



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
UNIDAD MULTIDISCIPLINARIA DE DOCENCIA E INVESTIGACIÓN,
CAMPUS SISAL

COMPORTAMIENTO DE SUJECIÓN AL SUSTRATO EN
JUVENILES TEMPRANOS DEL CABALLITO DE MAR
Hippocampus ingens (GIRARD, 1858)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN MANEJO SUSTENTABLE DE
ZONAS COSTERAS

P R E S E N T A:

DIEGO RUIZ ORTA

DIRECTORA DE TESIS:
DRA. MAITE MASCARÓ MIQUELAJAUREGUI

Sisal, Yucatán, México 2017





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Hoja de Datos

1. Datos del alumno

Diego Ruiz Orta

Tel. +52 55 56305923

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias, Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación,
Campus Sisal

Manejo Sustentable de Zonas Costeras

310215998

2. Datos del jurado

Directora de Tesis Secretaria	Dra. Maite Mascaró Miquelajauregui Facultad de Ciencias, Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación, Campus Sisal, UNAM
Presidente	Dr. Armando Adolfo Ortega Salas Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Unidad Académica Mazatlán, UNAM
Vocal	M. en C. Adolfo Sánchez Zamora Facultad de Ciencias, Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación, Campus Sisal, UNAM
Suplente	Dra. Claudia Verónica Durruty Lagunes Facultad de Ciencias, Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación, Campus Sisal, UNAM
Suplente	M. en C. Gemma Leticia Martínez Moreno. Facultad de Ciencias, Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación, Campus Sisal, UNAM

3. Datos del trabajo

Comportamiento de sujeción al sustrato en juveniles tempranos del caballito de
mar *Hippocampus ingens* (Girard 1858)

72 p

2017

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme cabida en su seno y darme todo lo necesario para que triunfe como profesionista. Siempre estaré en deuda contigo mi segunda casa, mi *alma mater*. Mi corazón siempre será azul y mi piel dorada.

A la Dra. Maite por permitirme desarrollar mi tesis dentro de su grupo de trabajo, por darme todo lo necesario para llevar a cabo mi experimento y por su apoyo constante a lo largo de todo este proceso, no solo académico si no también personal. Muchas Gracias.

Al Programa de Investigación en Ecología y Conducta de Especies Marinas Ornamentales (PIECEMO) y especialmente al Dr. Nuno Simões por ser una parte fundamental en el planteamiento de este proyecto de investigación. Así como a la M. en C. Gemma Martínez por enseñarme lo necesario en el cultivo de caballitos de mar.

Al proyecto PAPIIT IN219816 “Respuestas fisiológicas, bioquímicas y conductuales de los juveniles tempranos de caballito de mar, *Hippocampus erectus* en el límite de su zona de tolerancia térmica” por otorgarme una beca de conclusión de estudios.

A Eliezer Zúñiga por abrirme las puertas a su granja y darme todo lo necesario para que la fase experimental de mi tesis pudiera desarrollarse. Así como al personal de la granja INGENS Cultivos Marinos: Jesús Noriega y Porfirio Ramírez.

Agradezco a mi comité de evaluación de tesis Dra. Claudia Durruty, M. en C. Gemma Martínez, Dr. Armando Ortega y M. en C. Adolfo Sánchez por su tiempo, apoyo y conocimiento brindado.

A todos los profesores de la Licenciatura, que contribuyeron en mi formación.

Agradecimientos Personales

Primero que nada, quiero agradecer a mis papás Juana Orta Martínez y Héctor Ruiz Soria por su apoyo incondicional, no solo en la licenciatura, si no a lo largo de toda mi vida. MUCHISIMAS GRACIAS!!!

A toda mi familia, especialmente a mi primo-hermano Javier Aguilar Orta, por su constante apoyo, eres un pilar fundamental de mi vida. Gracias

A mi Dream Team: Rodriguito (te espero en el GOYA), Omar (Roomie eterno), Roy Don y Daniel. Gracias por todo, las risas, las fiestas, los trabajos a último momento, los consejos, los malentendidos, TODO. Sin ustedes mi licenciatura no habría sido igual. Los llevaré siempre en mi corazón.

A Manuel Valenzuela por sus consejos, sus enseñanzas, risas, carnes asadas. Más que un profesor me llevo un amigo. Gracias por estar siempre pendiente de mí.

A la séptima generación, Valeria, “Champions”, Rosa, Javier, Scarlett, Marianita, Jeanine, Artur, Perla, Katya y Néstor que para bien o para mal siempre estuvimos presentes, crecimos todos juntos.

A todas las personas que hicieron de mi estancia en Sisal una experiencia inolvidable. A Janeth, Diego Vázquez “Tocayo”, Dianita, Erick Gallo, Américo, Paulina, Carmen, Robert, Ainoha, Xurxo, Giani, Eli, Roxana, Evelyn, Misha, Fernanda, Melissa, Brenda “Lechona”, Karlita (bendición), Isa y los que se me escapen. Gracias

Y por último a Sisal y su gente: Doña Gaby y su familia, Doña Sonia, Chuta, Ron, Coco, Pecas, y demás pescamigos, por 5 años fueron mi casa, por 5 años llenos de experiencias, siempre los atesoraré.

Índice

1. Resumen	11
2. Introducción.....	12
3. Antecedentes.....	14
3.1. La industria de la Acuarofilia	14
3.2. Caballitos de mar: biología y ecología	17
3.3. Caso de Estudio: <i>Hippocampus ingens</i>	21
4. Hipótesis	24
5. Objetivos	24
6. Material y Métodos.....	25
6.1. Sitio de estudio	25
6.2. Origen de los organismos experimentales	28
6.3. Diseño experimental	28
6.4. Observaciones	31
6.4.1. Observaciones del Ciclo de Actividad Diurna	33
6.4.2. Observaciones del Ciclo de Alimentación	34
6.5. Análisis Estadístico	34
7. Resultados	37
7.1. Cambios en el comportamiento en un ciclo de actividad diurna (Fase I)	40
7.2. Cambios en el comportamiento en un ciclo de actividad diurna (Fase II)	44
7.3. Cambios en el comportamiento relacionados a la alimentación (Fase I)	47
7.4. Cambios en el comportamiento relacionados a la alimentación (Fase II)	51
8. Discusión	54
9. Conclusiones.....	62
10. Bibliografía	64

Lista de Figuras

Figura 1. Morfología externa de un ejemplar de caballito de mar (Modificado de Lourie <i>et al.</i> , 2004).....	18
Figura 2. A y B) Ejemplos de coloración en adultos de <i>H. ingens</i> (Fotos Alicia Hermosillo y Felipe Charo). C) Distribución de <i>H. ingens</i> . Fuente. Lourie <i>et al.</i> , 2004.	22
Figura 3. Instalaciones del área de reproductores, granja INGENS Cultivos Marinos.....	25
Figura 4. Estanques exteriores para juveniles tempranos, granja INGENS Cultivos Marinos.....	26
Figura 5. Estanques exteriores sub-adultos, granja INGENS Cultivos Marinos. ...	26
Figura 6. Área alimento vivo. A y B) Equipo donde se eclosionan cistes de artemia. C) Estanques de engorda de artemia, granja INGENS Cultivos Marinos.....	27
Figura 7. A) Primera etapa del sistema de filtrado de agua de la granja. Filtros de arena. B) Segunda etapa del sistema de filtrado de agua de la granja. Filtros de luz ultravioleta (UV).....	27
Figura 8. Reproductores de <i>Hippocampus ingens</i>	28
Figura 9. Acuarios experimentales mostrando líneas de aireación y redes de plástico que ofrecían las estructuras de sujeción a los caballitos. El primer grupo de peceras (izquierda) corresponde al tratamiento de baja densidad y el segundo (derecha) al de alta densidad.	29

Figura 10. Detalle de las estructuras de sujeción utilizadas como sustrato artificial durante los experimentos sobre comportamiento de sujeción de juveniles de <i>H. ingens</i> mantenidos en densidades baja (8 individuos <i>l</i> -1: izquierda) y alta (16 individuos <i>l</i> -1: derecha).....	30
Figura 11. Fotografía mostrando a los caballitos <i>H. ingens</i> libres o distribuidos en la columna de agua (conducta llamada “suelos”) durante experimentos para analizar los cambios en la conducta de sujeción de juveniles tempranos de esta especie.	32
Figura 12. Fotografía mostrando a los caballitos <i>H. ingens</i> A) sujeto a un sustrato de manera individual; y B) un grupo de caballitos de mar sujetos al sustrato artificial durante experimentos para analizar los cambios en la conducta de sujeción de juveniles tempranos de esta especie.	32
Figura 13. Esquema detallando un pulso en el registro de datos.....	33
Figura 14. Supervivencia de los juveniles de <i>H. ingens</i> a lo largo del experimento. Los valores son promedios \pm desviación estándar; $n = 8$ acuarios en cada tratamiento de densidad. Se indican los días de inicio de la fase crítica (F-I) e intermedia (F-II). En el día 0 los caballitos tenían 15 días de edad.	38
Figura 15. Variables fisicoquímicas reportadas a lo largo del experimento. Los valores son promedios \pm desviación estándar; $n = 16$. A) Salinidad (ups) y B) Temperatura ($^{\circ}\text{C}$).	39
Figura 16. Porcentaje de juveniles de <i>H. ingens</i> con 15 días de nacidos (F-I) que fueron registrados sueltos en la columna de agua o agarrados a un sustrato artificial durante observaciones realizadas a las 8:00 (mañana), 12:00 (mediodía), 15:30 (tarde) y 18:30 (noche) en dos tratamientos de densidad: A) baja y B) alta; $n = 8$ acuarios; $N = 1383$ individuos en total.....	41

Figura 17. Porcentaje de juveniles de *H. ingens* con 21 días de nacidos (F-II) que fueron registrados sueltos en la columna de agua o agarrados a un sustrato artificial durante observaciones realizadas a las 8:00 (mañana), 12:00 (mediodía), 15:30 (tarde) y 18:30 (noche) en dos tratamientos de densidad: A) baja y B) alta; n = 8 acuarios; N = 821 individuos en total..... 45

Figura 18. Esquema mostrando la interacción de los factores para el análisis de independencia del comportamiento de sujeción de juveniles tempranos de *H. ingens* en diferentes momentos de un ciclo de actividad diurna (A) y en diferentes momentos relacionados a la alimentación (B)..... 47

