una fase de laboratorio, que normalmente dura de 6 a 12 meses, incluyendo la inducción al desove de adultos maduros y

el cultivo de larvas, para finalmente producir juveniles de 1 a 3 cm, denominados "semilla", siendo liberados éstos en ocasiones al fondo marino o cultivados en cautiverio de 1 a 3 años mediante distintas técnicas, hasta que alcanzan la talla comercial de 5 a 8 cm, (Hahn, 1989).

Durante el asentamiento y las primeras semanas de vida postlarval en los sistemas de cultivo, la sobrevivencia es comunmente del 1 al 10 % (Hooker y Morse, 1985; Hahn, 1989) y existen evidencias recientes que sugieren que la mayor mortalidad durante este período crítico ocurre después del asentamiento; es decir, en la etapa postlarval que dura dos meses aproximadamente (Searcy-Bernal *et al.*, 1992a). Entender los factores que inciden en la mortalidad masiva durante este período, aportará las bases para desarrollar técnicas de producción de semilla de abulón más eficientes.

Las diatomeas bentónicas utilizadas como alimento de postlarvas de abulón pueden ser obtenidas mediante la captación y proliferación natural en placas corrugadas, mangueras, cubetas o tanques, para posteriormente realizar una selección por tamaño a través del filtrado en bolsas o tamices (Ebert y Huok, 1984; Hahn, 1989; Searcy-Bernal *et al.*, 1992a,b). Alternativamente algunas granjas cultivan cepas de diatomeas seleccionadas en pruebas previas (Hahn, 1989; Kawamura, 1996). Por otro lado, es común la regulación de la irradiancia sobre las biopelículas microalgales mediante el sombreado de los recipientes de cultivo con mallas, con el propósito de inhibir el crecimiento de formas filamentosas que son inadecuadas para la crianza de postlarvas y juveniles de abulón (Hahn, 1989; Ebert, 1992).

Una de las hipótesis que se consideran para explicar la alta mortalidad de postlarvas en los laboratorios de producción a nivel comercial, es el desequilibrio entre la producción de diatomeas bentónicas y el pastoreo por las postlarvas de abulón. Si existe un pastoreo excesivo, el alimento (diatomeas bentónicas y otros microorganismos) se agota y las postlarvas mueren por inanición. Por otro lado, si el pastoreo es insuficiente, la biopelícula de

diatomeas se desarrolla demasiado y origina condiciones adversas que pueden causar una alta mortalidad (Ebert y Houk, 1984; Searcy-Bernal *et al*, 1992a,b; Searcy-Bernal, 1996). Para poder entender y controlar adecuadamente la dinámica de este sistema, es fundamental estudiar el pastoreo postlarval.

Por otro lado, el conocer el desarrollo de la biopelícula de diatomeas bajo condiciones de cultivo, podría contribuir a regular su abundancia y optimizar su utilización como alimento en la etapa postlarval del abulón (*Haliotis spp*). A pesar de la evidente importancia de las diatomeas bentónicas en las etapas tempranas del abulón, hasta el momento la investigación sobre éstas enfocada hacia la acuicultura del abulón es mínima (McBride, 1990; Seki y Taniguchi, 1996; Kawamura, 1996; Takami *et al.*, 1997).

Dentro de esta línea de investigación, el presente trabajo pretende hacer una primera estimación de la ingestión de diatomeas bentónicas para diferentes edades de postlarvas de abulón rojo (*H. rufescens*) durante el primer mes de vida bentónica. Estas observaciones se efectuaron sobre biopelículas monoespecíficas de *Navicula incerta*. Adicionalmente se estudió el crecimiento de *N. incerta* y su migración a áreas libres sobre la superficie del fondo de las unidades experimentales utilizadas.

Una de las herramientas utilizadas en esta investigación fue la microvideograbación utilizada para capturar y archivar las imágenes de las áreas pastoreadas por las postlarvas de abulón, así como para obtener información sobre su conducta alimenticia, desplazamiento y morfología. Una de las ventajas de esta herramienta es el registro permanente de observaciones e imágenes que pueden ser analizadas con mayor detalle y flexibilidad.

I.1 Antecedentes.

Los antecedentes sobre estimaciones de tasas de pastoreo en haliótidos son prácticamente nulos; sin embargo, podemos referir algunos trabajos relacionados al tema.

Seki y Kan-no (1977) observaron en *H. discus hannai* los cambios de conducta y morfología desde veliger a juvenil bentónico, encontrando que en la etapa postlarval inicial, la alimentación comienza con diatomeas menores de 10 μ m, pero se intensifica cuando la boca tiene una abertura de 30 μ m y una longitud de concha de 350 μ m. De manera similar, se ha sugerido para *H. rufescens* que larvas recién metamorfozadas pueden alimentarse de bacterias y microalgas bentónicas menores a 10 μ m (Ebert y Houk, 1984).

Norman-Boudreau *et al.* (1986), mediante un análisis de contenido estomacal de postlarvas de *H. kamtschatkana*, notaron que la alimentación con diatomeas bentónicas se inicia al menos dos días después de la metamorfosis. En las placas de cultivo la diversidad de diatomeas presentes fue 5 veces mayor, y las longitudes promedio de éstas de 2 a 3 veces mayor, en comparación con las diatomeas observadas en el sistema digestivo de las postlarvas de abulón.

Moss y Tong (1992) hicieron observaciones sobre el desarrollo de la rádula de *H. iris* antes de asentarse y sugieren que las larvas pueden aparentemente iniciar su alimentación sobre el mucus de organismos juveniles y microorganismos por períodos cortos antes del asentamiento. Esto presupone que la boca se forma antes del tiempo establecido en los trabajos mencionados anteriormente, en los que se afirma que la boca aparece al término de la metamorfosis con un tamaño menor a 10 μ m (Hahn, 1989).

Durante los últimos 3 años, se ha intensificado el estudio de la alimentación inicial de postlarvas de haliótidos. Kawamura y Takami (1995) y Kawamura (1996) documentan el efecto de diferentes especies de diatomeas bentónicas sobre el crecimiento de postlarvas de *H. discus hannai*. Estos autores observaron que después de 24 horas de haber sido fijadas, las postlarvas muestran una conducta de alimentación (raspado sobre biopelículas de diatomeas); pero mediante un análisis del contenido estomacal no encontraron restos de células. Sin embargo, en postlarvas de dos días de edad (350 μm de longitud de concha) se observó el inicio de la ingestión de diatomeas. Estos investigadores concluyen que el material extracelular de las diatomeas es utilizado como alimento por las postlarvas recién fijadas, hasta que éstas alcanzan una longitud de concha de 800 μm y que la presencia de bacterias en las biopelículas puede suplementar su dieta. Este tipo de estudios se han extendido a *H. midae* (Matthews y Cook, 1995), *H. iris* (Kawamura *et al.*, 1997) y *H. rufescens* (Kitting y Morse, 1997).

I.2 Objetivos

El objetivo general de este trabajo es determinar las tasas de pastoreo de postlarvas de abulón rojo (*Haliotis rufescens*) de diferentes edades alimentadas con la microalga *Navicula incerta*, durante el primer mes de vida bentónica.

Adicionalmente se pretende :

- 1) Determinar el crecimiento de las postlarvas de abulón rojo (*H. rufescens*) sobre la biopelícula de *N. incerta* durante el primer mes de vida bentónica.
- 2) Adaptar técnicas de micro-videograbación y procesamiento digital de imágenes, como herramienta en la investigación sobre la biología postlarval del abulón.

II. MATERIALES Y METODOS.

II.1 Origen y cultivo de larvas y postlarvas de abulón rojo (*H. rufescens*).

Las larvas de abulón rojo que se utilizaron en este trabajo fueron donadas por la empresa privada Abulones Cultivados (Eréndira, Baja California, México). Se trasladaron dos lotes de larvas veliger de 3-4 días al Instituto de Investigaciones Oceanológicas (I.I.O.) de la Universidad Autónoma de Baja California (U.A.B.C.) por vía terrestre (2-3 horas) en septiembre de 1995 y junio de 1996.

El cultivo larval se continuó en las instalaciones del I.I.O. en cubetas de 20 litros con cambios de agua diarios, filtrada a $1\mu\text{m}$ y tratada con U.V., aplicando cloranfenicol a una concentración de $10\text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Para la fijación de las larvas se usó el inductor ácido gamma-aminobutírico (GABA) a una concentración de $1\mu\text{M}$ (Searcy-Bernal *et al.*, 1992b).

Dos días después del asentamiento se procedió a inocular los recipientes de cultivo con la diatomea *N. incerta* a una densidad de $250\text{ células} \cdot \text{mm}^{-2}$. Estos recipientes se colocaron en una cama de fibra de vidrio dentro de un laboratorio con aire acondicionado, con iluminación constante (ca. $50\ \mu\text{E}$) y cambios de agua ($1\ \mu\text{m}$, U.V. y cloranfenicol a una concentración de $10\text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) cada dos días durante las tres primeras semanas. Al finalizar la tercer semana se abrió el flujo de agua filtrada a $5\ \mu\text{m}$. Posteriormente se realizaron cambios de agua semanales con un ligero lavado de las paredes y fondo para retirar las heces fecales de los organismos contenidos en los recipientes. Para la realización de la medición de la tasa de pastoreo se colectaron postlarvas de diferentes edades de una misma cubeta seleccionada en cada ensayo. En el primer ensayo la temperatura promedio fue de $17 \pm 1^\circ\text{C}$ y en el segundo ensayo de $14 \pm 1^\circ\text{C}$.

II.2 Obtención y manejo de la diatomea bentónica *N. incerta*.

La especie utilizada, *Navicula incerta*, fue proporcionada por el Laboratorio de microalgas del Instituto de Investigaciones Oceanológicas (I.I.O.) de la Universidad Autónoma de Baja California (U.A.B.C.). Esta diatomea, de una longitud aproximada de 9-15 μm , ha probado ser un excelente alimento de postlarvas tempranas de *Haliotis spp.* en experiencias anteriores en este Instituto.

Debido a que la diatomea utilizada se adhiere tanto en fondo y paredes del matraz Erlenmeyer de cultivo (125 ml) y algunas de estas células forman "grumos" (conjunto de células adheridas entre sí), se utilizó un sonicador (Brason 1200 ultrasonic cleaner 50/60 Hz.) para separar las células del matraz y entre sí (Voltolina, 1991). El tiempo del tratamiento mediante el sonicador varió de 3 a 5 minutos, procurando evitar el daño estructural de la pared celular. Una vez dispersas las diatomeas en el matraz, se colectaron dos muestras para su conteo en un hematocitómetro.

