

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA  
CALIFORNIA**

**FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS**

**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS**

**BIOTECNOLOGÍA EN ACUACULTURA**

**“COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE MARCAJE DE  
SEMILLA DE ABULÓN ROJO (*Haliotis rufescens*)”**

**TESIS**

**QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**BIOTECNÓLOGO EN ACUACULTURA**

**PRESENTA**

**JOSE CARLOS MACEDO CARRANCO**

**ENSENADA B.C, ENERO 2017**

## RESUMEN

Las cooperativas pesqueras ejecutan programas de repoblamiento para mantener los bancos de abulón para futuras generaciones. Estos consisten en la liberación de larvas y semillas de abulón en su hábitat natural. Para evaluar el efecto de estos programas, los organismos deben ser etiquetados con marcas físicas o genéticas, y hasta el momento no existen métodos que permitan hacer evaluaciones eficientes. En este experimento se compararon marcas electrónicas del tipo PIT (por sus siglas en inglés, Passive Integrated Transponder) con las etiquetas plásticas (P) convencionales adheridas a semillas de abulón rojo *Haliotis rufescens*, con un pegamento a base de cianoacrilato. Las semillas marcadas fueron liberadas en tres pozas de marea localizadas en el complejo turístico Bajamar, ubicado a 30 km al norte de Ensenada, que se condicionaron con alimento y refugios. Se realizaron cuatro monitoreos; el primero el 26 de febrero (día de la siembra) y el último el 1 de mayo de 2014. Las evaluaciones consistieron en la búsqueda de organismos, tratando de detectar abulones marcados visualmente (con la ayuda de un visor de buceo) y con un antena de raqueta (18 cm de diámetro) conectada a un lector HPR Plus (Biomark), antes y después de remover las rocas utilizadas para acondicionar la poza y otros obstáculos como algas o animales.

Los organismos fueron encontrados debajo de rocas y grietas de ~10 cm de diámetro en el interior de las pozas. En el segundo muestreo realizado a las 24 h de la siembra, se detectaron 4.2% de organismos P y 41.6% de organismos PIT antes de remover las rocas, del total encontrado con los dos métodos de evaluación. El tercer y cuarto muestreo fueron realizados los días 28 de Marzo y 1° de Mayo, pero debido a tormentas, depredadores, falta de alimento, remoción de refugio y a los hábitos de esta especie, la mayoría de los abulones no fueron localizados. Aun así, el porcentaje de organismos encontrados antes de remover las rocas fue 88.2% de abulones PIT contra 33.3% de abulones P del total encontrado con los dos métodos de evaluación en las dos fechas. Esto sugiere que los PIT pueden ser útiles para los monitoreos de siembras de semilla de abulón pero es necesario hacer más estudios con otras especies de abulón, mejorar la distancia de detección y adaptar esta tecnología para su uso en el submareal.

**“COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE MARCAJE DE  
SEMILLA DE ABULÓN ROJO (*Haliotis rufescens*)”**

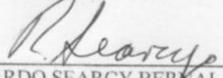
**TESIS**

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

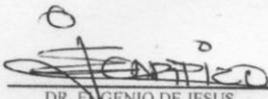
**PRESENTA**

**JOSE CARLOS MACEDO CARRANCO**

APROBADA POR:

  
\_\_\_\_\_  
DR. RICARDO SEARCY BERNAL  
Presidente del Jurado

  
\_\_\_\_\_  
DRA. CIRA GABRIELA  
MONTAÑO MOCTEZUMA  
Sinodal Propietario

  
\_\_\_\_\_  
DR. ENGENIO DE JESUS  
CARIPO ITUARTE  
Sinodal Propietario

---

NOVIEMBRE 2016

---

**CONTENIDO**

<b>CONTENIDO .....</b>	<b>3</b>
<b>LISTA DE TABLAS Y FIGURAS. ....</b>	<b>4</b>
<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>5</b>
<b>DEDICATORIA .....</b>	<b>6</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>7</b>
Replamamiento y siembra experimental de abulón en el mundo.....	8
Principales métodos de marcaje de semilla .....	9
<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>10</b>
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>10</b>
<b>DESCRIPCIÓN DEL AREA DE ESTUDIO .....</b>	<b>10</b>
<b>METODOLOGÍA.....</b>	<b>11</b>
Origen y mantenimiento de los organismos .....	11
Trabajo de campo.....	15
<b>ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....</b>	<b>19</b>
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>19</b>
Primer Muestreo: “Mismo Día de Siembra” 26 de Febrero .....	19
Segundo Muestreo: “24h Después de Siembra” 27 de Febrero .....	19
Tercer muestreo: “al Mes” (28 de Marzo) y Cuarto muestreo: “a los dos meses” (10. de Mayo) .....	23
Crecimiento y Mortalidad .....	23
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>25</b>
Comparación con otros métodos de marcaje.....	26
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>28</b>

## LISTA DE TABLAS Y FIGURAS.

Tabla I. Segundo Muestreo: Organismos detectados 24h después de la Siembra y los porcentajes relativos de los abulones identificados en la evaluación 1 con respecto al total encontrado por poza.....	21
Tabla II. Tercer y Cuarto Muestreo: Abulones detectados al mes (28 Marzo) y a los dos meses (1 Mayo), juntando los datos para las tres pozas de marea. Se indica el porcentaje relativo de los abulones identificados en la evaluación 1 con respecto al total encontrado en cada muestreo. ....	24
Figura 1. Interior de Productos Marinos Baja S.A. de C.V. ubicado en el ejido Eréndira localizado 100 km al sur de Ensenada B.C. ....	12
Figura 2. Proceso de marcaje, A) aplicación del adhesivo, B) montaje de la marca plástica, C) surco con lima industrial, D) montaje de la marca PIT .....	13
Figura 3. Imágenes donde se muestra el proceso de secado rápido. A) El abulón ya etiquetado con PIT es introducido en un recipiente que contenga bicarbonato de sodio B) se recubre la zona trabajada, C) se remueven excedentes y D) se limpia con agua .....	13
Figura 4. Fotografía de abulones ya etiquetados. ....	14
Figura 5. Organismos dentro de malla para transporte al sitio de liberación .....	14
Figura 6. Toma de la hielera ya en campo dentro de la cual se transportaron los abulones adicionada con <i>Macrocystis pyrifera</i> .....	14
Figura 7. Toma de las pozas de marea las cuales fueron acondicionadas removiendo depredadores como cangrejos y estrellas de mar además de competidores como son los erizos de mar. A) Poza A, B) Poza B C) Poza C.....	16
Figura 8. Toma de proceso de detección en campo de los abulones utilizando la raqueta Biomark. A) La evaluación 1 consistió en la búsqueda de organismos sin remover obstáculos de las pozas. B) La evaluación 2 consistió en la remoción de las rocas que interferían con los organismos.....	17
Figura 9. El área de evaluación al mes y dos meses se incrementó utilizando un cuadrante de cuerda de 4x4 m instalado alrededor de la poza para documentar la dispersión de la semilla .....	18
Figura 10. Número de abulones detectados en las tres diferentes pozas el mismo día de la siembra. ....	20