Figura 19. Porcentaje de juveniles de *H. ingens* con 21 días de nacidos (F-I) que fueron registrados sueltos en la columna de agua o agarrados a un sustrato artificial durante observaciones realizadas a 120 minutos antes de alimentar (Antes), durante la alimentación (Durante) y después de haber sido alimentados (Después), tanto en el periodo de alimentación de las 10:00 (A), como en el de las 14:30 (B); n = 8 acuarios; N = 6343 individuos en total. 49

Figura 20. Porcentaje de juveniles de *H. ingens* con 21 días de nacidos (F-II) que fueron registrados sueltos en la columna de agua o agarrados a un sustrato artificial durante observaciones realizadas a 120 minutos antes de alimentar (Antes), durante la alimentación (Durante) y después de haber sido alimentados (Después), tanto en el periodo de alimentación de las 10:00 (A), como en el de las 14:30 (B); n = 8 acuarios; N = 3645 individuos en total.. 52

Lista de Tablas

- Tabla 1. Frecuencia de juveniles de *H. ingens* con 15 días de nacidos (F-I) que fueron registrados sueltos en la columna de agua o agarrados a un sustrato artificial durante observaciones realizadas a las 8:00 (Mañana), 12:00 (Mediodía), 15:30 (Tarde) y 18:30 (Noche) en dos tratamientos de densidad (Baja y Alta). El porcentaje del total de individuos en los acuarios se muestra entre paréntesis; n = 8 acuarios; N = 1383 individuos en total. 42
- Tabla 2. Resultados de las pruebas estadísticas de χ^2 aplicadas a la frecuencia de juveniles de *H. ingens* con 15 días de nacidos (F-I) que fueron registrados desplegando alguno de dos comportamientos (conducta) durante observaciones realizadas a diferentes horas del día (momentos) en dos tratamientos de densidad (densidad). También se presentan los valores del estadístico, la significancia y el resultado interpretativo de cada prueba; * $p < 0.05$, ns $p \geq 0.05$ 43
- Tabla 3. Frecuencia de juveniles de *H. ingens* con 21 días de nacidos (F-II) que fueron registrados sueltos en la columna de agua o agarrados a un sustrato artificial durante observaciones realizadas a las 8:00 (Mañana), 12:00 (Mediodía), 15:30 (Tarde) y 18:30 (Noche) en dos tratamientos de densidad (Baja y Alta). El porcentaje del total de individuos en los acuarios se muestra entre paréntesis; n = 8 acuarios; N = 821 individuos en total..... 46
- Tabla 4. Resultados de las pruebas estadísticas de χ^2 aplicadas a la frecuencia de juveniles de *H. ingens* con 21 días de nacidos (F-II) que fueron registrados desplegando alguno de dos comportamientos (conducta) durante observaciones realizadas a diferentes horas del día (momentos) en dos tratamientos de densidad (densidad). También se presentan los valores del estadístico, la significancia y el resultado interpretativo de cada prueba; * $p < 0.05$, ns $p \geq 0.05$ 46

Tabla 5. Frecuencia de juveniles de *H. ingens* con 21 días de nacidos (F-I) que fueron registrados sueltos en la columna de agua o agarrados a un sustrato artificial durante observaciones realizadas a 120 minutos antes de alimentar (Antes), durante la alimentación (Durante) y después de haber sido alimentados (Después), tanto en el periodo de alimentación de las 10:00 horas (A), como en el de las 14:30 horas (B); n = 8 acuarios; N = 6343 individuos en total. 50

Tabla 6. Frecuencia de juveniles de *H. ingens* con 21 días de nacidos (F-II) que fueron registrados sueltos en la columna de agua o agarrados a un sustrato artificial durante observaciones realizadas a 120 minutos antes de alimentar (Antes), durante la alimentación (Durante) y después de haber sido alimentados (Después), tanto en el periodo de alimentación de las 10:00 horas (A), como en el de las 14:30 horas (B); n = 8 acuarios; N = 3645 individuos en total.. 53

1. Resumen

Los caballitos de mar (género *Hippocampus*) son especies vulnerables, fuertemente amenazadas. Como parte de las estrategias de mitigación hacia la sobreexplotación de este recurso se ha planteado la acuicultura. Una de las principales dificultades del cultivo de especies marinas de ornato es la falta de información en las primeras etapas de vida, lo que conlleva a un pobre desempeño y consecuentemente altas tasas de mortalidad. Es por esto que el objetivo general de este trabajo es describir el comportamiento de sujeción de juveniles tempranos de *Hippocampus ingens* en diferentes momentos del día, diferentes momentos relacionados a la alimentación y con diferentes densidades de siembra. Se realizaron una serie de observaciones para cuantificar el comportamiento de sujeción registrando el número de animales sueltos en la columna de agua y sujetos al sustrato o entre ellos. Se evaluaron 3 factores, momento del día, densidad y momentos asociados a la alimentación. Las observaciones del momento del día se tomaron en 4 momentos (mañana, mediodía, tarde y noche), y las asociadas a la alimentación en 3 (antes, durante y después). Se tomaron en cuenta dos densidades de cultivo (8 y 16 ind l^{-1}) en dos etapas del desarrollo ontogénico (Fase I o crítica, y Fase II o intermedia). Los resultados demostraron que los juveniles de *H. ingens* tienen la habilidad de sujeción a los pocos días de nacidos, sin embargo, la mayor parte del tiempo están sueltos en la columna de agua. Son animales diurnos, presentando su pico de actividad alrededor de mediodía, y en las horas de penumbra disminuyen su actividad hasta ser prácticamente nula, es en estas horas donde se encuentran la mayor proporción de caballitos sujetos al sustrato. La presencia de alimento no modifico su conducta de sujeción, pero su nado si fue más activo al ir en busca del alimento. La densidad de cultivo tampoco afecto su conducta de sujeción sin embargo afecto negativamente a la sobrevivencia. No hubo diferencias significativas entre ambas etapas del desarrollo ontogénico evaluadas.

2. Introducción

La industria de la acuarofilia es un mercado que se encuentra en expansión. El aprovechamiento de especies de ornato marinas es una actividad productiva que se ha desarrollado, según algunos reportes (Wijesekara & Yakupitiyage, 2001; Wabnitz *et al.*, 2003) desde los inicios de la industria en Sri Lanka durante los años 1930. Sin embargo, no fue sino hasta los años de 1950 que la industria tomó mayor relevancia con un incremento en los sitios de extracción como lo son Hawái y Filipinas.

Los caballitos de mar son una de las principales especies buscadas en el comercio de especies marinas ornamentales. Sin embargo, también son de las más vulnerables (Wabnitz *et al.*, 2003; IUCN, 2016). Sus poblaciones naturales han descendido drásticamente debido a la sobreexplotación del recurso con fines ornamentales, para el mercado de suvenires y para satisfacer las necesidades de la Medicina Tradicional China (Koldewey & Martin-Smith, 2010). La acuicultura se ha planteado como una posible medida de mitigación contra la captura de estos especímenes del medio silvestre (Koldewey & Martin-Smith, 2010; Olivotto *et al.*, 2011).

Dentro de los aspectos que se toman en cuenta para la crianza de cualquier especie de aprovechamiento por el hombre es el bienestar animal (Damsgård *et al.*, 2006). Este concepto busca principalmente tres objetivos: 1) que los animales lleven vidas lo más cercano a las naturales a través del desarrollo y uso de sus adaptaciones y capacidades innatas, 2) que los animales estén libres de dolor, sufrimiento y estados negativos como el estrés, y 3) que los animales tengan buena salud, buen crecimiento y que su fisiología y conducta sean normales (Fraser *et al.*, 1997). En este contexto, la investigación sobre los hábitos de vida de los organismos, y la manera cómo se expresan en condiciones de cautiverio son de gran relevancia en el ámbito de la producción animal con cualquier fin, incluyendo el comercial. Esto adquiere más relevancia en el ámbito de las

especies ornamentales, ya que este mercado demanda requisitos estéticos muy particulares (patrones de coloración, determinadas formas, apéndices, entre otros), y para poder desplegar esas características es necesario que posean de una buena salud (Håstein *et al.*, 2005).

Los caballitos de mar tienen varias adaptaciones morfológicas sorprendentes, entre las que se destaca la ausencia de una aleta caudal, misma que se reemplaza por una cola prensil con la capacidad de plegarse ventralmente. Esto hace que su nado no sea muy eficaz, por lo que pasan la mayor parte del tiempo sujetos a estructuras como macroalgas, corales y esponjas, entre otras (Foster & Vincent, 2004; Lourie *et al.*, 2004). Es por esto que, como parte de los protocolos de cultivo de estas especies, se considera necesario proveerles de alguna estructura para que puedan sujetarse.

Como el caso de varias especies marinas, un aspecto importante que cuidar en el cultivo de caballitos de mar es la fase de los juveniles. Esta fase es crítica para su desarrollo y posterior sobrevivencia, y es donde se presentan las mayores tasas de mortalidad (Olivotto *et al.*, 2011). Algunos autores han sugerido que esto se debe principalmente porque no existe mucha información en cuanto a la fisiología, ciclos de vida y comportamiento de los individuos en esta etapa del desarrollo ontogénico (Koldewey & Martin-Smith, 2010). En este contexto, resulta relevante conocer los hábitos de vida general y en particular aquellos relacionados con el comportamiento de sujeción al sustrato en los caballitos de mar, durante las primeras semanas de desarrollo. Información al respecto, será de utilidad para estandarizar protocolos de cultivo que aseguren el bienestar animal y permitan que el cultivo de estas especies sea exitoso.

3. Antecedentes

3.1. La industria de la Acuarofilia

Actualmente 45 países abastecen este mercado con un valor estimado de 200 a 330 millones de USD (Wabnitz *et al.*, 2003; Wood, 2001 Bruckner, 2005). El comercio de especímenes para la acuarofilia es en volumen pequeño pero genera grandes divisas, por ejemplo un kilogramo de peces de ornato para la industria de la acuarofilia puede estar estimado entre 500 a 1800 USD; mientras que 1 kg de pescado para consumo humano se estima entre 6 a 12 USD (Reynoso-Lango *et al.*, 2012; Wabnitz *et al.*, 2003). Es una industria multimillonaria que abastece a cerca de 2 millones de acuaristas y que provee de empleo a miles de pescadores y sus familias en países en desarrollo (Wabnitz *et al.*, 2003; Bruckner, 2005).

