

**Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada, Baja California**



**Maestría en Ciencias
en Acuicultura**

**Efecto de la velocidad del agua sobre la supervivencia y el desarrollo
de larvas filosoma de *Panulirus interruptus* (Randall, 1840) en cultivo**

Tesis
para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
Maestro en Ciencias

Presenta:

José Antonio Rosas Díaz

Ensenada, Baja California, México
2017

Tesis defendida por
José Antonio Rosas Díaz

y aprobada por el siguiente Comité

Dr. Eugenio Díaz Iglesias
Codirector de tesis

Dr. Benjamín Barón Sevilla
Codirector de tesis

Dra. Beatriz Cordero Esquivel

Dra. Bertha Eugenia Lavaniegos Espejo

Dra. Diana Tentori Santa Cruz



Dr. Jorge Abelardo Cáceres Martínez
Coordinador del Posgrado en Ciencias en Acuicultura

Dra. Rufina Hernández Martínez
Directora de Estudios de Posgrado

José Antonio Rosas Díaz © 2017

Queda prohibida la reproducción parcial o total de esta obra sin el permiso formal y explícito del autor y director de la tesis

Resumen de la tesis que presenta **José Antonio Rosas Díaz** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Acuicultura

Efecto de la velocidad del agua sobre la supervivencia y el desarrollo de larvas filosoma de *Panulirus interruptus* (Randall, 1840) en cultivo

Resumen aprobado por:

Dr. Eugenio Díaz Iglesias
Codirector de tesis

Dr. Benjamín Barón Sevilla
Codirector de tesis

Las larvas filosoma de las langostas espinosas (*Panulirus* sp.) tienen una capacidad de nado limitada para mantenerse en una posición idónea en la columna de agua, que asegure su óptimo desarrollo. Diversos autores han concluido que cuando las larvas se cultivan en condiciones de laboratorio, es necesaria una corriente de agua para mantenerlas suspendidas en la columna del agua. Por ello, en el presente trabajo se evaluó el efecto de la velocidad del agua sobre la supervivencia, el crecimiento y el desarrollo de larvas filosoma de langosta roja (*Panulirus interruptus*). Se evaluaron tres velocidades de agua (0.88, 1.75 y 2.63 cm min⁻¹) y se observó que la velocidad del agua de 1.75 cm min⁻¹ produjo un mayor porcentaje de supervivencia (77.3%) a los 30 días de la eclosión, a diferencia de los tratamientos extremos, cuyas supervivencias fueron de 29.4 y 44.2% respectivamente. El crecimiento fue mayor en la velocidad intermedia del agua con una longitud de cefalotórax (Lc) de 924.47 µm, en comparación con las velocidades lenta, donde la Lc fue de 571.49 y 777.11 µm, respectivamente, así como también el menor tiempo de intermuda del estadio I al estadio II (15 días) ocurrió en la velocidad del agua de 1.75 cm min⁻¹, mientras que el tiempo de intermuda más largo ocurrió en el tratamiento de 0.88 cm min⁻¹ (29.6 días).

Palabras clave: *Panulirus interruptus*, larvas filosoma, velocidad del agua, protocolo de alimentación, sistema de recirculación.

Abstract of the thesis presented by **José Antonio Rosas Díaz** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Aquaculture.

Effect of water velocity on the survival and development of phyllosome larvae of *Panulirus interruptus* (Randall, 1840) in culture

Abstract approved by:

Dr. Eugenio Díaz Iglesias
Codirector de tesis

Dr. Benjamín Barón Sevilla
Codirector de tesis

The phyllosoma larvae of the spiny lobsters (*Panulirus* sp.) have a limited swimming capacity to maintain an ideal position in the water column, which ensures their optimum development. Several authors have concluded that when larvae are grown under laboratory conditions, a stream of water is necessary to keep them suspended in the water column. Therefore, in this work, the effect of three water velocities (0.88, 1.75 and 2.63 cm min⁻¹) on the survival, growth and development of red lobster phyllosoma larvae (*Panulirus interruptus*) was evaluated. It was observed that the water speed of 1.75 cm min⁻¹ produced a higher percentage of survival (77.3%) 30 days after hatching, unlike the extreme treatments, whose survival rates were 29.4 and 44.2% respectively. The growth was greater in the intermediate water speed with a length of cephalothorax (Lc) of 924.47 μm, compared to the slow speeds, where the Lc was 571.49 and 777.11 μm, respectively, as well as the shorter intermoult time from stage I to stage II (15 days) occurred in the water velocity of 1.75 cm min⁻¹, while the longest intermoult time occurred in the treatment of 0.88 cm min⁻¹ (29.6 days).

Keywords: *Panulirus interruptus*, phyllosoma larvae, water velocity, feed protocol, flow-through system.

Dedicatoria

A mis padres que, a pesar de todo, mantienen su apoyo y cariño incondicional.

A mi hijo, que me da la fuerza y el sentido de la vida para seguir adelante.

A mis hermanos con los que compartimos consejos y experiencias.

A mis abuelos, que junto con mis padres me brindan su consejo y aprecio.

A mis tíos y primos, con quienes he vivido gratas experiencias.

A mis amigos, con los que he compartido tantas alegrías y consejos.

A mis profesores que me inculcaron el hambre de seguir aprendiendo.

No menos importante a aquellos que dudaron de este proyecto, gracias por impulsar con mayor fuerza el anhelo de ser mejor persona.

Y las huellas de tus pies
en la arena frente al mar,
borradas por el vaivén de las aguas.

El fin es el comienzo,
ya nadie te espera,
no sabes si sales o si entras (Bunbury, 2008)



Agradecimientos

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE) y al Departamento de Acuicultura por brindarme el espacio y el equipo para llevar a cabo mi maestría.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por otorgarme el recurso económico que cubrió la realización de mi tesis de maestría.

A mis codirectores de tesis, el Dr. Eugenio Díaz Iglesias quien creyó en mí y me dio la oportunidad de formar parte de un excelente grupo de investigación; al Dr. Benjamín Barón Sevilla por tener la paciencia y el tiempo para atender mis interrogantes durante mi formación.

A los miembros del comité: Dra. Beatriz Cordero Esquivel, Dra. Bertha Eugenia Lavaniegos Espejo, Dra. Diana Tentori Santa Cruz, por sus importantes aportaciones durante el desarrollo de mi tesis.

A la Bióloga Elba Uvinai Salgado Ramos por sus aportaciones y recomendaciones para llevar a cabo el cultivo de *Artemia*.

A los técnicos: Abelardo Campos Espinosa, Jesús Mariscal Medina y José Carlos Carballo Bastidas por auxiliarme en las modificaciones y mantenimiento de los sistemas de larvas y reproductores.

A Alondra Villavicencio Carrillo por auxiliarme tanto en el cultivo de *Artemia* como en el sistema larval.

A Mario Rene Reynoso por estar al pendiente durante la etapa de eclosión y por su apoyo durante la etapa experimental.

A mis amigos: Benito y Jonathan, mis predecesores en el fascinante mundo de la larvicultura de langosta roja; Laura, Noemí, Omar, Eduardo, Josué, Bety, Enrique, Ana, Pablo, Rigo, por esos ratos de convivencia en los eventos sociales y en la escuela; Areli Eliam, Marco Antonio, Priscila, por ser los primeros con los que conviví y pasé muy buenos ratos; Miriam, mi socia de proyecto y una excelente compañía, te quiero mucho; Brenda, mi organizadora de salidas y fotógrafa favorita; Estrella y Vladimir, los de aguante para el cotorreo y unas personas maravillosas; Eloy, por todos los consejos doctorales que aplicaré en un futuro. Andrés y Araceli, no alcanzan palabras para describir todo lo que han hecho por mí, se los agradezco y saben que los estimo un buen; Geraldo, Cecilia, David, Jonás y Leydy, aunque convivimos un poco menos, gracias por sus consejos y buenos ratos (Gera, esa pecera nomás no jajaja). Diamanda, sabes que te quiero mucho, siempre estuviste para apoyarme en las buenas y en las mejores; Dora, Eliasid (en cortooo...), Leonardo, Patricio, Gabriel, Allan, Paola, quizá no dio mucho tiempo para convivir, pero en los momentos que se pudo me la pasé muy agusto. Jeaneth, te toca continuar con el legado que te dejé, cuídate. A todas las personas que hicieron que mi estancia en Ensenada fuera una de mis mejores experiencias a lo largo de mi formación...GRACIAS!

Tabla de contenido

	Página
Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatorias.....	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de figuras.....	viii
Lista de tablas.....	x
Capítulo 1. Introducción	
1.1 Producción mundial de langostas espinosas.....	1
1.2 Producción de langostas espinosas en México.....	1
1.3 Características biológicas.....	4
1.4 Ciclo de vida.....	7
1.5 Locomoción de los crustáceos nadadores	10
1.6 Estudios para el cultivo larval de langostas espinosas.....	11
1.7 Justificación.....	13
1.8 Hipótesis.....	13
1.9 Objetivos.....	14
1.9.1 Objetivo general	14
1.9.2 Objetivos específico.....	14
Capítulo 2. Metodología	
2.1 Origen de larvas filosoma.....	15
2.1.1 Reproductores y sistema de recirculación.....	15
2.1.2 Época reproductiva.....	16
2.1.3 Monitoreo de hembras ovígeras y desarrollo embrionario.....	16
2.2 Infraestructura experimental.....	19
2.3 Diseño experimental.....	20
2.4 Colecta y siembra de larvas.....	21
2.5 Producción y enriquecimiento del alimento vivo	22
2.5.1 Protocolo de alimentación.....	23
2.6 Supervivencia de larvas filosoma.....	24
2.7 Índice de crecimiento y longitud de cefalotórax de larvas filosoma.....	24
2.8 Desarrollo de larvas filosoma.....	25
2.9 Distribución larval en la columna de agua del tanque.....	26
2.10 Consumo de alimento y su distribución vertical en el tanque.....	26
2.11 Análisis de la turbulencia del agua.....	26
2.12 Análisis estadísticos.....	27

Capítulo 3. Resultados	
3.1 Condiciones físicas y químicas del sistema de cultivo.....	28
3.2 Protocolo de alimentación.....	29
3.3 Supervivencia de larvas filosoma por tratamiento.....	30
3.4 Crecimiento de larvas filosoma por tratamiento.....	32
3.5 Periodo de intermuda y descripción del desarrollo larval.....	32
3.6 Índice de crecimiento.....	36
3.7 Distribución de larvas filosoma de <i>P. interruptus</i> en la columna de agua.....	37
3.8. Distribución del alimento vivo por tratamiento.....	40
3.9. Consumo de alimento vivo por tratamiento.....	41
3.10. Análisis de la turbulencia del agua en los estanques de cultivo.....	42
Capítulo 4. Discusión.....	44
Capítulo 5. Conclusiones.....	50
Literatura citada.....	51

Lista de figuras

Figura		Página
1	Especies de langostas marinas en México de importancia económica y su distribución (Modificado de Peñaloza, 2008).....	2
2	A: Hembra, poro genital en el 3er. par de pereiópodos; B: subquelas en el quinto par de pereiópodos de la hembra; C: Macho, ausencia de subquelas en el 5to. par de pereiópodos. D: abultamiento del saco espermático cuando está sexualmente maduro en el 5to. par de pereiópodos.....	5
3	Langosta roja (<i>Panulirus interruptus</i>).....	6
4	Distribución geográfica de la langosta roja (<i>P. interruptus</i>)	7
5	Ciclo de vida de langostas espinosas del género <i>Panulirus</i> (Phillips, 2013).....	8
6	Estadio I de larva filosoma de la langosta roja <i>P. interruptus</i>	9
7	Distribución hipotética de larvas filosoma del género <i>Panulirus</i> en la región suroccidental de Cuba (Martín <i>et al.</i> , 2017).....	10
8	A: Hembra con espermatóforo en el 3er. par de pereiópodos. B: Macho con abultamiento en la región del poro genital en el 5to. par de pereiópodos.....	16
9	Hembra de <i>P. interruptus</i> con espermatóforo (a); una vez fertilizados los huevos, cambios de color de la freza asociados con el avance del desarrollo embrionario.....	17
10	(a) Huevos de <i>P. interruptus</i> a los 4 días post fecundación; (b) huevos de <i>P. interruptus</i> donde se aprecia la presencia de manchas oculares en el embrión; (c) diferentes concentraciones de vitelo.....	18
11	(a): Pequeña concentración de vitelo entre las manchas oculares indican que la eclosión ocurrirá entre 1-3 días. (b): Naupliosoma recién eclosionado.....	19
12	Sistema de cultivo para larvas filosoma de langosta roja (<i>P. interruptus</i>).....	20
13	Eclosión de larvas filosoma de <i>P. interruptus</i>	21
14	Colecta y desinfección de larvas filosoma de <i>P. interruptus</i>	22
15	Proceso de desarrollo de <i>A. franciscana</i> (6, 10, 14 y 18 días después de la eclosión – De izquierda a derecha, respectivamente).....	24
16	Potencial oxido-reductor (ORP mV) del ozono suministrado en el sistema de cultivo de larvas de la langosta espinosa <i>P. interruptus</i>	28
17	Protocolo de alimentación con <i>A. franciscana</i> (Color azul) con base en la talla de las larvas filosoma (Color naranja).....	30

18	Porcentaje de supervivencia de larvas filosoma de <i>P. interruptus</i>	31
19	Bacterias filamentosas en el cuerpo de las larvas filosoma de <i>P. interruptus</i> a los 37 DDE.....	31
20	Crecimiento promedio del cefalotórax (μm) de larvas filosoma de <i>P. interruptus</i> de los 7 a los 30 días después de la eclosión (DDE).....	32
21	(a): Estadio I de larva filosoma. (b): La segmentación de los pedúnculos oculares y la aparición de exopoditos en el 3er. par de pereiópodos son características del estadio II.....	33
22	Elongación de los exopoditos en el 3er. par de pereiópodos y ensanchamiento del cefalotórax en un estado más avanzado del estadio II.....	34
23	Alargamiento del cefalotórax (Izquierda) y desarrollo del 4to. par de pereiópodos, características distintivas de las larvas filosoma de <i>P. interruptus</i> en estadio III.....	35
24	Índices de crecimiento de las larvas filosoma de <i>P. interruptus</i> en diferentes estadios de desarrollo.....	36
25	Distribución de las larvas filosoma de <i>P. interruptus</i> en tres estratos de profundidad del tanque de cultivo y expuestas a tres velocidades del agua (cm min^{-1}), a los 7, 15, 30 y 37 DDE.....	39
26	Distribución de alimento vivo (%) en la columna de agua con diferentes velocidades de agua. a, b, c y d, indican los 7, 15, 22 y 30 DDE, respectivamente, de las larvas filosoma de <i>P. interruptus</i>	41
27	Consumo de alimento vivo (artemias día ⁻¹).....	42
28	Diagrama de la secuencia de video con intervalos de 7, 15 y 30 s de duración, para evaluar la turbulencia del agua en los tratamientos de velocidad de agua de 0.88, 1.75 y 2.63 cm min^{-1}	43

Lista de tablas

Tabla		Página
1	Producción anual de langostas en México por biomasa y valor (2004-2013) (CONAPESCA, 2013).....	3
2	Composición proximal de Ori-Green® y Omega Mex®.....	23
3	Longitud total (μm) y edad (días después de la eclosión, DDE) de los juveniles y adultos de <i>Artemia franciscana</i> utilizados como alimento para cada uno de los estadios de las larvas filosoma de <i>P. interruptus</i>	29
4	Composición porcentual de las larvas de <i>P. interruptus</i> de los estadios I, II y III, a los 10 días de cultivo con diferentes velocidades del agua.....	33
5	Composición porcentual de las larvas de <i>P. interruptus</i> de los estadios I, II y III, a los 15 días de cultivo con diferentes velocidades del agua.....	34
6	Composición porcentual de las larvas de <i>P. interruptus</i> de los estadios I, II y III, a los 30 días de cultivo con diferentes velocidades del agua.....	35
7	Medidas promedio de algunas estructuras corporales de las larvas filosoma de <i>P. interruptus</i> que intervienen en los procesos de natación y alimentación.....	36

Capítulo 1. Introducción

1.1. Producción mundial de langostas espinosas

La langosta tiene una gran aceptación y demanda en el mundo debido a que se considera un producto “gourmet” de alto valor económico, por lo que su demanda ha crecido durante los últimos años. Los principales consumidores de langosta a nivel mundial se concentran en Alemania, Francia, Singapur, Holanda, Italia, España, Reino Unido, Suecia, Finlandia, Japón, China y los Estados Unidos (CONAPESCA, 2013).

Las langostas de la familia Palinuridae son el principal componente de las pesquerías comerciales de estos crustáceos marinos. Entre 1991 y 1995, la producción mundial total de recursos pesqueros superó los 87 millones de toneladas (T), de las cuales, el 6% representó la producción de crustáceos marinos (camarones, langostas y langostinos), equivalente a una cifra superior a los 5 millones de toneladas, de las cuales, 212,290 correspondieron al grupo de los palinúridos, nefrópodos y esciláridos, lo que representa el 4% de la producción total de crustáceos marinos. En 1997, de la producción mundial de langostas, 74,817 T correspondieron a los palinúridos, 61,251 T a los nefrópodos y 2,770 T a los esciláridos, representando el 35.3, 28.9, 34.6 y 1.3% respectivamente. En el año 2000, se extrajeron 74,000 T de palinúridos, con un costo de \$100 dólares por kilogramo de langosta viva en Japón (Phillips y Kittaka, 2000). En 2014, la producción pesquera alcanzó 93.4 millones de toneladas, de las cuales, el 80.6% correspondieron a peces, con un valor económico del 67.7%; la captura de moluscos significó el 10.4%, con un valor del 9.8%, y los crustáceos representaron el 8.2% de las capturas, pero con un valor económico equivalente al 21.7%. La captura de langostas tan solo representó el 2.1% de la producción pesquera total, sin embargo, su valor económico fue el 6.4% de la derrama económica. La producción de langostas espinosas ocurre principalmente en Australia, Nueva Zelanda, Sudáfrica, Cuba, Brasil, México y E. U. A (Phillips y Kittaka, 2000; Lee y Wickins, 2002; FAO, 2016).

1.2. Producción de langostas espinosas en México

En el mar patrimonial mexicano habitan nueve especies de langostas, de las cuales, siete pertenecen a la familia Palinuridae, cuya distribución incluye ambientes tropicales y subtropicales en ambos litorales del territorio mexicano (Figura 1). Cuatro especies tienen importancia comercial: *Panulirus*

interruptus en el Pacífico y *Panulirus argus* en el Caribe soportan la mayor parte de la producción nacional, con 91% en el periodo 1985 – 1997, el resto correspondió a *Panulirus inflatus* y *Panulirus gracilis* que habitan en el Pacífico. Otras tres especies del género *Panulirus* (*P. penicillatus*, *P. guttatus* y *P. laevicauda*) carecen de importancia comercial (Phillips y Kittaka, 2000; Peñaloza, 2008).