## AGRADECIMIENTOS

Le agradezco primeramente a nuestra universidad por ser fuente de conocimiento, apoyo y un sin número de retos. En especial al Instituto de Investigaciones Oceanológicas y a la Facultad, por proporcionarnos una de las pocas incubadoras de científicos de calidad en el país debido al trabajo incansable de investigadores y educadores como lo son los doctores, Carpizo, Montaña, Galaviz, Escobar, Valenzuela y Anguiano. De ell@s tuve la dicha de recibir grandiosas enseñanzas sobre la eterna sinfonía que se esconde en las moléculas de los invertebrados, sobre cómo se concierta con los ciclos de todo el océano y nosotros.

Me siento muy agradecido con mi director de tesis el Dr. Ricardo Searcy por tenerme paciencia, ayudarme a formalizar mi aprendizaje, enseñarme como aplicar la ciencia a fines de bien común, darle valor al conocimiento, confiarme su tiempo, correcciones y las herramientas con las que se elaboró este trabajo junto con la Dra. Cassandra Anguiano, Dra. Gabriela Montaña, Dr. Eugenio Carpizo y los colegas L.B.A. Bryanda Aguilar, Ramón Sandoval, Jair Quezada, Francisco Villavicencio, Nisaviñi, Elena Ruíz y Yoalli Romero. A las Dras. Tatiana Olivares, Fabiola Lafarga, Lus Lopez y Carmen Vargas y Dr. Miguel del Río por sus enseñanzas y ayudarme a entender los procesos fisiológicos y metagenómicos de los abulones a través de la genética. A mi hermana por la paciencia, a los doctores Yezabel Montaña y Carlos Jiménez, Rebeca Herrera, Paty, Sam, Efraín, Jordan, Raquel por no dejarme rendirme. A mis tíos Pacheco, Carranco, Macedo, Zozaya, Orduño Olivares por brindarme su techo y un lugar en la mesa cuando lo necesité.

謝謝

**DEDICATORIA**

A MIS PADRES Y ABUELOS

Out of dust I rose again  
Under the maples  
Cared by frogs and tortoises  
Trained by lions and seahorses  
We fought monsters inside and in between  
But a little of them still resides in one another  
So is our journey to grab our claws  
To climb together the top of the world  
Who if not us?  
The rotten apples.

Now with this adamantium knowledge I've acquired,  
the fire of our families love and,  
Pure northwestern ambition  
I shall forge my wisdom  
And sharpen it through the wilderness of life  
"Caminante no hay camino, se hace camino al andar"  
I love you and I thank you all this years  
Without you  
My existence would have only been a dream

## INTRODUCCIÓN

Baja California exporta moluscos de calidad, siendo la familia Haliotidae la de mayor valor comercial (Searcy-Bernal *et al.*, 2013). Las especies aprovechadas en Baja California son *Haliotis fulgens*, *H. corrugata*, *H. cracherodii* y *H. rufescens*. Casi la totalidad de las capturas está repartida entre las dos primeras especies, previamente mencionadas (70.8 y 28.9%, respectivamente). Las cooperativas han disminuido la pesca en los últimos años, de 3,500 toneladas anuales en 1960 a menos de 400 toneladas anuales a partir de la década de los 80's. En la actualidad el más cultivado comercialmente es *H. rufescens* (Searcy-Bernal *et al.*, 2010).

A pesar de que en México la pesquería industrial de abulón inició alrededor de 1940, actualmente sólo están en operación 15 cooperativas pesqueras (Ortiz-Quintanilla & Leon-Carballo, 1996, del Rio-Portilla *et al.*, 2010, Searcy-Bernal *et al.*, 2010). La excesiva captura aunada a la explotación ilegal provocó el colapso de la pesquería nacional (Guzmán del Prío *et al.*, 1992). Los factores determinantes fueron su alto precio, gran demanda en el mercado internacional y relativa facilidad de captura. Esta pesquería está clasificada en estado de deterioro (SAGARPA 2009), y en años recientes las capturas no superan las 320 toneladas (Searcy-Bernal *et al.*, 2010).

La producción de larvas y semillas de abulón de esas especies para repoblar bancos naturales se ha venido practicando por el sector cooperativo desde mediados de los 80's (Searcy-Bernal *et al.*, 2010) con el objetivo de mitigar los efectos de la pesca comercial; sin embargo, en la situación actual esta actividad podría también constituir una estrategia clave para atenuar el impacto de la mortalidad natural de abulón observada recientemente (Micheli *et al.* 2012, Morash & Alter 2015).

En la actualidad existen seis laboratorios operados por las cooperativas, localizados en Isla de Cedros, Isla Natividad, Punta Eugenia, Bahía Tortugas, La Bocana y Punta Abreojos (Searcy-Bernal, *et al.*, 2010), que en conjunto produjeron y liberaron en 2011 unos 152 millones de larvas competentes, así como 513 mil semillas, principalmente de abulón azul (*H. fulgens*) de tallas entre 15 y 20 mm (Searcy-Bernal *et al.*, 2013).

Sin embargo, no se conoce el impacto de esta actividad en las poblaciones naturales debido a dificultades asociadas a una evaluación precisa. Durante el “Primer Taller sobre Repoblamiento de Abulón en la Península de Baja California”, celebrado en el Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la UABC (IIO) en mayo de 2010, productores, académicos y autoridades exploraron alternativas para impulsar y mejorar esta actividad y dentro de éstas destacó, de manera prioritaria, la necesidad de mejorar la evaluación del impacto del repoblamiento (Searcy-Bernal et al., 2010), la cual solo se ha realizado de manera preliminar y requiere que los organismos sembrados sean marcados con técnicas eficientes que permitan su identificación individual por varios años, para poder darle seguimiento en el medio natural y eventualmente en las capturas (Searcy-Bernal *et al.*, 2013).