Los principales países exportadores de especies marinas ornamentales son Indonesia y Filipinas, seguidos por Brasil, Maldivas, Sri Lanka y Hawái, en la región occidental del Atlántico son 16 los países exportadores, principalmente en la zona del Caribe y la mayoría de los países son pesquerías pequeñas pertenecientes a las Antillas. Los principales países de destino son Estados Unidos, la Unión Europea y Japón (Wabnitz *et al.*, 2003; Bruckner, 2005). Una de las mayores críticas a esta industria es que la mayoría de los organismos son extraídos del medio natural y las técnicas de extracción son agresivas (ej. explosivos, cianuro, pesca de arrastre), generando grandes impactos en el ecosistema y daños a la salud de los organismos objetivo de la captura (Bell *et al.*, 2009; Reynoso-Lango *et al.*, 2012).

Como alternativa a la extracción, el cultivo de especies acuáticas ha surgido en varios países (Palmtag & Holt, 2007), constituyendo una actividad rentable. La acuicultura ha sido una actividad fuertemente criticada debido a los impactos negativos que genera, principalmente ecológicos, como lo son la contaminación a los cuerpos de agua adyacentes a las granjas, destrucción de hábitats costeros

para la implementación de las granjas, pobres controles fitosanitarios que pueden afectar a las poblaciones naturales, entre otros (FAO, 2011). Es por esto que en los últimos años se ha tratado de dar un enfoque más integral a esta actividad, que responda a los principios de sustentabilidad y del Manejo Integral de la Zona Costera (MIZC), que sea una actividad ambientalmente compatible, la cual asegura, mediante la intervención de procesos biogeoquímicos y nuevas tecnologías, el mantenimiento del equilibrio ecológico de los sistemas de producción, minimizando el uso de recursos y el impacto al ambiente (Flores-Nava & Euán, 2004).

Se tiene conocimiento que en el caso de las especies ornamentales dulceacuícolas cerca del 90% son cultivados, por el contrario las especies marinas ornamentales apenas cerca del 1% se cultivan (Tlusty, 2002), esto principalmente debido a las complicaciones del cultivo de especies marinas. Los especímenes cultivados brindan novedades constantes a un mercado que cada día está más dispuesto a pagar más por especímenes raros o únicos (Calado *et al.*, 2017). El cultivo de las especies marinas de ornato empezó en las décadas de 1950 y 1960 (Delbeek, 2001). Las principales especies cultivadas son peces, particularmente de la familia *Pomacentridae*. Una de las especies que catapultó el crecimiento de la acuicultura de las especies marinas de ornato fue el éxito en el cultivo del pez payaso (*Amphiprion ocellaris*) a principios de 1970. Otra de las primeras especies en ser exitosamente cultivadas fue el cardenal de Banggai (*Pterapogon kauderni*) en la década de 1990 (Tlusty, 2002). En los últimos 10 a 20 años ha habido un gran progreso en el cultivo de las especies marinas de ornato, llegando en 2016 a un total de 330 especies cultivadas (Sweet, 2014), sin embargo, la mayoría de estas especies aún no son viables a escala comercial. Aunado a esto, a pesar de los avances conseguidos en los últimos años, siguen latentes los mismos problemas que al inicio de la industria, siendo los dos principales la complejidad de la nutrición en las primeras etapas de vida y la reproducción (Olivotto *et al.*, 2011). Es por esto que se requiere conocimiento básico que permita mejorar los protocolos de cultivo, particularmente en lo que concierne a los hábitos y la

alimentación en las primeras semanas del ciclo de vida, fase crítica en el cultivo de un sin número de especies de importancia acuícola (Olivotto *et al.*, 2011). Como menciona Alvarez-Lajonchere *et al.* (2002) la producción de juveniles es el factor más importante para establecer el cultivo de especies con potencial acuícola.

En el caso de los caballitos de mar, y debido a las características morfológicas que presentan (Fig. 1), las especies del género *Hippocampus* han sido sujetas a sobrepesca por ser especies exóticas, y son colectados como recuerdos o para acuarios personales, además de su importancia en la Medicina Tradicional China. Asimismo, la pesca incidental y la pesca no selectiva de arrastre suponen una amenaza para la especie, ya que estas artes dañan los hábitats en los que viven los caballitos (Foster & Vincent, 2004; Koldewey & Martin-Smith, 2010; Vincent *et al.*, 2011). Estos elementos en conjunto han hecho que sus poblaciones desciendan drásticamente en los últimos años (IUCN, 2016; Vincent *et al.*, 2011). Es por esto que todas las especies de caballitos de mar se encuentran en el apéndice II de CITES (Convention for the International Trade in Endangered Species of Wild Flora and Fauna) a partir de noviembre de 2002 y su implementación en mayo de 2004. También se encuentran enlistadas en la Red List of Threatened Species de la IUCN (International Union for Conservation of Nature) con la mayoría de las especies en la categoría de vulnerable (Wabnitz *et al.*, 2003; Koldewey & Martin-Smith, 2010; CITES, 2015, IUCN, 2016).

En México se distribuyen 4 especies de caballitos de mar: *H. erectus*, *H. ingens*, *H. reidi*, *H. zosterae*, de las cuales *H. ingens* y *H. erectus* son las más explotadas. En muchas regiones de Latinoamérica la captura de caballitos de mar se da principalmente como pesca incidental en las redes de arrastre camarónicas, llegando a capturar hasta 1 tonelada en peso seco por año (Baum & Vincent, 2005). Las cuatro especies se encuentran protegidas bajo la NOM-059-SEMARNAT-2010 y están en la categoría de sujetas a protección especial, que está definido como aquellas especies o poblaciones que podrían llegar a encontrarse amenazadas por factores que inciden negativamente en su viabilidad.

Existe también un Plan de Manejo que especifica bajo qué condiciones se puede hacer un uso de aprovechamiento extractivo de estas especies (SEMARNAT, 2010; 2012).

En este contexto el cultivo de caballitos de mar se ha mencionado como posible medida de mitigación del impacto de la extracción directa del medio natural. La reproducción en cautiverio de algunas especies de caballitos ha sido exitosa, a pesar de esto, la reproducción y la fase de cría es el cuello de botella para la mayoría de las especies (Olivotto *et al.*, 2011). Actualmente se tiene conocimiento que se cultivan por lo menos 13 especies de caballitos de mar (principalmente *Hippocampus abdominalis*), pero se especula que la mayoría de estas especies son potenciales candidatos para cultivo (Koldewey & Martin-Smith, 2010). Esta actividad es llevada a cabo principalmente en operaciones de pequeña escala en países desarrollados con el fin de venderlos vivos para el mercado del acuarismo.

El cultivo de caballitos de mar ha contribuido al entendimiento de su biología y fisiología, sin embargo, aún existen huecos en la información acerca de la fisiología, requerimientos nutricionales, los ciclos biológicos o el comportamiento de estos animales, necesarios para mejorar los protocolos de cultivo existentes (Koldewey & Martin-Smith, 2010; Olivotto *et al.*, 2011, Calado *et al.*, 2017), convirtiéndose en un área de gran interés para especialistas científicos, amateurs, organizaciones civiles y sectores gubernamentales involucrados en su conservación.

3.2. Caballitos de mar: biología y ecología

Los caballitos de mar pertenecen a la familia *Syngathidae* (junto con los dragones de mar y peces pipa). Entre los rasgos más distintivos que caracterizan a los caballitos son su cabeza posicionada en ángulo recto con respecto a un cuerpo erguido, los ojos que se mueven de manera independiente, las placas óseas recubiertas por una capa de piel en lugar de escamas (Fig. 1) (Foster & Vincent,

2004). Presentan un dimorfismo sexual, que se revela en la forma de una bolsa ventral o marsupio en el que los machos cargan a las crías durante toda su gestación (Teixeira & Musick, 2001; Wilson *et al.*, 2003). Al salir del marsupio y durante la primera etapa de vida, los juveniles tienen la forma y conducta de los padres, y comienzan a alimentarse desde las primeras horas de su liberación (Sheng *et al.*, 2006; Willadino *et al.*, 2012). En un lapso de tiempo que varía de una especie a otra, estos juveniles tempranos, adquieren el hábito demersal de sus padres y también permanecen la mayor parte del tiempo sujetos a estructuras del fondo marino mediante su cola prensil (López-Hidalgo, 2014). Asociado a este comportamiento de sujeción al sustrato, los caballitos han desarrollado la capacidad de cambiar de color (mimetismo) para refugiarse de sus depredadores en zonas abundantes en pastos marinos como estrategia para cazar a sus propias presas (Foster & Vincent, 2004; Lourie *et al.*, 2004).

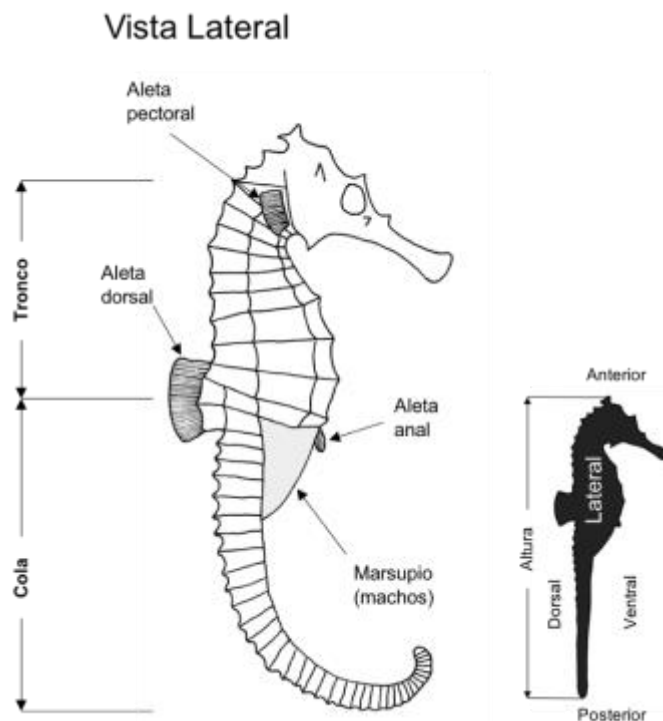


Figura 1. Morfología externa de un ejemplar de caballito de mar (Modificado de Lourie *et al.*, 2004).