Figura 1. Especies de langostas espinosas en México de importancia comercial y su distribución (Modificado de Peñaloza, 2008).

Por su volumen, la langosta se encuentra en el lugar número 34 de la producción pesquera en México, pero por su valor económico ocupa el sexto lugar. Entre las exportaciones mexicanas de productos del mar se encuentra en el tercer lugar, con Estados Unidos, Japón y China como los principales destinos. La langosta en México se comercializa entera, o como colas de langosta, en forma fresca, refrigerada y congelada, aunque también se comercializa viva. En el Pacífico, los principales productores son Baja California y Baja California Sur; en el Golfo de México y Mar Caribe, los principales productores son Quintana Roo y Yucatán (Tabla 1) (CONAPESCA, 2013).

Tabla 1. Producción anual de langostas en México por biomasa y valor (2004-2013). (CONAPESCA 2013)

Entidad/Año	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Baja California Sur	1,345	1,363	1,459	1,203	1,498	1,391	1,759	1,907	1,716	1,461
Baja California	232	222	284	207	359	361	439	559	600	721
Quintana Roo	431	408	370	324	324	232	528	373	376	467
Yucatán	356	359	218	287	207	185	378	238	168	467
Guerrero	-	-	-	0	-	0	0	-	-	150
Jalisco	21	45	30	75	61	59	69	52	35	90
Sinaloa	22	37	30	58	41	16	41	23	40	59
Michoacán	35	24	23	37	77	48	25	47	28	47
Nayarit	77	20	1	10	11	9	4	23	58	31
Otras*	22	35	17	13	8	24	16	6	19	41
Total (T)	2,541	2,513	2,433	2,215	2,587	2,325	3,260	3,228	3,040	3,535
Valor (miles de dólares)	\$52,280	\$51,527	\$56,197	\$61,224	\$71,718	\$66,445	\$148,948	\$129,763	\$111,778	\$161,663

*Oaxaca, Sonora, Tamaulipas y Veracruz

En el estado de Baja California, entre 1936 y 1938, los derechos de pesca fueron otorgados exclusivamente a los pescadores agrupados en Cooperativas, a quienes se les asignó un grupo de especies (abulones y langostas, entre otros) (Phillips, 2006). Actualmente en este estado existen 26 cooperativas pesqueras que capturan la langosta roja (*P. interruptus*), de las cuales, 10 operan en la región central de la Península en donde se obtiene el 80% de la producción total (Phillips, 2006). Este crustáceo es uno de los principales recursos pesqueros en la región y genera una importante derrama económica. El principal mercado está ubicado en Asia, donde el precio por kilogramo de langosta viva se ha incrementado de \$18 USD en el 2000 a \$44 – 52 USD entre el 2010 y 2011, periodo durante el cual, la comercialización de langostas generó ganancias por alrededor de \$77 millones de dólares. (Phillips, 2013).

El incremento de la demanda y el alto valor que la langosta tiene en el mercado, ha propiciado que cada vez se extraigan del medio langostas de tallas menores y hembras con huevos, además ha fomentado el incremento en la pesca ilegal en la temporada de veda, lo que ocasiona que el nivel de explotación de las poblaciones silvestres supere su capacidad de recuperación (Ramírez *et al.*, 2012); además, los efectos del cambio climático, como el aumento de la temperatura en el océano, el cambio de la dinámica de las corrientes, la disminución del pH, entre otros, también tienen un impacto

negativo en sus poblaciones, ya que repercuten directamente sobre el prolongado periodo larval de las langostas espinosas (Phillips, 2013).

1.3 Características biológicas

Las langostas marinas son un grupo de crustáceos decápodos que tienen un cuerpo tubular, ligeramente comprimido dorso-ventralmente, es simétrico y está formado por el cefalotórax (fusión de la cabeza y el tórax) y el abdomen al que comúnmente se le denomina cola. El cefalotórax de estos crustáceos tiene protuberancias espinosas y el rostro es pequeño, con dos ojos protegidos por proyecciones espinosas; el color rojo característico es proporcionado por el contenido de carotenoides, principalmente astaxantina (Phillips, 1980). La región bucal, incluye las mandíbulas, maxilas y maxilípedos, que le permiten llevar el alimento hacia la boca, además pueden producir sonidos con sus apéndices, probablemente como una forma de comunicación (Phillips, 1980; Phillips y Kittaka, 2000).

Poseen dimorfismo sexual, las hembras tienen el poro genital en las coxas del tercer par de pereopodos, mientras que los machos lo tienen en el quinto par. Las hembras tienen subquelas en el quinto par de pereopodos, mientras que los machos carecen de ellas (Figura 2). Las hembras tienen una longitud abdominal mayor que la de los machos. Los machos tienen el segundo par de pereopodos más largos, para sujetar a la hembra durante el apareamiento. Cuando alcanzan la madurez sexual se hace más evidentes las diferencias sexuales, ya que el macho tiene un abultamiento pronunciado cerca del poro genital, y la hembra comienza a producir filamentos en la región de los pleópodos, los cuales sirven para sujetar a los huevos una vez fecundados (Cruz-Izquierdo et al., 1987; Lee y Wickins, 1992; Padilla-Ramos y Briones-Fourzán, 1997; Phillips y Kittaka, 2000).

Tienen una visión pobre, que es compensada por un par de largas antenas y un par de anténulas, las cuales utilizan principalmente como mecanorreceptores y quimiorreceptores, que les sirven para la detección tanto de fuentes de alimento como depredadores (Phillips y Kittaka, 2000). El cefalotórax se encuentra protegido por una cubierta calcificada, dura y poco elástica, por lo que estos organismos tienen que mudar periódicamente de cutícula para poder crecer (Phillips, 1980; FAO, 2014), puesto que el proceso de crecimiento en los crustáceos no es continuo (Nicovita, 2004).

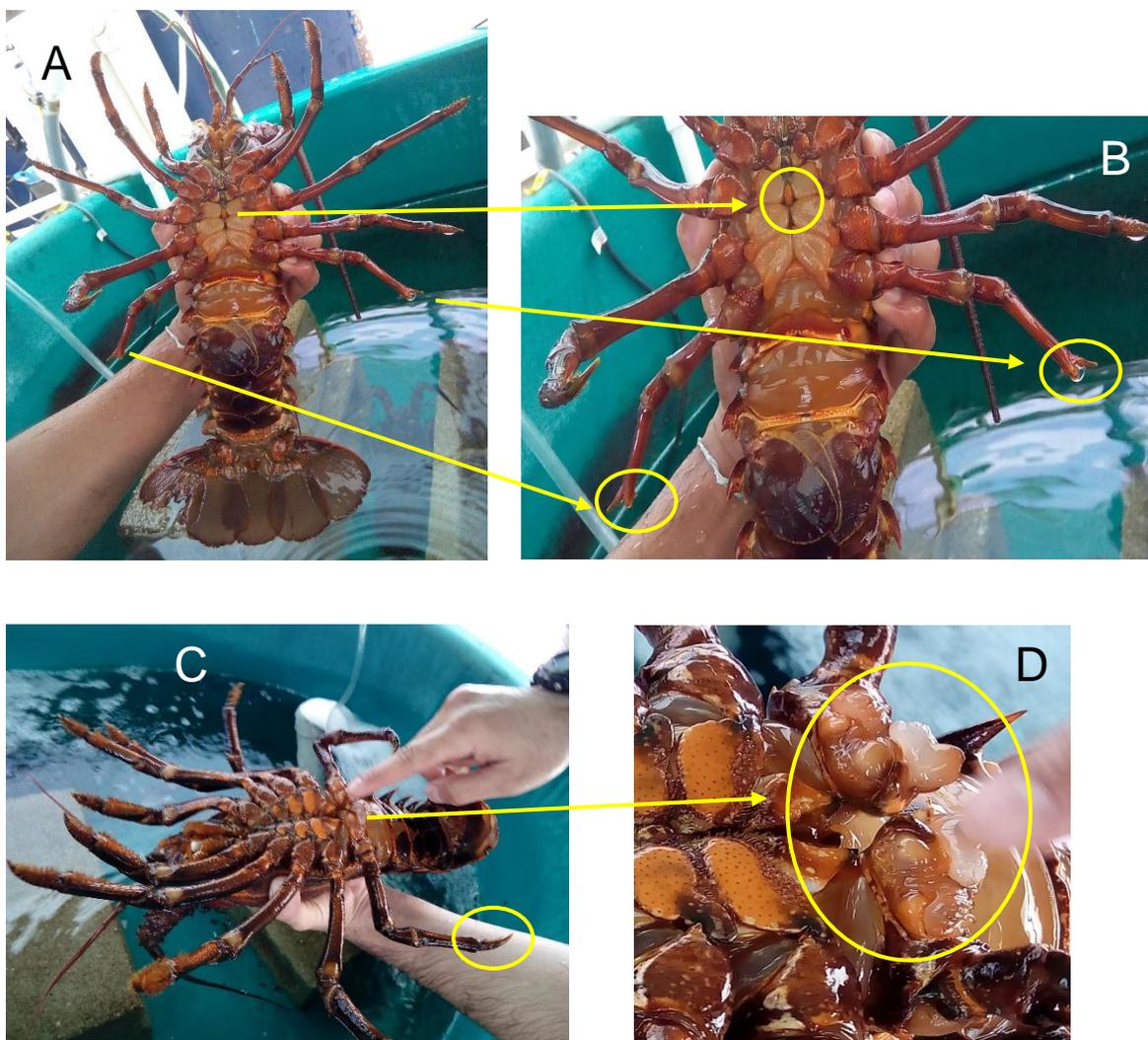


Figura 2. A: Hembra, poro genital en el 3er. par de pereiópodos; B: subquelas en el quinto par de pereiópodos de la hembra; C: Macho, ausencia de subquelas en el 5to. par de pereiópodos. D: abultamiento del saco espermático cuando está sexualmente maduro en el 5to. par de pereiopódos.

Varias especies de la familia Palinuridae (*P. argus*, *P. guttatus*, *P. laevicauda*, *P. longipes* y *J. lalandii*), tienen dos periodos de muda al año; en el caso de *P. interruptus*, el periodo de muda es anual, por lo que el tiempo que poseen un caparazón duro es bastante prolongado, de diciembre a julio. Posteriormente mudan, y durante septiembre y octubre poseen un caparazón blando que posteriormente se calcificará y endurecerá (Mitchell y Strachan, 1969).

Las langostas marinas son de hábitos alimenticios omnívoros y ocasionalmente carroñeros, cuya mayor actividad se registra durante la noche. Generalmente son de hábitos bentónicos, excepto en su etapa larval que es planctónica. Se distribuyen prácticamente en todos los mares templados y tropicales del

mundo, aunque se encuentran en mayor proporción en las regiones cálidas. Habitan en la zona sublitoral, en lugares rocosos, hasta 30 m de profundidad, aunque pueden encontrarse en toda la plataforma continental y llegar hasta los 3000 m de profundidad (Mitchell *et al.*, 1969; FAO, 1991; Caballero-Pinzón y Aldama-Dzul, 1994; Phillips y Kittaka, 2000).

Las langostas marinas están agrupadas en tres infraórdenes, 10 familias, 33 géneros y 149 especies (FAO, 1991), entre las cuales, las familias Palinuridae y Scyllaridae representan al grupo de las langostas espinosas. Los géneros de langostas espinosas son *Jasus*, *Palinurus*, *Panulirus*, *Scyllarides* y *Thenus* (Lee y Wickins, 2002), con más de 47 especies, de las cuales, 33 son de importancia comercial (Phillips y Kittaka, 2000). Al género *Panulirus* pertenecen 20 especies, de las cuales, 17 son de interés comercial (Phillips, 1980a; 2013b). La langosta roja (*Panulirus interruptus*) (Figura 3) se distribuye desde San Luis Obispo, California, Estados Unidos de América, hasta bahía Magdalena, Baja California Sur (Figura 4).; también se han encontrado individuos en el Golfo de California, pero en bajas cantidades (Peñaloza, 2008). Sin embargo, estos individuos poseen una diversidad genética ligeramente superior a los registrados en las costas del Pacífico Norte, haciéndolos genéticamente distintos (García-Rodríguez *et al.*, 2017).



Figura 3. Langosta roja (*Panulirus interruptus*)



Figura 4. Distribución geográfica de la langosta roja (*P. interruptus*) (Línea amarilla); Distribución geográfica de la población de langosta espinosa genéticamente distinta (Mancha verde azul) (Modificado de SSEC, University of Wisconsin)

1.4 Ciclo de vida

El ciclo de vida de las langostas es complejo (Figura 5) y se puede dividir en cuatro fases: etapa larval, postlarval, juvenil y adulta. Durante la etapa larval son planctónicas, en la metamorfosis (larva-postlarva), ocurre la transición de la superficie al bentos y durante las etapas juvenil y adulta, las langostas son bentónicas (Ruiz-Chavarria, 2013). Durante la época reproductiva, las hembras realizan una migración de desove, dirigiéndose hacia aguas más profundas y más frías, cerca del borde de la plataforma continental.

Previo a que la hembra libere los óvulos, es necesario que el macho haya colocado el espermatóforo sobre el poro genital de la hembra. Para fertilizar los óvulos, la hembra raspa el espermatóforo con las subquelas del quinto par de pereiópodos, liberando los espermatozoides, los huevos entonces son fecundados al pasar a través del poro genital y quedan adheridos a los filamentos de los pleópodos de la hembra, donde son incubados por un periodo de nueve a diez semanas. Una hembra puede desovar entre 50 mil y 2 millones de huevos, dependiendo de la talla, especie y estado de madurez (Cruz-Izquierdo *et al.*, 1987; Ruiz-Chavarria, 2013).

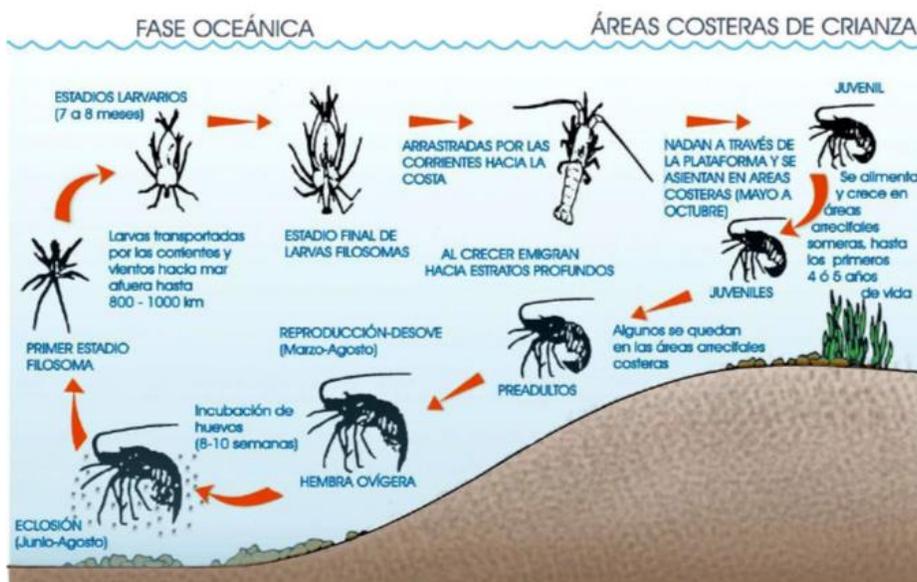


Figura 5. Ciclo de vida de *P. interruptus* (Kailola et al., 1993) modificado por Robles-Murillo (2005). Recuperado de Bautista-Soto (2016)

Al término del desarrollo embrionario, que tiene una duración aproximada de cinco a ocho semanas, en temperaturas que van de los 18 a los 22 °C, ocurre la eclosión e inicia la fase larval. La eclosión sucede durante la noche en un lapso no mayor a 6 horas; en ocasiones pueden presentarse pulsos (eclosión parcial de las larvas), aunque otras veces la eclosión es ininterrumpida. Por su forma aplanada las larvas de langosta se denominan larvas filósoma (Figura 6), son planctónicas y permanecen a la deriva por un periodo de seis a siete meses, durante el cual pasan por once estadios larvales, cada uno precedido por una muda. Dependiendo de las condiciones ambientales pueden presentarse mudas adicionales y a dichos estadios se les da el nombre de instars. Con cada muda las larvas incrementan su tamaño y desarrollan nuevas estructuras (Peñaloza, 2008).



Figura 6. Estadio I de larva filar de langosta roja (*P. interruptus*) (Escala: 1000 μ m)

Durante las etapas tempranas, las larvas filar responden positivamente a una mayor intensidad de luz, por lo que son atraídas hacia la superficie del océano, contrariamente, en las etapas tardías, las larvas son más sensibles a la luz y se concentran en profundidades mayores (entre 25 y 50 m). Durante los primeros estadios, las larvas filar permanecen al borde de la plataforma y conforme se van desarrollando se alejan de la costa, hasta los últimos estadios larvales (Figura 7), momento en el que regresan a la plataforma para culminar la tercera fase del desarrollo o de post larva en donde ocurre la metamorfosis y se desarrolla el púerulo, que posee la morfología de un adulto, pero sin pigmentación, durante esta etapa se registra una transición de la vida planctónica a la bentónica (Cruz-Izquierdo *et al.*, 1987).

En la etapa larval, factores como la densidad de la población, la depredación y disponibilidad de alimento, entre otros, son causantes de alta mortalidad, la cual puede ser mayor al 99%. Además, los sistemas de corrientes oceánicas pueden arrastrar a las larvas a zonas adversas para su desarrollo donde eventualmente mueren (Ruíz-Chavarría, 2013).

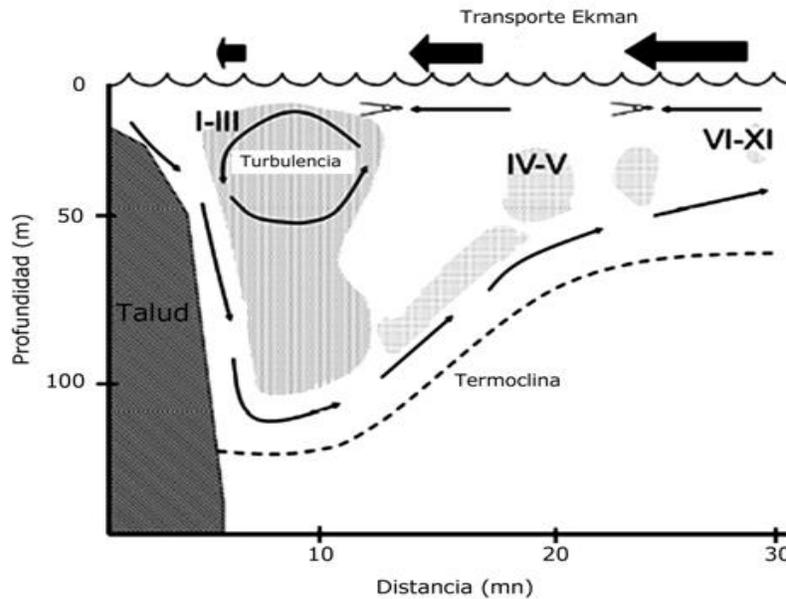


Figura 7. Distribución hipotética de larvas filosoma del género *Panulirus* en la región suroccidental de Cuba (Martín *et al.*, 2017).