### **Repoblamiento y siembra experimental de abulón en el mundo**

La siembra masiva de semilla de abulón con fines de repoblamiento inició en Japón en la década de los 60's (McCormick *et al.*, 1994, Hamasaki y Kitada, 2008). Anualmente se siembran en ese país de 25 a 30 millones de semillas de unos 25 a 30 mm de longitud. El éxito de estos programas varía y se estiman tasas de recuperación entre 1 y 24%, y contribuciones a la captura de hasta el 83% en algunas localidades (Hamasaki y Kitada, 2008).

Siguiendo el ejemplo japonés, México es el segundo país con programas masivos de repoblamiento de abulón, aunque las siembras anuales apenas superan el medio millón de semillas (Searcy-Bernal *et al.*, 2013).

Evaluaciones preliminares realizadas por la Cooperativa Progreso en La Bocana, B.C.S., demuestran que alrededor del 5% de la semilla (~20 mm) de *H. fulgens* sembrada alcanza la talla comercial de 140 mm después de cuatro años (Aguilar-Osuna, 2010; Searcy-Bernal *et al.*, 2013). En diversos países se han realizado estudios experimentales a diferentes escalas para evaluar la efectividad y los factores que afectan la siembra de semilla de abulón, incluyendo Australia (Dixon *et al.*, 2006; James et al., 2007), Nueva Zelanda (Schiel, 1993; Roberts *et al.*, 2007), Sudáfrica (de Waal *et al.*, 2003, Godfrey, 2003) y Estados Unidos (Burton y Tegner, 2000).

Los programas japoneses de repoblamiento también se han basado en numerosos estudios previos (referencias en Hamasaki y Kitada, 2008). En México, los únicos trabajos científicos en este sentido fueron realizados por la UABC a mediados de los 80's (Searcy-Bernal y Salas-Garza, 1985; Burton y Tegner, 2000) y más recientemente por el Instituto Politécnico Nacional (IPN) (Guzmán del Proó *et al.*, 2004),

### **Principales métodos de marcaje de semilla**

El marcaje individual de la semilla sembrada es fundamental para una evaluación precisa de su sobrevivencia y crecimiento. El método más usual consiste en pequeñas etiquetas plásticas numeradas, adheridas a la concha del abulón mediante un pegamento de secado rápido (*e.g.* cianoacrilato) (Shepherd *et al.*, 2000; Godfrey, 2003; Dixon *et al.*, 2006). Estas marcas han sido utilizadas para marcar semilla de abulón azul (*H. fulgens*) por algunos laboratorios del sector cooperativo (Aguilar-Osuna, 2010; González-Avilés, 2010) y por el Instituto Politécnico Nacional (IPN) (Guzmán del Proó *et al.*, 2004). Un método similar pero con etiquetas de aluminio fue usado anteriormente por la UABC (Searcy-Bernal y Salas-Garza, 1985).

Estas marcas son efectivas por unos meses, pero posteriormente se cubren con organismos incrustantes que poco a poco deterioran las marcas y/o impiden su visualización o lectura. Además, se ha observado que algunas marcas se desprenden de las conchas. Por otro lado, debido a los hábitos crípticos de los abulones juveniles, en ocasiones es imposible recuperar organismos marcados que se encuentran en grietas o cuevas inaccesibles.

Las marcas electrónicas tipo PIT se han utilizado exitosamente para marcar invertebrados y peces (Nielsen, 1992; Gibbons y Andrews, 2004, Sonnenholzner *et al.*, 2010). Las marcas PIT son pequeñas (8.4 a 23 mm), tienen una durabilidad de décadas y están formadas por un microchip inerte, electromagnético y protegido por una cápsula de cristal (Gibbons y Andrews, 2004). Cada marca tiene un código alfa-numérico de 12 dígitos que es detectado por el lector a una distancia que depende del microchip y del lector (típicamente ente 15 y 35 cm,

Esta investigación, que se desarrolló con la colaboración de la empresa Productores Marinos Baja S.A de C.V ubicada en el Ejido Eréndira (PMB), 100 km al sur de Ensenada,

Baja California, incorpora tecnología de punta para contribuir a la solución del reto principal que plantean las actividades de siembra de semilla de abulón en el medio natural, es decir, el marcaje efectivo para un seguimiento y evaluación adecuados. Los resultados obtenidos también se pueden aplicar en programas de investigación o cultivo comercial para diferenciar y dar seguimiento a lotes de semilla específicos (p. ej. de distinto origen o variedad genética).

Este trabajo presenta, por primera vez, ensayos con microchips tipo PIT para marcar semilla de abulón rojo, cuya eficiencia se comparó con el método convencional con marcas plásticas. Este proyecto se realizó con abulón rojo (*H. rufescens*) por la flexibilidad que ofrece su ciclo reproductivo continuo durante todo el año, pero posteriormente se pretende extender estos estudios a otras especies de abulón y zonas de la península de Baja California.

## **HIPÓTESIS**

El tipo de marcas electrónicas tipo PIT facilitará la detección de semillas de abulón en comparación con etiquetas plásticas, ya que se puede realizar a distancia sin tener que desprender el organismo.

## **OBJETIVOS**

Evaluar a corto plazo (2 meses) una siembra experimental en una zona costera de Bahía Todos Santos (Ensenada B.C) con semillas de abulón rojo (*H. rufescens*) marcadas con etiquetas plásticas y electrónicas (PIT), para comparar la detección de éstas.

## **LOCALIZACIÓN DEL AREA DE ESTUDIO**

El área donde se realizaron los experimentos se encuentra dentro del complejo turístico Bajamar localizado en las coordenadas 32°00'37.5228" N, 116°52'19.4880" O, en la parte norte del municipio de Ensenada.

## METODOLOGÍA

### Origen y mantenimiento de los organismos

Las 180 semillas marcadas tuvieron una longitud y peso total promedio de 26.0 mm y 2.5 g, respectivamente y fueron proporcionadas por la empresa Productores Marinos Baja (PMB) (Fig.1) Las semillas fueron mantenidas en cubetas de 15 L con flujo continuo de agua de mar filtrada (ca. 2 L/min) a una temperatura de  $18\pm 1^{\circ}\text{C}$  y 12h luz/12h oscuridad por dos semanas antes de los experimentos. Los recipientes donde se colocaron los abulones tuvieron un flujo continuo de agua y cambios completos de esta cada dos días para retirar materia orgánica en descomposición. La alimentación se llevó a cabo *ad libitum* cada tercer día con algas frescas de la especie *Macrocystis pyrifera* hasta que los organismos se llevaron al campo. Las algas fueron recolectadas en la zona de Punta Morro ubicada frente a la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California. Después del periodo de aclimatación, todos los abulones se marcaron con etiquetas plásticas numeradas marca Floy Tag Inc., de 3 x 9 mm, y marcas electrónicas o microchips tipo "PIT" de la marca Biomark, de 1.4 x 9 mm.