Otra característica distintiva de estas especies es la ausencia de una aleta caudal, la cual es reemplazada por una cola prensil (Fig. 1). La cola prensil de los caballitos es bastante efectiva para contrarrestar las fuerzas gravitacionales permitiéndole a los caballitos la habilidad de sujetarse a cualquier nivel de la columna de agua sin la necesidad de un gasto fuerte de energía. Es especialmente útil en estos animales que tienden a ser arrastrados por las olas o corrientes, debido a su reducida capacidad natatoria (Thomson, 1993). La habilidad de la cola como un apéndice prensil es resultado de la evolución de un complejo sistema de músculos, tendones y huesos utilizados en dobleces laterales durante la locomoción ondulatoria (Hale, 1996).

Los caballitos en general, se distribuyen en parches de baja densidad y la mayoría de las especies estudiadas presentan hábitos de fidelidad al sitio y rangos de hogar reducidos (Lourie *et al.*, 2004). Algunos caballitos de mar cambian su hábitat y profundidad a medida que crecen. En un estudio sobre *Hippocampus comes* se reportó que los juveniles prefieren hábitats someros donde predominan las camas de *Sargassum spp.*, y que al crecer se trasladan a profundidades mayores en comunidades compuestas en su mayoría de corales duros y esponjas (Perante *et al.*, 2002). Así se ha reportado que entre los caballitos adultos, existe una diferenciación de la ocupación de hábitats dependiendo del tamaño, siendo los animales más grandes los que ocupan profundidades mayores (Foster & Vincent, 2004). A pesar de que los hábitos de la mayoría de especies estudiadas presentan rangos de distribución cortos, se cree que los adultos de algunas especies presentan migraciones a aguas más profundas durante el invierno (ej. *H. guttulatus*, *H. hippocampus*, *H. subelongatus*, *H. whitei*, *H. comes*, e *H. erectus*) (Foster & Vincent, 2004).

A pesar de que el género *Hippocampus* es tan emblemático, no existe precisión sobre el número de especies que existen y se habla de entre 46-48 especies (Koldewey & Martin-Smith, 2010; Vincent *et al.*, 2011). Su hábitat incluye arrecifes de coral, manglares, y praderas de pastos submarinos, así como otros ambientes

donde existe disponibilidad de los sustratos donde estos individuos se puedan sujetar. Su distribución abarca tanto ambientes tropicales como templados encontrándose desde los 50° Sur hasta los 50° norte, siendo la región del Indo Pacífico la que presenta mayor diversidad de especies (Foster & Vincent, 2004; Lourie *et al.*, 2004). Son depredadores visuales, su alimentación consiste en organismos vivos del zooplancton y con alguna movilidad, siendo en su mayoría los crustáceos, aunque también se han registrado larvas de peces y otros invertebrados, prácticamente cualquier alimento de tamaño adecuado para que pueda ser ingerido (Foster & Vincent, 2004). En sus primeras semanas de vida los caballitos de mar pasan por una etapa plantónica.

La cola no parece jugar un papel importante en la propulsión natatoria, puede ser mejor descrita como una “ancla” que le permite al animal sujetarse a un punto de observación ventajoso. Debido a las placas óseas que recubren su cuerpo su flexión lateral es limitada sin embargo tienen muy desarrollados movimientos muy precisos lo cual les permite que sus maniobras les confieran ventajas sobre la velocidad de natación de posibles depredadores. Asimismo, las placas óseas proveen a los caballitos la habilidad de camuflarse y en conjunto con su cola prensil tienen la capacidad de poder colonizar hábitats estructuralmente complejos (Thomson, 1993).

Es por esto que un factor importante a considerar en el cultivo de caballitos de mar es la disponibilidad de estructuras de agarre, ya que pueden entrar en estados de estrés en ambientes con poco acceso a ellas (Vincent, 1995; Faleiro *et al.*, 2008). Los estudios conductuales han probado ser importantes el cultivo de caballitos de mar ya que ayudan a determinar la preferencia de estos bajo ciertas condiciones, mismas que ayudan a mejorar la calidad de vida de los caballitos (“animal welfare”) (Faleiro *et al.*, 2008).

Las modificaciones en la conducta pueden ser un indicativo de alteraciones ambientales y estrés animal, estudios sobre dichas alteraciones pueden ser útiles

en la acuicultura ya que debido a la intensificación en la producción puede causar problemas en el bienestar de los animales y consecuentemente afectar el crecimiento y la sobrevivencia. Algunos indicadores conductuales pueden estar relacionados a la vida del animal, como actividad locomotora, relaciones sociales, reproducción entre otros (Faleiro *et al.*, 2008).

Entre los antecedentes sobre los hábitos de vida y la alimentación de las primeras etapas del ciclo de vida de *Hippocampus erectus* (Perry, 1810), Alexandre (2009) identificó un comportamiento particular en los juveniles de esta especie, los cuales tienden a sujetarse unos a los otros con su cola prensil formando pequeños grupos. Este comportamiento se observó de forma consistente durante los periodos de alimentación, por lo que el autor sugirió que esta conducta podía constituir un obstáculo que dificultara el acceso al alimento flotando en la columna de agua.

En ese contexto, el trabajo de investigación de López-Hidalgo (2014), tuvo como objetivo caracterizar el comportamiento de sujeción de los juveniles tempranos de *H. erectus*. Entre sus hallazgos más sobresalientes está que los juveniles de esta especie se encuentran en su mayoría sujetos a las estructuras de fondo, incluso desde muy temprana edad, y que este comportamiento más bentónico no está relacionado únicamente con la alimentación, si no que influyen en él la etapa de vida, el momento del día, y la densidad de siembra, entre otros.

3.3. Caso de Estudio: *Hippocampus ingens*

La especie objeto del presente estudio es *Hippocampus ingens* (Girard, 1858), comúnmente conocida como caballo de mar del Pacífico. Su rango de coloración va desde el verde, café, rojo, gris y amarillo a dorado (Fig. 2A y B). Su distribución va desde la costa sur de Estados Unidos (California) pasando por México, Centroamérica y llegando hasta Perú (Fig. 2C). Se encuentra en profundidades de 1 a 20 metros, siendo comúnmente encontrado en hábitats coralinos con

presencia de gorgonias, esponjas, pastos marinos entre otros sustratos donde sujetarse (Lourie *et al.*, 2004).

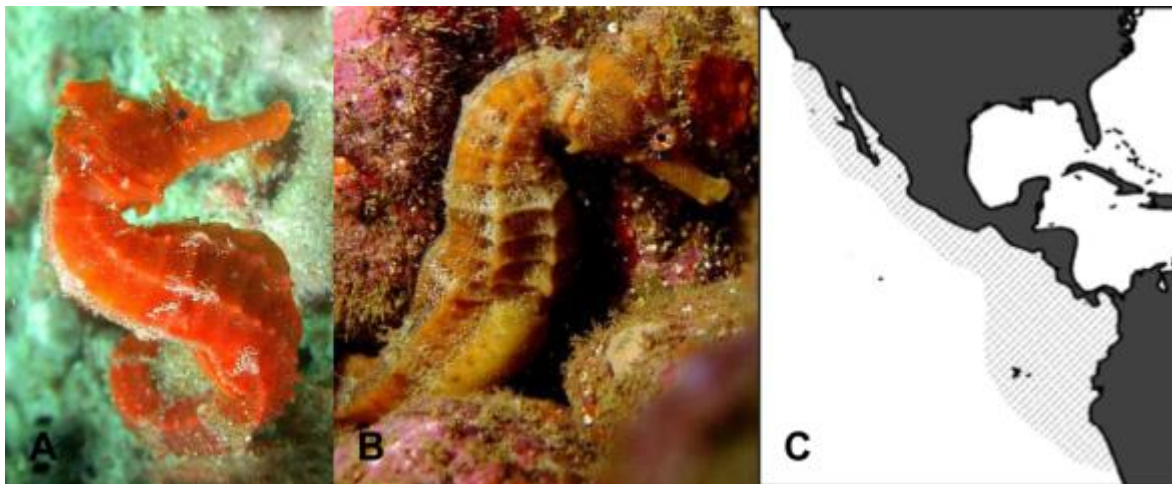


Figura 2. A y B) Ejemplos de coloración en adultos de *H. ingens* (Fotos Alicia Hermosillo y Felipe Charo). C) Distribución de *H. ingens*. Fuente. Lourie *et al.*, 2004.

Hippocampus ingens es una especie muy popular debido a su tamaño y coloración en la industria de la acuarofilia y es también un ejemplar muy demandado en la Medicina Tradicional China (Baum & Vincent, 2005). A pesar de no ser una especie cultivada en grandes cantidades, sí se ha logrado crecer y reproducir en cautiverio (Gomezjurado, 2005; Ortega-Salas & Reyes-Bustamante, 2006). Bajo condiciones de cultivo, se han observado conductas reproductivas desde los 3 meses de edad y desde los 6 meses se han observado machos preñados. El tiempo de gestación en cautiverio es de 14 días, con aproximadamente 100 a 200 juveniles por cada evento de gestación, se han reportado eventos con hasta 2000 juveniles (Gomezjurado, 2005). El comportamiento en las primeras etapas de vida de *H. ingens* sugiere que los juveniles son pelágicos (Gomezjurado, 2005), sin embargo, sería de interés confirmar esta hipótesis, y caracterizar los factores que más influyen en la conducta de sujeción al sustrato en los juveniles.

Los estudios sobre el comportamiento pueden contribuir a la acuicultura mejorando y/o creando protocolos para el cultivo, al permitir la evaluación de la respuesta animal a distintas condiciones de cultivo a fin de evaluar la rentabilidad de la cadena productiva, misma que solo tiene sentido si está siendo valorado el bienestar animal (“animal welfare”, Faleiro *et al.*, 2008).

Bajo esta óptica, cabe hacerse las siguientes preguntas de investigación: ¿Cómo es el comportamiento de sujeción al sustrato en juveniles tempranos de *H. ingens*? ¿Difiere este comportamiento de aquél observado en otras especies congéneres? ¿Cuáles son los factores principales que determinan el comportamiento de sujeción y cómo varía dicha conducta bajo diferentes condiciones y momento del ciclo de vida de estos organismos? Los experimentos descritos a continuación tuvieron como objetivo responder a estas preguntas mediante el estudio del comportamiento de *H. ingens* en condiciones controladas de laboratorio.

La información generada en el presente trabajo será de gran utilidad tanto para comparar con lo que se sabe de otros caballitos, como para mejorar los protocolos de cultivo de esta importante especie en el mercado de ornamentales marinos, además de comparar los resultados obtenidos con la información generada para otras especies de caballitos de mar cultivados en México.