II.3 Crecimiento de *N. incerta* en recipientes experimentales.

Los recipientes utilizados en los ensayos de pastoreo fueron cajas estériles de seis cámaras (Corning Mod. 25810 con 9.40 cm^2 de superficie de fondo por cámara). Un ensayo preliminar pretendió conocer el crecimiento de *N. incerta* en ausencia de pastoreo, a partir de diferentes densidades de inóculo (160 $\text{cel} \cdot \text{mm}^{-2}$, 200 $\text{cel} \cdot \text{mm}^{-2}$ y 300 $\text{cel} \cdot \text{mm}^{-2}$), que se distribuyeron aleatoriamente por duplicado entre las cámaras de un caja. La densidad de diatomeas se determinó cada dos días durante 11 días, mediante videograbación en un microscopio invertido (Zeiss) con una cámara Hitachi (Mod. VK-C999) y análisis digital de imágenes (ver sección II.6). Al iniciar la primera sesión de videograbación se lavó suavemente cada una de la cámaras para retirar las diatomeas no adheridas al fondo de la cámara y para eliminar algunos grumos de diatomeas presentes, los cuales no se consideraron para

determinar la densidad de diatomeas. Posteriormente se realizaron cambios de agua diarios (1 μm , U.V.) con cloranfenicol a una concentración de $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. La temperatura se mantuvo en $17 \pm 1^\circ\text{C}$ con la ayuda de un sistema de aire acondicionado. Se videograbaron seis campos al microscopio invertido (200x) de cada cámara experimental.

La ecuación empleada para calcular la tasa de crecimiento fue la propuesta por Guillard en Stein (1973) :

$$K = \text{Ln}(N_2 / N_1) / (t_2 - t_1)$$

Donde :

K: Constante de crecimiento N_i : Número de células en el tiempo *i*.

$(t_2 - t_1)$: Intervalo de tiempo entre muestreos.

II.4 Ensayos sobre la determinación de la intensidad del pastoreo.

Se realizaron dos ensayos (uno para cada lote de larva) para determinar la intensidad del pastoreo en postlarvas de distintas edades, utilizando las cajas de seis cámaras con seis postlarvas por cámara. Las edades de las postlarvas seleccionadas para el primer ensayo fueron 2, 4, 6, 12 y 30 días de haber sido inducidas al asentamiento. Para el segundo ensayo se utilizaron las edades 4, 6, 10, 12, 18 y 25 días. A cada cámara se le agregó un inóculo estándar de diatomeas ($160 \text{ cel} \cdot \text{mm}^{-2}$) un día antes de iniciar los ensayos, tratándose de la misma manera que el punto II.3.

Antes de introducir las postlarvas en la unidades experimentales se determinó el número de diatomeas en la biopelícula por milímetro cuadrado, con la misma metodología empleada en el punto II.3. Las observaciones y videograbaciones para estimar las tasas de pastoreo, se realizaron a las dos horas de introducir las postlarvas en las cámaras. En el primer ensayo se utilizó

una videocámara Hitachi modelo VK-C99 y para el segundo una videocámara SONY Modelo SSC-C374 CCD.

Se estimó la densidad de diatomeas promediando los conteos de seis campos seleccionados de manera sistemática en cada cámara y las imágenes fueron grabadas con un aumento de 200x.

Se realizaron videograbaciones en el fondo de cada cámara durante un tiempo de 4 minutos por cámara utilizando los aumentos 25x, 100x y 200x en el microscopio invertido. Con el primer aumento se observó el aspecto general de cada una de las áreas pastoreadas. El segundo aumento se utilizó para grabar las postlarvas y las áreas clareadas por efecto del pastoreo, con el propósito de hacer mediciones, y el tercero para determinar la densidad de diatomeas. Después de cada sesión de videograbación se realizaron cambios de agua en cada una de las cámaras.

II.5 *Ensayo sobre recolonización de N. incerta.*

Para determinar el posible efecto de la migración de las diatomeas a las zonas clareadas por las postlarvas en la determinación de la tasa de pastoreo, se llevo a cabo un ensayo en el mismo tipo de placas, con tres diferentes densidades de inóculos ($200 \text{ células} \cdot \text{mm}^{-2}$, $300 \text{ células} \cdot \text{mm}^{-2}$ y $500 \text{ células} \cdot \text{mm}^{-2}$; $n = 2$), distribuidos aleatoriamente y se procedió con el mismo manejo utilizado en la determinación del pastoreo solo que sin postlarvas. Se clarearon dos áreas aproximadamente de $2\text{-}4 \text{ mm}^2$ en cada una de las seis cámaras con la ayuda de un pincel. Las observaciones y registro de las imágenes se realizaron al momento de clarear el área, y a las 2, 4 y 12 horas con cambios de agua en cada una de las observaciones.

II.6 *Análisis digital de imágenes.*

Las imágenes grabadas se digitalizaron en una computadora Apple Macintosh Performa 6200CD Power PC, utilizando el paquete de captura de imágenes denominado Apple Video Player.

Para determinar el área de biopelícula clareada por postlarva, la densidad de diatomeas y longitud de las postlarvas, se utilizó el programa de dominio público NIH Image versión 1.57 para Macintosh (desarrollado por U.S. National Institute of Health, disponible en Internet). Estas imágenes digitalizadas se procesaron de acuerdo a los siguientes pasos :

1) Al abrir el archivo se conservó el "Look-up table", para transformar esta imagen digitalizada a escala de gris; 2) posteriormente se aplicó el filtro "Sharpen" para incrementar el contraste y acentuar los detalles y contornos de la imágenes (e.g. diatomeas y postlarvas); 3) la medición del área pastoreada y la longitud de concha de las postlarvas se obtuvo al seleccionar el subcomando "Measure" dentro del comando "Analyze". Mediante el cursor se marcaba el contorno de las áreas pastoreadas y la longitud de concha postlarval se determinaba a lo largo del eje antero-posterior.

Cada área se midió por triplicado; aplicando el filtro Threshold, utilizado para descartar las diatomeas presentes dentro de las áreas pastoreadas, debido a la ingestión no total o a la probable migración de las diatomeas a estas zonas libres. Se compararon las mediciones realizadas con y sin la aplicación del Threshold y la diferencia de estas dos mediciones del área se consideró como el área clareada.

El conteo de diatomeas se realizó mediante el filtro "Density slice", con un intervalo de número de píxeles entre 30 a 100, en el cual, se contaban individualmente las diatomeas mediante el subcomando "Analyze Particles". Posteriormente, se realizó un segundo conteo sobre la pantalla para adicionar

las diatomeas presentes en paquetes o "grumos" y de menor o mayor tamaño al rango preestablecido.

La tasa de pastoreo se obtuvo de la multiplicación del área clareada a las dos horas por la densidad promedio inicial de diatomeas en cada cámara, y su división entre dos para obtener los valores por hora.

II.7 Análisis estadístico

En el ensayo sobre crecimiento de *N. incerta* en tres densidades, se calcularon las tasas de crecimiento en base a Stein (1973) y se compararon mediante análisis de varianza simple. Adicionalmente se ajustaron regresiones lineales para las distintas densidades y se compararon estadísticamente sus pendientes.

Para evaluar la significancia de los cambios de longitud postlarval a lo largo del tiempo en ambos ensayos, se realizaron análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de comparaciones múltiples con el método de la prueba de la diferencia mínima significativa (LSD) de las longitudes correspondientes a edades contiguas. Por otro lado, se comparó el crecimiento entre ensayos por dos métodos: a) análisis de varianza simple de la longitud en tres edades comunes (4, 6 y 12 días) y b) mediante el ajuste de regresiones lineales y la comparación de pendientes. Los cambios en las tasas de pastoreo se evaluaron de manera similar a la longitud; sin embargo, la comparación entre ensayos se realizó sólo en base al análisis de varianza en tres edades 4, 6 y 12 días.

La recolonización de diatomeas en las tres densidades utilizadas se comparó mediante análisis de varianza de una vía. Todas las pruebas estadísticas se realizaron de acuerdo a Steel y Torrie (1980).

III. RESULTADOS.

III.1 *Crecimiento de diatomeas en las unidades experimentales.*

Como resultado de la variabilidad en los conteos iniciales de diatomeas y de la adherencia incompleta de éstas al fondo de las cámaras (un 69% en promedio), las densidades reales promedio fueron 120.7, 126.0 y 210.3 células*mm² para las densidades baja, media y alta, respectivamente (anexo A).

En la figura 1, se muestra el crecimiento de las diatomeas (datos no transformados) en cada una de las densidades empleadas. Los datos desglosados correspondientes se incluyen como los anexos B y C. Las constantes de crecimiento promedio fueron 0.1983, 0.2255 y 0.1467 para las densidades baja, media y alta, respectivamente. El análisis de varianza para comparar las tres densidades con respecto a su constante de crecimiento no fue significativo (F= 0.503, P= 0.620). Los coeficientes de regresión lineal para estos tratamientos se muestran en la Tabla I y no se detectaron diferencias significativas entre pendientes y elevaciones (P= 0.4).

La figura 2 presenta las tasas de crecimiento de *N. incerta* para cada una de las densidades de diatomeas, en la que se aprecian constantes de crecimiento más altas en la densidad media con respecto a las otras dos (baja y alta), En esta figura, se asignan las tasas a los tiempos intermedios entre muestreos (e.g. la tasa intermedia entre 2 y 4 días se asigna al tiempo de 3 días). Para las densidades baja y media se presentan sólo cuatro datos, debido a que las constantes de crecimiento fueron negativas entre los días 8 y 11 y entre los días 4 y 6, respectivamente.

III.2 *Crecimiento de postlarvas de abulón rojo (H. rufescens).*

Las longitudes de las postlarvas en las distintas edades consideradas, se muestran en las tabla II (ensayo 1) y tabla III (ensayo 2). Los datos de ambos estudios se presentan graficados en la figura 3. Se observa claramente un

menor crecimiento de las postlarvas en el segundo ensayo después de los 12 días post-asentamiento. La tasa de crecimiento postlarval promedio en el primer ensayo fue de $0.037 \text{ mm} \cdot \text{día}^{-1}$, mientras que en el segundo fue de tan solo de $0.011 \text{ mm} \cdot \text{día}^{-1}$.