### Marcaje

En una charola de plástico fueron puestas láminas de algas frescas de la especie *Macrocystis pyrifera*. Después de esto se retiraron de la bandeja de aclimatación grupos de 5 abulones y se colocaron sobre las algas. Uno por uno, los organismos se secaron superficialmente para ser pesados con una balanza Acculab (modelo Pocket Pro 250-B), medidos con un vernier Cole-Parmer (modelo Carbon Fiber Digital Caliper 0-6'') y marcados de la siguiente manera: Con la ayuda de una lima triangular, se realizó un pequeño surco en la parte baja de la concha del abulón. Se aplicó un poco de adhesivo de cianoacrilato (Coraffix) y se colocó un microchip de vidrio, enseguida se aplicó más adhesivo. Para el caso de las marcas plásticas, se colocaron con el mismo adhesivo en la parte alta de la concha, de igual manera, pero sin hacer el surco (Fig.2). Después del marcado, se le agregó bicarbonato de sodio al adhesivo en la concha para acelerar su secado, se lavó con agua de mar y se depositó en la unidad experimental (Figs. 3, 4). Los abulones fueron llevados al campo en una hielera dentro de bolsas de red plástica en grupos de 30 organismos (Fig.5), cubiertos de algas (Fig.6).



**Figura 1** Interior de Productos Marinos Baja S.A. de C.V. ubicado en el ejido Eréndira localizado 100 km al sur de Ensenada B.C.



Figura 2 Proceso de marcaje, A) aplicación del adhesivo, B) montaje de la marca plástica, C) surco con lima industrial, D) montaje de la marca PIT



Figura 3 Imágenes donde se muestra el proceso de secado rápido. A) El abulón ya etiquetado con PIT es introducido en un recipiente que contenga bicarbonato de sodio B) se recubre la zona trabajada, C) se remueven excedentes y D) se lava con agua de mar.



Figura 4 Fotografía de abulones ya etiquetados.



Figura 5. Organismos dentro de malla para transporte al sitio de liberación



Figura 6 Toma de la hielera ya en campo dentro de la cual se transportaron los abulones adicionada con *Macrocystis pyrifera*

## Trabajo de campo

Se realizaron salidas al campo previas para prospeccionar la zona intermareal de Bajamar, que es una localidad idónea, debido a que cuenta con pozas de marea con alimento (algas), fondo con rocas pequeñas que proporcionan refugio a las semillas y que facilitan su búsqueda posterior, así como accesibilidad restringida a personas ajenas que pudieran alterar el área (pescadores, turistas, etc.). El experimento se realizó en tres pozas de marea, seleccionadas previamente (Fig.7) y en cada una de estas se sembraron 60 semillas. La mitad de la semilla fue marcada sólo con etiquetas plásticas (P) y la otra mitad con PIT y etiquetas plásticas (P+PIT). Se acondicionaron las pozas agregando rocas de unos 15x30 cm y hojas de algas pardas, así como removiendo a los depredadores (cangrejos y estrellas de mar) y competidores (erizos). Se instaló un sensor de temperatura de registro continuo en cada poza (Stowaway Modelo TidBit), programado para tomar lecturas cada hora.

Los abulones marcados se trasladaron al campo en bolsas de malla plástica con macroalgas dentro de hieleras, y se depositaron en cada poza durante mareas bajas asegurando su permanencia. Se realizaron cuatro muestreos: a las dos horas de siembra, a las 24 h de siembra, al mes y a los dos meses; buscando exhaustivamente abulones marcados en las pozas de marea y áreas adyacentes, siguiendo dos tipos de evaluación: La evaluación 1 se realizó sin remover rocas de las pozas, tratando de detectar abulones marcados visualmente (con la ayuda de un visor de buceo) y con un antena de raqueta (18 cm de diámetro) conectada a un lector HPR Plus (Biomark); mientras que en las evaluaciones posteriores se agregó en una búsqueda similar después de la remoción de las rocas (Fig.8), las cuales fueron regresadas a su posición original después del muestreo.

El área de evaluación al mes y dos meses se incrementó utilizando un cuadrante de cuerda de 4x4 m instalado alrededor de la poza (Fig.9), para documentar la dispersión de la semilla. Siempre que fue posible, se midieron los abulones detectados *in situ* o desprendiéndolos del sustrato.