4. Hipótesis

Dado que los caballitos de mar son peces con una capacidad natatoria reducida, y que los juveniles de otras especies del género *Hippocampus* muestran una conducta de asociación al sustrato desde edad muy temprana, se prevé que los juveniles tempranos de *Hippocampus ingens* permanezcan la mayor parte del tiempo sujetos a alguna estructura, y exhiban un nado activo y dirigido únicamente al momento de buscar alimento o cortejar. Asimismo, se espera que el comportamiento de sujeción al sustrato de los juveniles tempranos de *H. ingens* varíe dependiendo de las condiciones relevantes a la alimentación, particularmente con respecto a la presencia/ausencia de alimento, el ciclo dial, la densidad de individuos por unidad de volumen, y la etapa del desarrollo ontogénico en que se encuentren.

5. Objetivos

El objetivo general de este trabajo fue describir el comportamiento de sujeción de juveniles tempranos de *Hippocampus ingens* en diferentes momentos del día, en relación con la disponibilidad de alimento, y con diferentes densidades de individuos por unidad de volumen.

Para esto se establecieron como objetivos específicos describir el comportamiento de sujeción de *H. ingens*:

- A lo largo de distintos momentos del día: mañana (8:00), mediodía (12:00), tarde (15:30) y noche (18:30).
- Durante distintos momentos relacionados a la alimentación: (antes, durante y después), en dos alimentaciones (10:00 y 14:30 hrs.).
- En dos densidades de cultivo: Baja (8 ind l⁻¹) y Alta (16 ind l⁻¹)
- Durante dos fases del desarrollo ontogénico: Fase I o crítica, desde el nacimiento hasta 20 días después de nacidos; y Fase II o intermedia, a partir de 20 días de nacidos hasta 60 días.

6. Material y Métodos

6.1. Sitio de estudio

Todos los juveniles de *Hippocampus ingens* utilizados en esta investigación fueron proporcionados por la granja INGENS Cultivos Marinos, cuyas instalaciones se encuentran ubicadas en la Isla de la Piedra, Mazatlán en el Estado de Sinaloa (México).

La granja está conformada por cuatro áreas: reproductores, juveniles tempranos, sub-adultos y alimento vivo.

El área de reproductores está conformada por un cuarto cerrado con temperatura y fotoperiodo controlados. Son un total de 17 estanques circulares de plástico de aproximadamente 80 litros de capacidad (Fig. 3), cada uno de ellos tiene de entre 6 a 8 adultos de *H. ingens*, cada estanque tiene unas estructuras de plástico para que puedan sujetarse.



Figura 3. Instalaciones del área de reproductores, granja INGENS Cultivos Marinos.

El área de juveniles tempranos está compuesta por 6 estanques rectangulares de cemento, en cuanto los juveniles nacen, son contados y colocados en estos estanques. Dichos estanques están a la intemperie, por lo que la temperatura no es controlada y el fotoperiodo corresponde a luz natural (Fig. 4), no se les provee de ninguna estructura de sujeción.



Figura 4. Estanques exteriores para juveniles tempranos, granja INGENS Cultivos Marinos.

El área de sub-adultos está compuesta por dos secciones. La primera son 4 estanques exteriores rectangulares de cemento, al igual que en los juveniles tempranos no se controlan la temperatura ni el fotoperiodo (Fig. 5). La segunda serie son acuarios de acrílico rectangulares. Estos acuarios se encuentran dentro de un cuarto, sin embargo, no son controladas la temperatura ni el fotoperiodo. En ambas secciones se les proporcionan estructuras de soporte.



Figura 5. Estanques exteriores sub-adultos, granja INGENS Cultivos Marinos.

Por último, el área de alimento vivo se divide en tres secciones, la primera son una serie de tinas donde se eclosionan las artemias a partir de cistes (Fig. 6A). Todos los días se eclosionan nauplios, y los que no son usados se trasladan a una serie de estanques para su engorda y posterior alimento para los caballitos más grandes. Primero se colocan en unos estanques circulares de fibra de vidrio (Fig. 6B) y posteriormente en estanques rectangulares de cemento (Fig. 6C).



Figura 6. Área alimento vivo. A y B) Equipo donde se eclosionan cistes de artemia. C) Estanques de engorda de artemia, granja INGENS Cultivos Marinos.

El agua que abastece a la granja fue extraída del canal de navegación del puerto de Mazatlán y bombeada directamente hacia la granja. Antes de ser distribuida al interior de las instalaciones, el agua pasó por varios filtros de arena y posteriormente por un filtro ultravioleta (Fig. 7 A y B). Una vez filtrada el agua se almacenó en reservorios para su posterior distribución en los estanques de cultivo.

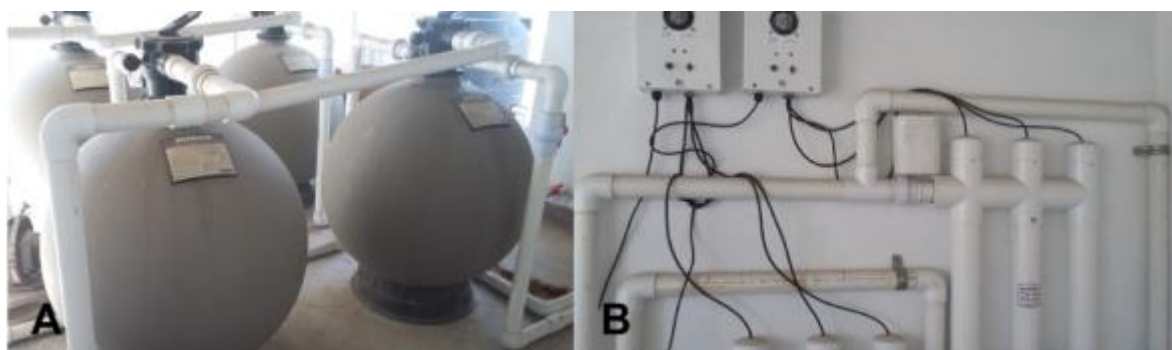


Figura 7. A) Primera etapa del sistema de filtrado de agua de la granja. Filtros de arena. B) Segunda etapa del sistema de filtrado de agua de la granja. Filtros de luz ultravioleta (UV).

6.2. Origen de los organismos experimentales

Para el presente estudio fueron utilizados un total de 192 juveniles de *H. ingens* mismos que nacieron en las instalaciones de la granja en el área de reproductores el día 30 de noviembre del 2015. Los organismos experimentales provinieron de un número indeterminado de camadas, cuyos progenitores no fueron más de 8 adultos que se encontraban colocados en un mismo estanque (ej. Fig. 8). Tras nacer los caballitos fueron colocados en uno de los estanques del área de juveniles (ver sección 6.1), de donde fueron recolectados posteriormente para el inicio de la fase experimental.



Figura 8. Reproductores de *Hippocampus ingens*.

6.3. Diseño experimental

Los juveniles de *H. ingens* empleados en el presente estudio tenían 12 días de nacidos y fueron distribuidos en acuarios de vidrio transparente (16x10x12 cm, 1.5 L, Fig. 9) para su aclimatación a las condiciones experimentales, misma que tuvo una duración de 3 días. Los acuarios fueron llenados a un litro de su capacidad con agua de mar filtrada (como se describió en el punto 6.1). Del total de caballitos recibidos, 64 fueron colocados al azar en 8 acuarios, de tal manera que cada acuario contenía 8 individuos en una densidad baja (8 ind l⁻¹). Los restantes 128

caballitos fueron colocados de manera aleatoria en acuarios idénticos a los primeros, con 16 caballitos por acuario, es decir, en una alta densidad (16 ind l^{-1}). Los experimentos se llevaron a cabo del día 12 al 27 de diciembre del 2015.



Figura 9. Acuarios experimentales mostrando líneas de aireación y redes de plástico que ofrecían las estructuras de sujeción a los caballitos. El primer grupo de peceras (izquierda) corresponde al tratamiento de baja densidad y el segundo (derecha) al de alta densidad.

En cada tanque se colocó una estructura vertical de plástico que simula los sustratos naturales donde estos animales se distribuyen (Fig. 10). En el caso del tratamiento de densidad baja, los caballitos contaban con aproximadamente 38 cm lineales de sustrato, mientras que para el tratamiento de alta densidad contaron con aproximadamente 73 cm lineales. Los acuarios eran independientes unos de los otros en cuanto al abastecimiento de agua, pero todos contaron con un recambio diario del 50% para mantener la calidad del agua de mar en niveles adecuados para su cultivo (Pawar *et al.*, 2011; López-Hidalgo, 2014).



Figura 10. Detalle de las estructuras de sujeción utilizadas como sustrato artificial durante los experimentos sobre comportamiento de sujeción de juveniles de *H. ingens* mantenidos en densidades baja (8 individuos l^{-1} : izquierda) y alta (16 individuos l^{-1} : derecha).

Durante todo el tiempo que duraron los experimentos, los caballitos fueron alimentados con nauplios de artemia cultivados en las propias instalaciones, mismos que fueron obtenidos a partir de quistes de artemia, enriquecidos con DHA Selco (INVE). La alimentación se realizó todos los días en dos horarios (a las 10:00 y 14:30 hrs) con una ración constante de 3 nauplios ml^{-1} para los acuarios de baja densidad y de 6 nauplios ml^{-1} , para el tratamiento de alta densidad en cada alimentación (López-Hidalgo 2014).

El fotoperiodo al que estuvieron sometidos los animales fue de luz natural, con 12 horas de luz (6:00-18:00 horas) y de 12 horas de oscuridad (18:00-6:00 horas), con periodos intermedios de ~30 min de luz con poca intensidad, correspondientes al amanecer y anochecer.

Diariamente se registraron la salinidad (refractómetro Red Sea; ± 1 ups) y temperatura (termómetro genérico; ± 1 °C) de todos los acuarios antes de recibir la primera alimentación. También se registró la mortalidad anotando el número de caballitos muertos y la pecera a la que correspondía. Los individuos muertos fueron retirados inmediatamente.

6.4. Observaciones

El estudio del comportamiento de sujeción de juveniles de *H. ingens* se evaluó en dos etapas tempranas de desarrollo. De acuerdo con los criterios de sobrevivencia y crecimiento (Alexandre, 2009), se consideraron una fase crítica (Fase I), que comprende de los 0 a los 20 días después de nacidos; y una fase intermedia (Fase II), que comprende de los 20 a los 60 días. Debido a la poca disponibilidad de animales no se pudo reestablecer los animales muertos durante la Fase-I del experimento, por lo que las observaciones para la Fase-II se realizaron con los animales sobrevivientes de la fase crítica (6.75 ± 0.52 densidad baja y 13.13 ± 1.64 densidad alta).