1.5 Locomoción de los crustáceos marinos nadadores

Los mecanismos propulsores utilizados por los crustáceos se clasifican en cinco tipos: en tres de éstos, los apéndices proporcionan fuerza motriz; 1) actuando como remos, 2) creando vórtices mediante movimientos rotativos rápidos, o 3) actuando como hélices que se mueven en ángulo recto en el trayecto de locomoción; en los dos tipos restantes, la propulsión está dada por; 4) golpes sencillos o repetidos del abdomen que conducen al organismo hacia adelante y por 5) flexión súbita del abdomen, con la cola expandida. En los crustáceos de la clase Malacostraca, varias especies utilizan los pleópodos como remos. El control de nado y la percepción sensorial están asociados a diferentes estímulos: luz, aceleración angular, corrientes de agua y presión hidrostática, entre otras. (Waterman, 1961). Las larvas del género *Homarus* (en los estadios tempranos I y II), nadan hacia arriba y hacia adelante con el abdomen ligeramente curvado, por el movimiento de los apéndices natatorios, ya que los exopoditos proporcionan la potencia de elevación y propulsión necesarias para nadar (Phillips, 1980).

En los estadios de desarrollo avanzados, el movimiento natatorio es hacia arriba y hacia atrás, usualmente con la cabeza hacia abajo y desplazándose con el dorso hacia abajo. La forma pronunciadamente aplanada de las larvas les confiere una expansión de la superficie corporal, el

rostrum y los apéndices corporales son alargados y además poseen espinas en la región abdominal, todo esto contribuye a la flotabilidad, contrarrestando su escasa capacidad natatoria (Gurney, 1960).

Se ha observado que las larvas filosoma tienen poca o nula capacidad para desplazarse de manera horizontal, pero pueden desplazarse de manera vertical, además, los cambios ontogénicos en la distribución y migración vertical observada en larvas de palinúridos, sugieren una función importante en el control de la dispersión y reclutamiento en el mar, la morfología de las larvas filosoma se puede relacionar con sus propiedades hidrodinámicas, lo que determina la movilidad, el transporte y la distribución. Las larvas filosoma tienen una densidad corporal de 1.097 g cm^3 durante todo su desarrollo, mayor que la del agua de mar (1.024 g cm^3), sin embargo, su capacidad natatoria se incrementa conforme avanza el desarrollo. Al aumentar su superficie corporal, mejora su desplazamiento entre las corrientes, por lo que las larvas en estadios tempranos tienden a precipitarse más rápido que las larvas de estadios avanzados (Hamasaki *et al.*, 2012; Funes-Rodríguez *et al.*, 2015). Respecto a la eficiencia natatoria que tienen las larvas filosoma, Ruíz-Chavarría (2013) y Silva *et al.* (2013), evaluaron la velocidad de nado de tres especies de larvas filosoma recién eclosionadas, siendo *J. edwardsii*, la que tuvo una mayor velocidad de nado, con 72 cm min^{-1} , seguida de *P. penicillatus*, con 27.6 cm min^{-1} , la más baja correspondió a *P. interruptus* con solo 8.7 cm min^{-1} ; con base en ello se pueden estimar las distancias verticales que recorren las larvas de acuerdo a la especie.

1.6 Estudios para el cultivo larval de langostas espinosas

El conocimiento de la biología, fisiología y ecología de una especie puede ser útil para desarrollar su cultivo, actividad que potencialmente puede reducir las capturas y el impacto de la sobreexplotación. Kittaka *et al.* (1997) utilizaron un protocolo de alimentación para larvas de *Jasus lalandii*, *J. edwardsii*, *J. verreauxi*, *P. elephas* y *P. japonicus*, el cual consistió en nauplios de *Artemia* durante los primeros dos estadios larvales, posteriormente se hizo una combinación de nauplios de *Artemia* con gónada de mejillón, además, la *Artemia* se enriqueció con microalgas. La supervivencia promedio observada en el cultivo de las larvas fue del 10% hasta la etapa final del desarrollo larval. También observaron que a medida que las larvas filosoma se desarrollan, el tamaño de las presas que consumen se incrementa.

Con respecto al cultivo de larvas de *P. interruptus*, Dexter, (1972) estableció que la mejor tasa de crecimiento y el menor periodo de intermuda se observó a $25 \text{ }^\circ\text{C}$, utilizando nauplios de *Artemia* como

alimento durante 114 días, edad en la que se desarrollaron hasta el estadio VI. El factor nutricional tiene gran importancia para el cultivo larval en condiciones de laboratorio, por lo que se recomienda utilizar otros alimentos que complementen los requisitos nutricionales, tales como larvas de peces, ctenóforos o quetognatos. Desafortunadamente, la disponibilidad de estos organismos es muy limitada. Con larvas de la misma especie, Bautista-Soto (2016) encontró una mayor supervivencia larval al enriquecer el alimento vivo (*Artemia franciscana*) con una emulsión de aceite de órbita de atún (Omegamex) en un sistema estático en el que cultivó las larvas en forma individual.

Es importante destacar que la disponibilidad de alimento para las larvas, además de estar determinado por la relación densidad de presas-densidad de larvas, también depende de la dinámica del agua en los sistemas de cultivo. Smith *et al.* (2007), estudiaron el efecto de la velocidad del agua (0.43 y 0.86 cm min⁻¹) sobre la capacidad de las larvas filosoma de *J. edwardsii* para capturar el alimento (nauplios de *Artemia*) y observaron que, con una menor velocidad del agua, el crecimiento y la supervivencia fueron mayores. Los autores mencionan que es probable que cuando la velocidad del agua rebasa la capacidad natatoria de las larvas, se reduzcan sus posibilidades de capturar el alimento, y que se incremente la cantidad de energía que invierten en la captura del alimento y, como consecuencia, se reduzcan el crecimiento y la supervivencia. De manera similar, Ritar (2001), evaluó la supervivencia de larvas de *J. edwardsii*, en un cultivo con una velocidad del agua de 1.05 cm min⁻¹, a una temperatura de 18 °C y con una combinación de *Artemia* y gónadas de mejillón como alimento y observaron que después de 228 días de cultivo, la supervivencia fue del 0.5% hasta el estadio XI.

Por otra parte, Hamasaki *et al.* (2012), evaluaron el cambio en la densidad corporal de *P. japonicus* conforme cambiaba la morfología de las larvas filosoma, utilizando un sistema de recirculación con tanques de acrílico de 50 litros, con una velocidad del agua entre 0.98 y 2.49 cm min⁻¹ y temperaturas entre 24 – 26 °C. Sus resultados indicaron que las larvas reducen su densidad corporal momentáneamente al momento de mudar. También observaron que las larvas en estadios tempranos descienden al fondo más rápido que en estadios tardíos de desarrollo, por lo tanto, requerían una velocidad del agua mayor a 0.98 cm min⁻¹ para mantenerse suspendidas y capturar el alimento.

En México, Silva *et al.* (2013) probaron diferentes salinidades y temperaturas en larvas de *P. interruptus*, encontrando que la temperatura y salinidad óptimos, de acuerdo con el consumo de oxígeno, fueron 22 °C y 33.5 ups, deduciendo así que bajo estas condiciones las larvas tenían un mejor desempeño. Niebla-López (2016), evaluó el efecto de dos temperaturas (18 y 24 °C) sobre el desarrollo y supervivencia de las larvas en tanques plásticos de 15 litros, con una velocidad del agua continua de

1.4 cm min⁻¹ y la supervivencia de las larvas hasta el estadio VI fue de 0.002% en el tratamiento de 24 °C. Mientras que Pinto-Jiménez (2016), utilizando la misma velocidad de flujo en tanques cónicos de 40 litros, y temperatura de 18 °C, obtuvo una supervivencia del 13.3% a los 27 DDE.

Los cultivos larvales, particularmente de larvas filosoma, implican considerar una serie de variables, tanto físicas como químicas y biológicas, que incidan directamente en su desarrollo y supervivencia de manera favorable. Entre los factores físicos, la velocidad del flujo de agua ha recibido poca atención por lo que es importante llevar a cabo experimentos como los que se pretende realizar en la presente investigación, que permitan definir flujos óptimos para el cultivo de larvas filosoma.

1.7. Justificación

Debido al interés y demanda comercial que existe por las langostas a nivel mundial, es necesario, contribuir a los avances que permitan el cultivo de estos organismos, específicamente en la etapa más crítica de su desarrollo, la etapa larval. Un aspecto importante del cultivo larval es el comportamiento de las larvas en la columna de agua, que está ligado al movimiento del agua en los estanques de cultivo, por ello es necesario conocer el efecto que la velocidad del agua tiene sobre el crecimiento y la supervivencia de larvas de la langosta roja *P. interruptus*, este conocimiento contribuirá al desarrollo de un protocolo de cultivo para la producción de postlarvas que pueda sustentar el cultivo comercial de esta especie.

1.8. Hipótesis

Una velocidad del agua igual o menor a 0.88 cm min⁻¹ (0.5 l min⁻¹) producirá un consumo de alimento eficiente, lo que resultará en una mayor tasa de crecimiento y supervivencia de las larvas filosoma de langosta roja *P. interruptus*.

1.9. Objetivo general

Evaluar el desempeño de larvas filosoma de langosta roja *P. interruptus* bajo tres condiciones de velocidad del agua: 0.88, 1.75 y 2.63 cm min⁻¹ (0.5, 1 y 1.5 l min⁻¹, respectivamente).

1.9.1: Objetivos particulares

- ⌘ Cuantificar la supervivencia de larvas filosoma
- ⌘ Evaluar el efecto de la velocidad del agua sobre el crecimiento y desarrollo de larvas filosoma
- ⌘ Evaluar el efecto de la velocidad del agua sobre el consumo de alimento vivo

Capítulo 2. Metodología

2.1 Origen de larvas filosoma

2.1.1 Reproductores y sistema de recirculación

Un total de cinco hembras y un macho fueron colectados durante los meses de mayo - septiembre del año 2014 en la localidad del Rosario, Baja California, México, con la colaboración del Centro Regional de Investigaciones Pesqueras (CRIP) de Ensenada y de la Asociación Pesquera REGASA de El Rosario, con el permiso RNPA UE: 0203016282 otorgado por la Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca (CONAPESCA) y por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA).

Los reproductores se mantuvieron por un año en un sistema de cultivo ubicado en un invernadero del Departamento de Acuicultura del CICESE. El sistema de cultivo consistió en un tanque ovalado con capacidad de 650 litros, el cual está unido a un tanque reservorio con capacidad de 150 litros; para impulsar el agua del sistema se utilizaron dos bombas centrífugas de ¼ HP (Sweetwater® High-Efficiency Pump, SHE2.4, 230V Aquatic Eco-Systems™), que llevaron el agua a un biofiltro de 56.6 dm³ (BBF2P, Aquatic Eco-Systems™) con capacidad para remover partículas menores a 50 µm y para mantener los niveles de nitrógeno amoniacal total (NAT) por debajo de 1 mg l⁻¹.

La temperatura se mantuvo entre 18 – 20 °C, para lo cual, se instalaron 3 enfriadores de 1.5 HP (TLD-2, Delta Star Aqua Logic, Inc.). Para eliminar la presencia de organismos patógenos se utilizó una lámpara UV (QL-25, Lifegard Ultraviolet Sterilizer) y para remover la materia orgánica no sedimentable se utilizó un fraccionador de espuma. Los reproductores fueron alimentados diariamente con trozos de mejillón (*Mytilus galloprovincialis*) congelado, previamente lavado. Diariamente se proporcionaron 2 mejillones por langosta. El estanque se limpió con la ayuda de un sifón, se hizo el retrolavado del biofiltro y se midieron el oxígeno y la temperatura con un oxímetro digital YSI 85©; el pH se midió con un potenciómetro digital pHTestr 30, la salinidad con un refractómetro SR-6, VITAL SINE. El contenido de NAT se cuantificó semanalmente con reactivos comerciales para acuario (Amonia Aquarium Kit, Instant Ocean).

2.1.2 Época reproductiva

La reproducción de las langostas mantenidas en el laboratorio se registró a mediados del mes de mayo, momento durante el cual el macho colocó el espermatóforo en el tercer par de pereiópodos de la hembra (Figura 8). Posteriormente la hembra depositó y fertilizó los huevos, liberando los espermatozoides del espermatóforo, colocándolos en sus pleópodos, para incubarlos y airearlos por un periodo aproximado de 2 meses.

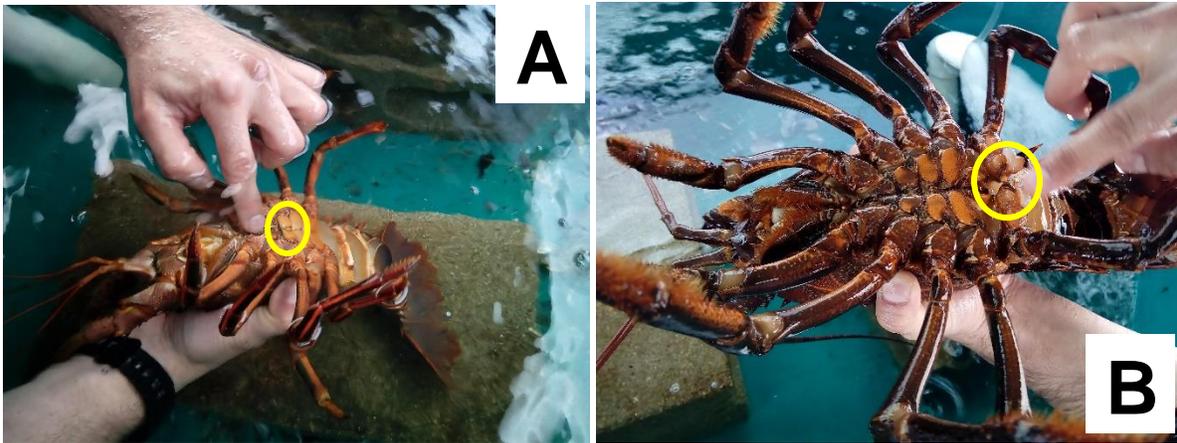


Figura 8. A: Hembra con espermatóforo en el 3er. par de pereiópodos. B: Macho con abultamiento en la región del poro genital en el 5to. par de pereiópodos.

2.1.3 Monitoreo de hembras ovígeras y desarrollo embrionario

Durante el periodo de incubación de los huevos, se realizó un monitoreo de las hembras ovígeras, el cual consistió en sujetarlas firmemente, y observar la freza evitando que ésta tuviera contacto con el aire. Dicho procedimiento se realizó semanalmente, observando los cambios en la coloración de la freza, que van desde una tonalidad naranja intensa, que indica un grado de desarrollo incipiente de los embriones, hasta una tonalidad naranja opaca-guinda, que indica un grado avanzado de desarrollo (Figura 9). Al inicio del desarrollo, la coloración se debe a la cantidad de vitelo contenido en el huevo. Para observar con más detalle el desarrollo embrionario, se tomaron muestras de los huevos (<30 huevos) cada 2 semanas y se observaron hasta los 17 días después de la fecundación (DDF) en un microscopio estereoscópico marca Olympus, equipado con una cámara fotográfica INFINITY3 (Figura 10).

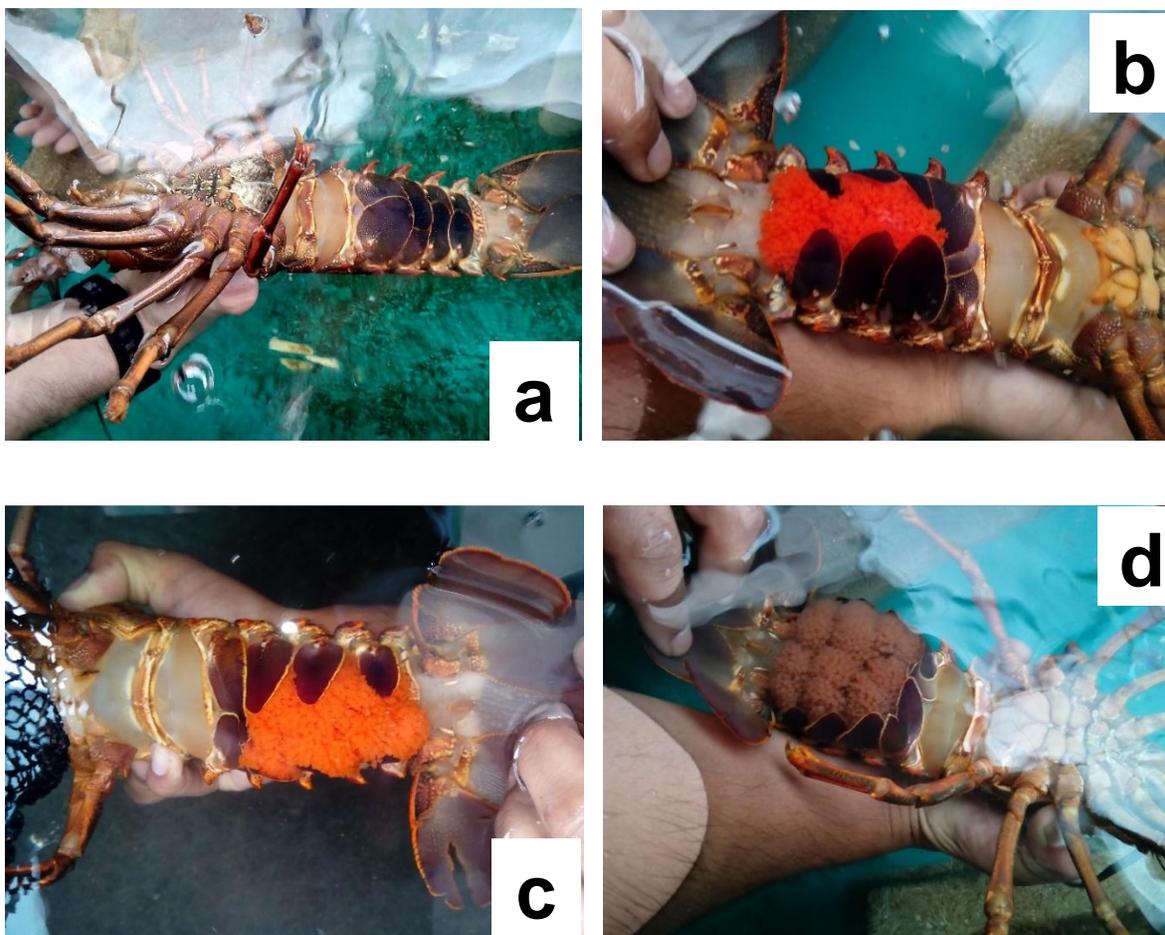


Figura 9. Hembra de *P. interruptus* con espermatóforo, una vez fertilizados los huevos (a), cambios de color de la freza durante el desarrollo embrionario (b, c y d).