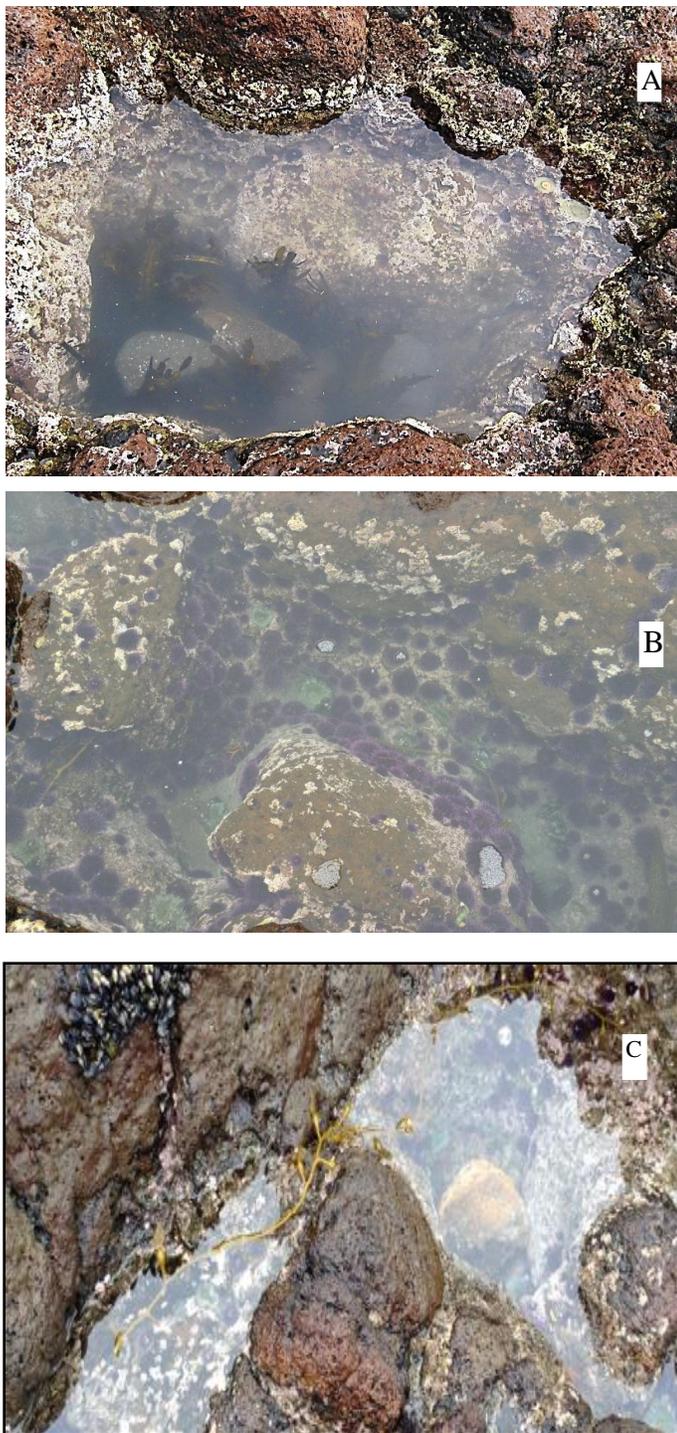


Figura 7. Toma de las pozas de marea la cuales fueron acondicionadas removiendo depredadores como cangrejos y estrellas de mar además de competidores como son los erizos de mar. A) Poza A, B) Poza B C) Poza C.

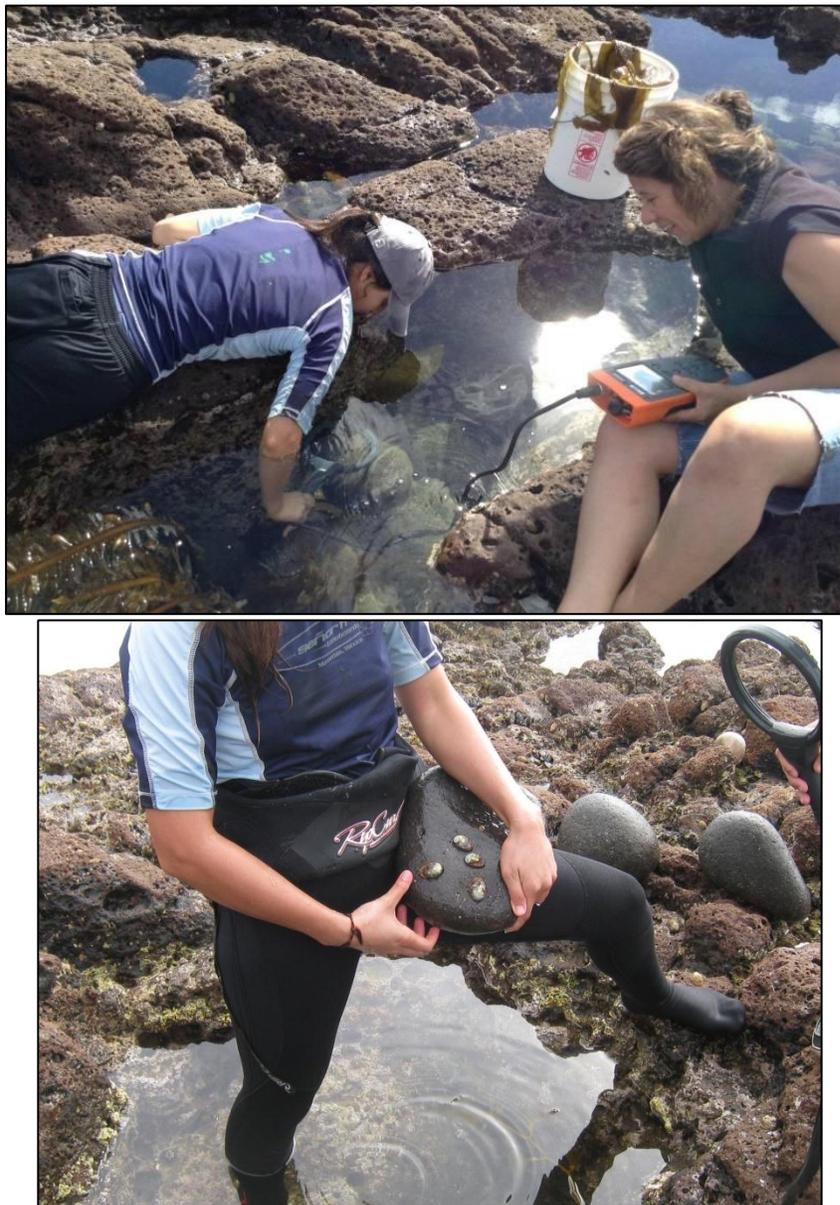


Figura 8. Toma de proceso de detección en campo de los abulones utilizando la raqueta Biomark. A) La evaluación 1 consistió en la búsqueda de organismos sin remover obstáculos de las pozas. B) La evaluación 2 consistió en la remoción de las rocas que interferían con los organismos.



Figura 9. El área de evaluación al mes y dos mes se incrementó utilizando un cuadrante de cuerda de 4x4 m instalado alrededor de la poza para documentar la dispersión de la semilla

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se procesaron los datos de los termógrafos para obtener los promedios diarios de temperatura, además de los promedios de las temperaturas más altas y más bajas.

Se hizo una prueba t pareada para comparar los porcentajes de organismos encontrados a las 24 h sin voltear rocas en relación al total encontrado con ambas evaluaciones, con el objetivo de comparar la eficiencia de los dos métodos de marcaje. Se utilizó la transformación arco seno de los porcentajes (expresados como proporciones) antes del análisis.

## **RESULTADOS**

### **Temperatura.**

Los promedios de temperatura fueron similares en las tres pozas y fluctuaron entre 15.3 y 19.0°C con un promedio mínimo de 14.0 y un promedio máximo de 21.2 °C. Sin embargo, hubo un pico mínimo de 11.2 y uno máximo de 28.3 °C.

### **Primer Muestreo: “Mismo Día de Siembra” 26 de Febrero**

A simple vista identificamos uno de 90 organismos sólo con etiqueta plástica (P) y 15 de 90 abulones con PIT (P+PIT) mediante el uso de la antena. La distribución por poza de los organismos identificados puede ser observada en la Figura 10.