La longitud difirió significativamente entre edades en el primer y segundo ensayos ($F= 190.22$, $P= 0.000$ y $F= 54.196$, $P= 0.000$, respectivamente, anexo D), Los resultados de las pruebas de comparaciones múltiples entre las edades en cada estudio se muestran en la tabla IV. En esta tabla se observa que en el primer ensayo la significancia se incrementa notablemente entre los 6 y 12 días de edad postlarval, mientras que en el segundo ensayo el primer incremento significativo de la longitud se presenta entre los 10 a 12 días.

Se realizaron ANOVA's simples (anexo E) para comparar estadísticamente las longitudes de edades similares de los dos ensayos (4, 6 y 12). Para la edad de 4 días la diferencia en longitud fue significativa ($F= 48.15$; $P < 0.001$), mientras que para las edades 6 y 12 días no se detectó significancia ($F=3.485$ y $P =0.091$, $F= 0.437$ y $P=0.523$, respectivamente).

El análisis de regresión de longitud contra tiempo resultó en coeficientes de determinación para los ensayos 1 y 2 de 0.937 y 0.918, respectivamente. La comparación de pendientes entre el ensayo 1 (0.32) y el ensayo 2 (0.15) fue significativa ($t= 5.566$, $P= 0.001$.)

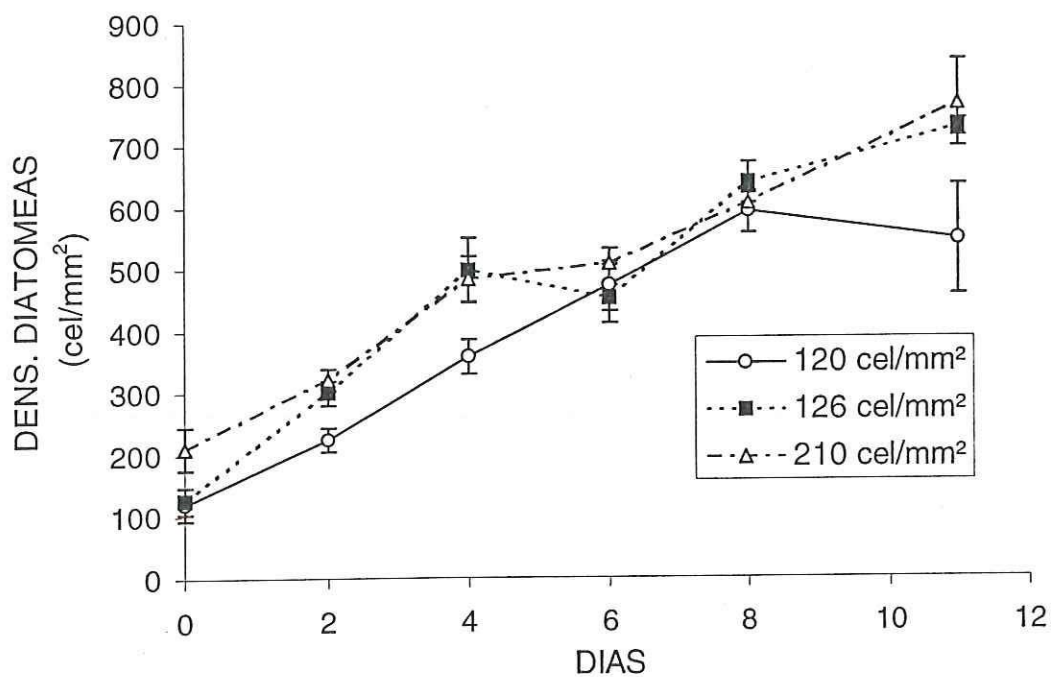


Figura 1. Crecimiento de *N. incerta* en tres diferentes densidades en unidades experimentales sin postlarvas con su respectivo error estándar.

Tabla I. Coeficientes de las regresiones lineales en el ensayo de crecimiento de *Navicula incerta* en distintas densidades iniciales (r^2 = coeficiente de determinación, a = pendiente, b = ordenada al origen).

DENSIDAD (Cel. / mm ²)	r^2	a	b
120	0.96	43.25	161.55
126	0.97	52.42	185.84
210	0.83	52.37	205.14

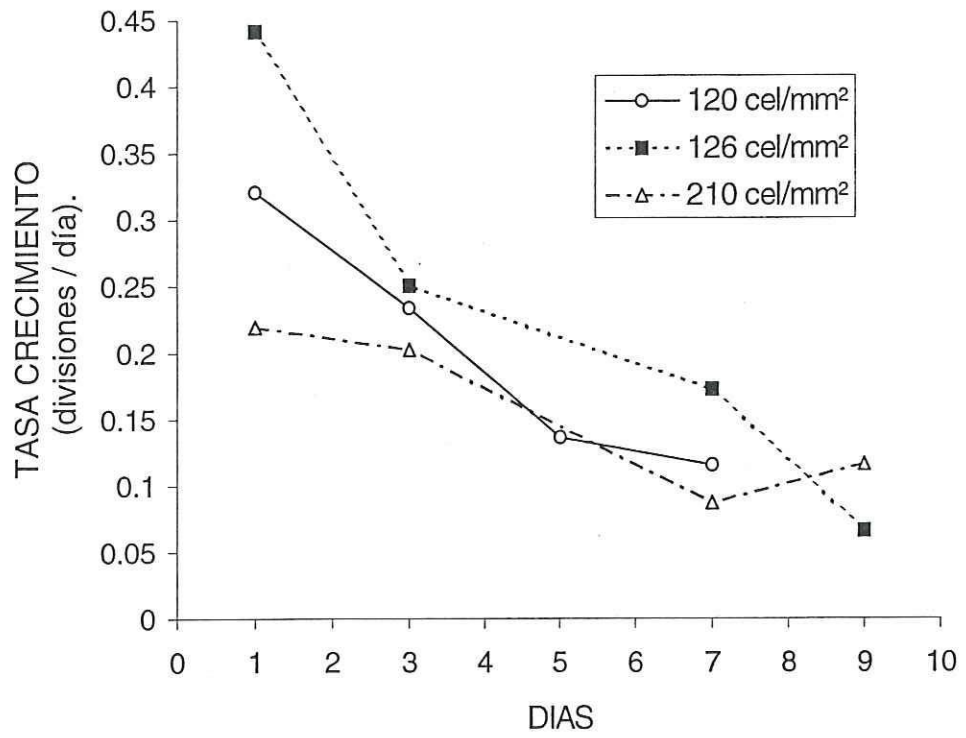


Figura 2. Tasa de crecimiento específico de *N. incerta* en cada una de las tres densidades con respecto al tiempo.

Tabla II. Longitud (mm) de postlarvas de abulón rojo (*H. rufescens*) alimentadas con *N. incerta* para cinco diferentes edades (primer ensayo, septiembre de 1995, $17\pm 1^\circ\text{C}$).

Edad (Días)	Número de postlarvas (n)	Media	Error estándar	Mínima	Máxima
2	16	0.2899	0.011	0.2533	0.3333
4	23	0.3234	0.007	0.3012	0.3452
6	36	0.3778	0.011	0.3441	0.4052
12	17	0.4698	0.024	0.5130	0.3573
30	26	1.3270	0.064	1.0675	1.5540

Tabla III. Longitud (mm) de postlarvas de abulón rojo (*H. rufescens*) alimentadas con *N. incerta* para seis diferentes edades(segundo ensayo, junio de 1996, $14\pm 1^{\circ}\text{C}$).

Edad (Días)	Número de postlarvas (n)	Media	Error estándar	Mínima	Máxima
4	23	0.3799	0.003	0.3652	0.3902
6	24	0.3922	0.001	0.3444	0.4096
10	24	0.4070	0.007	0.3754	0.4364
12	21	0.4888	0.015	0.4336	0.5345
18	28	0.5790	0.023	0.4772	0.6419
25	27	0.6149	0.014	0.5577	0.6577

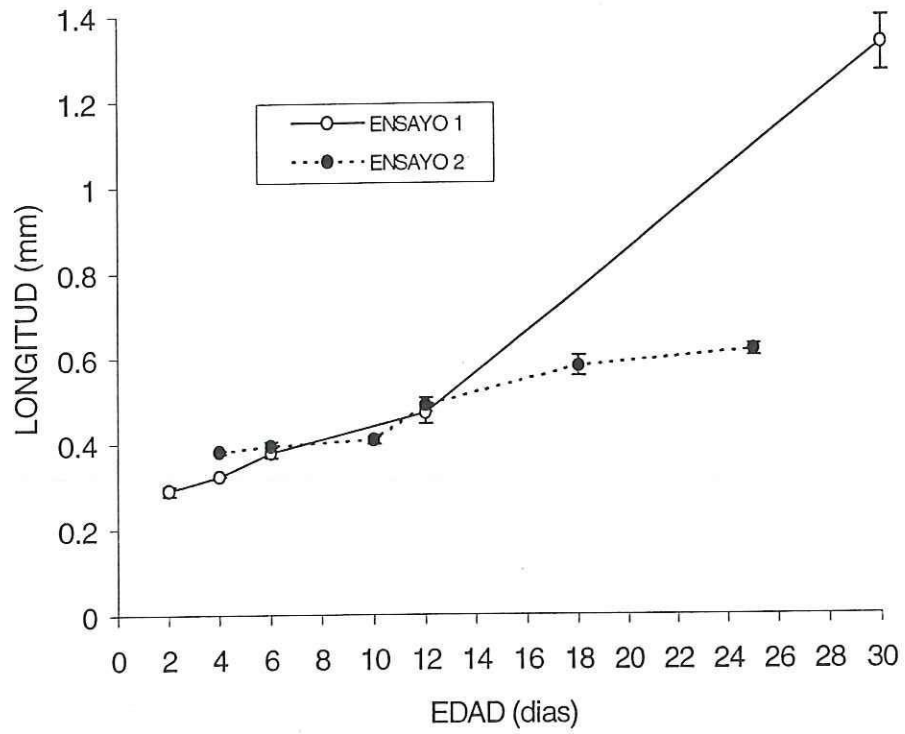


Figura 3. Comparación del crecimiento de postlarvas de abulón rojo (*H. rufescens*) entre los dos ensayos realizados con su respectivo error estándar.

Tabla IV. Resultados de comparaciones múltiples LSD con respecto a la longitud de concha postlarval realizadas para cada uno de los ensayos.

Comparación entre edades (Ensayo 1)	Probabilidad	Comparación entre edades (Ensayo 2)	Probabilidad
2 - 4	0.460	4 - 6	0.538
4 - 6	0.233	6 - 10	0.454
6 - 12	0.050	10 - 12	0.000
12 - 30	0.000	12 - 18	0.000
		18 - 25	0.054

III.3 Determinación de tasas de pastoreo.