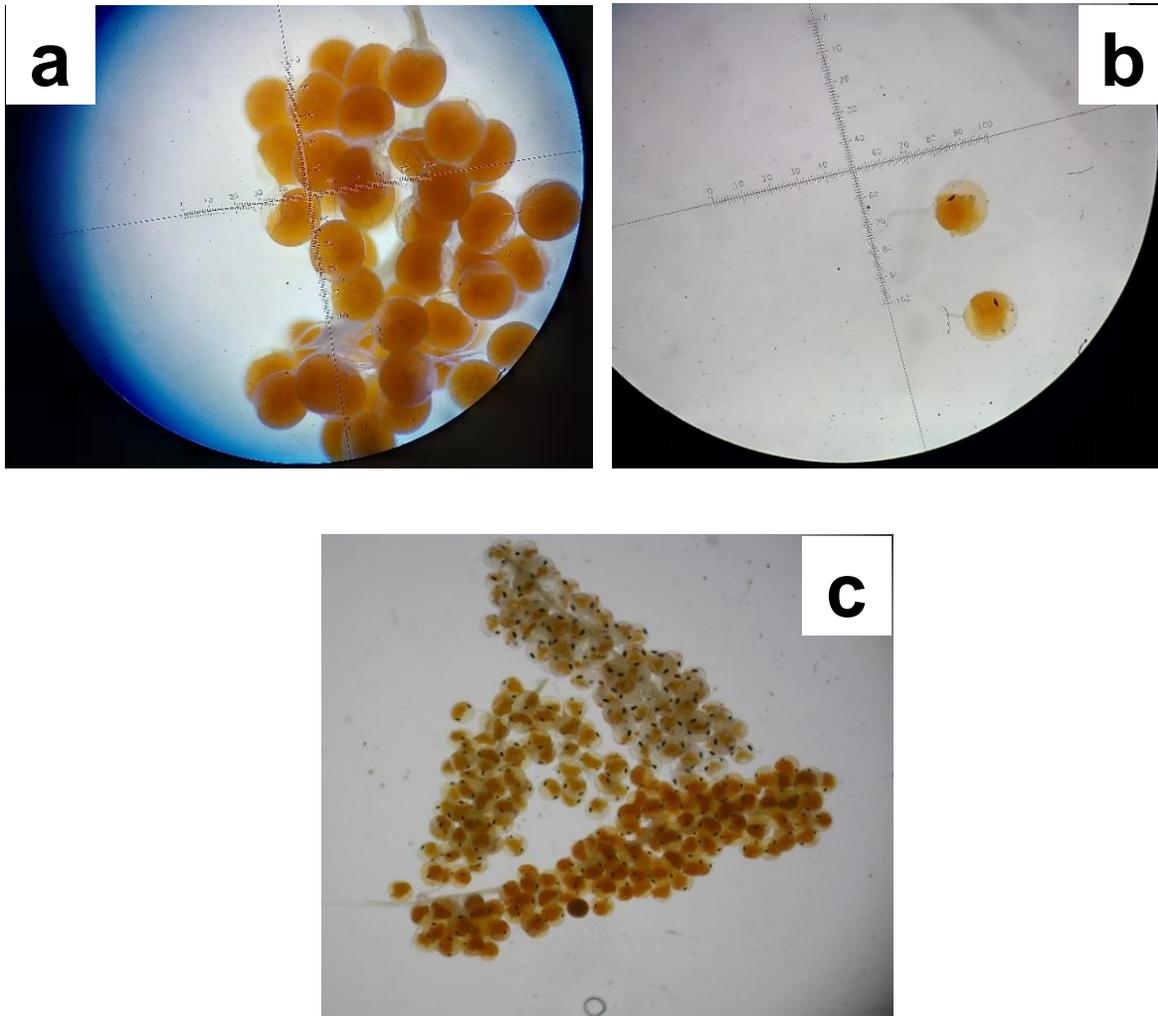


Figura 10. (a) Huevos de *P. interruptus* a los 4 días post fecundación; (b) huevos de *P. interruptus* donde se aprecia la presencia de manchas oculares en el embrión; (c) diferentes concentraciones de vitelo

A los 17 DDF se observó una disminución en el contenido vitelino y el desarrollo de las manchas oculares. Con ayuda de un microscopio digital invertido marca EVOS XL, se observaron los huevos con mayor aumento para identificar las características del desarrollo indicativas del momento de la eclosión y que se caracterizan por el desarrollo de las manchas oculares, la formación de cromatóforos en los pereiópodos y el cambio en la coloración del contenido del huevo (Figura 11).

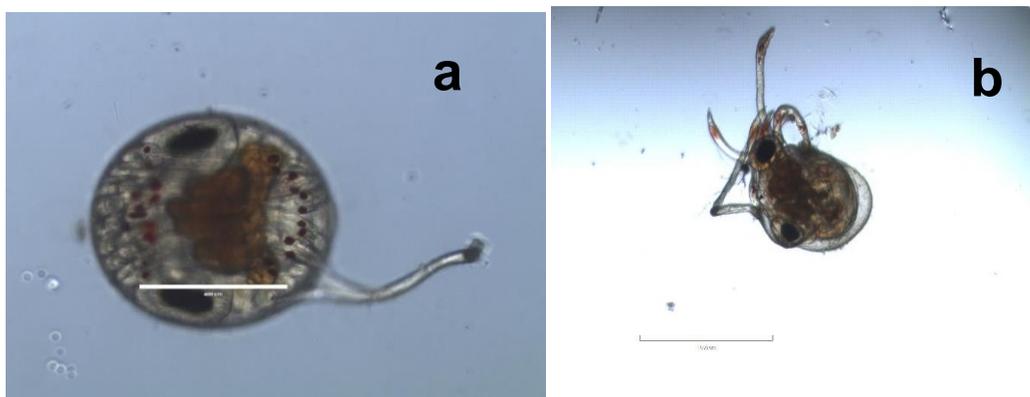


Figura 11. (a): Pequeña concentración de vitelo entre las manchas oculares indican que la eclosión ocurrirá entre 1-3 días. (b): Naupliosoma recién eclosionado

2.2. Infraestructura experimental

El experimento se realizó dentro de las instalaciones del laboratorio húmedo en el edificio de Acuicultura de CICESE, Baja California, México. El agua de mar se tomó de la red de abastecimiento del laboratorio húmedo, y fue introducida a un sistema de 9 tanques de plástico con capacidad de 15 L cada uno, similar al propuesto por Johnson (1956), unidos a un reservorio con capacidad de 400 L. Antes de iniciar los experimentos, el sistema de cultivo se desinfectó con hipoclorito de sodio (Cloralex®) (Merino y Sal, 2007; Jensen *et al.*, 2011; Pal *et al.*, 2014). Para circular el agua por el sistema de cultivo, se usó una bomba centrífuga de ¼ HP, la cual pasó a través de 3 filtros de 10, 5 y 1 micras para retener los sólidos suspendidos y las bacterias presentes en el agua, que pueden ser perjudiciales para las larvas. A continuación, el agua pasó por un biofiltro (para transformar el nitrógeno amoniacal en nitritos y nitratos) y por una bomba de calor (Aqua Logic, Inc., Modelo DSHP-5), para mantener la temperatura constante. La proliferación de epibiontes se controló con una lámpara UV (QL-25, Lifegard Ultraviolet Sterilizer) y un generador de ozono MZ 250 (ClearWater Tech, California, USA) unido a un medidor/controlador de ozono Redox ORPMC510 (Milwaukee) permitiendo ajustar la concentración de ozono. El control y monitoreo de los flujos de agua requeridos en los tanques de cultivo se lograron por medio de caudalímetros de acrílico (Izt, EWP®) unidos a las válvulas que, por medio de mangueras de vinil, condujeron el agua hacia la base de los tanques.

Para simular el fotoperiodo (12 h luz: 12 h oscuridad) se utilizaron 10 lámparas compactas de 9 W, marca Philco iluminación, dispuestas de manera que cubrieran la totalidad de los tanques, que produjeron una intensidad de luz de 0.81, 1.22 y 3.24 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, en el fondo, mitad y superficie del

tanque respectivamente. Los compuestos orgánicos e inorgánicos no sedimentables se eliminaron por medio de un fraccionador de espuma. Para evitar la salida de las larvas y del alimento vivo de los tanques de cultivo, se colocaron mallas de 200 micras (Figura 12).

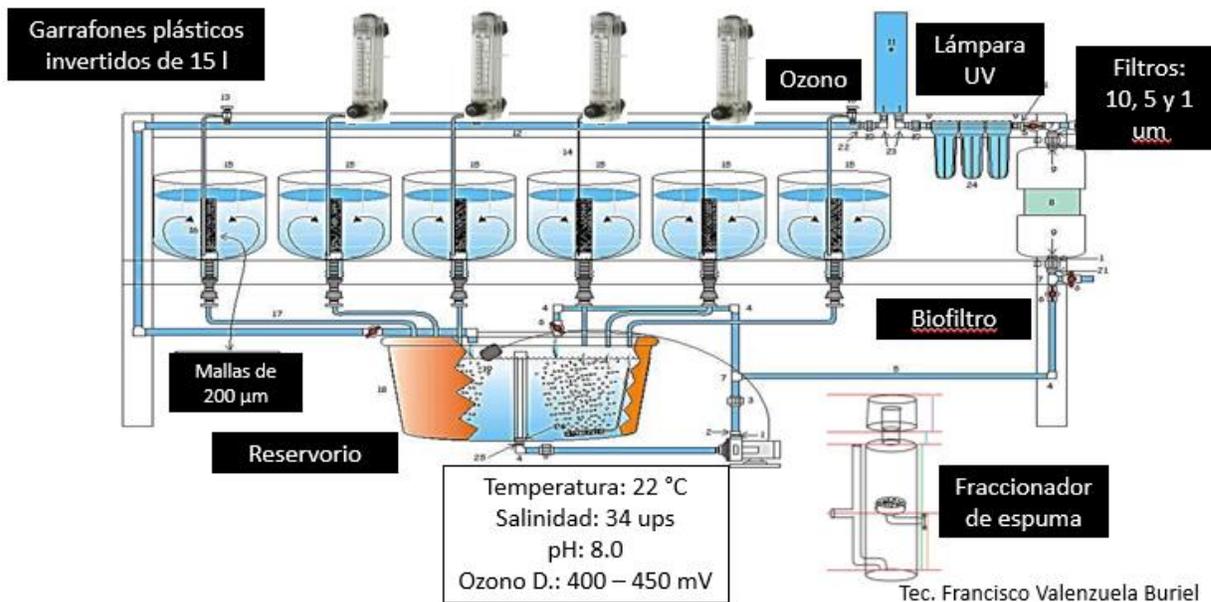


Figura 12. Sistema de cultivo para larvas filósoma de langosta roja (*Panulirus interruptus*)

2.3. Diseño experimental

Para estudiar el efecto de la velocidad del agua sobre el crecimiento, desarrollo y supervivencia de las larvas filósoma de *P. interruptus*, se definieron las velocidades de 0.88, 1.75 y 2.63 cm min^{-1} (que corresponden a un flujo de 0.5, 1 y 1.5 l min^{-1} respectivamente), los tratamientos fueron colocados al azar y por triplicado. En cada garrafón se colocaron 4 larvas filósoma mL^{-1} , las cuales fueron alimentadas 4 veces al día con *A. franciscana* enriquecida con lípidos. Para inyectar el agua se colocó un dispositivo en la parte inferior del tanque con perforaciones de 0.5 mm, dispuestas en forma radial, de tal manera que del agua fluyera en forma ascendente y en forma laminar hacia el desagüe en la parte superior del tanque.

2.4. Colecta y siembra de larvas

Durante los días en los que se calculó que ocurriría la eclosión, la observación del comportamiento de las hembras se hizo cada treinta minutos a partir de las 10:00 pm y hasta las 4:00 am. Durante este periodo se redujo al mínimo el sistema de aireación en el tanque para evitar que las larvas se dañaran y se colocó una malla de 200 μm en la salida de agua del tanque para evitar su pérdida (Figura 13).



Figura 13. Eclosión de larvas filosoma de *P. interruptus*

Al momento de la eclosión, la hembra se colocó cerca de la superficie para liberar las larvas, las cuales son arrastradas por las corrientes de agua en el interior del tanque, por lo que se deben colectar lo más pronto posible para evitar la mortalidad ocasionada por los golpes con la pared del tanque u otros objetos. Siguiendo las recomendaciones de Niebla-López (2016), las larvas se colectaron con una red de 200 micras de luz de malla y se colocaron en recipientes de 20 litros de capacidad, en donde fueron transportadas al área experimental. Antes de colocarlas en las unidades experimentales, las larvas se contabilizaron. A continuación, se desinfectaron en un baño de agua de mar con formaldehído a una concentración de 20 ppm durante 20 minutos. Se enjuagaron con agua de mar filtrada y ozonizada, para posteriormente sembrarlas en los tanques de cultivo (Figura 14).



Figura 14. Colecta y desinfección de larvas filosoma de *P. interruptus*

Las condiciones del sistema de cultivo fueron: 22 °C de temperatura, salinidad de 34 ups, ozono entre 400 y 450 ORP (mV), pH 7.8, fotoperiodo 12:12 (luz: oscuridad). Para la alimentación se utilizaron diferentes estadios y tamaños de *A. franciscana* enriquecida, las raciones de alimento se proporcionaron cuatro veces al día, para mantener una densidad de 6 artemias ml⁻¹.

2.5. Producción y enriquecimiento del alimento vivo

Los quistes de *A. franciscana* (Biogrow®), se desencapsularon mediante el procedimiento recomendado por la FAO (1989), utilizando hipoclorito de sodio comercial (Cloralex®) en una solución con agua dulce en proporción 1:1. Una vez eclosionados, los nauplios se colocaron en un recipiente con 200 litros de agua de mar a una densidad de 10 artemias ml⁻¹, a una temperatura de 28 °C y con aireación e iluminación constantes. Los nauplios se alimentaron con una combinación de 7.5 g de una dieta comercial (Ori-green) y 5 g de levadura comercial Saf-instant® con 95% materia seca, 53%± 3.0 de proteína, y 2.65% ± 0.15 de pentóxido de fósforo. Las artemias se alimentaron con dos raciones diarias (10 am y 10 pm) antes de suministrarlas a las larvas filosoma. Dado que el contenido de HUFAs es vital para las larvas de langostas espinosas (Francis et al., 2014), la *Artemia* se enriqueció con aceite de orbita de atún, Omegamex® (Tabla 2), para lo cual se preparó una emulsión de aceite en agua dulce, en una proporción de 3 ml de aceite en 100 ml de agua, de acuerdo con las recomendaciones de Bautista-Soto (2016). Para que las miscelas de aceite tuvieran el tamaño adecuado para ser ingeridas por la *Artemia* (<30 um), la mezcla se agitó vigorosamente por periodos de 30 s con una batidora de

inmersión (T-fal®). A fin de poder suministrar las dos raciones diarias de alimento enriquecido a las larvas filosoma (10 am y 10 pm), el periodo de enriquecimiento se mantuvo dentro del rango establecido por Bautista-Soto (2016), entre 6 y 12 horas. Así la *Artemia* enriquecida a las 10:00 pm se suministró entre las 7:00 y las 9:00 am y la *Artemia* enriquecida a las 10:00 am se suministró entre las 11:00 am y las 7:00 pm.

Tabla 2. Composición proximal de Ori-Green y Omega Mex

Ori-Green®		Omega Mex©	
Humedad	7%	Omega 3	400 mg/g
Proteína	43%	DHA	300 mg/g (6-20%)
Lípidos	33%	EPA	70 mg/g (5.3-11%)
Fibra	1.50%	Grasas s.	200 mg/g
Ceniza	12%	Grasas mono i.	180 mg/g
Fósforo	2.50%	Grasas poli i.	220 mg/g
Vit. D3	50 IU/g	Vit. E	15 mg/g
Vit. A	350 IU/g		
Vit. E	4000 mg/kg		

2.5.1. Protocolo de alimentación

Para la alimentación de las larvas de *P. interruptus*, se siguieron las recomendaciones de Inoue (1965a; 1978b), Ritar (2001) y Anufriieva y Shadrin (2014); tomando en consideración el tamaño de partícula alimenticia adecuado para cada estadio larval de la filosoma, así como la conducta natatoria propia de cada estadio de desarrollo de la *Artemia*, se estableció un protocolo de alimentación consistente en proporcionar *Artemia* de diferentes edades (6 a 9, 10 a 14 y de 15 a 18 días), para los estadios filosoma I, II y III respectivamente (Figura 15). La producción de *Artemia* de estas edades se logró al cultivarla por diferentes periodos, utilizando cinco columnas de 200 litros cada una. Para determinar las tallas de la *Artemia* en las diferentes edades consideradas se usó un microscopio digital invertido marca EVOS XL y se midió su longitud corporal.



Figura 15. Proceso de desarrollo de *A. franciscana* (6, 10, 14 y 18 días después de la eclosión – De izquierda a derecha, respectivamente)

2.6. Supervivencia de larvas filosoma

La supervivencia se calculó tomando 18 muestras por tanque por tratamiento (6 se recolectaron en el fondo, 6 en la zona media y 6 en la superficie del tanque). Con ayuda de una varilla de vidrio de 1.5 cm de diámetro, se tomó un volumen de 50 ml, procurando reducir los movimientos bruscos en el agua, para evitar lastimar a las larvas. A partir de la densidad larval inicial se obtuvo el número de larvas por tanque y por tratamiento, a éste se le restó el número de larvas obtenidas por muestreo para obtener la supervivencia; al final los resultados fueron expresados en porcentaje.