### **Segundo Muestreo: “24h Después de Siembra” 27 de Febrero**

En tan sólo un día la marea se había llevado la mayoría de las algas depositadas en las pozas, siendo la C la más afectada, y posiblemente con estas se fueron algunos abulones que se encontraban pastoreando. En la poza A se encontraron un total de 15 abulones P y 21 P+PIT de los cuales 0% y 14.3% fueron detectados en la evaluación 1, respectivamente (Tabla I). Al remover las rocas (evaluación 2), se encontraron organismos entre estas y debajo de ellas. Del total de abulones P+PIT encontrados debajo de las rocas, once estaban aglomerados en el fondo de la poza A y no pudieron ser identificados inmediatamente con el lector hasta que fueron separados.

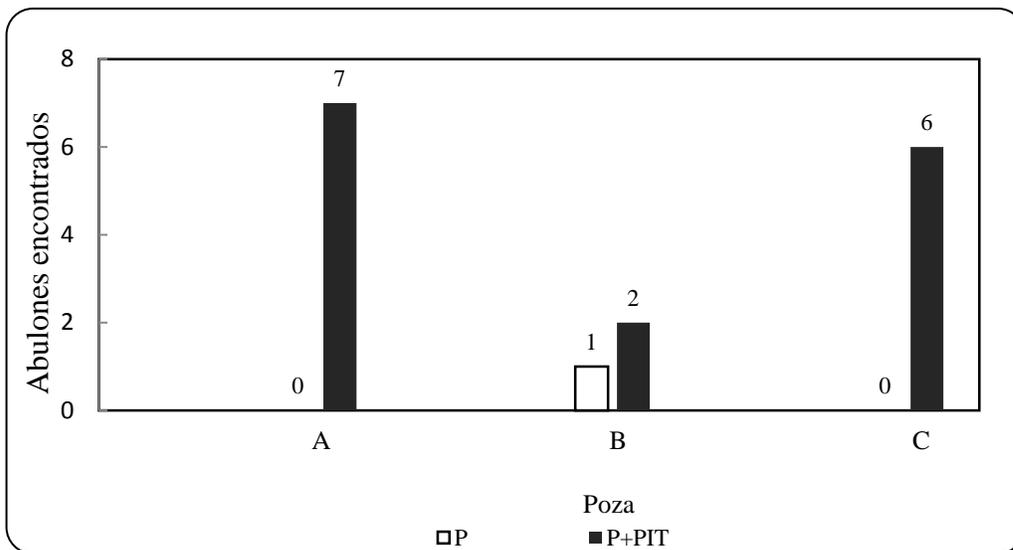


Figura 10. Número de abulones detectados en las tres diferentes pozas el mismo día de la siembra.

Tabla I. Segundo Muestreo: Organismos detectados 24h después de la Siembra y los porcentajes relativos de los abulones identificados en la evaluación 1 con respecto al total encontrado por poza.

Poza	P			P+PIT		
	Evaluación			Evaluación		
	1	2	%	1	2	%
A	0	15	0	3	18	14.3
B	2	21	8.7	9	4	69.2
C	0	10	0	7	5	58.3
Total	2	46	4.2	19	27	41.3

En la poza B la mayoría de los abulones se habían movido, se encontraban en ranuras de 0.5 a 1cm de profundidad desde las cuales era visible su etiqueta, o escondidos en pequeñas grietas de unos 3 cm de diámetro y 5 cm o más de profundidad. Fue posible detectar un total de 23 abulones P y 13 P+PIT (Tabla I); sin embargo, solo el 8.7% de los organismos P fue detectado en la evaluación 1, encontrando un porcentaje mayor de P+PIT: 69.2%.

En la poza C se encontraron un total de 10 abulones P y 12 P+PIT, de los cuales 0% y 58.3% fueron detectados en la evaluación 1, respectivamente (Tabla I).

Considerando las tres pozas, la proporción de semilla, encontrada en este muestreo antes de voltear las rocas relativa al total encontrado, fue de 4.2% para los abulones marcados con etiqueta plástica (P) y de 41.3% para los abulones marcados con P+PIT (t-pareada= 4.612,  $P=0.043$ , gl error = 2).

### **Tercer muestreo: “al Mes” (28 de Marzo) y Cuarto muestreo: “a los dos meses” (10 de Mayo)**

Después de un mes que se sembraron los abulones marcados en las pozas, no se encontró ningún organismo P a simple vista; sin embargo, se encontraron 10 organismos P+PIT (evaluación 1). Durante la segunda evaluación, se encontraron 2 abulones P y 1 P+PIT (Tabla II). Antes de este muestreo se registró oleaje muy fuerte en la zona, lo que pudo haber incidido en el bajo número de abulones localizados. Fue muy difícil encontrar organismos a simple vista, los únicos que pudieron encontrarse estaban en la poza C y uno de los abulones P+PIT se encontró fuera de la Poza B, a 1.5 m de su lugar de origen.

Dos meses después, en el cuarto muestreo del 1 de mayo sólo se encontraron un organismo P en la poza A y 5 P+PIT en la poza C, sin voltear rocas. Al remover las rocas, se encontró únicamente un abulón P+PIT, el cual había perdido el microchip. Adicionalmente, se localizó otro microchip suelto, fuera de la poza A (Tabla II).

Aunque el número de organismos recuperados fue bajo, el porcentaje de recuperación en la primera evaluación de abulones marcados con P+PIT fue mayor (88.2%), que el de los marcados con P (33.3%) (Tabla II).

### **Crecimiento y Mortalidad**

Debido a dificultades para medir correctamente los abulones en el campo, los pocos datos obtenidos no fueron lo suficientemente confiables para estimar el crecimiento; sin embargo, en general, no se observaron líneas de crecimiento que permitieran suponer un crecimiento importante durante estos dos meses.

Fue posible identificar tres organismos muertos debido a la detección del PIT sobre la concha. Un individuo etiquetado P+PIT localizado el 26 de febrero se encontró dentro de la cueva de un cangrejo *Pachigrapsus crassipes*. Las otras conchas P+PIT fueron encontradas a 1.5 y 1.3 m respectivamente de su origen el 27 de Febrero.

---

Tabla II. Tercer y Cuarto Muestreo: Abulones detectados al mes (28 Marzo) y a los dos meses (1 Mayo), juntando los datos para las tres pozas de marea. Se indica el porcentaje relativo de los abulones identificados en la evaluación 1 con respecto al total encontrado en cada muestreo.