En las tablas V y VI se presentan los resultados de las variables utilizadas para estimar las tasas de pastoreo, para los ensayos uno y dos, respectivamente.

En las figuras 4 y 5, se grafican el area estimada de pastoreo en función de la edad postlarval incluyendo los datos sobre la densidad inicial de diatomeas para el primer y segundo ensayos, respectivamente. En éstas se puede apreciar que en el ensayo 1, el area pastoreada por postlarva se incrementa desde las primeras edades (figura 4); mientras que en el ensayo 2 existe un incremento importante hasta después del día 12 (figura 5). Se observa también que la densidad inicial de diatomeas tendió a ser mayor en los ensayos con postlarvas de más edad (12 días y 10 días, primero y segundo respectivamente), aunque se intentó mantener este aspecto constante.

Las tasas de pastoreo para ambos ensayos se comparan gráficamente en la figura 6 y los datos desglosados utilizados en su cálculo se incluyen como anexos F y G. Es evidente un mayor pastoreo en el primer ensayo después de la primera semana. Las diferencias entre edades fueron significativas en ambos ensayos ($F= 5.315$, $P= 0.003$ y $F= 12.543$, $P= 0.0000$, respectivamente, anexo H). La tabla VII presenta los resultados de las pruebas de comparaciones múltiples (LSD) para ambos estudios. En esta tabla se observa que en el primer ensayo la significancia se incrementa notablemente entre los 6 y 12 días de edad postlarval, mientras que en el segundo el primer incremento significativo del pastoreo ocurre entre los 10 a 12 días.

Los análisis de varianza de las tasas de pastoreo entre ensayos a las edades de 4 y 6 días no resultaron significativos ($F= 4.670$, $P= 0.056$ y $F= 1.731$, $P= 0.218$, respectivamente), mientras que dichas tasas a los 12 días y sí difirieron significativamente entre ellos ($F= 7.466$, $P= 0.021$) (ver anexo I).

En la figura 7, se comparan gráficamente las tasas de pastoreo de los ensayos en función de la longitud postlarval. Se observa que la tasa de pastoreo aumentó notoriamente entre los 0.4 y 0.5 mm en el ensayo 1 (de 110 a 662 cel./postl./h), y entre los 0.5 y 0.6 mm en el ensayo 2 (de 76 a 292 cel./postl./h).

III.4 Recolonización de *N. incerta* en áreas libres.

En la tabla VIII y en el anexo J se presentan los datos de recolonización de las áreas clareadas experimentalmente en diferentes densidades de diatomeas, cuyos promedios se grafican en la figura 8. Durante las dos primeras horas no se observó la presencia de células en las áreas clareadas en ninguna de las tres diferentes densidades utilizadas. A las cuatro horas la recolonización había iniciado aunque era inferior al 4% en todas las cámaras. A las 12 horas, entre el 40 y 75% de las áreas habían sido recolonizadas y la diferencia entre densidades no fue significativa en ninguno de estos tiempos ($F=0.193$, $P=0.834$ y $F=0.825$, $P=0.518$; datos sujetos a transformación arco seno. \sqrt{p}).

Tabla V. Area pastoreada y tasa de pastoreo promedio para cinco diferentes edades en el primer ensayo, septiembre de 1995, (\pm Error estándar).

Edad (Días) (n)	Número de postlarvas (n)	Longitud de Concha (mm)	Area prom. past. (mm ²) por postl. en 1 hr	Densidad de Diatomeas (mm ²)	Tasa de pastoreo (Cel./ postl. /hr.)
2	16	0.2898 (0.011)	0.1220 (0.0318)	156 (21.441)	20 (4.505)
4	23	0.3233 (0.007)	0.5884 (0.0662)	108 (35.214)	53 (6.869)
6	36	0.3778 (0.011)	0.7272 (0.1004)	149 (22.053)	110 (25.979)
12	17	0.4697 (0.023)	1.4970 (0.5024)	448 (30.416)	662 (214.609)
30	25	1.3260 (0.064)	1.1654 (0.4318)	632 (10.335)	724 (259.515)

Tabla VI. Area pastoreada y tasas de pastoreo para seis diferentes edades en el segundo ensayo, junio de 1996, (\pm Error estándar).

Edad (Días) (n)	Número de postlarvas (n)	Longitud de Concha (mm)	Area prom. past. (mm ²) por postl.en 1 hr.	Densidad de Diatomeas (mm ²)	Tasa de pastoreo (Cel./postl./hr.)
4	23	0.3799 (0.0039)	0.2605 (0.030)	288 (18.751)	74 (6.348)
6	24	0.3922 (0.0093)	0.2536 (0.027)	293 (16.690)	74 (9.128)
10	24	0.4070 (0.0079)	0.1615 (0.025)	388 (29.151)	61 (6.203)
12	21	0.4982 (0.0159)	0.1599 (0.025)	498 (35.583)	76 (7.852)
18	28	0.5791 (0.0226)	0.6329 (0.260)	463 (11.498)	292 (59.268)
25	27	0.6149 (0.01333)	0.3881 (0.040)	476 (9.981)	173 (19.565)

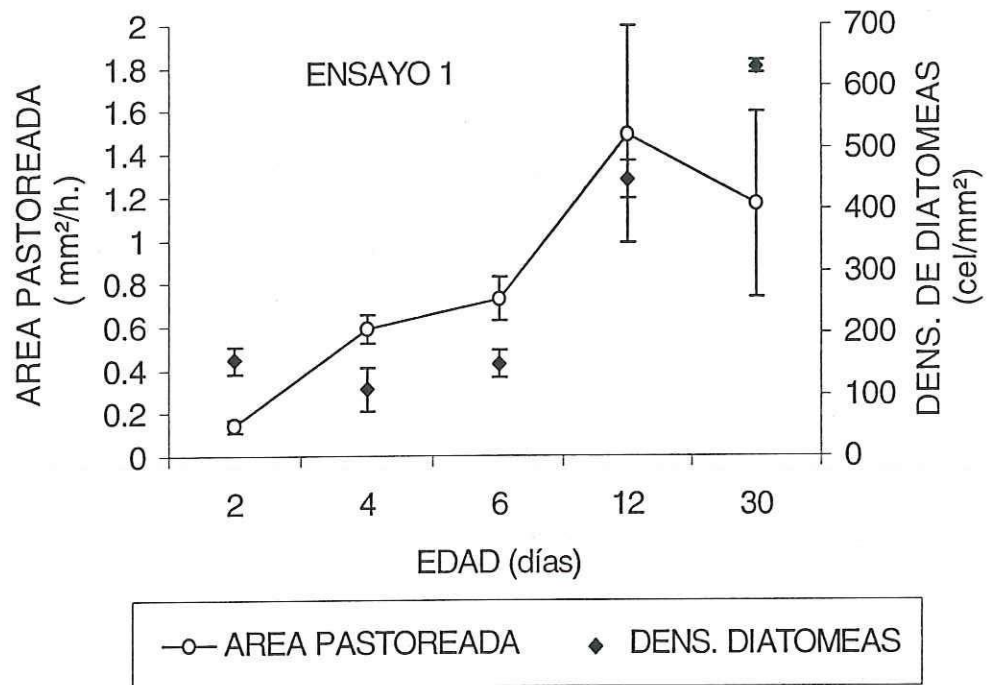


Figura 4. Relación entre el area pastoreada y la densidad de diatomeas en el fondo de las unidades experimentales con respecto a cada edad evaluada (ensayo 1, septiembre 1995).

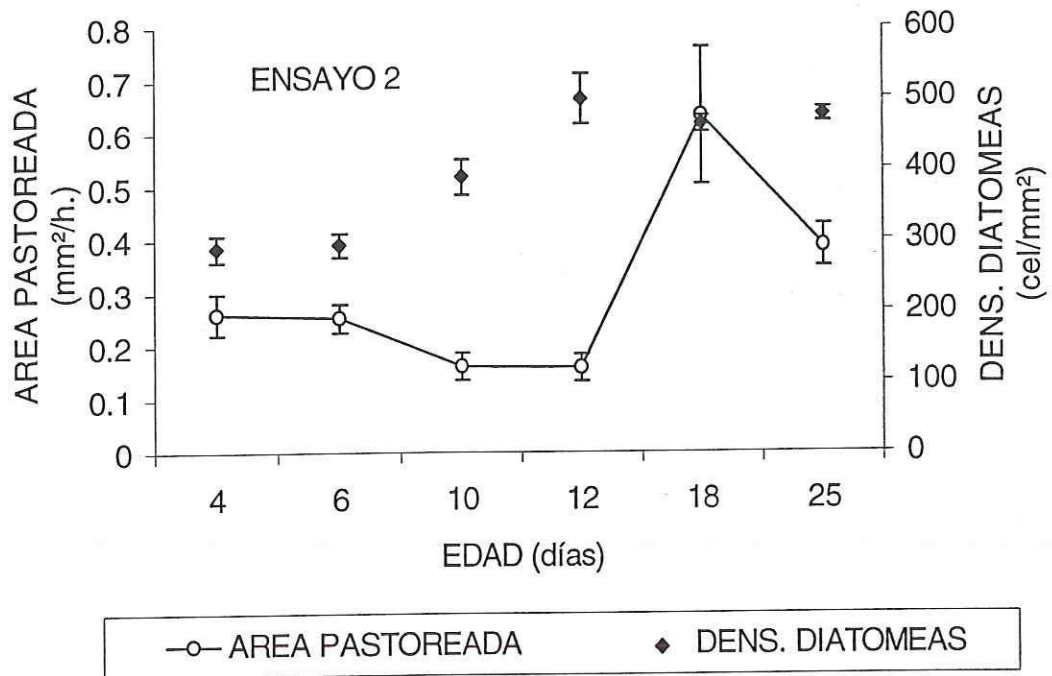


Figura 5. Relación entre el area pastoreada y la densidad de diatomeas en el fondo de las unidades experimentales con respecto a cada edad evaluada (ensayo 2, junio 1996).