2.7. Índice de crecimiento y longitud de cefalotórax de larvas filosoma

El índice de crecimiento larval se evaluó tomando 15 larvas filosoma por tanque para cada estadio, las cuales fueron colocadas en cajas de Petri para observarlas con la ayuda de un microscopio digital invertido EVOS XL (Life Technologies), con el que también se capturaron las imágenes de las larvas. Posteriormente usando estas imágenes y con la ayuda de un programa de análisis de imágenes (Infinity Analyze V. 6.3.0.), se realizaron las siguientes mediciones: longitud y ancho del cefalotórax, longitud y ancho del abdomen, longitud de los exopoditos y los perímetros del cefalotórax, abdomen y setas plumosas. Estas mediciones sirvieron para cuantificar el índice de crecimiento. Para hacer una evaluación del tipo de crecimiento (alométrico o isométrico) de las diferentes partes del cuerpo de las

larvas (cefalotórax, abdomen) se tomó como referencia el índice de crecimiento de Inoue (1978) el cual establece que:

$$\text{Índice del cefalotórax} = \text{largo del cefalotorax} / \text{ancho de cefalotórax} \quad (1)$$

$$\text{Índice del abdomen} = \text{largo del abdomen} / \text{ancho de abdomen} \quad (2)$$

Dicho autor estableció que un índice mayor o menor a 1 indica que el crecimiento del cefalotórax es alométrico en relación con el crecimiento del abdomen, en cambio, si el índice es igual a 1, el crecimiento es isométrico. En forma adicional, se comparó el perímetro de las setas plumosas con el perímetro del cefalotórax y abdomen, para determinar el tipo de crecimiento durante el desarrollo larval. Para analizar el crecimiento sólo se consideró la medición del largo del cefalotórax. En tanto que, para obtener el índice corporal se consideró el perímetro del cefalotórax-abdomen-setas plumosas y en el presente estudio se propuso de la siguiente manera con el fin de evaluar si el perímetro de las principales estructuras que contribuyen a la flotabilidad aumenta de manera isométrica durante el desarrollo larval.

$$\text{Índice corporal perimetral} = \text{perímetro cefalotórax-abdomen} / \text{perímetro setas plumosas} \quad (3)$$

2.8. Desarrollo de las larvas filosoma

Para estudiar el desarrollo de las larvas y calcular la duración del periodo de intermuda, se definió como criterio, el momento en que el 80 % de las larvas se encontraban en un estadio larval particular. Para evitar una manipulación excesiva de las larvas al momento de clasificarlas, se siguieron las recomendaciones de Niebla-López (2016), que consistieron en la observación de la aparición de exuvias en la superficie de los tanques y de su acumulación en las mallas de los tubos de drenaje durante los días de muda. A partir de este momento, se colectaron 15 larvas por tanque (las mismas que se utilizaron para evaluar el crecimiento) y se observaron con ayuda de un microscopio digital (EVOS XL) para identificar las características morfológicas específicas de cada estadio.

2.9. Distribución larval en la columna de agua del tanque

Para evaluar la distribución de las larvas en los tanques de cultivo, se tomaron 18 muestras por tanque por tratamiento, siguiendo el procedimiento descrito para cuantificar la supervivencia (6 muestras se recolectaron en el fondo, 6 en la zona media y 6 en la superficie del tanque). Se cuantificó el número de larvas por estrato y se calculó el promedio por tratamiento. Para analizar la distribución de las larvas, los datos fueron expresados en porcentaje para su análisis estadístico.

2.10. Consumo de alimento y su distribución vertical en el tanque

Para cuantificar la cantidad de alimento vivo consumido y su distribución vertical en el tanque, se utilizó una varilla de vidrio de 1.5 cm de diámetro con la que se tomaron seis muestras de 50 ml por nivel (fondo, mitad y superficie), posteriormente se calculó la cantidad de presas remanentes y se calculó el promedio por tratamiento por tanque y se expresó en porcentaje. El alimento vivo consumido se expresó como artemias consumidas día⁻¹ larva⁻¹.

2.11. Análisis de la turbulencia del agua

Para analizar el movimiento del agua en los tanques de cultivo, se tomó como referencia el experimento de flujo en el tanque de Reynolds, el cual consiste en observar y describir la forma en cómo un colorante se desplaza a través del tanque, dependiendo si traza una línea recta o genera formas humeantes en su trayecto desde la base hasta la superficie del tanque se le denomina flujo laminar, moderado o turbulento (Ballesteros-Tajadura, 2004). Para desarrollar esto, se registró el movimiento del agua en cada una de las unidades experimentales (tratamientos: 0.88, 1.75 y 2.63 cm min⁻¹), con ayuda del colorante rojo neutro, el cual actuó como indicador del movimiento de la corriente del agua dentro del tanque. Se realizaron video grabaciones con una duración de 30 s con ayuda de un equipo celular M4 SS4451, que sirvieron para hacer una descripción cualitativa del flujo de agua.

2.12. Análisis estadísticos

Para evaluar el efecto de las tres velocidades de agua sobre la supervivencia, el crecimiento y el consumo de alimento, se realizaron pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas, una vez verificadas, se procedió a realizar un análisis de varianza de una vía (ANOVA). Para analizar las diferencias en la distribución de las larvas y del alimento entre el fondo, la zona media y la superficie del estanque, se aplicó un análisis de varianza de 1 vía. Para identificar las diferencias entre los tratamientos, se aplicó una prueba a posteriori de Tukey.

Capítulo 3. Resultados

3.1 Condiciones físicas y químicas del sistema de cultivo

A lo largo del estudio las condiciones físicas y químicas del agua de los sistemas de cultivo en los tres tratamientos se mantuvieron relativamente estables: temperatura de 22 ± 0.4 °C, oxígeno disuelto con 6.34 ± 0.23 mg l⁻¹, pH de 7.83 ± 0.04 , salinidad de 35 ups., y no se detectó la concentración de NAT. La excepción fue la cantidad de ozono, cuyos valores decayeron significativamente a partir de los 13 DDE, (Figura 16), a partir de este momento y hasta el final de estudio se mantuvo una cantidad por debajo del rango de efectividad de eliminación de epibiontes (>300 ORP mV), debido a que el sistema de suministro de aire del generador de ozono dejó de funcionar después de un corte de luz general. Posteriormente no tuvo la presión necesaria para inyectar ozono al sistema de cultivo y el dispositivo tuvo un sobrecalentamiento que derivó en la deficiencia de ozono.

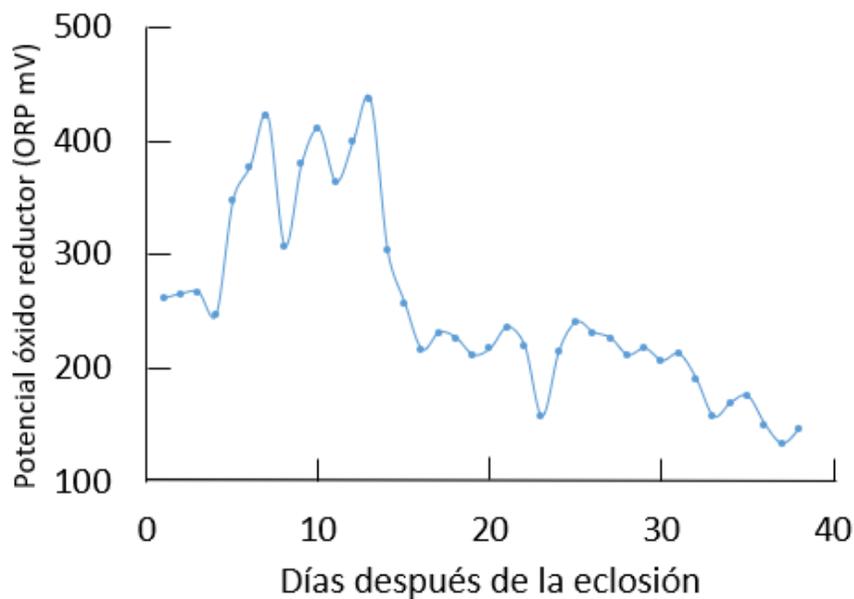


Figura 16. Potencial oxido-reductor (ORP mV) del ozono suministrado en el sistema de cultivo de larvas de la langosta espinosa *P. interruptus*.

3.2 Protocolo de alimentación

El protocolo de alimentación quedó establecido con las tallas promedio de *Artemia* que se muestran en la tabla 3, las cuales se consideraron adecuadas para la alimentación de las larvas filosoma (Figura 17).

Tabla 3. Longitud total (μm) y edad (días después de la eclosión, DDE) de los juveniles y adultos de *Artemia franciscana* utilizados como alimento para cada uno de los estadios de las larvas filosoma de *P. interruptus*.

DDE	Longitud total (μm)	Estadio de desarrollo de la larva filosoma
6	500	I
10	593	-
14	858	II
18	1213	III

Por tanto, para la alimentación de las larvas filosoma del estadio I se utilizaron metanauplios de *Artemia franciscana* de una longitud promedio de 500 μm de longitud total. Para el estadio II se utilizaron juveniles de 858 μm y para el estadio III se utilizaron adultos de 1200 μm . Considerando que en algunos momentos del cultivo se tenía más de un estadio de desarrollo, se tomó en consideración la proporción de cada estadio para proporcionar una mezcla de presas del tamaño adecuado para cada estadio (Figura 17).

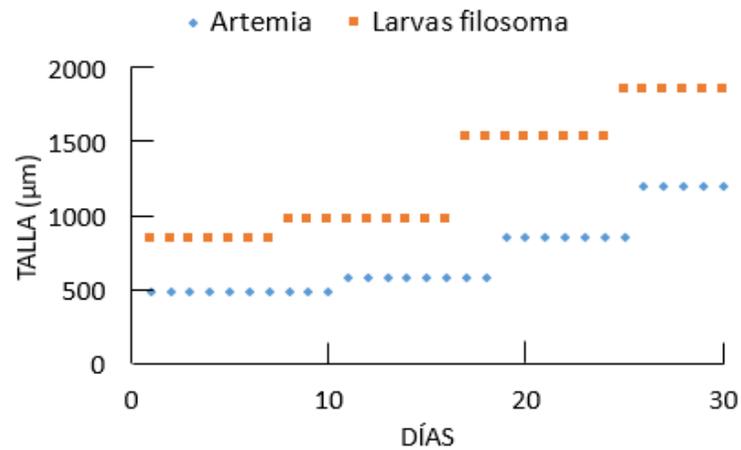


Figura 17. Protocolo de alimentación con *A. franciscana* (color azul) con base en la talla de las larvas filiosoma (color naranja).

3.3 Supervivencia de larvas filiosoma por tratamiento

Se observó que a partir del día 7 y hasta los 37 DDE, el mayor porcentaje de supervivencia se obtuvo con el tratamiento de velocidad intermedia del agua de 1.75 cm min^{-1} , con una supervivencia del 77.3%, hasta el día 30 DE ($p = 0.003$), seguido del tratamiento con velocidad del agua rápida (2.63 cm min^{-1}) con un 44.2%, mientras que con el tratamiento de velocidad de agua lenta (0.88 cm min^{-1}) se obtuvo un 29.4% de supervivencia (Figura 18). Posteriormente el porcentaje de supervivencia decreció de manera abrupta en todos los tratamientos, siendo una causa probable la proliferación de epibiontes que no pudo ser controlada por el suministro de ozono después de los 13 DDE, dicha proliferación ocurrió de manera gradual, resultando en una mortalidad total a los 37 DDE en los tres tratamientos.

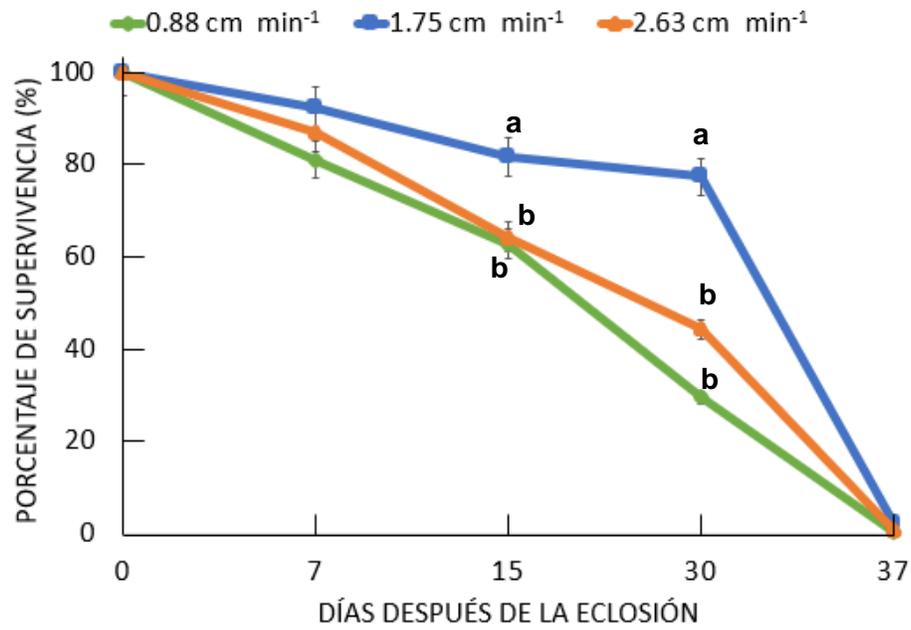


Figura 18. Porcentaje de supervivencia de larvas filosoma de *P. interruptus*.

Como se mencionó anteriormente, el suministro de ozono no fue suficiente a partir del día 13 DDE para mantener un control microbiano adecuado en el sistema de cultivo, lo que derivó en una proliferación bacteriana importante, observada particularmente en el cuerpo de las larvas filosoma (Figura 19).



Figura 19. Bacterias filamentosas en el cuerpo de las larvas filosoma de *P. interruptus* a los 37 DDE.

3.4 Crecimiento de larvas filosoma por tratamiento

En la figura 20 se muestran los resultados de la longitud promedio del cefalotorax (μm) de las larvas cultivadas con las tres velocidades del agua, observadas a los 7, 15 y 30 DDE. En los 7 y 15 DDE no se observaron diferencias de crecimiento de las larvas entre los tratamientos ($p = 0.19$), no obstante, a los 30 DDE, se observó que con la velocidad de 1.75 cm min^{-1} , las larvas tuvieron un crecimiento significativamente mayor ($925 \pm 487 \mu\text{m}$) ($p = 0.00004$), en contraste, se observó que las larvas expuestas a una velocidad del agua de 0.88 cm min^{-1} tuvieron el menor crecimiento ($572 \pm 29 \mu\text{m}$), mientras que con una velocidad del agua de 2.63 cm min^{-1} tuvieron un crecimiento intermedio ($777 \pm 19 \mu\text{m}$).

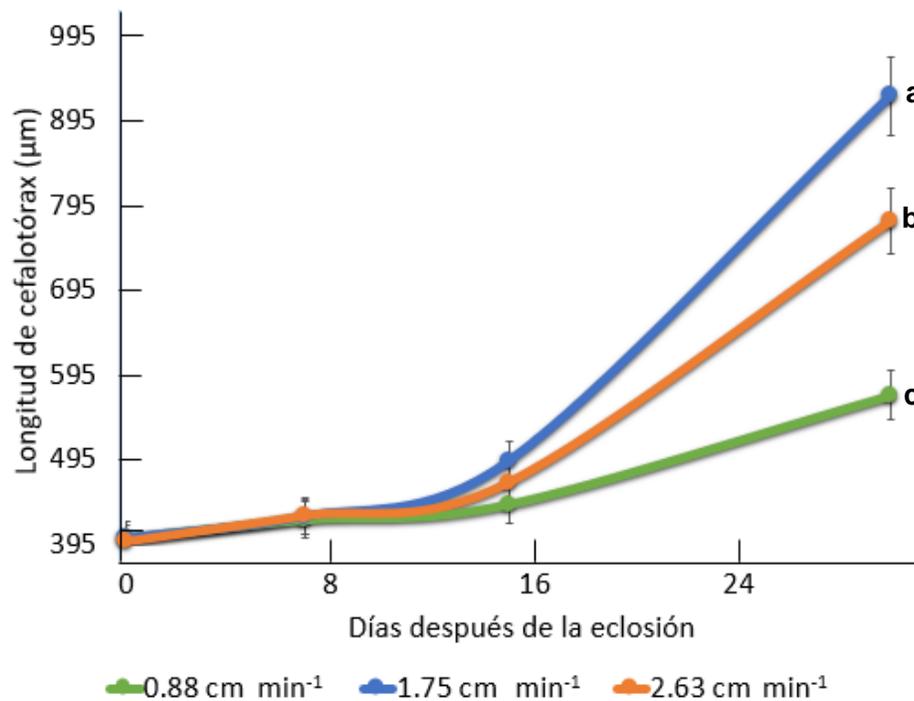


Figura 20. Crecimiento promedio del cefalotórax (μm) de larvas filosoma de *P. interruptus* de los 7 a los 30 días después de la eclosión (DDE).

3.5 Periodo de intermuda y desarrollo larval

El estadio I se caracterizó por la carencia de segmentación en los pedúnculos oculares y por la ausencia de exopoditos en el tercer par de pereopodos. Durante la transición al estadio II comenzó el crecimiento de los exopoditos en el tercer par de pereopodos (Figura 21) y la segmentación en los

pedúnculos oculares. Se observó que a los 10 DDE, con el tratamiento de 1.75 cm min^{-1} , el 40% de las larvas estaban ya en el estadio II, y con el tratamiento de 2.63 cm min^{-1} el 26%, mientras que con tratamiento de 0.88 cm min^{-1} , solo el 13% de las larvas se encontraban en este estadio (Tabla 4). En este tiempo no se observaron filosomas en estadio III.

Tabla 4. Composición porcentual de las larvas de *P. interruptus* de los estadios I, II y III, a los 10 días de cultivo con diferentes velocidades del agua.