	P			P+PIT		
	Evaluación			Evaluación		
Poza	1	2	%	1	2	%
Marzo 28	0	2	0	10	1	90.9
Mayo 1	1	0	100	5	1	83.3
Total	1	2	33.3	15	2	88.2

## DISCUSIÓN

Este experimento a pequeña escala documenta una ventaja significativa en la detección de organismos marcados con PIT comparado con marcas convencionales, debido a la posibilidad de la detección de estas *in situ*. Particularmente, en la mayoría de los casos, se encontraron mas abulones marcados con PIT durante la primera evaluación, sin necesidad de remover las rocas (Tablas I y II). El método utilizado para colocar los PIT de 9 mm en surcos previamente tallados en el exterior de la concha de las semillas de abulón (Fig.2) parece prometedor, ya que hubo alta tasa de retención. El abulón más pequeño que fue etiquetado de esta manera midió 22 mm y podría utilizarse en semillas de menor tamaño colocando marcas PIT de 8 mm, también disponibles en el mercado.

En un estudio previo de laboratorio la retención de los PIT fue de 100% durante 108 días (Martínez Sandoval, 2015); sin embargo, en este estudio de campo, se documentó el desprendimiento de dos etiquetas en los dos meses que duró la prueba, lo que pudo deberse a los hábitos crípticos de los abulones, que al desplazarse entre grietas pequeñas pueden golpear o ejercer presión sobre la marca PIT y causar que se desprenda. Otros estudios hechos en adultos de abulón negro (*H. cracherodii*) reportan una alta retención de PIT pero presentaron fallas en la detección después de uno o dos años, posiblemente debido al impacto del oleaje sobre éstos (Hale et al. 2012).

La distancia de detección y diseño de la antena deben adaptarse a las características del habitat de los abulones. La raqueta utilizada es demasiado grande y necesita estar muy cerca de la etiqueta para detectarla (unos 17 cm en pruebas preliminares de laboratorio). La distancia de detección aumenta si se incrementa también el tamaño del PIT, pero para esto el organismo también tiene que ser más grande. La imposibilidad de detectar un grupo de abulones con PIT representa un problema que necesita ser resuelto, ya que puede ser un factor crítico para establecer el uso de este método de marcaje debido al comportamiento gregario de los abulones. Este problema también se presenta al rastrear cantos rodados marcados con PIT en ríos y se propone el uso de antenas en forma de vara (hecha de ferrita, 0.14m largo 0.021 diámetro) como potencial solución, ya que la detección de PITs cercanos mejora y además se puede introducir en lugares inaccesibles para la vista (Chapuis et al. 2014).

## Comparación con otros métodos de marcaje

Existen diferentes métodos de marcaje para gasterópodos, los cuales se han utilizado para identificarlos a largo plazo (Henry y Jarne, 2007). El tipo de marcado depende del propósito. Si se desea etiquetar a un gran número de semillas o juveniles (*c.a.* >15mm), las tintas orgánicas (Day et al., 1995), pinturas de esmalte (Angeloni y Bradbury, 1999) y la tinta india (Schilthuizen y Lombaerts, 1994) pueden ser una manera de identificar entre lotes. La problemática surge cuando los organismos llegan a una edad en donde la zona entintada cambia debido a fenómenos inherentes del organismo, como crecimiento, o del ambiente, como fouling.

Para poder marcar a los organismos con algún tipo de etiqueta es necesario que estos tengan una talla mínima y puedan sostener la marca sobre sus conchas o dentro de sus mantos. Una vez que llegan a esta etapa, los métodos disponibles incluyen marcaje con etiqueta pegada con resina epóxica o cianoacrilatos, o incluso insertadas en perforaciones naturales o artificiales en los organismos. Sin embargo, la mayoría de las técnicas requieren someter a los organismos a algún tipo de manejo durante las evaluaciones, como daño con las espátulas al momento de remover para revisar, remoción de su lugar de escondite o cambios en el ecosistema (Hamasaki y Kitada 2008).

Etiquetar a los organismos con PIT es un método que no genera impacto en el organismo más que al momento de etiquetarlo, del cual se recupera después de unas cuantas horas en laboratorio (Martínez-Sandoval 2015). Además, el impacto en el ambiente se reduce debido que el lector puede identificar muchos organismos no visibles, sin requerirse un muestreo destructivo.

Es necesario realizar estudios de este tipo en las especies que se utilizan en los programas de repoblamiento masivo en las costas de Baja California, como lo son *H. fulgens* y *H. corrugata*. La adhesión de los PIT pudiera facilitarse por la rugosidad mayor de sus conchas en comparación con el abulón rojo. Aunque esta tecnología demostró mejores resultados que el método de marcaje convencional, se deben realizar modificaciones específicas a los sistemas de detección de PIT en la zona submareal, que es donde sea realiza normalmente el repoblamiento. Por último, está la consideración del costo-

beneficio. Los PIT son caros (\$6-8 dls por unidad), comparado con el precio de las marcas convencionales (\$0.6-0.8 dls por unidad); sin embargo, su detección es mayor que las etiquetas plásticas. Posiblemente se puedan utilizar sólo en una fracción de la semilla usada en programas de repoblamiento para evaluar su eficiencia.

## **CONCLUSIONES y RECOMENDACIONES**

1. En este estudio se realizaron, por primera vez, ensayos con microchips tipo PIT para marcar semilla de abulón rojo, cuya eficiencia de detección en el campo fue mejor que con el método convencional utilizando marcas plásticas.
2. El impacto en el ambiente se reduce debido que el lector puede detectar muchos organismos no visibles sin requerirse un muestreo destructivo.
3. Un sistema de marcaje y detección de abulones como el utilizado en este trabajo, le daría a los investigadores la oportunidad de monitorear más adecuadamente el progreso de los esfuerzos de repoblamiento.
4. Etiquetar con PIT es más caro que los métodos tradicionales (aproximadamente \$6-8 USD por etiqueta). Sin embargo, gracias a la capacidad de los PIT de ser identificados sin que sea necesario verlos, los estudios pueden ser más rápidos y de mayor eficiencia.
5. Estos resultados pueden sentar las bases para proyectos de mayor envergadura con otras especies de abulón que se utilizan en los programas masivos de repoblamiento.
6. Experimentos posteriores deberían considerar adaptaciones al equipo con el fin de permitir detecciones más confiables de los PIT en la zona submareal, donde se llevan a cabo la mayoría de estos programas.