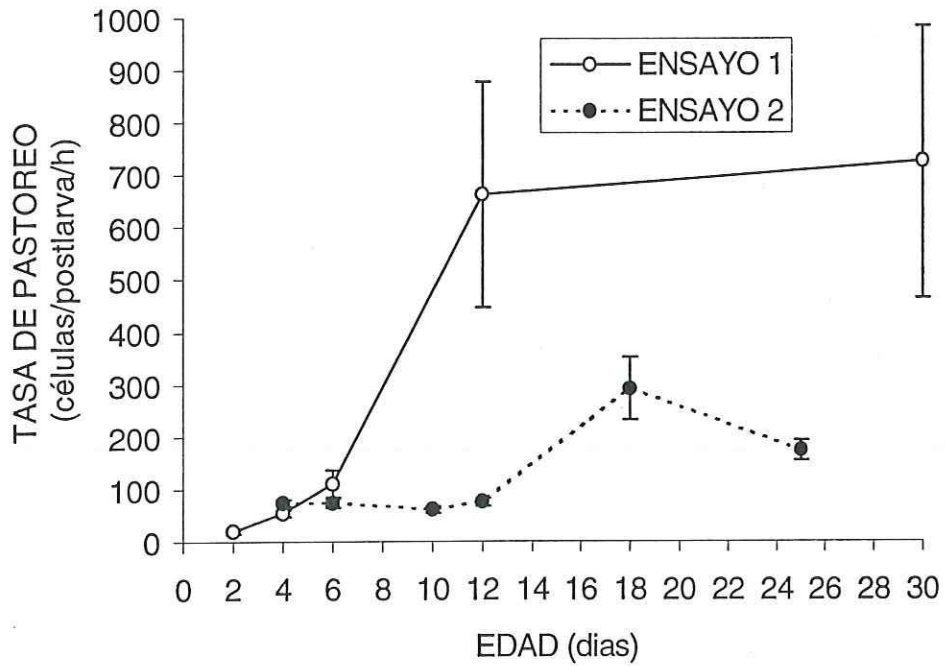


Figura 6. Comparación de las tasas de pastoreo entre los dos ensayos en función de la edad postlarval con su respectivo error estándar.

Tabla VII. Resultados de comparaciones múltiples LSD con respecto a la tasa de pastoreo postlarval realizadas para cada uno de los ensayos.

Comparación entre edades (Ensayo 1)	Probabilidad	Comparación entre edades (Ensayo 2)	Probabilidad
2 - 4	0.878	4 - 6	0.987
4 - 6	0.790	6 - 10	0.718
6 - 12	0.016	10 - 12	0.691
12 - 30	0.775	12 - 18	0.000
		18 - 25	0.007

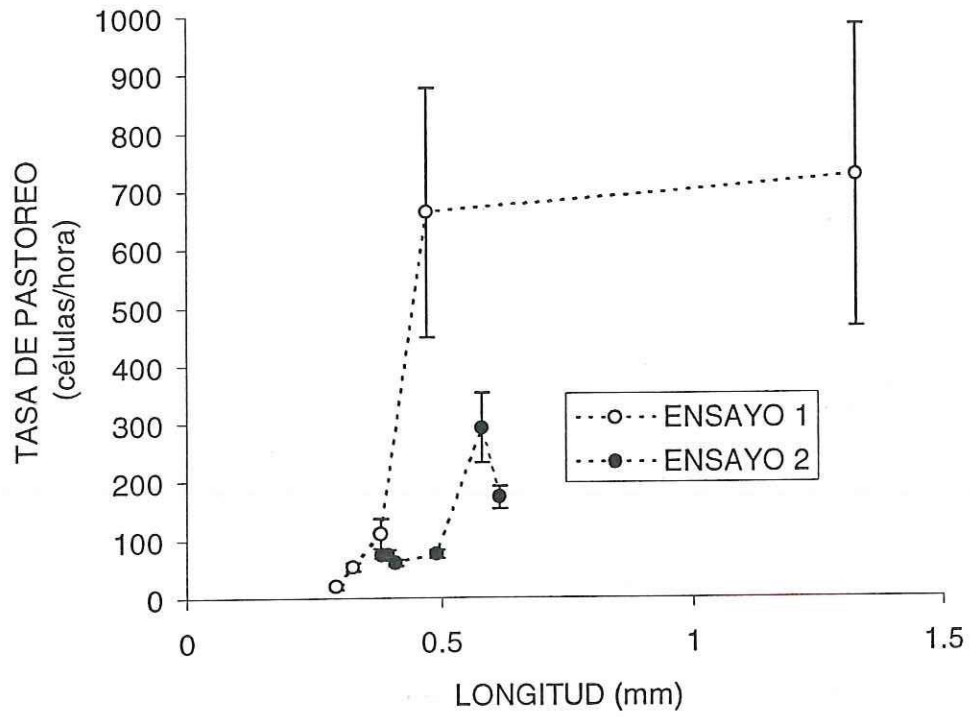


Figura 7. Comparación de las tasas de pastoreo en los dos ensayos en función de la longitud postlarval con su respectivo error estándar.

Tabla VIII. Recolonización promedio de *N incerta* a áreas manualmente clareadas, después de 2, 4 y 12 horas (iluminación constante).

Densidad de inóculo (cel * mm ⁻²)	Area libre de diatomeas (mm ⁻²).	Número de diatomeas por mm ² (Media de 2 muestras)	Migración a las 2 horas. No. de Diatomeas (%)	Migración a las 4 horas. No. de Diatomeas (%)	Migración a las 12 horas. No. de Diatomeas (%)
200 (D1)	2.414 (n=1)	148	0 (0)	4 (1.08)	257 (70.00)
	3.564 (n=2)		0 (0)	16.5 (3.91)	204 (40.00)
300 (D2)	2.508 (n=2)	286	0 (0)	18 (2.61)	497.5 (62.50)
	4.345 (n=2)		0 (0)	41 (3.75)	631.5 (67.50)
500 (D3)	1.986 (n=2)	412	0 (0)	23 (3.77)	635.5 (67.50)
	3.178 (n=2)		0 (0)	27 (2.18)	930.5 (75.00)

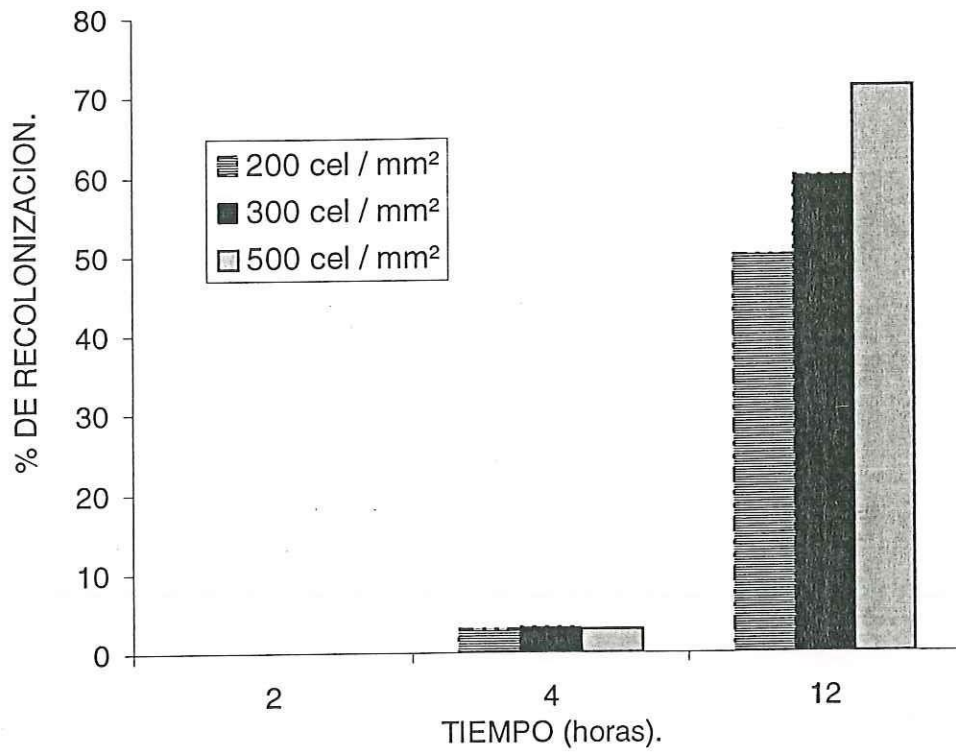


Figura 8. Recolonización de *N. incerta* en áreas clareadas manualmente en tres diferentes densidades, sin efecto de pastoreo.

IV. DISCUSION.

Este estudio representa el primer esfuerzo por determinar la tasa de pastoreo de postlarvas de haliótidos, que es una variable fundamental para el manejo de los sistemas de cultivo. Por otro lado, se confirmó la utilidad de la metodología (videograbación y análisis digital de imágenes) en este tipo de estudios. Antes de discutir los resultados sobre tasas de pastoreo, conviene analizar la información registrada sobre el crecimiento de *N. incerta* y de las postlarvas de *H. rufescens*.

IV.1 Crecimiento de *N. incerta* en recipientes experimentales

Durante el seguimiento del crecimiento de *N. incerta* en los recipientes experimentales una de las limitantes fue la no utilización de medios de cultivo, además se mantuvieron a una temperatura menor (18°C) a la del laboratorio de microalgas (22°C) del cual se obtenía la cepa para realizar nuestros ensayos. Se decidió utilizar esta temperatura debido a que las condiciones de cultivo de las postlarvas de abulón rojo (*H. rufescens*) así lo requieren. Bajo estas condiciones la adherencia se estimó en un 70, 63 y 75 % del inóculo inicial, para las densidades baja, media y alta, respectivamente. Por tal motivo, es recomendable adicionar a los inóculos un excedente de un 25 al 30 % para obtener la cantidad de células de *N. incerta* deseado. También es importante la utilización de tiempos adecuados de "sonicado" para que no se lastimen las paredes de las células y se ocasione desprendimiento de los cromatóforos. En estos ensayos utilizamos de 3 a 5 minutos de sonicado dependiendo de lo concentrado del stock de diatomeas en concordancia con Voltolina (1991). Otra alternativa para lograr la separación de células al momento de inocular las unidades experimentales o recipientes de cultivo, es el tamizado a través de mallas de luz pequeña (ca. 30 µm), lo que permite que la diátomea se distribuya homogéneamente y el crecimiento de la biopelícula sea uniforme. Este método se emplea en la granja comercial de abulón de la empresa Abulones Cultivados.

Eréndira, B.C., que cultiva la misma especie de diatomea para alimentar postlarvas de *H. rufescens* a nivel masivo.