Velocidad del agua (cm min^{-1})	Estadio I	Estadio II (%)	Estadio III
0.88	87	13	0
1.75	60	40	0
2.63	74	26	0

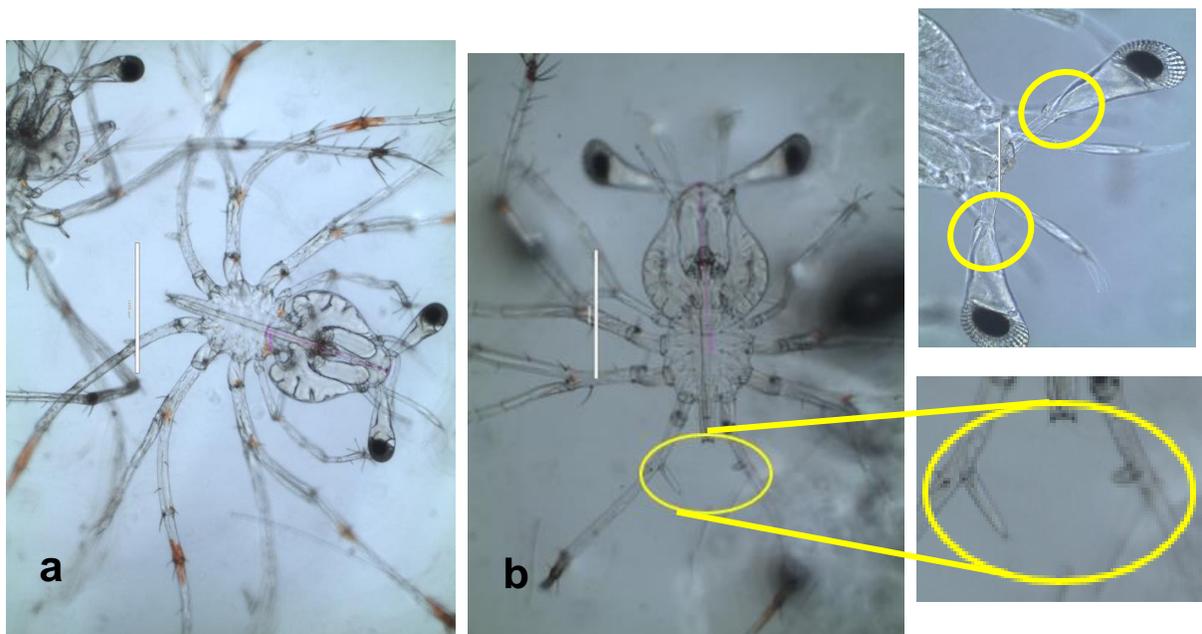


Figura 21. (a): Estadio I de larva filosoma. (b): La segmentación de los pedúnculos oculares y la aparición de exopoditos en el 3er. par de pereiópodos son características del estadio II

A los 15 días después de la eclosión se observó la transición del estadio I al estadio II con mayor notoriedad, ya que las larvas presentaron un crecimiento mayor de los exopoditos del tercer par de pereiópodos y la segmentación de los pedúnculos oculares (Figura 22); lo cual ocurrió principalmente en el tratamiento de velocidad del agua de 1.75 cm min^{-1} , donde 80% de larvas se encontraban en

estadio II, en el tratamiento de velocidad del agua de 0.88 cm min^{-1} se observó un porcentaje del 33% en estadio II y en el tratamiento de velocidad de 2.63 cm min^{-1} se observó el 46% (Tabla 5).

Tabla 5. Composición porcentual de las larvas de *P. interruptus* de los estadios I, II y III, a los 15 días de cultivo con diferentes velocidades del agua.

Velocidad del agua (cm min^{-1})	Est. I	Est. II (%)	Est. III
0.88	67	33	0
1.75	20	80	0
2.63	54	46	0



Figura 22. Elongación de los exopoditos en el 3er. par de pereiópodos y ensanchamiento del cefalotórax en un instar del estadio II.

Durante la transición del estadio II al estadio III, los cambios morfológicos consistieron en una elongación más pronunciada de los exopoditos del tercer par de pereiópodos, al igual que la segmentación de los pedúnculos oculares se torna más visible; durante este estadio, cambia la morfología del cefalotórax y el abdomen, haciéndose más alargados que en los estadios anteriores, además aparecen sétulas plumosas en los exopoditos del tercer par de pereiópodos y la aparición del cuarto par de pereiópodos (Figura 23). Estas características, propias del estadio III, fueron visibles a los 30 DDE solamente en el 33% de las larvas del tratamiento de 1.75 cm min^{-1} y ya no había ninguna larva fillosoma en estadio I. En los tratamientos de 0.88 y 2.63 cm min^{-1} aún se observan larvas en estadio I,

en particular, en el tratamiento de baja velocidad de agua se observó el mayor retraso en el desarrollo (Tabla 6).

Tabla 6. Composición porcentual de las larvas de *P. interruptus* de los estadios I, II y III, a los 30 días de cultivo con diferentes velocidades del agua.

Velocidad del agua (cm min^{-1})	Estadio I	Estadio II (%)	Estadio III
0.88	14	86	0
1.75	0	66	33
2.63	7	93	0



Figura 23. Alargamiento del cefalotórax (Izquierda) y desarrollo del 4to. par de pereiópodos, características distintivas de las larvas filosoma en estadio III.

Por lo tanto, el menor periodo de intermuda del estadio I al estadio II tuvo lugar en el tratamiento de velocidad del agua de 1.75 cm min^{-1} , con una duración de 15 días, mientras que en el tratamiento de 0.88 cm min^{-1} se obtuvo un periodo de intermuda de 29.6 ± 0.2 días y con el tratamiento de 2.63 cm min^{-1} el periodo de intermuda fue de 26.3 días.

3.6. Índice de crecimiento

El análisis de las medidas corporales indicó que el perímetro de las setas plumosas aumenta conforme la larva crece; así como el resto de los apéndices crecen en una relación directamente proporcional a medida que el desarrollo larval avanza. El índice del crecimiento perimetral se mantuvo constante a lo largo del desarrollo larval (0.46, 0.45 y 0.49, para los estadios I, II y III respectivamente) (Figura 24), mientras que, la relación largo-ancho del abdomen y del cefalotórax, crecen de manera alométrica, puesto que con base al trabajo de Inoue (1978), el índice del cefalotórax y del abdomen fueron inferiores a 1. Otra característica del desarrollo es el rápido crecimiento de los exopoditos entre cada estadio larval, que aumenta tres veces más del estadio I al estadio II y se duplica del estadio II al estadio III (Tabla 7).

Tabla 7. Medidas promedio (μm) de algunas estructuras corporales de las larvas filosoma de *P. interruptus* que intervienen en los procesos de natación y alimentación.

Estadio	Perímetro setas	Perímetro cefalotórax y abdomen	Longitud exopoditos	Longitud pedúnculos oculares	Longitud anténulas
I	1245±94	2733±26	55±4	338.77±24	281±13
II	1565±182	3471±393	189±2	466.92±40	318±34
III	2189±114	4498±78	391±6	555.25±22	396±10

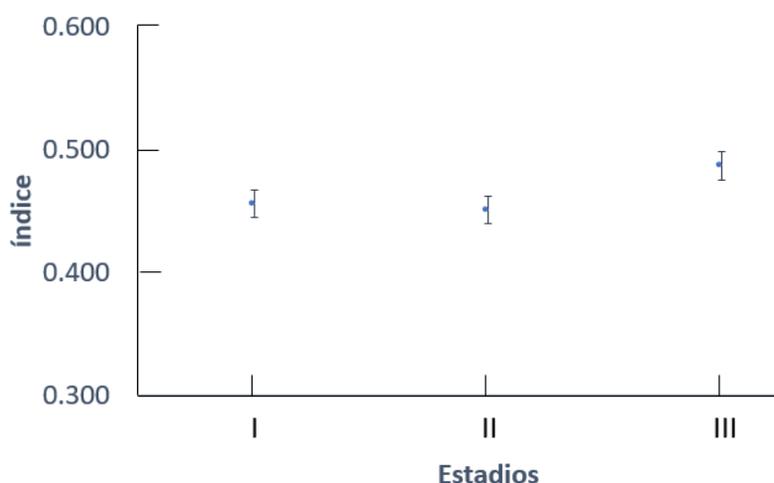
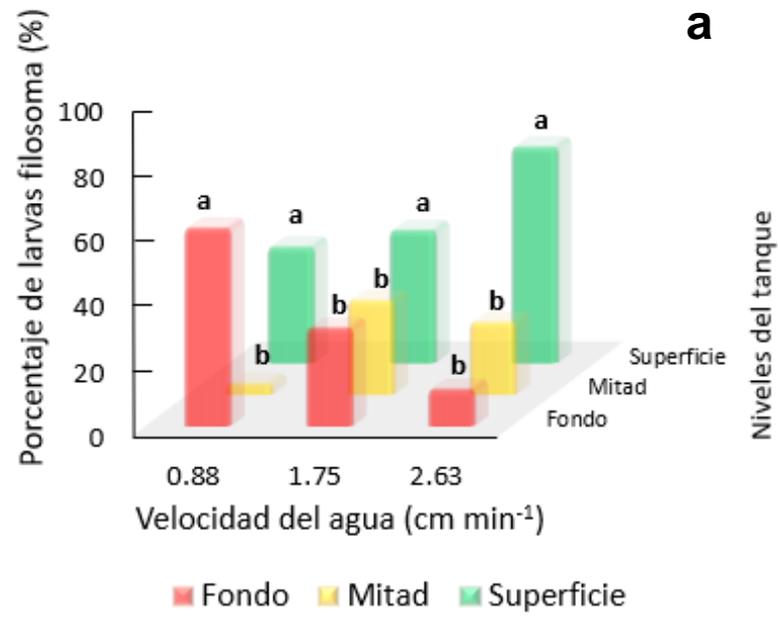


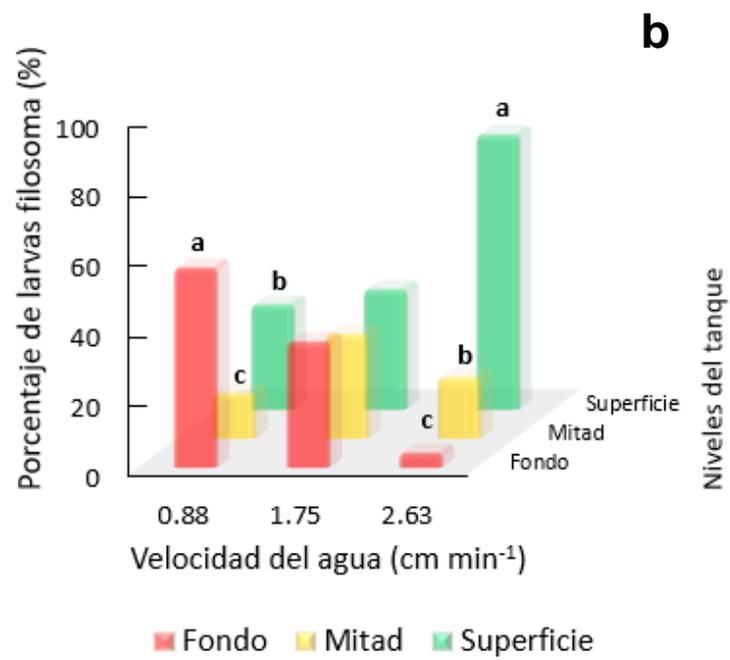
Figura 24. Índices de crecimiento de las larvas filosoma de *P. interruptus* en diferentes estadios de desarrollo

3.7 Distribución de larvas filosoma de *P. interruptus* en la columna de agua

La velocidad del agua propició un patrón de distribución de las larvas diferente para cada velocidad. En el tratamiento de velocidad de agua de 0.88 cm min^{-1} se observó que la mayor proporción de larvas se encontraban en el fondo del tanque a los 15 DDE. Para el tratamiento de 1.75 cm min^{-1} la distribución de las larvas fue homogénea en los tres estratos del tanque a los 15 DDE, no obstante, a los 7, 30 y 37 DDE, las larvas mostraron una tendencia a permanecer en el estrato superior. Para el tratamiento de 2.63 cm min^{-1} , se observó que una mayor cantidad de larvas se encontraban en el estrato superior del tanque a lo largo de todo el experimento (Figura 25, a-d).



7 DDE



15 DDE

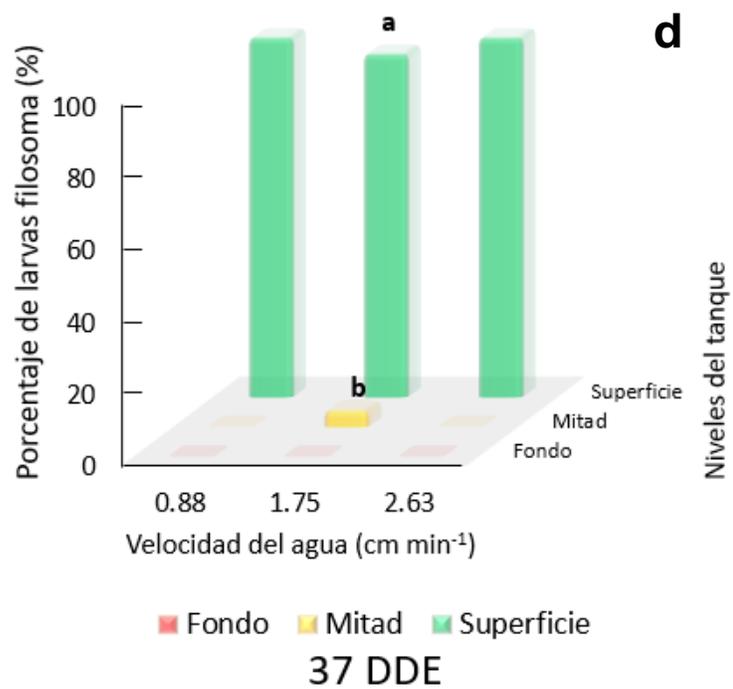
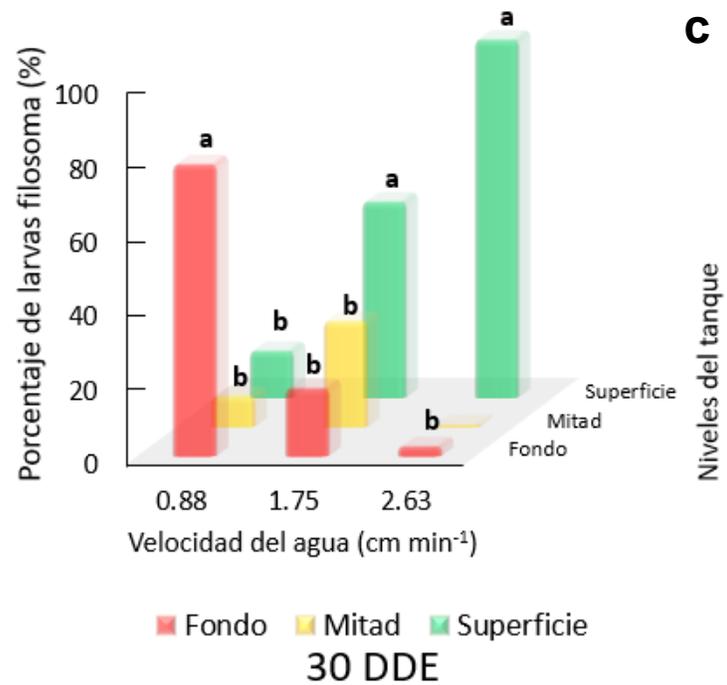


Figura 25. Distribución de las larvas filiosoma de *P. interruptus* en tres estratos de profundidad del tanque de cultivo y expuestas a tres velocidades del agua (cm min^{-1}), a los 7, 15, 30 y 37 DDE (a, b, c y d, respectivamente)

3.8. Distribución del alimento vivo por tratamiento

Con respecto a la distribución de alimento vivo en la columna de agua, en general, se observó un comportamiento similar en los tratamientos, a los 7 DDE se observó que en el tratamiento de 1.75 cm min^{-1} , la mayor proporción de alimento vivo se encontró en la mitad del tanque, mientras que en los otros dos tratamientos (0.88 y 2.63 cm min^{-1}), la mayor concentración se observó en la superficie. A los 15 DDE hubo una mayor concentración de alimento en la parte media y en la superficie en los tratamientos de 1.75 y 2.63 cm min^{-1} . A los 22 DDE, la mayor concentración de alimento vivo se localizó en la superficie del tanque en los tres tratamientos y a los 30 DDE, la mayor proporción de alimento vivo en el tratamiento de 0.88 cm min^{-1} se cuantificó en la zona media del tanque, mientras que en los tratamientos de 1.75 y 2.63 cm min^{-1} la mayor proporción se cuantificó en la superficie del tanque.

En los tres tratamientos, la *Artemia* se encuentra en mayor proporción en la superficie (50.1 – 65%) y en la parte media del tanque (34.1 – 45.5%), mientras que una porción mínima se concentra en el fondo (1.1 – 6.2%), con ciertas variaciones a lo largo del experimento (Figura 26), siendo más evidente en el tratamiento de velocidad de agua de 2.63 cm min^{-1} .

Las condiciones lumínicas podrían haber influido durante el estudio; estas fueron diferentes para cada nivel del tanque (intensidad de luz de 0.81 , 1.22 y $3.24 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, en el fondo, mitad y superficie del tanque respectivamente). La mayor intensidad de luz en la superficie del tanque pudo ser un factor importante para que la *Artemia* tuviese la tendencia de mantenerse en la superficie, en donde se observó una mayor concentración, en contraste con el fondo.

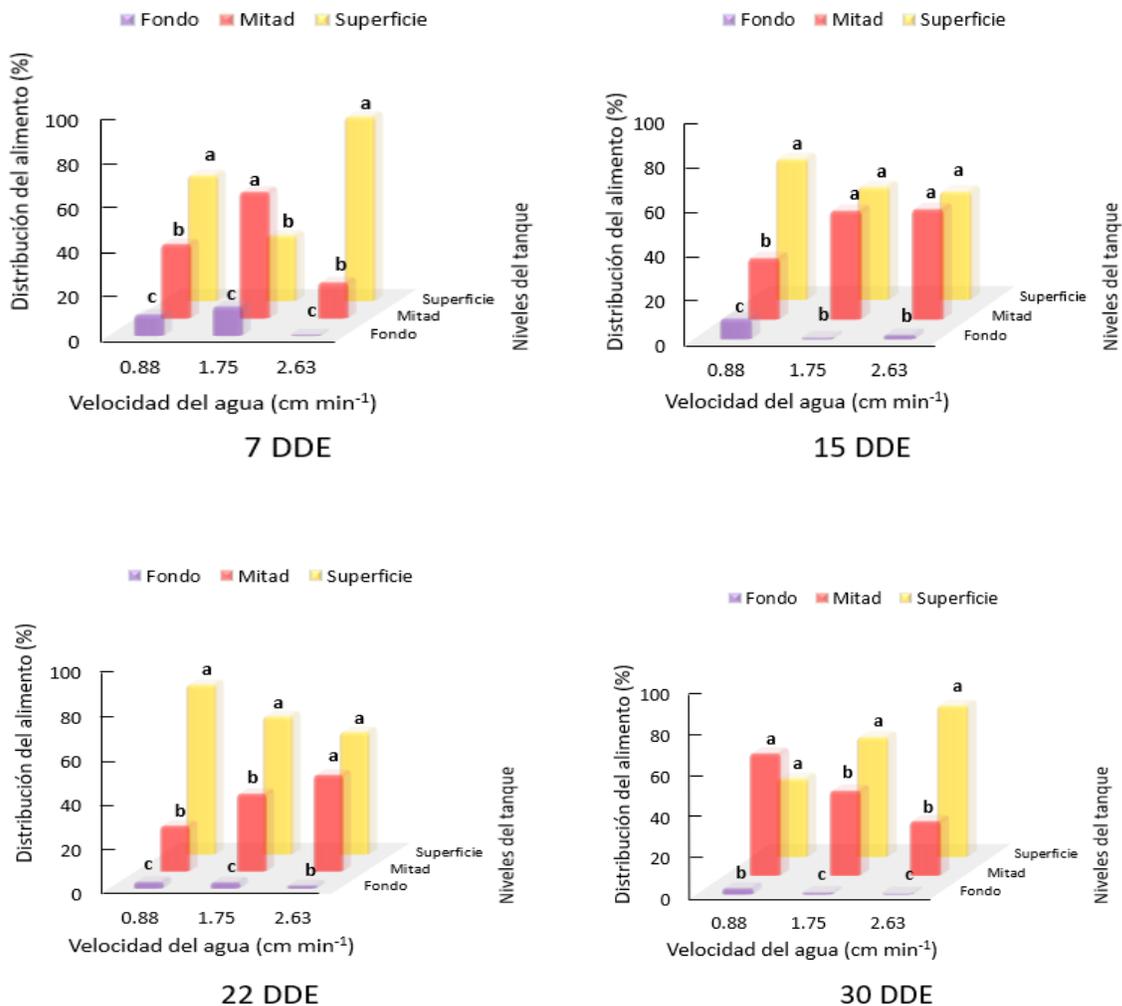


Figura 26. Distribución de alimento vivo (%) en la columna de agua con diferentes velocidades de agua. a, b, c y d, indican los 7, 15, 22 y 30 DDE, respectivamente, de las larvas filosoma de *P. interruptus*

3.9. Consumo de alimento vivo por tratamiento

Por otra parte, el análisis del consumo de alimento indicó que no hubo diferencias entre tratamientos de velocidad de agua, a excepción del día 7 DE en donde se observa el mayor consumo de *Artemia* día⁻¹ larva⁻¹ en el tratamiento de 1.75 cm min⁻¹, mientras que, el menor consumo se obtuvo en el tratamiento de 0.88 cm min⁻¹ (Figura 27).