## REFERENCIAS

- Aguilar-Osuna, D. (2010). Cultivo y repoblamiento de abulón en La Bocana, B.C.S. p. 25-32 en: Searcy-Bernal, R., Espinoza-Montes, J.A. y Anguiano-Beltrán, C. (eds.). Repoblamiento de abulón en México. Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, B.C., 82pp.
- Angeloni, L., Bradbury, J. y Chaine, A. (1999). Growth, seasonality, and dispersion of a population of *Aplysia vaccaria* Winkler 1955. *Veliger* 42: 1-9.
- Burton, R.S. y Tegner, M.J. (2000). Enhancement of red abalone *Haliotis rufescens* stocks at San Miguel Island: reassessing a success story. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 202: 303-308.
- Chapuis, M., Bright, C. J., Hufnagel, J. y MacVicar, B. (2014). Detection ranges and uncertainty of passive Radio Frequency Identification (RFID) transponders for sediment tracking in gravel rivers and coastal environments. *Earth Surface Processes and Landforms*, 39(15): 2109-2120.
- de Waal, S.W.P., Branch, G.M. y Navarro, R. (2003). Interpreting evidence of dispersal by *Haliotis midae* juveniles seeded in the wild. *Aquaculture* 221: 299-310.
- del Río Portilla, M.A., Paniagua-Chávez, C. y Resek-Duarte, S. (2010). Cultivo de abulón en La Lobera, El Rosario, B.C. p. 59-63 en: Searcy-Bernal, R., Espinoza-Montes, J.A. y Anguiano-Beltrán, C. (eds.). Repoblamiento de abulón en México. Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, B.C., 82pp.
- Dixon, C.D., Day, R.W., Huchette, S.M.H. y Shepherd, S.A. (2006). Successful seeding of hatchery-produced juvenile greenlip abalone to restore wild stocks. *Fisheries Res.* 78: 179-185.
- Gibbons, J.W. y Andrews, K.M. (2004). PIT tagging: Simple technology at its best. *Bioscience* 54(5): 447-454.
- Godfrey, B.P. (2003). The potential of abalone stock enhancement in the Estern Cape Province of South Africa. M.S. thesis. Rhodes University, Grahamstown, South Africa, 163pp.
- González-Avilés, J.G. (2010). Repoblamiento de abulón mediante siembra de larvas y semilla en la Cooperativa Pescadores Nacionales de Abulón en Isla de Cedros y Benitos, Baja California, México. p. 43-47 en: Searcy-Bernal, R., Espinoza-Montes, J.A. y Anguiano-Beltrán, C. (eds.). Repoblamiento de abulón en México. Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, B.C., 82pp.
- Guzmán del Proó, S.A., Carrillo-Laguna, J., Belmar-Pérez, J., Carreón-Palau, L. y Castro, A. (2004). Transplanting of wild and cultivated juveniles of green abalone (*Haliotis fulgens* Philippi 1845): Growth and survival. *J. Shellfish Res.* 23: 855-860.
- Hamasaki, K. y Kitada, S. (2008). The enhancement of abalone stocks: lessons from Japanese case studies. *Fish and Fisheries* 9: 243-260.
- Henry, P. Y. y P. Jarne. (2007). Marking hard-shelled gastropods: tag loss, impact on life-history traits, and perspectives in biology. *Invertebrate Biology*. 126: 138-153.
- James, D. S., R. W. Day y A. Shepherd. (2007). Experimental abalone ranching on artificial reef in Port Phillip Bay. *J. Shellfish Res.* 26: 687-695.
- McCormick, T.B., Herbinson, K., Mill, T.S. y Altick, J. (1994). A review of abalone seeding, possible significance and a new seeding device. *Bull. Mar. Sci.* 55: 680-693.

- Micheli, F., A. Saenz-Arroyo, A. Greenley, L. Vázquez, J. A. Espinoza-Montes, M. Rossetto & G. A. De Leo. (2012). Evidence that marine reserves enhance resilience to climatic impacts. *PLoS ONE* 7:1–8
- Morash, A. J., & Alter, K. (2015). Effects of environmental and farm stress on abalone physiology: perspectives for abalone aquaculture in the face of global climate change. *Reviews in Aquaculture*.
- Nielsen, L. A. (1992). Methods of marking fish and shellfish. American Fisheries Society Special Publication 23.
- Ortiz-Quintanilla, M., Leon-Carballo, G., Reinecke-Reyes, M. A., Lelevier-Grijalva, A., Turrubiates-Morales, J. R., & González-Aviles, J. G. (1990). Proceso reproductivo en especies de abulón (*Haliotis spp.*) y su relación con los mecanismos regulatorios pesqueros en la costa occidental e islas de la península de Baja California, Mexico. En Resúmenes VIII Simposio Internacional de Biología Marina. Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada 156-163.
- Roberts, R. D, E. F. Keys, G. Prendeville y C. A. Pilditch. (2007). Variability of abalone (*Haliotis iris*) stock enhancement by release of hatchery-reared seed in Marlborough, New Zealand. *J. Shellfish Res.* 26: 697-703.
- SAGARPA (2009). Programa maestro abulón. México: SAGARPA. 191pp.
- Schiel, D.R. (1993). Experimental evaluation of commercial-scale enhancement of abalone *Haliotis iris* populations in New Zealand. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 97: 167-181
- Schilthuizen, M., & Lombaerts, M. (1994). Population structure and levels of gene flow in the Mediterranean land snail *Albinaria corrugata* (Pulmonata: Clausiliidae). *Evolution*, 577-586
- Searcy-Bernal R., Salas-Garza, A. E., y Flores-Aguilar, R. A., (1988). Crecimiento de postlarvas y juveniles de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en un laboratorio mexicano. *Ciencias Marinas* 14 (4): 57-72.
- Searcy-Bernal, R., Ramade-Villanueva, M. y Altamira, B. 2010. Current status of abalone fisheries and culture in Mexico. *J. Shellfish Res.* 29(3): 573-576.
- Searcy-Bernal, R., Anguiano-Beltrán, C., Espinoza-Montes J. A., y Carpizo-Ituarte E., 2013. Restocking of abalone populations (*Haliotis spp.*) in Mexico. *Journal of Shellfish Research*, 32(1): 189-195.
- Searcy-Bernal, R. y Salas-Garza, A.E. 1985. Estudio sobre ecología y siembra de abulón en Baja California. *CIBCASIO Transactions* X: 105-122.
- Sonnenholzner, J., Montaña-Moctezuma, G., Searcy-Bernal, R. 2010. Effect of three tagging methods on the growth and survival of the purple sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 5(3): 414-420. ISSN 1809-9009.
- Shepherd, S.A., Preece, P.A. y White, R.G.W. 2000. Tired nature's sweet restorer?—ecology of abalone stock enhancement in Australia. p. 84-89 En: Campbell, A. (Ed.), *Workshop on Rebuilding Abalone Stocks in British Columbia*. Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci. 130pp.