El periodo de observación de la fase crítica tuvo una duración de 6 días, y el de la fase Intermedia de 7 días. Así mismo el estudio involucró observaciones bajo dos densidades de siembra: baja (8 organismos l^{-1}), y alta densidad (16 organismos l^{-1}); incorporó observaciones en diferentes momentos del día: mañana, mediodía, tarde y noche; y en distintos momentos alrededor de la alimentación: antes, durante y después de que los individuos fuesen alimentados.

Todas las observaciones se realizaron en el mismo sentido, siempre de izquierda a derecha, comenzando por los acuarios de baja densidad (Fig. 9). Las observaciones se realizaron viendo las peceras de costado, y a una distancia cercana a los acuarios (aproximadamente a 20 cm). Las observaciones nocturnas se realizaron con ayuda de una lámpara con un filtro rojo para no alterar el comportamiento de los caballitos (Faleiro *et al.*, 2008).

El comportamiento de sujeción se evaluó mediante el conteo de organismos en cada una de las siguientes condiciones o estados mutuamente excluyentes.

- Conducta 1. Caballitos sueltos en la columna de agua de manera individual o en grupo (Fig. 11).
- Conducta 2. Caballitos sujetos a sustrato de manera individual y/o en grupo (Fig. 12A y B).



Figura 11. Fotografía mostrando a los caballitos *H. ingens* libres o distribuidos en la columna de agua (conducta llamada “suelos”) durante experimentos para analizar los cambios en la conducta de sujeción de juveniles tempranos de esta especie.



Figura 12. Fotografía mostrando a los caballitos *H. ingens* A) sujeto a un sustrato de manera individual; y B) un grupo de caballitos de mar sujetos al sustrato artificial durante experimentos para analizar los cambios en la conducta de sujeción de juveniles tempranos de esta especie.

El registro se realizó por medio de observaciones en pulsos, es decir, se anotó el número de individuos sueltos o sujetos en cada instante, tomando un registro por cada momento relacionado a la alimentación; cada uno de los momentos del día; cada una de las etapas de vida; y cada una de las densidades de siembra. En cada acuario se registraron dos entradas, sueltos y agarrados, por lo que cada pulso registró un total de 32 entradas (Fig. 13).



Figura 13. Esquema detallando un pulso en el registro de datos.

6.4.1. Observaciones del Ciclo de Actividad Diurna

Para evaluar los cambios en el comportamiento de sujeción a lo largo del día, se realizaron observaciones de los organismos en la mañana (8:00 hrs: MA), al mediodía (12:00 hrs: ME), al atardecer (15:30 hrs: TA) y en total oscuridad en la noche (18:30 hrs: NO). Con la finalidad de que la presencia de alimento no interviniera en los registros de la conducta, se tomó la precaución de que estas observaciones fuesen realizadas cuando no había alimento en los acuarios, o bien, cuando la cantidad de alimento fuese mínima, es decir entre 1-2 horas

después de haber sido alimentados. Debido a la logística de la granja no fue posible realizar las observaciones nocturnas todos los días. Las dichas observaciones se hicieron en los días 2 y 6 en la Fase-I, y en los días 9, 12 y 13 para la Fase-II

6.4.2. Observaciones del Ciclo de Alimentación

Para evaluar los cambios en el comportamiento de sujeción alrededor del momento de suministro de alimento, se realizaron observaciones antes de ser alimentados (120 minutos: AN), durante la alimentación (15-30 minutos después del suministro de alimento y mientras se observaba el consumo de presas por parte de los caballitos: DU) y después de haber sido alimentados (~90 minutos después del suministro de alimento, cuando la mayoría de los caballitos ya no consumían presas: DE). Esta serie de observaciones se realizó dos veces al día durante la rutina de alimentación de la mañana a las (8:00, 10:00 y 12:00 hrs), y en el atardecer a las (12:00, 14:30 y 15:30 hrs).

Las observaciones descritas se realizaron a la misma hora tanto para la Fase-I como para la Fase-II de desarrollo ontogénico.

6.5. Análisis Estadístico

En este trabajo se definieron como hipótesis del modelo que los juveniles de *H. ingens* no se comportarían de manera similar a lo largo de las distintas etapas del desarrollo ontogénico (F-I y F-II); que su conducta de sujeción al sustrato iba a variar dependiendo del momento relativo en un ciclo de actividad diurna (MA, ME, TA y NO); asociado a las rutinas de alimentación (AN, DU, DE); y que sería distinto dependiendo de la densidad de siembra (Baja y Alta). Dichas hipótesis implican que se esperaba que las proporciones de organismos sueltos y agarrados fuesen distintas, y que la manera de diferir no fuese consistente a lo largo de las diferentes condiciones experimentales.

El modelo nulo, en consecuencia, predecía que las proporciones de caballitos de mar sueltos y agarrados serían similares independientemente del momento ontogénico de los caballitos, de la densidad a la que estaban siendo mantenidos, ni del momento del ciclo de actividad diurna o la rutina de alimentación.

Para comprobar estas hipótesis se realizaron pruebas de χ^2 de asociación tridimensionales (Zar, 1999), mismas que incluyen una serie de análisis de asociación parciales.

1. Prueba de mutua independencia. H_0 : No existe asociación entre los diferentes factores (momento del día, densidad de cultivo, comportamiento de sujeción).
2. Análisis de asociación parcial 1. H_0 : El momento del día es independiente de las combinaciones de densidad y comportamiento de sujeción.
3. Análisis de asociación parcial 2. H_0 : El comportamiento de sujeción es independiente de las combinaciones de densidad y momento del día.
4. Análisis de asociación parcial 3. H_0 : La densidad es independiente de las combinaciones de comportamiento y momento del día.

Estas pruebas parciales se hicieron dos veces, una para el ciclo de actividad diurna (mañana, mediodía, tarde y noche) y otra para los ciclos de alimentación (antes, durante y después de la alimentación).

Las observaciones fueron registradas en tablas de contingencia multidimensionales para observar la proporción de las variables. Posteriormente se aplicó un análisis de χ^2 de asociación para determinar la relación que existe entre las conductas registradas y los factores a los que fueron sometidos. Para evitar el sesgo de los resultados de las pruebas, en todos los casos se mantuvo el criterio de Roscoe & Bryars, 1971 descrito por Zar (1999). Asimismo, se aplicó la corrección de Yates para los casos en los que los grados de libertad de la prueba fuesen igual a 1 (Zar, 1999).

Previo a poner a prueba las hipótesis experimentales anteriores, se realizaron dos pruebas de heterogeneidad de χ^2 (Zar, 1999) con la finalidad de establecer si existían variaciones significativas en las proporciones de caballitos sueltos y agarrados entre los distintos días de observación que conformaban la fase I y aquellos que conformaban la fase II del experimento. Si los resultados de estas pruebas eran no significativos (i.e. las proporciones de individuos sueltos y agarrados no varían entre los distintos días de cada fase de desarrollo), indicaría que era posible elegir las observaciones de cualquier día como un subconjunto representativo de cada una de las fases.

Todos los análisis se realizaron con la ayuda del software Microsoft® Excel versión 15.24.

7. Resultados

En general los resultados de estos experimentos mostraron que el comportamiento de sujeción de los juveniles tempranos de *Hippocampus ingens* se vio dominado por encontrarse sueltos en la columna de agua. La mayor parte del tiempo de duración del experimento (13 días), la proporción de individuos sueltos en la columna de agua fue mayor que aquel de individuos agarrados al sustrato artificial. Es importante aclarar que mientras estaban suspendidos en la columna de agua, los juveniles de *H. ingens* de 11 a 20 días de edad, no mostraron una apreciable actividad natatoria. A pesar de lo anterior, la proporción de sueltos-agarrados varió dependiendo de algunos de los factores evaluados durante la presente investigación.

Previo a poner a prueba las hipótesis experimentales se realizaron las pruebas de heterogeneidad de χ^2 (Zar, 1999) con la finalidad de establecer si existían variaciones significativas en las proporciones de caballitos sueltos y agarrados entre los distintos días de observación. Los resultados de estas pruebas fueron no significativos ($\chi^2 = 1.73$; $p = 0.19$ y $\chi^2 = 0.02$; $p = 0.88$ para las fases I y II de desarrollo, respectivamente), por lo que las observaciones de cualesquiera de los días seleccionados pueden ser consideradas representativas de cada una de las etapas.

Los juveniles de *H. ingens* presentaron una sobrevivencia que disminuyó de manera exponencial a lo largo del tiempo (Fig. 14), con tasas de -0.086 ± 0.039 y -0.089 ± 0.034 individuos día⁻¹ en los tratamientos de baja y alta densidad, respectivamente. La sobrevivencia al finalizar el experimento fue de 25% en la densidad baja y de 27.34% en la densidad alta (Fig. 14). En consecuencia, para el día 10 de los experimentos, el número de individuos por acuario promedio en el tratamiento de densidad alta era similar al de densidad baja en el día 0. Esto limitó la posibilidad de comparar el comportamiento de sujeción en función de la densidad entre los dos momentos de desarrollo ontogénico. Sin embargo, dado

que la tasa de mortalidad fue independiente de la densidad ($t = 0.13$; $p = 0.89$; g.l. = 14), la densidad alta se mantuvo siempre en el doble de la baja, tanto para la fase I como en la fase II, permitiendo las comparaciones entre tratamientos de densidad diferente, dentro de cada fase del desarrollo ontogénico.