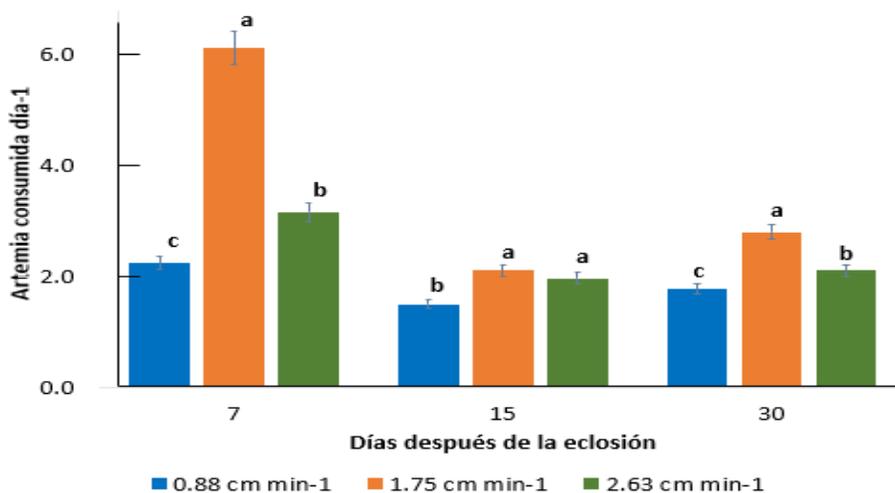


Figura 27. Consumo de alimento vivo (artemias día⁻¹ larva⁻¹).

3.10. Análisis de la turbulencia del agua en los estanques de cultivo

La conformación de los estanques utilizados en el presente estudio, dieron lugar a la producción de movimientos moderados y turbulentos del agua, ya que, la trayectoria del colorante, desde la base del tanque hacia la superficie, fue en forma humeante y ligeramente serpenteante (Ballesteros-Tajadura, 2004).

El grado de turbulencia fue significativamente diferente entre los tres tratamientos de velocidad de agua, puesto que, en el tratamiento de velocidad de agua de 0.88 cm min⁻¹, el colorante permanece en el fondo del tanque hasta 20 s después de haberlo aplicado y no es sino hasta los 30 s que el indicador se desplaza ligeramente hacia la mitad del tanque. En el tratamiento de velocidad de agua de 1.75 cm min⁻¹, el indicador se desplaza lentamente hacia la superficie al instante de haberlo aplicado, a los 30 s se observa distribuido en la mayor parte del tanque tanto vertical como horizontalmente. Finalmente, en el tratamiento de velocidad de agua de 2.63 cm min⁻¹, se observó que el indicador se desplaza rápidamente hacia la superficie al momento de aplicarlo, 30 s después está casi en su totalidad en la superficie del tanque (Figura 28). En los tres tratamientos hubo turbulencia moderada.

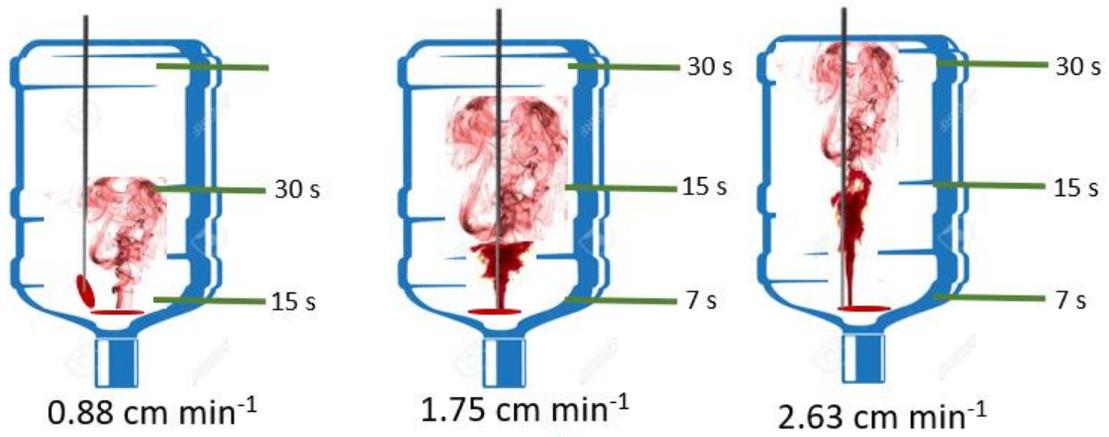


Figura 28. Diagrama de la secuencia de video con intervalos de 7, 15 y 30 s de duración, para evaluar la turbulencia del agua en los tratamientos de velocidad de agua de 0.88, 1.75 y 2.63 cm min^{-1} , usando el colorante rojo neutro como indicador.

Capítulo 4. Discusión

Debido a que la morfología y eficiencia natatoria es diferente para cada especie de larva filosoma, se debe considerar que la velocidad del agua necesaria para lograr un desarrollo óptimo también puede ser diferente. En este sentido, se recomienda utilizar una velocidad menor del agua (0.43 cm min^{-1}) para larvas más grades, ya que son mejores nadadoras, como se ha observado en las larvas filosoma de *J. edwardsii* (Smith *et al.*, 2007; Ruíz-Chavarría, 2013). Por el contrario, en larvas filosoma de *P. interruptus*, su capacidad y velocidad natatoria es menor (Silva *et al.*, 2013), por lo que se requiere aplicar velocidades del agua mayores a 0.88 cm min^{-1} para mantenerse suspendidas en la columna, como se observó en el presente estudio. Este efecto de la velocidad no siempre es así, ya que en estudios previos con las larvas de *P. interruptus*, el efecto de la velocidad del agua sobre la supervivencia de larvas filosoma mostraron que una velocidad lenta de agua o en un cultivo semi estático, resulta en un mayor porcentaje de supervivencia (Dexter, 1972; Bautista-Soto, 2016). En el presente estudio se observó que con el tratamiento de menor velocidad de agua (0.88 cm min^{-1}), las larvas filosoma no tuvieron la capacidad natatoria suficiente para mantenerse en la superficie, y tendían a precipitarse al fondo del tanque. Esto ocasionó que tuvieran menor acceso al alimento, además de que los restos de materia orgánica del fondo del tanque se adherían a sus apéndices, complicando aún más el desplazamiento de las larvas hacia las zonas del tanque donde el alimento estaba disponible y repercutiendo de manera negativa en su supervivencia (29.5%). En contraste, las velocidades intermedia y rápida (1.75 y 2.63 cm min^{-1}) reportaron mayores porcentajes de supervivencia (77.4 y 44.3% respectivamente) a los 30 DDE.

La disminución en la supervivencia de las larvas filosoma estuvo principalmente asociada al desarrollo de bacterias filamentosas epibiotomas, es decir, que utilizan como sustrato la superficie del cuerpo del hospedero, incluyendo las branquias, lo que ocasiona que la larva tenga dificultad para nadar y respirar, cuando la infestación es extrema, las larvas pueden morir por asfixia (Araujo-Delgado, 1999), como se observó en el cuerpo de las larvas filosoma en los tanques. El desarrollo de estos microorganismos se puede controlar con la adición de ozono al agua de mar que se introduce al sistema de cultivo, a una concentración equivalente a un ORP $>300 \text{ mV}$ (Ritar *et al.*, 2006), es posible que la reducción de la concentración de ozono a partir del día 13 de cultivo registrada en este estudio ($<300 \text{ ORP mV}$), permitiera a proliferación de epibiontes.

Una medida auxiliar para reducir la posibilidad de transferencia de organismos perjudiciales para las larvas filosoma, ya sean epibiontes como el que se desarrolló en estos cultivos o patógenos como

bacterias del tipo *Vibrio*, es la desinfección de *A. franciscana*. En este estudio se utilizó formalina como desinfectante, sin embargo, el uso de formalina por sí solo no actuó eficientemente como agente bactericida, pues en el momento que la concentración del ozono disminuyó (por debajo de 400 ORP mV), se incrementó la proliferación bacteriana, resultando en una mortalidad total a los 37 DDE. Otros autores recomiendan utilizar ampicilina a lo largo del estudio de manera periódica, logrando que, larvas filosoma de *P. japonicus* lleguen al estadio XI de desarrollo (Hamasaki *et al.*, 2012). Un efecto similar se obtuvo incrementando la concentración de formalina sin exceder los 80 ppm. junto con la ozonización del agua en larvas de *Sagmariasus verreauxi* (Jensen *et al.*, 2011).

En trabajos recientes con larvas filosoma de *P. interruptus*, se utilizaron flujos de agua entre 1.40 y 1.75 cm min⁻¹ y temperaturas de 24 °C y 18 °C y se obtuvieron supervivencias del 65% a los 22 DDE (Niebla-López, 2016) y 13.3% a los 27 DDE (Pinto-Jiménez, 2016). Por otra parte, en condiciones de cultivos estáticos, Bautista-Soto (2016) reportó una supervivencia larval del 66.6% a los 39 DDE, utilizando recambios de agua diarios del 20% y una temperatura de 22±1 °C; Dexter (1972) también utilizó cultivos semi-estáticos con una concentración inicial de 1800 larvas filosoma (90 larvas filosoma L⁻¹), y una temperatura de 25 °C, reportando una supervivencia del 50% entre cada muda hasta tener una mortalidad total a los 114 DDE.

En el presente estudio se utilizó una densidad de 4000 larvas L⁻¹, y se observó una supervivencia relativamente buena hasta los 30 DDE con el tratamiento de velocidad del agua de 1.75 cm min⁻¹ (77.4%). Por el contrario, Smith y Ritar (2006; 2007), encontraron que el porcentaje de supervivencia cambiaba con respecto a la densidad larval, pues la supervivencia disminuía conforme la densidad de larvas filosoma de *J. edwardsii* aumentaba, independientemente de la velocidad del agua (0.43 o 0.86 cm min⁻¹). Esto no ocurrió de la misma manera en el presente estudio al utilizar una velocidad del agua de 0.88 cm min⁻¹. Lo cual puede deberse a que son especies diferentes con requerimientos del movimiento del agua distintos por cuestiones fisiológicas.

El crecimiento de las larvas filosoma de langostas espinosas también se ve afectado tanto por la densidad en los sistemas de cultivo (Smith y Ritar, 2006), como por la disponibilidad de alimento (Minagawa y Murano, 1992; Ritar, 2001; Liddy *et al.* 2004) y la velocidad del agua (Smith *et al.*, 2007). En el presente estudio, se observó que los 30 DDE, el mayor crecimiento, estimado a partir de la longitud de cefalotórax, fue en el tratamiento de velocidad del agua intermedia (1.75 cm min⁻¹), alcanzando 925 µm (Longitud total de 1.3 mm), mientras que el menor crecimiento, 572 µm (LT: 0.89 mm) se observó en el tratamiento de velocidad del agua menor (0.88 cm min⁻¹). En otros estudios

donde se ha trabajado también con larvas filosoma de *P. interruptus*, se ha reportado que en un periodo entre los 27 a 39 DDE, las larvas alcanzaron tallas de casi el doble de tamaño (de 2.3 a 3.0 mm en LT) a las obtenidas en este trabajo (Mitchell, 1971; Dexter, 1972; Pinto-Jiménez, 2016 y Niebla-López, 2016). Lo anterior pudiese estar relacionado con las menores densidades larvales utilizadas por los autores mencionados (<3000 larvas filosoma L⁻¹).

En el cultivo de otras especies de langosta espinosas, las altas densidades también han tenido un efecto negativo en su crecimiento, ya que se ha observado que en larvas filosoma (en estadio III) de *J. edwardsii* cultivadas con densidades consideradas altas para esta especie (40 a 160 larvas filosoma L⁻¹), alcanzan un menor tamaño (3.6 mm, LT), comparado al de aquellas larvas mantenidas en densidades menores (5 a 10 larvas filosoma L⁻¹) cuya LT fue de 3.9 mm. En cambio, Jensen *et al.* (2013), encontraron que el crecimiento de las larvas de *Sagmariasus verreauxi* ocurre de manera exponencial tanto en densidades bajas (20 larvas filosoma L⁻¹) como en densidades altas (60 larvas filosoma L⁻¹). Además de que estas densidades no tienen efecto sobre la longitud y el ancho del cefalotórax, pero sí sobre el peso seco (60 y 75 mg en densidades alta y baja respectivamente). Conjuntamente se observó en este estudio que el índice de crecimiento larval tanto del cefalotórax como del abdomen en larvas de *P. interruptus* es similar al de *P. japonicus* (Inoue, 1978), ya que en las larvas filosoma en estadio I y II el crecimiento del cefalotórax y abdomen es alométrico.

Los resultados de la disponibilidad de alimento en los diferentes estratos y bajo las diferentes condiciones de velocidad de agua fueron similares a los reportados por Smith *et al.* (2007) para *J. edwardsii*; puesto que, con una ración de 9.4 artemias por larva filosoma, la longitud total fue menor (<0.2 mm) comparado con el crecimiento en una ración 35 artemias por larva filosoma. Como se observó en el presente estudio, el menor crecimiento se obtuvo en el tratamiento de velocidad menor del agua en donde la proporción de artemias disponibles era muy inferior (0.1 artemias por larva filosoma).

Por otra parte, Hamasaki *et al.* (2012) observaron que las larvas de *P. japonicus* en estadios tempranos requerían velocidades del agua mayores a 0.98 cm min⁻¹ para mantenerse suspendidas en la columna de agua, de lo contrario se precipitaban rápidamente al fondo, así como ocurrió en el presente trabajo, donde la gran mayoría de las larvas del tratamiento con menor velocidad de agua (0.88 cm min⁻¹) permanecieron en el fondo del tanque, limitando su capacidad de alimentarse y repercutiendo en su crecimiento.

Con respecto a la duración del periodo de intermuda entre el estadio I al estadio II, la menor fue de 15 días con el tratamiento de velocidad intermedia del agua (1.75 cm min^{-1}). Sin embargo, comparando estos resultados con los de otros autores (Bautista-Soto, 2016; Niebla-López, 2016 y Pinto-Jiménez, 2016) que trabajaron con larvas filosoma de *P. interruptus*, la duración del periodo entre estos estadios fue <12 días. Es poco probable que la temperatura fuera el factor que incidió en la duración del periodo de intermuda, pues esta se mantuvo dentro del intervalo óptimo para la especie.

La fuente de alimento tampoco parece haber ocasionado las diferencias en la duración del periodo de intermuda, pues exceptuando a Dexter (1972), los métodos de enriquecimiento del alimento fueron casi idénticos a lo recomendado por Bautista-Soto (2016). Sin embargo, en el estudio actual no se suministró gónada de mejillón, lo que, con base en estudios realizados por varios autores en esta y otras especies como *J. edwardsii* y *P. japonicus* (Dexter, 1972; Ritar, 2001 y Hamasaki, 2012, respectivamente) es un requerimiento importante para el desarrollo larval. Por lo tanto, la condición de la densidad larval, que fue muy superior a la de otros autores, es el factor más probablemente influyó en la duración del periodo de intermuda entre los estadios I al II, como lo resaltaron Smith *et al.* (2007) para *P. japonicus*, donde la alta densidad larval repercutió negativamente, haciendo más prolongado el tiempo necesario para el cambio de estadio.

La densidad de alimento vivo es otro aspecto importante para garantizar que las larvas tengan un óptimo desarrollo. De acuerdo con lo sugerido por Inoue, (1965) y Smith *et al.* (2007) es recomendable utilizar densidades de hasta 4 artemias ml^{-1} , puesto que, utilizar una densidad mayor repercute de manera negativa sobre el comportamiento de las larvas filosoma. Sin embargo, en el presente estudio, no hubo evidencia de que la densidad de alimento ($6 \text{ artemias ml}^{-1}$) afectara la supervivencia y el crecimiento de las larvas a los 30 DDE. De manera similar, Ritar (2001) y Liddy *et al.* (2004), utilizaron densidades entre $1.5 - 6 \text{ artemias ml}^{-1}$ y $1, 5$ o $10 \text{ artemias ml}^{-1}$, respectivamente, y observaron que la densidad no tuvo efecto sobre la supervivencia de las larvas filosomas de *P. cygnus* en estadios tempranos, ya que obtuvieron supervivencias de 87.8 % en el estadio I y 57.8% en el estadio III. Tampoco encontraron efectos significativos de la densidad de alimento sobre el periodo de intermuda. En contraparte, Minagawa y Murano (1992) encontraron que el uso de densidades de alimento bajas (0.05 y $0.1 \text{ artemias ml}^{-1}$), resulta en altas mortalidades para los estadios II y III (63 y 86% de mortalidad respectivamente) y en un menor crecimiento.