En las figuras 1 y 2, que se refieren al crecimiento de *N. incerta* sin presión de pastoreo, se observa una disminución de las tasas de crecimiento hacia el final del período de observación (11 días), posiblemente debida al agotamiento de los nutrientes disponibles en el agua de las unidades experimentales. Por otro lado, la movilidad de las diatomeas hacia las paredes de la unidades experimentales, pudo afectar estas estimaciones, ya que el crecimiento de esta diatomea solo se evaluó en el fondo de las unidades experimentales y no en las paredes, pues los instrumentos ópticos y los recipientes experimentales no facilitaron la videograbación en esta parte de las unidades experimentales. Sin embargo, observaciones cualitativas sugirieron que la migración de diatomeas hacia paredes fue mínima.

Hur S.B. (1991), presenta una tabla de tasas específicas de crecimiento de microalgas cultivadas a bajas y altas temperaturas con iluminación continua utilizando el medio de cultivo "f/2" con agua de mar a una salinidad de 33 ppm. Precisamente para *Navicula incerta* encontró que la tasa de crecimiento específico fue de 0.22 a 50 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ y de 0.37 a 100 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ con una temperatura de 10° C (temperatura baja) y de 0.37 a 50 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ y de 0.39 a 100 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ a 25°C (temperatura alta). Comparando con la tasa promedio de las tres densidades utilizadas en este ensayo ($k = 0.190$ a 18° C) observamos que ésta se mantiene abajo del rango del crecimiento en la temperatura baja; aunque cabe aclarar que la diferencia entre estos dos ensayos fue la utilización del medio de cultivo. Sin embargo, el crecimiento de las diatomeas en las cámaras experimentales no afectó de manera importante en la determinación de la tasa de pastoreo a las dos horas.

Una de las claves para determinar si pueden ser utilizadas las diatomeas por las postlarvas de abulón, es la morfología y el tipo de crecimiento. En este caso, la diatomea utilizada (*N. incerta*), pertenece a un género que se

caracteriza por células individuales, postradas, con baja adhesividad y alta movilidad (Kawamura,1996), y este trabajo confirmó la utilidad de esta especie para estudios sobre pastoreo postlarval.

IV.2 Crecimiento de postlarvas de *H. rufescens*

El crecimiento de las postlarvas de abulón rojo (*H. rufescens*) en los dos ensayos fue similar hasta los doce días post-asentamiento, pero después de esta edad se presenta un crecimiento más lento en el ensayo dos (figura 3). Diversos autores hacen mención de la heterogeneidad del crecimiento del abulón a medida que transcurre el tiempo de desarrollo (Ebert y Houk, 1984, Hooker y Morse, 1985, Hahn, 1989, entre otros). Salas-Garza (1995) cita una comunicación personal de Frank Oaks (Abalone Farms Inc., Cayucos, CA, E.U.) quien menciona que esta característica es común, pues siempre existe una parte de la población (15 - 20 %) que crece más lento y que en los laboratorios de producción comercial se elimina durante los primeros meses por ser incosteable su rendimiento. Se considera que lo anterior puede deberse a aspectos genéticos, aunque no se han reportado estudios al respecto.

Algunos de los factores que pueden afectar el crecimiento postlarval inicial son: la eficiencia en la inducción de la metamorfosis, la densidad de cultivo postlarval y la temperatura. En este estudio la inducción de la metamorfosis en ambos ensayos se realizó con GABA (1 μ M) siguiendo procedimientos estándar, la densidad larval en el asentamiento fue de 10 y 11 larvas*cm⁻², para el primer y segundo ensayo respectivamente, y la mortalidad postlarval fue similar en ambos casos, por lo que se piensa que estos factores no contribuyeron de manera importante a las diferencias de crecimiento entre ensayos. La temperatura pudo ser una fuente de variación determinante, ya que en el primer estudio se mantuvo a 17 \pm 1°C, mientras en el segundo a 14 \pm 1°C. Sin embargo, quedaría por explicar el crecimiento similar en ambos ensayos

durante los primeros 12 días, que bien podría deberse a aspectos nutricionales y genéticos que no se abordaron en este estudio.

En la tabla IX, se comparan las tasas de crecimiento de postlarvas de este estudio con las reportadas por otros autores para *H. rufescens*. Como se puede observar, las tasas de crecimiento reportadas son muy variables incluso a temperaturas similares. La tasa promedio en el primer ensayo de este trabajo (37 micras/día) es mayor que las reportadas en otros dos estudios realizados a temperaturas similares (Flores-Aguilar, 1989; Salas-Garza, 1995); mientras que la tasa promedio del segundo es similar a la encontrada por McBride (1990), quien trabajó a temperaturas equivalentes. De esta forma, la diferencia en crecimiento postlarval entre los dos ensayos realizados en este trabajo, podría también ser afectada por un crecimiento superior al normal en el primero.

IV.3 Estimaciones de tasas de pastoreo.

- Aspectos metodológicos

El enfoque metodológico desarrollado en este trabajo, como un primer acercamiento a la cuantificación de la tasa de pastoreo en organismos bentónicos en sus primeros estadios, utilizando como herramientas centrales la micro-videograbación y procesamiento digital de imágenes, es una nueva aportación y podemos decir que fue satisfactorio para los fines que persiguió este trabajo. El uso del microscopio invertido, proporciona además la ventaja de poder observar directamente la ingestión de alimento y el desarrollo de la boca, rádula, etc. Además del potencial en este tipo de estudios a pequeña escala, esta metodología puede ser utilizada en inventarios de lotes de postlarvas, juveniles y adultos de abulón. De hecho, ya se han realizado experiencias preliminares en este sentido en la empresa Abulones Cultivados (Vilchis-Guajardo, 1997).

La estimación de tasas de pastoreo a las dos horas parece ser una estrategia adecuada, pues las postlarvas inician esta actividad a los pocos minutos de su introducción a los recipientes de cultivo (menos de 3min generalmente) y no existe un sesgo importante debido al crecimiento de *N. incerta* (figura 1) o su recolonización de áreas clareadas (figura 8).

Una característica importante de las diatomeas bentónicas es su movilidad sobre el sustrato, factor que debe ser considerado en la estimación de las tasas de pastoreo. En nuestras observaciones encontramos que *N. incerta* presenta una recolonización importante de áreas clareadas después de cuatro horas, lo cual justifica la estimación a las dos horas. En este trabajo no se midió la velocidad de desplazamiento de *N. incerta*; sin embargo, Harper (1977) presenta datos al respecto para *Navicula oblonga* con una velocidad media de 11 $\mu\text{m}/\text{seg.}$ y una máxima de 20 $\mu\text{m}/\text{seg.}$ y para *Navicula obtusa* con una velocidad de 240 $\mu\text{m}/\text{seg.}$, lo que nos da una idea de la variabilidad de esta característica dentro de este género.

Por otro lado, las tasas de pastoreo reportadas aquí podrían ser sobreestimaciones. Se ha observado que en ocasiones, el roce de la concha sobre la biopelícula puede desprender diatomeas que no son ingeridas, especialmente en densidades altas de diatomeas (Searcy-Bernal, 1996). Por otro lado, en este estudio se observó que en algunas ocasiones, la postlarvas pueden desprender diatomeas sin que éstas sean ingeridas.

Algunas herramientas que podrían ayudar a refinar la determinación de tasas de pastoreo postlarvales, podrían ser el análisis del contenido estomacal de las postlarvas y estudios con marcadores radioactivos o de otro tipo. Por otro lado, se puede inhibir el crecimiento de diatomeas con sustancias como el dióxido de germanio, para eliminar el efecto de este factor (Lewin, 1966; Takami *et al.*, 1997).

Tabla IX. Comparación de tasas de crecimiento de postlarvas del abulón rojo (*H. rufescens*) según diversos autores.

Tasa de Crecimiento ($\mu\text{m}/\text{día}$)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Inductor aplicado	Referencia
31	17 \pm 1	GABA	Flores-Aguilar (1989)
10	12-15	Diatomeas	McBride (1990)
21	14-18	Diatomeas	Leighton (1974)
13	15-18	Diatomeas	Ebert y Houk (1989)
25	17 \pm 1	GABA	Salas-Garza (1995)
21	17 \pm 1	Diatomeas	Salas-Garza (1995)
37	17 \pm 1	GABA	Este estudio (Ens. 1)
11	14 \pm 1	GABA	Este estudio (Ens. 2)

- Relación de la tasa de pastoreo con la edad y longitud postlarval.

Las tasas de pastoreo promedio de postlarvas de *H. rufescens* sobre *N. incerta*, estimadas en este estudio fluctuaron entre 20 y 724 células/postlarva/hora en el primer ensayo, y de 74 a 292 células/postlarva/hora para el segundo (Tablas V y VI).

A pesar de las claras diferencias entre ensayos (figura 6) se observa un patrón similar, con tasas mínimas durante la primer semana post-asentamiento y un incremento significativo posterior (en la segunda y tercer semanas para los ensayos 1 y 2, respectivamente). Este resultado concuerda con reportes de otros autores que señalan que durante los primeros días de vida bentónica, las postlarvas de abulón no obtienen un aporte energético importante de la ingestión de diatomeas bentónicas, sino del mucus y material extracelular de éstas, bacterias asociadas a la biopelícula (Kawamura y Takami, 1995; Kawamura, 1996; Kawamura *et al.*, 1997; Kitting y Morse, 1997; Takami *et al.*, 1997), metabolismo de reservas energéticas y absorción directa de material orgánico disuelto por integumentos (Manahan y Jaeckle, 1992).

Las menores tasas de pastoreo y el retraso en el inicio de un pastoreo intenso en el segundo ensayo, se pueden deber parcialmente al menor crecimiento postlarval relacionado con una temperatura más baja, en comparación con el primero.