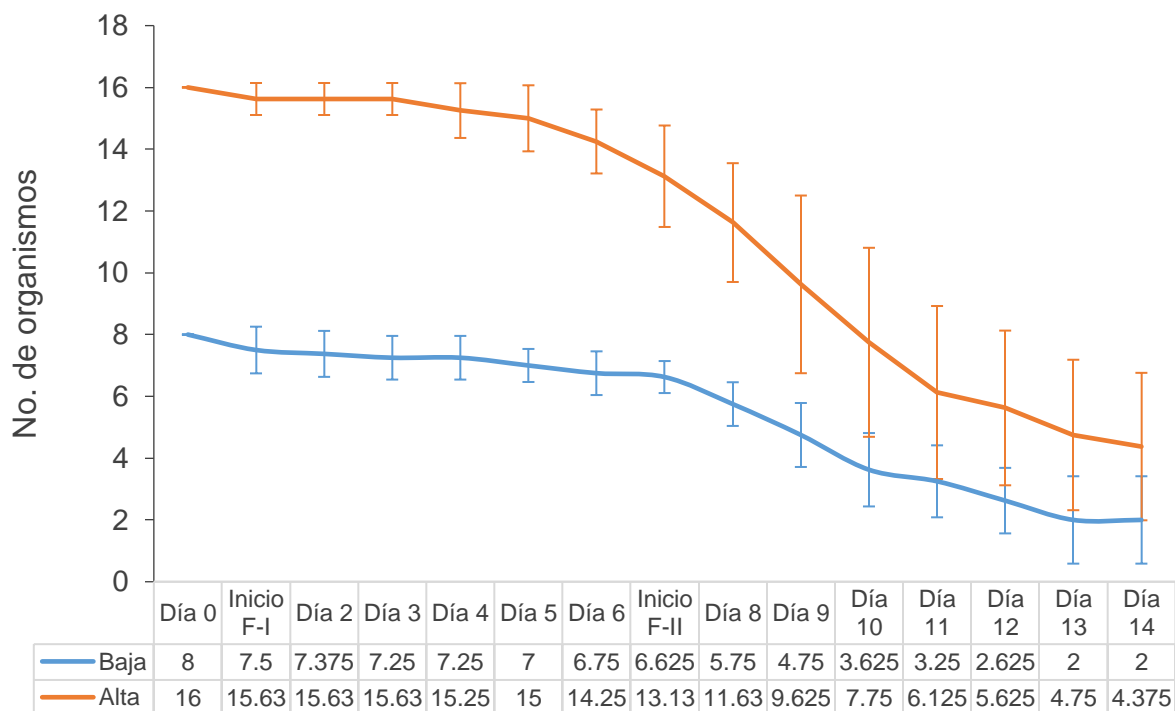


Figura 14. Supervivencia de los juveniles de *H. ingens* a lo largo del experimento. Los valores son promedios \pm desviación estándar; $n = 8$ acuarios en cada tratamiento de densidad. Se indican los días de inicio de la fase crítica (F-I) e intermedia (F-II). En el día 0 los caballitos tenían 15 días de edad.

Los parámetros de temperatura y salinidad medidos en los acuarios experimentales a lo largo del experimento se mantuvieron relativamente constantes con valores promedio de $22 \pm 1^\circ\text{C}$ y la salinidad 36.1 ± 1.4 ups ($n = 8$; \pm desviación estándar; Fig. 15).

Comportamiento de sujeción al sustrato en juveniles tempranos del caballito de mar *Hippocampus ingens* (Girard 1858)

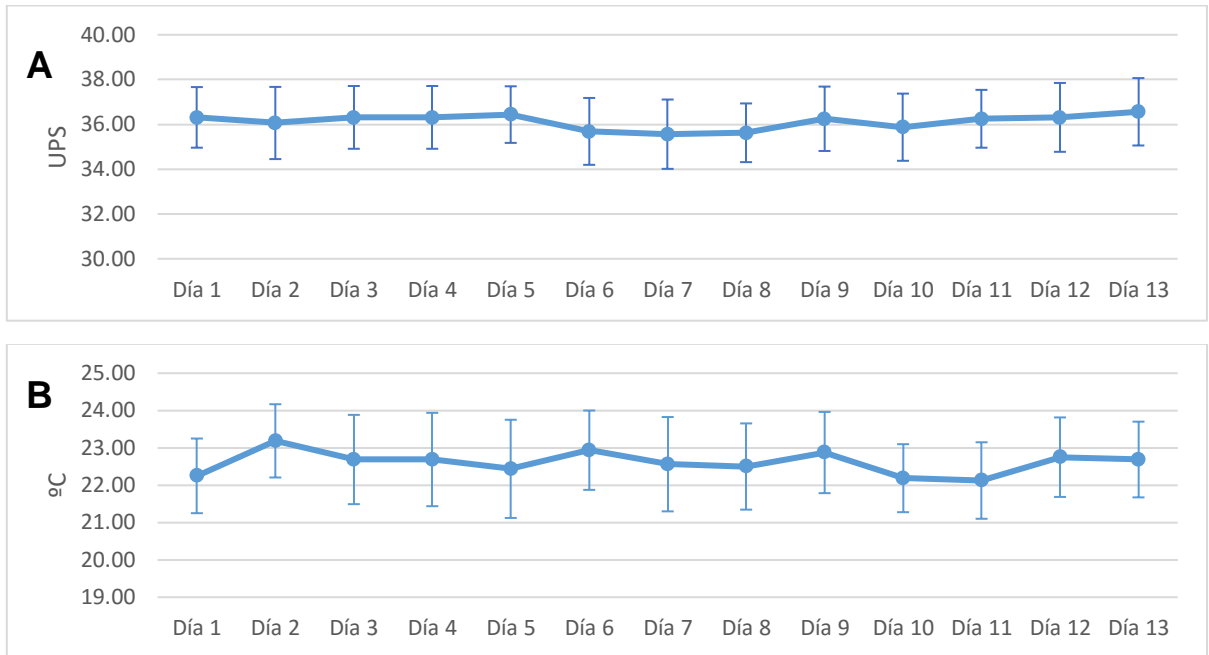


Figura 15. Variables fisicoquímicas reportadas a lo largo del experimento. Los valores son promedios \pm desviación estándar; n = 16. A) Salinidad (ups) y B) Temperatura ($^{\circ}$ C).

7.1. Cambios en el comportamiento en un ciclo de actividad diurna (Fase I).

Los resultados de las observaciones sobre el comportamiento de sujeción de *H. ingens* de 15 días de edad (fase I) en un ciclo diurno mostraron que la proporción de animales sueltos y agarrados en cada acuario varió dependiendo del momento del día (Tabla 1; Fig. 16). Sin embargo, tanto las proporciones de caballitos exhibiendo ambos comportamientos, como la magnitud de sus diferencias a lo largo del día, se mantuvieron constantes tanto en el tratamiento de baja, como de alta densidad (Tabla 1; Fig. 16A y 16B).

En general el porcentaje de caballitos sujetos al sustrato se incrementó en la última hora del día, cuando no había presencia de luz (Figura 16). Mientras que en el tratamiento de baja densidad el porcentaje de caballitos que se observaron sujetos al sustrato a las 8:00, 12:00 y 15:30 horas fueron de 0.9, 0 y 3.6% del total de individuos en cada acuario, a las 18:30 horas un 17.5% de los individuos estaban sujetos al sustrato artificial (Tabla 1; Fig. 16A). De manera similar en el tratamiento de alta densidad, el porcentaje de individuos sujetos al sustrato durante las primeras tres observaciones del día fueron 1.3, 1.7 y 1.3% del total de individuos en cada acuario, respectivamente; mientras que se registró un 12.6% de los individuos sostenidos al sustrato artificial en la observación de la noche (Tabla 1; Fig. 16B).

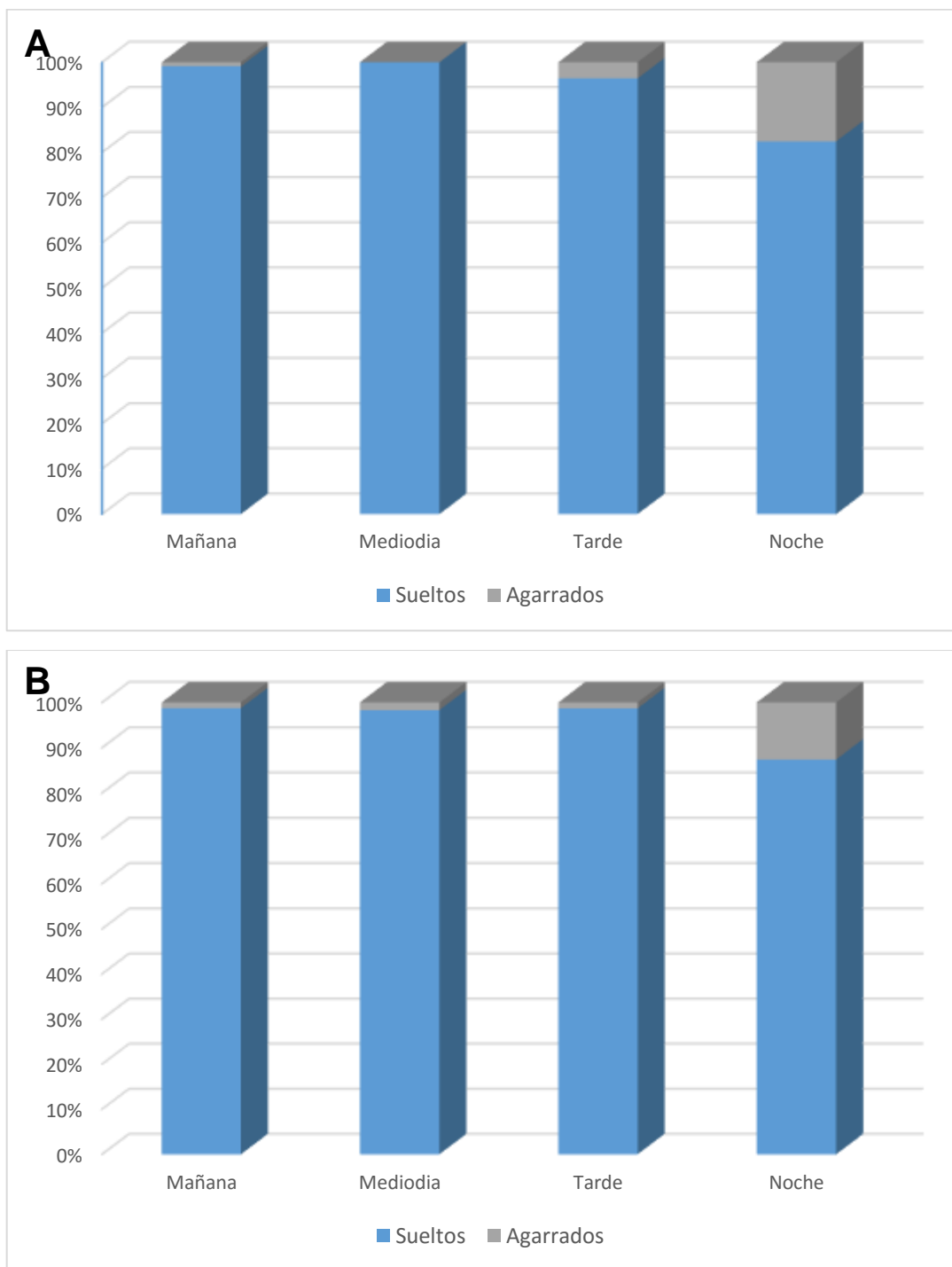


Figura 16. Porcentaje de juveniles de *H. ingens* con 15 días de nacidos (F-I) que fueron registrados sueltos en la columna de agua o agarrados a un sustrato artificial durante observaciones realizadas a las 8:00 (mañana), 12:00 (mediodía), 15:30 (tarde) y 18:30 (noche) en dos tratamientos de densidad: A) baja y B) alta; n = 8 acuarios; N = 1383 individuos en total.