En el presente estudio, la menor tasa de consumo de alimento se observó en el tratamiento de menor velocidad de agua (0.88 cm min^{-1}), este resultado fue similar al reportado por Smith *et al.* (2007),

quienes usaron una velocidad de agua muy parecida (0.86 cm min^{-1}). Sin embargo, a una velocidad más baja aún (0.43 cm min^{-1}) el consumo fue mayor a los 22 DDE. El comportamiento de la *Artemia* puede influir en el consumo de alimento, ya que, en el presente estudio se utilizaron metanauplios y juveniles de *Artemia* de 600 y 1200 μm para las etapas iniciales de desarrollo (larvas filosoma I a III, respectivamente). De acuerdo con Anufrieva y Shadrin (2014), el movimiento de la *Artemia* se vuelve menos errático conforme se va desarrollando, lo que de acuerdo con Cox y Bruce (2003) la hace perceptible y fácil de capturar por parte de la larva filosoma de *J. edwardsii* y *J. verreauxi*. Por esa razón, en el presente estudio se consideró utilizar un tamaño de *Artemia* mayor al del nauplio, adecuándose al tamaño de las larvas filosoma conforme a su etapa de desarrollo (Inoue, 1965; Ritar *et al.*, 2003 y Hamasaki *et al.*, 2012).

En el presente estudio no se encontraron diferencias estadísticas en el consumo de alimento, por lo que el flujo de agua, en los tres tratamientos, no tuvo efecto en la distribución del alimento vivo. Probablemente los factores que influyeron en la distribución del alimento fueron, la etapa de desarrollo de la *Artemia* que se utilizó (metanauplios, juveniles y adultos) y la intensidad lumínica que varió en los diferentes niveles (0.81 , 1.22 y $3.24 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, en el fondo, mitad y superficie del tanque respectivamente), pues, de acuerdo con Gallego-Galiano (2011), sólo durante los 5 a 10 días de vida, la *Artemia* tiene fototropismo negativo.

Con base en los resultados de la distribución del alimento y la distribución larval, se sugiere que la combinación de ambas influyó en la frecuencia de captura de presas, lo que derivó directamente en la supervivencia, el periodo de intermuda y el crecimiento. Contrariamente, Smith y Ritar (2006) encontraron que la velocidad del agua sí tuvo efecto en la distribución del alimento, pues a velocidad baja, las artemias se concentraron en el fondo del recipiente, mientras que, en la velocidad alta, las artemias se distribuyeron uniformemente en el recipiente, en este caso la iluminación fue de menor intensidad ($0.05 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y no pareció ser un factor que influyera en la distribución del alimento.

Por otra parte, Smith *et al.* (2007), mencionan que la turbulencia aumenta conforme se incrementa el flujo del agua en el sistema de cultivo, propiciando que las larvas tengan un gasto energético mayor, que se traduce en una reducción en el crecimiento de las larvas, limitando su supervivencia.

De acuerdo con los resultados de este estudio, la velocidad del agua de 0.88 cm min^{-1} no contribuyó a mantener la flotabilidad de las larvas, por lo que entre el 57 y 78% de las larvas permaneció en el fondo del tanque hasta el final del bioensayo (a los 30 DDE), lo que contribuyó a que la mortalidad fuera

mayor (70.6%). En el tratamiento de 2.63 cm min^{-1} también se observó la influencia de la velocidad del agua, ya que, la mayoría de las larvas se encontraron en la superficie del tanque durante los 30 (66.2 – 96.6%), teniendo una mortalidad a los 30 DDE del 55.8%; finalmente, en el tratamiento de 1.75 cm min^{-1} , se observó que la velocidad del agua tuvo un efecto diferente, puesto que la distribución de las larvas en el tanque fue homogénea hasta los 15 DDE (fondo: 35.9, mitad: 29.8 y superficie: 34.3%); y contrario a lo observado en el tratamiento con menor velocidad de agua, a los 30 DDE las larvas se concentraron más en la superficie del tanque (52.9%), teniendo una mortalidad del 22.6%.

Con base en el trabajo de Ballesteros-Tajadura *et al.* (2004) se corroboró que el flujo de agua en los tanques de cultivo ocurre de manera moderada a ligeramente turbulenta, lo que sugiere que, a pesar de no tener un flujo laminar, el grado de turbulencia no es suficientemente alto para repercutir negativamente sobre el desarrollo y supervivencia de las larvas filosoma en este estudio.

Se recomienda continuar con el estudio de otros factores que influyen sobre el crecimiento y la supervivencia de larvas filosoma de *P. interruptus* como pueden ser modificaciones en el sistema de cultivo para evitar deficiencias en el suministro de ozono y velocidad de agua, mejorar las medidas sanitarias y mantener las condiciones idóneas de ozono durante todo el estudio, entre otros.

Capítulo 5. Conclusiones

1. La supervivencia y el crecimiento de larvas filosoma de *P. interruptus* fueron mayores en la velocidad del agua de 1.75 cm min^{-1} .
2. El periodo de intermuda fue menor en la velocidad del agua de 1.75 cm min^{-1} .
3. El estadio III solo se alcanzó en larvas cultivadas a la velocidad del agua de 1.75 cm min^{-1} .
4. El menor consumo de alimento vivo se registró en la velocidad del agua de 0.88 cm min^{-1} durante todo el estudio.
5. La distribución de larvas filosoma en la velocidad del agua de 1.75 cm min^{-1} , se encontró en la mitad y en la superficie; en las otras velocidades se encontraron es un estrato, en el fondo para velocidad de 0.88 cm min^{-1} , y en la superficie para la velocidad de 2.63 cm min^{-1} .
6. Las velocidades de agua evaluadas en el presente estudio no tienen efecto sobre la distribución del alimento vivo (*Artemia*) en la columna del tanque.
7. El flujo de agua de los tanques de cultivo tiene una turbulencia moderada.

Literatura citada

- Anufrieva, E. V., & Shadrin, N. V. (2014). The swimming behavior of *Artemia* (Anostraca): new experimental and observational data. *Zoology*, 117(6), 415-421.
- Araujo-Delgado, N. (1999). Uso de Cloramina T. para el control de bacterias filamentosas (*Leucothrix mucor*) en post-larvas de camarón (*Pennaeus vanamei*). (Tesis de Licenciatura en Ciencias). <http://hdl.handle.net/11036/2592>.
- Ballesteros-Tajadura, R. (2004). Turbulencia. Universidad de Oviedo, Área de Mecánica de Fluidos. Curso 2004-2005.
- Bautista-Soto, I. M. (2016). Crecimiento y supervivencia de larvas filosoma tempranas de langosta roja *Panulirus interruptus* alimentadas con nauplios de *Artemia* enriquecidos. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, 53 p.
- Benavente, G.P., Gatesoupe, F.J. (1988). Bacteria associated with cultured rotifers and *Artemia* are detrimental to larval turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Aquac. Eng.* 7, 289–293.
- Brusca, R. C., & Brusca, G. J. (2003). Phylum Arthropoda: The Crustacea. Invertebrates. Sinauer Associates, Massachusetts, 511-587.
- Bunbury, E. (2008). El porqué de tus silencios, Hellville de Luxe, [iTunes]. Publicado por Parlophone Music Spain, S.A.
- Caballero-Pinzón, P. I. y Aldama-Dzul, F. (1994). Captura de Langosta. Secretaría de Pesca. ISBN 968-817-303-7.
- CONAPESCA. (2013). Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca. p. 30: (299).
- Cox, S. L. y Bruce, M. P. (2003). Feeding behaviour and associated sensory mechanisms of stage I-III phyllosoma of *Jasus edwardsii* and *Jasus verreauxi*, *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* (2003), 83, 465 - 468.
- Cruz-Izquierdo, R., Baisre-Álvarez, J. A., Díaz-Iglesias, E., Brito-Pérez, R., García-Díaz, C., Blanco-Avilés, W. y Carrodegas-Rodríguez, C. (1987). Atlas. Biológico-Pesquero de la langosta en el Archipiélago Cubano. pp. 1 – 12.
- Dexter, D. M. (1972). Molting and growth in laboratory reared phyllosomes of the California spiny lobster, *Panulirus interruptus*. *California Fish and Game* 58(2):107-115.
- FAO. (1989). La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura, una diagnosis. Capítulo IV cultivo de *Artemia salina*, Recuperado el 10 de marzo de 2016 de <http://www.fao.org/3/contents/36ec64d7-d6e7-52c38d43dc199945d143/AB473S04.htm#chIV>
- FAO Species catalogue. (1991). Marine lobsters of the world. An annotated and illustrated catalogue of species of interest to fisheries known to date. FAO Fisheries Synopsis. No. 125, Vol. 13. Rome, FAO. 1991. 292 p.

- FAO. (2014). Species identification guide for fishery purposes. The living marine resources of the eastern central atlantic, Vol. 1 Introduction, crustaceans, chitons and cephalopods. ISSN 1020-6868. pp. 197 – 211.
- FAO. (2016). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma. 224 p.
- Francis, D. S., Salmon, M. L., Kenway, M. J. y Hall, M. R. (2014). Palinurid lobster aquaculture: nutritional progress and considerations for successful larval rearing. Australian Institute of Marine Science, Townsville, Qld, Australia. *Reviews in Aquaculture* (2014) 6, 180–203
- Funes-Rodríguez R., Ruíz-Chavarría J. A., González-Armas R., Durazo R. y Guzmán-del Proó S. A. (2015). Influence of Hydrographic Conditions on the Distribution of Spiny Lobster Larvae off the West Coast of Baja California, *Transactions of the American Fisheries Society*. 1548-8659 (Online) Journal homepage: <http://www.tandfonline.com/loi/utaf20>
- Gallego Galiano, P. (2011). Efecto del fototropismo en larvas y juveniles de *Artemia* (*Artemia franciscana*, Kellogg, 1906). *Anales Universitarios de Etología*, 5:14-20
- García-Rodríguez, F. J., Perez-Enriquez, R. y Medina-Espinoza, A. (2017). Genetic variability and historic stability of the California spiny lobster *Panulirus interruptus* in the Gulf of California. *Fisheries Research* 185 (2017) 130–136.
- Gurney, R. (1960) Bibliography of the larvae of Decapod Crustacea and: larvae of Decapod Crustacea 1939-1942. *Historia Naturalis Classica* 8:430.
- Haché R., Lanteigne, C. y Hébert Y. (2016). Salt as a decontamination agent to control bacterial load in *Artemia salina* cultures. *Aquaculture* 452 (2016) 24–27.
- Hamasaki, K., Mizumoto, Y., Jinbo, T. y Murakami K. (2012). Ontogenetic change of body density and shape of the phyllosoma larvae of the japanese spiny lobster *Panulirus japonicus*. *Journal of crustacean biology*, 32(3), 395-404, 2012.
- Inoue, M. (1965). On the relation of amount of food taken to the density and size of food and water temperature in rearing the phyllosoma of the japanese spiny lobster *Panulirus japonicus* (V. Siebold). *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* Vol. 31, No. 11.
- Inoue, M. (1978). Studies on the Cultured Phyllosoma Larvae of the Japanese Spiny Lobster, *Panulirus japonicus*. Morphology of the Phyllosoma. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 44 (5) 457-475 (1978).
- Jensen, M. A., Ritar A. J., Burke C. y Ward L. R. (2011). Seawater ozonation and formalin disinfection for the larval culture of eastern rock lobster, *Jasus* (*Sagmariasus*) *verreauxi*, phyllosoma. *Aquaculture* 318 (2011) 213–222.
- Jensen, M. A., Fitzgibbon, Q. P., Carter, C. G. y Adams, L. R. (2013). The effect of stocking density on growth, metabolism and ammonia–N excretion during larval ontogeny of the spiny lobster *Sagmariasus verreauxi*. *Aquaculture* 376-379 (2013) 45–53.

- Johnson, M. W. (1956). The larval development of the California spiny lobster, *Panulirus interruptus* (Randall), with notes on *Panulirus gracilis* streets. Proceedings of the California Academy of Sciences, 29, 1-19.
- Johnson, M. W. (1960). The offshore drift of larvae of the California spiny lobster *Panulirus interruptus*, California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations, reports volume vii, 1 January 1958 to 30 June 1959. 147 – 161.
- Johnson, M. W. y Knight M. (1966). The phyllosoma larvae of the spiny lobster *Panulirus inflatus* (BOUVIER). Contribution from the Scripps Institution of Oceanography, New Series. Crustacean, 10 (1): 31-47. <http://www.jstor.org/stable/20102714>.
- Kittaka, J. (1997). Application of ecosystem culture method for complete development of phyllosomas of spiny lobster. Aquaculture, 155(1-4), 319–331. [http://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00100-2](http://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00100-2).
- Liddy, G. C., Phillips, B. F. y Maguire, G. B. (2004). Effects of temperature and food density on the survival and growth of early stage phyllosoma of the western rock lobster, *Panulirus cygnus*. Aquaculture 242 (2004) 207–215
- Martín, H. Bentazos-Vega, A., Simanca, J. y Puga, R. (2017). Simulación de la deriva de larvas de langosta en aguas oceánicas adyacentes a la plataforma suroccidental de Cuba: Aplicación del modelo biofísico LADIM. Revista de Biología Marina y Oceanografía Vol. 52, N°2: 289-297, agosto 2017. DOI 10.4067/S0718-19572017000200008
- Merchie, G. Use of nauplii and meta-nauplii, Laboratory of Aquaculture & *Artemia* Reference Center University of Gent, Belgium, FAO, (Citado el 01 de mayo de 2017).
- Merino, O. G. y Sal, M. F. (2007). Sistemas de Recirculación y Tratamiento de agua. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos CENADAC (Santa Ana- Corrientes).
- Minagawa, M. y Murano, M. (1992). Effects of prey density on survival, feeding rate and development of zoeas of the red frog crab *Ranina ranina* (Crustacea, Decapoda, Raninidae). Aquaculture, 113 (1993) 91-100 Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.
- Mitchell, C. T., Turner, C. H. y Strachan A. R. (1969). Observation on the Biology and behavior of the California Spiny Lobster, *Panulirus interruptus* (Randall)¹. Calif. Fish and Game, 55 (2): 121 – 131. 1969.
- Mitchell, J. (1971). Food preferences, feeding mechanisms, and related behavior in phyllosoma larvae of the California spiny lobster, *Panulirus interruptus* (Randall). (Tesis de Maestría en Ciencias). Faculty of San Diego State College. 110p.
- Nicovita. (2004). Boletín Camarón de mar, Vol. 9, pp. 3.
- Niebla-López, B. A. (2016). Efecto de dos temperaturas en el desarrollo larval de la langosta roja *Panulirus interruptus*. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 85 p.

- Padilla-Ramos, S. y Briones-Fourzán, P. (1997). Características biológicas de las langostas (*Panulirus* spp.) provenientes de las capturas en Puerto Morelos, Quintana Roo, México. *Ciencias Marinas*, 23(2): 175 – 193.
- Pal, P., Khairnar K. y Paunikar W. N. (2014). Causes and remedies for filamentous foaming in activated sludge treatment plant. *Global NEST Journal*, 16 (4): 762-772, Global NEST. Printed in Greece.
- Peñaloza, M. C. (2008). Dinámica larval de langosta roja (*Panulirus interruptus*) en la costa occidental de la península de Baja California, México, durante el ENOS, 1997-1999. (Tesis de maestría en ciencias en manejo de recursos marinos), La Paz, B. C. S., México.
- Phillips, B. F. (1980). *The Biology and Management of Lobsters, Volume II, Ecology and Management*, Academic Press, pp.12 – 15.
- Phillips, B. F. y Kittaka J. (2000). *Spiny lobsters: Fisheries and culture. Ecology and Fishery Biology of the spiny lobsters*. (2nd. ed.). Fishing News Books. Blackwell Science. pp. 1 – 32.
- Phillips, B. F. (2006). *Lobsters; Biology, management, Aquaculture and fisheries*, 1st edition, Wiley – Blackwell, pp. 92 – 94; 231 - 238.
- Phillips, B. F. (2013). *Lobsters; Biology, management, Aquaculture and fisheries*, (2nd ed.), Wiley – Blackwell, pp. 305 – 307.
- Pinto-Jiménez, J. (2016). Desarrollo larval y composición de ácidos grasos de la langosta roja *Panulirus interruptus* alimentada con nauplios de *Artemia franciscana* enriquecidos con diferentes dietas. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 85 p.
- Ramírez, J., Castrejón, M. y Toral Granda. M.V. (2012). Mejorando la pesquería de langosta espinosa en la Reserva Marina de Galápagos. WWF. Galápagos, Ecuador. X pp.
- Ritar, A. J. (2001). The experimental culture of phyllosoma larvae of southern rock lobster (*Jasus edwardsii*) in a flow-through system. *Aquacultural Engineering* 24 (2001) 149–156. www.elsevier.nl/locate/aqua-online.
- Ritar, A. J., Smith, G. G., Dunstan, G. A., Brown M. R. y Hart P. R. (2003). *Artemia* prey size and mode of presentation: Effects on the survival and growth of phyllosoma larvae of southern rock lobster (*Jasus edwardsii*), *Aquaculture International* 11: 163–182, 2003. Netherlands.
- Ritar, A. J., Smith, G. G. y Thomas, C. W. (2006). Ozonation of seawater improves the survival of larval southern rock lobster, *Jasus edwardsii*, in culture from egg to juvenile. *Aquaculture* 261 (2006) 1014–1025. www.elsevier.com/locate/aqua-online.
- Ruiz-Chavarría, J. A. (2013). Distribución y abundancia de larvas de langosta roja (*Panulirus interruptus*) en la costa Occidental de la península de Baja California durante 2006 – 2008. Tesis de maestría en ciencias. La Paz, B. C. S. pp 68.
- Silva, A., Díaz-Iglesias, E., & Serrano-Flores, E. D. (2013). Oxygen consumption of phyllosoma-1 larvae of the red spiny lobster (*Panulirus interruptus*), in v. *Hidrobiológica*, 23(3), 303–312.
- Smith, G. G. y Ritar, A. J. (2006). The influence of animal density and water turbulence on growth and survival of cultured spiny lobster (*Jasus edwardsii*) larvae. *Aquaculture* 258 (2006) 404–411.

- Smith, G. G., Lyall, L., & Ritar, A. J. (2007). The effect of predator/prey density and water dynamics on feed intake and growth in spiny lobster larvae (*Jasus edwardsii*). *Aquaculture*, 263(1-4), 122–129. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.12.010>.
- Vega-Velázquez, A., Treviño-García, E., Espinoza-Castro, G. y Zúñiga-Pacheco, C. L. (2010). Evaluación de la pesquería de langosta roja (*Panulirus interruptus*) en la región centro occidental de la Península de Baja California, mediante modelos dinámicos de biomasa: puntos de referencia y recomendaciones de manejo. Dirección General de Investigación Pesquera en el Pacífico Norte. pp. 21
- Waterman, T. H. (1961). The physiology of Crustacea. Sense organs, integration and behavior, Vol. 2, Academic Press Inc., USA, pp. 335 – 346; 432 - 445.
- Lee, D. O´C. y Wickins J. F. y. (1992). Crustacean Farming. Wiley-Blackwell. pp. 8 – 18.
- Wickins J. F. y Lee, D. O´C. (2002). Crustacean Farming Ranching and Culture. (2nd. ed.) Blackwell Science Ltd. U. K. 463 (5). pp. 5; 16.