A pesar de la notoria diferencia entre los estudios respecto a la relación de la tasa de pastoreo con la edad postlarval (figura 6), la relación con la longitud es menos variable, ya que el inicio de un pastoreo vigoroso se detecta entre los 0.4 y 0.5mm en el primer ensayo y entre 0.5 y 0.6mm en el segundo (figura 7). Este resultado concuerda con reportes recientes sobre alimentación de postlarvas de abulón. Kawamura (1996) observa en *H. discus hannai*, que a una longitud de concha de 0.35mm se hace notorio el consumo sobre *Cylindrotheca closterium*, *Navicula ramosissima* y *Stauroneis constricta*; aunque

el pastoreo sobre diatomeas de fuerte adherencia como *Cocconeis spp.*, se inicia a una longitud mayor de 0.80mm. Seki y Kan-no (1981), también mencionan que la ingestión de diatomeas fue observada en postlarvas de dos días después de iniciada la metamorfosis cuando la longitud de concha postlarval alcanza 0.35mm y la abertura de la boca mide aproximadamente 0.030mm. En un estudio con postlarvas de *H. midae*, Matthews y Cook (1995) detectaron diatomeas en el tracto digestivo hasta el día 7 después del asentamiento. Por otro lado, Kitting y Morse (1997) reportan la aparición de diatomeas en los contenidos estomacales de postlarvas de *H. rufescens*, hasta 13 días después del asentamiento, edad que correspondería a unos 0.40mm de longitud.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- La tasa de pastoreo postlarval de *Haliotis rufescens* sobre *Navicula incerta* es mínima durante la primera semana de vida bentónica y se incrementa notablemente cuando las postlarvas adquieren entre 0.4 y 0.6mm de longitud.
- La metodología utilizada, que incluye la videograbación al microscopio invertido y el análisis digital de imágenes, resultó satisfactoria para el objetivo planteado y se podría utilizar en estudios sobre otros organismos bentónicos.
- Este estudio confirma que la diatomea bentónica (*N. incerta*) reúne las características apropiadas, para ser proporcionadas durante el primer mes de vida bentónica del abulón rojo (*H. rufescens*).
- Dentro de las herramientas que podrían complementar este tipo de estudios figuran el análisis del contenido estomacal de las postlarvas y estudios con marcadores radioactivos.

VI. LITERATURA CITADA.

- Ebert, E.E. and Houk, J.L. (1984). Elements and innovations in the cultivation of red abalone (*Haliotis rufescens*). *Aquaculture* (39):375-392.
- Ebert, E.E. and Houk, J.L. (1989). Abalone cultivation: Methods used at the California Department of Fish and Game's Marine Resources Laboratory. p:135-154 In: Hahn, K.O.(ed.). Handbook of culture of abalone and other marine gastropods. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Ebert, E.E. (1992). Abalone aquaculture : A North America regional view. p: 570-582 In: Shepherd, S.A., Tegner, M.J. and Guzmán del Proó,S.A. (eds.). Abalone of the world. Fishing News Book, Oxford.
- Flores-Aguilar, R.A. (1989). Estudio sobre la inducción del asentamiento y metamorfosis de larvas de dos especies de abulón (*Haliotis rufescens* y *Haliotis corrugata*). Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada B.C., México, 57 pp.
- Hahn, K.O. (1989). Nutrition and growth of abalone. p: 135-154 In: Hahn, K.O.(ed.) Handbook of culture of abalone and other Marine Gastropods CRC Press, Boca Raton, Florida USA.
- Harper, M.A. (1977). Movement. p: 224-249 In: Werner, D. (ed.) The biology of diatoms.). Botanical Monographs.(13). Blackwell Scientific Publ. London.
- Hooker, N. and Morse, D.E. (1985). Abalone : The emerging development of commercial cultivation in the United States. p: 365-413 In: Hunger, J.V. and Brown, E.E. Crustacean and mollusk aquaculture in the United States. AVI Publishers, Westport, USA.
- Hur, S.B. (1991). The selection of optimum phytoplankton species for rotifer culture during cold and warm seasons and their nutritional value for marine finfish larvae. p:206 In: Fulks, H.I.W. and Main, K.L. (eds.) Rotifer and microalgae culture systems. Argent lab.

- Kawamura, T. and Takami H. (1995). Analysis of feeding and growth rate of newly metamorphosed abalone *Haliotis discus hannai* fed four species of benthic diatom. *Fish. Sci.* (61):357-358.
- Kawamura, T. (1996). The role of benthic diatoms in early life stages in the Japanese abalone *Haliotis discus hannai*. p:355-367 In : Watanabe, Y., Yamashita, Y. and Oozeki, Y. (eds.). *Survival strategies in early life stages of marine resources*. Yokohama, Japan.
- Kawamura, T., Roberts, R.D., Takami, H. and Nicholson, C.M. (1997). Feeding habits of post-larval abalone *Haliotis discus hannai* and *Haliotis iris*. Abstract. Third International Abalone Symposium, Biology, Fisheries and Culture. October 26-31, Monterey, California USA.
- Kitting, C. and Morse, D.E. (1997). Feeding effects of postlarval red abalone, *Haliotis rufescens* (Mollusca:Gastropoda) on encrusting coralline algae. *Moll. Res.* (18):183-196.
- Leighton, D.L. (1974). The influence of temperature on larval and juvenile growth in three species of southern California abalones. California Department of Fish and Game. *Fish Bull.*(72):1137-1145.
- Lewin, J. (1966). Silicon metabolism in diatoms V. Germanium dioxide, a specific inhibitor of diatom growth. *Phycologia* (6):1-12.
- Manahan, D.L. and Jaeckle, W.B. (1992). Implications of dissolved organic material in seawater for the energetics of abalone larvae *Haliotis rufescens* : a review. p: 95-106 In: Shepherd, S.A., Tegner, M.J. and Guzmán del Proó, S.A.(eds.). *Abalone of the world*. Fishing News Book, Oxford.
- McBride, C.S. (1990). The relative effects of diet and irradiance on the growth and survival of postlarval red abalone *Haliotis rufescens*. Master Science, Thesis, San Jose State University, California, USA. 45 pp.

- McBride, C.S. (1997). Abalone aquaculture in California. Abstract. Third International Abalone Symposium, Biology, Fisheries and Culture. October 26-31, Monterey, California USA.
- Mateus, H. (1986). Los abulones de México. Secretaria de Pesca. México, D.F. 38 pp.
- Matthews I. and Cook P.A. (1995). Diatom diet of abalone post-larvae (*Haliotis midae*) and the effect of pre-grazing the diatom overstorey. J. of Mar. Freshwater Res.(46):545-548.
- Moss, G.A. and Tong, L.J. (1992). Effect of stage larval development on the settlement of abalone, *Haliotis iris*. New Zealand. J. of Mar. and Freshwater Res.(26):313-317
- Norman-Boudreau, K., Burns, D., Cooke, C.A. and Austin, A. (1986). A simple technique for the detection of feeding in newly metamorphosed larvae. Aquaculture (51):313-317
- Pérez-Muñoz, G.E. (1995). Cultivo de abulón en México : Desarrollo histórico, estado actual, y sus perspectivas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, México. 121 pp.
- Salas-Garza, A.E. (1995). Efecto de la edad de la larva del abulón *Haliotis rufescens* en la inducción a su metamorfosis. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, México. 74 pp
- Searcy-Bernal, R., Salas-Garza, A.E. and Flores-Aguilar, R.A. (1992a). Research in México on the critical stage of abalone (*Haliotis spp.*) seed production. p :547-560 In: Shepherd, S.A., Tegner, M.J. and Guzmán del Proó, S.A. (eds.). Abalone of the world. Fishing News Book. Oxford.

- Searcy-Bernal, R.; Salas-Garza, A.E., Flores-Aguilar R.A. and Hinijosa-Rivera, P.R. (1992b). Simultaneous comparison of 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.
- Seki, T. and Kan-no, H. (1977). Synchronized control of early life in the abalone, *Haliotis discus hannai* Ino, Haliotidae, Gastropod Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab. (38):143-153.
- Seki, T. and Kan-no, H. (1981). Observations on the settlement and metamorphosis of the veliger of japanese abalone, *Haliotis discus hannai* Ino., Haliotidae, Gastropod Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab. (42):31-39.
- Seki, T. and Taniguchi, K. (1996). Factors critical to the survival of herbivorous animals during settlement and metamorphosis. p: 341-354 In: Watanabe, Y., Yamashita, Y. and Oozeki, Y. (eds.). *Survival strategies in early life stages of marine resources*. Yokohama, Japan.
- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. (1980). *Principles and procedures of statistics. A biometrics approach*. McGraw-Hill Book Co., New York, NY 633 pp. .
- Stein, J. (Ed.). (1973). *Handbook of phycological methods: Culture methods and growth measurements*. University Press Cambridge, Cambridge, 448pp.
- Takami , H. Kawamura, T. and Yamashita Y. (1997). Contribution of diatoms as food sources for post-larval abalone *Haliotis discus hannai* on a crustose coralline algae. *Moll. Res.* 18 (2):143-151.
- Vilchis-Guajardo, L.I. (1997). Image analysis applied to abalone standing crop assessment in an ocean based abalone farm. Abstract. Third International Abalone Symposium, Biology, Fisheries and Culture. October 26-31, Monterey, California USA.

Voltolina, D. (1991). A Comparison of methods for the dispersion of cultures of benthic diatoms. *Cryptogamie, Algol.*12 (3):183-187.

VII. ANEXOS

ANEXO A. Crecimiento de *N. incerta* en dos diferentes densidades, durante un período de once días.

Día	Densidad inicial de inóculo. (cel * mm ⁻²)	Placa # 1 (cel * mm ⁻²)	Placa # 2 (cel * mm ⁻²)
0	160	94.45	146.89
	200	103.83	148.19
	300	176.24	244.43
2	160	243.07	205.76
	200	320.41	280.26
	300	304.72	339.19
4	160	329.25	385.52
	200	445.50	548.72
	300	446.24	519.63
6	160	411.78	532.48
	200	472.25	430.68
	300	510.30	505.73
8	160	623.34	556.69
	200	669.98	605.06
	300	619.70	589.37
11	160	456.31	634.77
	200	711.80	740.71
	300	863.15	694.50

ANEXO B. Media y error estándar de la densidad de *N. incerta* en cada uno de los muestreos realizados en las unidades experimentales sin postlarvas, durante once días.

No. Día	Densidad baja (cel * mm ⁻²)	Densidad media (cel * mm ⁻²)	Densidad alta (cel * mm ⁻²)
0	120.67 (26.22)	126.01 (31.36)	210.34 (31.89)
2	224.42 (18.65)	300.34 (28.39)	321.95 (17.23)
4	357.39 (28.13)	497.11 (72.98)	482.94 (36.69)
6	472.13 (60.35)	451.47 (29.39)	508.02 (2.28)
8	590.02 (33.32)	637.52 (45.90)	604.54 (15.16)
11	545.54 (89.23)	726.26 (20.44)	778.83 (84.32)

ANEXO C. Porcentaje de diatomeas adheridas con respecto al inóculo inicial por mm² a las 24 horas después de ser aplicado en las unidades experimentales.

Inóculo inicial	Diatomeas adheridas	Porcentaje adherido
160 cel * mm ⁻²	120.67 cel * mm ⁻²	75.42 %
200 cel * mm ⁻²	126.01 cel * mm ⁻²	63.00 %
300 cel * mm ⁻²	210.34 cel * mm ⁻²	70.11 %

ANEXO D. Análisis de varianza de una vía para las longitudes de ambos ensayos en distintas edades.

Primer ensayo (septiembre, 1995).

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P	F ^{crit.}
Longitud	4.551	4	1.137	190.22	0.0000	2.76
Error	0.149	25	0.005			
Total	4.700	29				

Segundo ensayo (junio, 1996)

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P	F ^{crit.}
Longitud	0.312	5	0.062	54.196	0.0000	2.53
Error	0.034	30	0.001			
Total	0.346	35				

ANEXO E. Análisis de varianza de una vía para las edades similares de ambos ensayos: 4, 6 y 12 días post-asentamiento con respecto a longitud de concha.

Edad de 4 días.

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	grados de libertad	Cuadrado medio	F	P	F ^{crit.}
Entre ensayos	0.009616	1	0.009616	48.154	0.00004	4.964
Dentro ensayos	0.001997	10	0.0002			
Total	0.11613	11				

Edad de 6 días.

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	grados de libertad	Cuadrado medio	F	P	F ^{crit.}
Entre ensayos	0.001546	1	0.001546	3.4855	0.0914	4.9645
Dentro ensayos	0.004435	10	0.000444			
Total	0.005981	11				

Edad de 12 días.

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	grados de libertad	Cuadrado medio	F	P	F ^{crit.}
Entre ensayos	0.001091	1	0.001091	0.4379	0.5230	4.9645
Dentro ensayos	0.024901	10	0.00249			
Total	0.025991	11				

ANEXO F. Longitud postlarval y cálculo de las tasas de pastoreo para seis diferentes edades de postlarvas de *H. rufescens* (ensayo 1, septiembre de 1995), (E.S.= Error Estándar).

Edad (días)	Cámara (n)	Long. de concha (mm)	Area past. (mm ²) por postl. por.hora	Dens. de Diatomeas (cel/mm ²)	Tasa de pastoreo por postl. por hora
2	1 (3)	0.2533	0.2133	81.6135	17.4108
	2 (4)	0.2673	0.1077	180.6866	19.4689
	3 (3)	0.2947	0.2551	161.3999	41.1749
	4 (3)	0.2997	0.0099	103.5395	12.9302
	5 (2)	0.2908	0.0453	218.0421	9.8845
	6 (1)	0.3333	0.1005	187.9373	18.8877
	Media	0.2899	0.1220	155.5365	19.9595
	E.S	0.0113	0.0388	21.4414	4.5052
4	1 (2)	0.3253	0.3004	283.8202	85.2643
	2 (6)	0.3111	0.7003	65.9810	46.1876
	3 (4)	0.3413	0.5669	63.9506	36.2574
	4 (3)	0.3012	0.5430	85.2679	46.3004
	5 (3)	0.316	0.7545	74.6093	52.2389
	6 (5)	0.3452	0.6655	77.1471	51.3465
	Media	0.3234	0.5885	108.4627	52.9325
	E.S	0.0071	0.0662	35.2141	6.8699
6	1 (7)	0.371	0.3856	123.8414	47.7526
	2 (7)	0.3982	0.8096	123.5514	100.0295
	3 (6)	0.4052	1.0074	97.4490	98.1717
	4 (6)	0.3441	0.4749	146.1735	69.4202
	5 (4)	0.3445	0.9128	252.1492	230.1702
	6 (6)	0.4040	0.7728	151.2489	116.8902
	Media	0.3778	0.7272	149.0689	110.4057
	E.S	0.0118	0.1004	22.0536	25.9796

Continuación ANEXO F.

Edad (días)	Cámara (n)	Long. de concha (mm)	Area past. (mm ²) por postl. por hora	Dens. de Diatomeas (cel/mm ²)	Tasa de pastoreo por postl por hora.
12	1 (2)	0.5132	1.0150	380.0511	385.7518
	2 (3)	0.3573	1.3059	444.6108	580.6061
	3 (5)	0.5054	0.5040	453.1378	228.3815
	4 (2)	0.4945	3.9473	427.3544	1686.8747
	5 (3)	0.4581	1.1486	588.3483	675.7833
	6 (2)	0.4902	1.0589	393.4503	416.6420
		0.4698	1.4966	447.8255	662.3399
		0.0237	0.5023	30.4161	214.6098
30	1 (2)	1.3263	3.0638	606.0110	1856.6662
	2 (5)	1.0675	0.3688	648.6450	239.2419
	3 (6)	1.3028	0.6688	674.8344	451.3517
	4 (6)	1.5540	0.4855	616.1620	299.1295
	5 (3)	1.3242	0.6358	624.8917	397.3270
	6 (3)	1.3870	1.7698	621.2374	1099.4522
		1.3270	1.1654	631.9636	723.8614
		0.0640	0.4318	10.3352	259.5159

ANEXO G. Longitud postlarval y cálculo de las tasas de pastoreo para seis diferentes edades de postlarvas de *H. rufescens* (ensayo 2, junio de 1996), (E.S.= Error Estándar).

Edad (días)	Cámara (n)	Long. de concha (mm)	Area past. (mm ²) por postl. por hora	Dens. de Diatomeas (cel/mm ²)	Tasa de pastoreo por postl. por hora.
4	1 (2)	0.3903	0.1860	341.5364	63.5246
	2 (3)	0.3704	0.2378	316.3731	75.2352
	3 (5)	0.3818	0.3991	232.6992	92.8696
	4 (6)	0.3653	0.2100	231.5999	48.6337
	5 (3)	0.3883	0.2467	294.3859	72.6226
	6 (4)	0.3838	0.2838	312.4529	88.6860
	Media	0.3800	0.2606	288.1746	73.5953
	E.S	0.0041	0.0309	18.7518	6.3483
6	1 (6)	0.4021	0.3024	246.2580	74.4711
	2 (5)	0.4093	0.2476	241.8606	59.8800
	3 (3)	0.4097	0.2686	299.8824	80.5343
	4 (3)	0.3933	0.1851	309.2884	57.2517
	5 (3)	0.3943	0.3444	334.9403	115.3386
	6 (4)	0.3445	0.1737	331.6422	57.6172
	Media	0.3922	0.2536	293.9786	74.1822
	E.S	0.0100	0.0270	16.6925	9.1285
10	1 (4)	0.4078	0.1736	409.6972	71.1415
	2 (3)	0.3754	0.1372	453.4886	62.2228
	3 (3)	0.4365	0.1310	385.3890	50.4815
	4 (5)	0.4141	0.1645	419.9579	69.0793
	5 (2)	0.3957	0.2719	278.5062	75.7342
	6 (7)	0.4126	0.0914	386.6104	35.3529
	Media	0.4070	0.1616	388.9415	60.6687
	E.S	0.0083	0.0250	24.3401	6.2034

Continuación ANEXO G.

Edad (días)	Cámara (n)	Long. de concha (mm)	Area past. (mm ²) por postl. por hora	Dens. de Diatomeas (cel/mm ²)	Tasa de pastoreo por postl. por hora.
12	1 (4)	0.5347	0.2119	388.6259	82.3675
	2 (4)	0.5295	0.1671	464.7876	77.6842
	3 (3)	0.4562	0.1004	554.5692	55.6891
	4 (3)	0.4837	0.0989	623.8902	61.7076
	5 (3)	0.4337	0.1258	528.9173	66.5559
	6 (4)	0.4953	0.2552	427.8367	109.1938
	Media	0.4888	0.1599	498.1045	75.5330
	E.S	0.0163	0.0260	35.5869	7.8526
18	1 (6)	0.5751	0.9641	455.6556	439.3008
	2 (2)	0.5706	0.9759	487.3855	475.6524
	3 (6)	0.5849	0.2600	481.2781	125.1428
	4 (3)	0.6419	0.4467	485.9199	217.0747
	5 (6)	0.6249	0.7851	413.4838	324.6390
	6 (5)	0.4773	0.3651	459.5351	167.7586
	Media	0.5791	0.6328	463.8763	291.5947
	E.S	0.0235	0.1286	11.4997	59.2681
25	1 (5)	0.5578	0.4105	457.4584	187.8145
	2 (5)	0.6331	0.2337	494.7148	115.6235
	3 (4)	0.5903	0.3606	496.5471	179.0639
	4 (6)	0.6578	0.5166	467.2307	241.4026
	5 (3)	0.6169	0.3421	441.2123	150.9538
	6 (4)	0.6343	0.4654	500.2117	232.8386
	Media	0.6150	0.3881	476.2292	172.6377
	E.S	0.0146	0.0407	9.9820	19.5655

ANEXO H. Análisis de varianza de una vía para las tasas de pastoreo de ambos ensayos, en distintas edades.

Primer ensayo (septiembre, 1995).

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P	F ^{crit.}
Tasa de past.	2912362	4	728090.5	5.315	0.003	2.76
Error	342444	25	136977.9			
Total	3254806	29				

Segundo ensayo (junio, 1996).

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P	F ^{crit.}
Tasa de Past.	258605.8	5	51721.17	12.543	0.000001	2.53
Error	123697	30	4123.235			
Total	382302.8	35				

ANEXO I. Análisis de varianza de una vía para las edades similares de ambos ensayos: 4, 6 y 12 días post- asentamiento con respecto a la tasa de pastoreo en una hora.

Edad de 4 días.

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P	F ^{crit.}
Tasa de past.	1280.92	1	1280.92	4.669	0.056	4.964
Error	2743.067	10	274.3067			
Total	4023.987	11				

Edad de 6 días.

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P	F ^{crit.}
Tasa de past.	3936.752	1	3936.752	1.730	0.217	4.964
Error	22748.08	10	2274.808			
Total	26684.83	11				

Edad de 12 días

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P	F ^{crit.}
Tasa de past.	1033038	1	1033038	7.466	0.021	4.964
Error	1383566	10	138356			
Total	2416604	11				

ANEXO J. Análisis de varianza de una vía en el ensayo de recolonización *de N. Incerta* en áreas manualmente clareadas con datos transformados (arco seno \sqrt{p}).

4 horas.

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P	F ^{crit.}
Recolonización	0.000776	2	0.000388	0.194	0.833	9.552
Error	0.005997	3	0.001999			
Total	0.006773	5				

12 horas.

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P	F ^{crit.}
Recolonización	0.0123	2	0.0061	0.827	0.517	9.552
Error	0.0223	3	0.0074			
Total	0.0346	5				