Tabla 1. Frecuencia de juveniles de *H. ingens* con 15 días de nacidos (F-I) que fueron registrados sueltos en la columna de agua o agarrados a un sustrato artificial durante observaciones realizadas a las 8:00 (Mañana), 12:00 (Mediodía), 15:30 (Tarde) y 18:30 (Noche) en dos tratamientos de densidad (Baja y Alta). El porcentaje del total de individuos en los acuarios se muestra entre paréntesis; n = 8 acuarios; N = 1383 individuos en total.

	Baja		Alta	
	Sueltos	Agarrados	Sueltos	Agarrados
Mañana	113 (99.1)	1 (0.9)	234 (98.7)	3 (1.3)
Mediodía	111 (100)	0 (0)	231 (98.3)	4 (1.7)
Tarde	108 (96.4)	4 (3.6)	227 (98.7)	3 (1.3)
Noche	94 (82.5)	20 (17.5)	201 (87.4)	29 (12.6)

Consistentemente, los resultados de las pruebas de χ^2 de mutua independencia aplicadas sobre estos datos mostraron que hubo una asociación significativa entre por lo menos 2 de los 3 factores usados para clasificar los datos de ocurrencia (mutua independencia; Tabla 2). Las pruebas de asociación parcial mostraron una asociación significativa entre los momentos del día y el comportamiento, estuviese este factor temporal aislado o en combinación con otro (pruebas parciales 1 y 2, respectivamente; Tabla 2). Sin embargo, tanto las proporciones de caballitos exhibiendo ambos comportamientos, como la magnitud de sus diferencias a lo largo del día fueron similares independientemente de la densidad en los acuarios (prueba parcial 3; Tabla 2).

Tabla 2. Resultados de las pruebas estadísticas de χ^2 aplicadas a la frecuencia de juveniles de *H. ingens* con 15 días de nacidos (F-I) que fueron registrados desplegando alguno de dos comportamientos (conducta) durante observaciones realizadas a diferentes horas del día (momentos) en dos tratamientos de densidad (densidad). También se presentan los valores del estadístico, la significancia y el resultado interpretativo de cada prueba; * $p < 0.05$, ns $p \geq 0.05$.

Prueba	χ^2	Resultado
Mutua Independencia.	7555.90 *	Existe una asociación significativa entre al menos alguna de las vías de clasificación para determinar la frecuencia de individuos en cada celda.
Parcial 1(momento vs. conducta-densidad)	97.75 *	Momento está asociado a las combinaciones de densidad-conducta para determinar la frecuencia de individuos en cada celda.
Parcial 2 (conducta vs momento-densidad).	101.97 *	Conducta está asociada a las combinaciones de momento-densidad para determinar la frecuencia de individuos en cada celda.
Parcial 3 (densidad vs momento-conducta).	2.05 ns	Densidad es independiente de las combinaciones de momento-conducta para determinar la frecuencia de individuos en cada celda.

7.2. Cambios en el comportamiento en un ciclo de actividad diurna (Fase II)

Al igual que en la fase I, en la fase II del desarrollo, la mayor proporción de *H. ingens* fueron observados sueltos en la columna de agua; y también aquí, dichas proporciones variaron de manera significativa a lo largo del día (Tabla 3; Fig. 17). Las proporciones de individuos sueltos y agarrados en cada momento del día en el tratamiento de densidad baja fueron similares a sus correspondientes del tratamiento de densidad alta (Tabla 3; Fig. 17A y 17B), evidenciando la consistencia del patrón temporal descrito antes para los organismos en la fase I.

A los 21 días de edad (F-11), el porcentaje de caballitos agarrados al sustrato en el tratamiento de densidad baja fue 1.4 y 4.5% a las 8:00 y 12:00 respectivamente, seguido de un 13.6% a las 15:30, y un máximo de 29.5% en la última observación de la noche (Tabla 3; Fig. 17A). En el tratamiento de densidad alta se observó un patrón similar con 6.6, 5.7, 12.7 y 23.7% para las 8:00, 12:00, 15:30 y 18:30 horas de observación (Tabla 3, Fig. 17B). Comparando con la F-I, hubo una mayor proporción de caballitos agarrados al sustrato artificial en las últimas dos observaciones del día (Tarde y Noche) que en la F-I tan sólo 6 días antes.

Los resultados de las pruebas de χ^2 de mutua independencia aplicadas sobre los datos en la fase II mostraron que también hubo una asociación significativa entre por lo menos 2 de los 3 factores usados para clasificar los datos (Tabla 4). Las pruebas de asociación parcial aquí también mostraron una asociación significativa entre la hora del día y el comportamiento, estuviese este factor aislado o en combinación con otro (pruebas parciales 1 y 2; Tabla 4). Tanto las proporciones de caballitos sueltos y agarrados como la magnitud de sus diferencias a lo largo del día también fueron similares independientemente de la densidad (prueba parcial 3; Tabla 4).

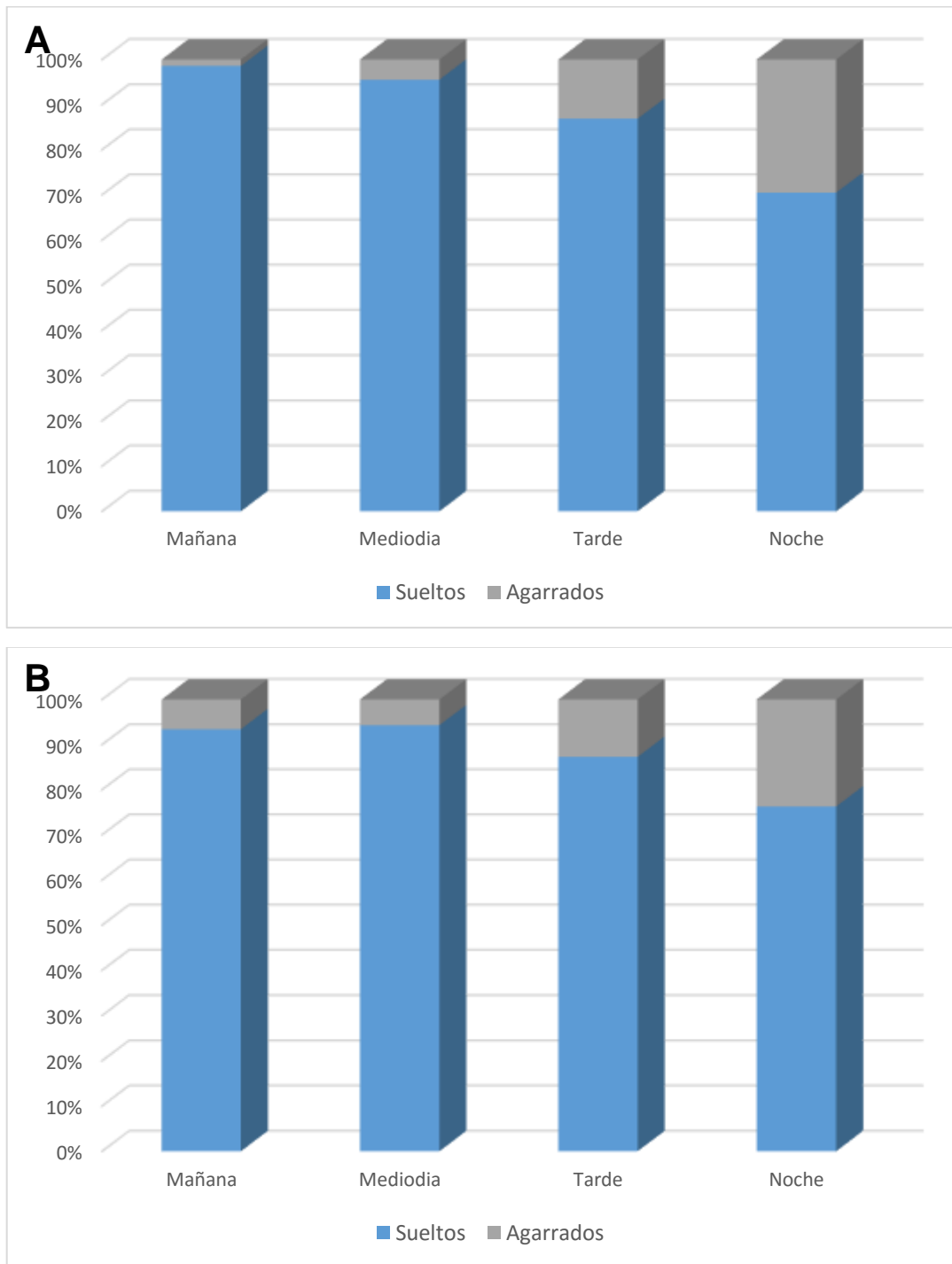


Figura 17. Porcentaje de juveniles de *H. ingens* con 21 días de nacidos (F-II) que fueron registrados sueltos en la columna de agua o agarrados a un sustrato artificial durante observaciones realizadas a las 8:00 (mañana), 12:00 (mediodía), 15:30 (tarde) y 18:30 (noche) en dos tratamientos de densidad: A) baja y B) alta; n = 8 acuarios; N = 821 individuos en total.

Tabla 3. Frecuencia de juveniles de *H. ingens* con 21 días de nacidos (F-II) que fueron registrados sueltos en la columna de agua o agarrados a un sustrato artificial durante observaciones realizadas a las 8:00 (Mañana), 12:00 (Mediodía), 15:30 (Tarde) y 18:30 (Noche) en dos tratamientos de densidad (Baja y Alta). El porcentaje del total de individuos en los acuarios se muestra entre paréntesis; n = 8 acuarios; N = 821 individuos en total.

	Baja		Alta	
	Sueltos	Agarrados	Sueltos	Agarrados
Mañana	70 (96.8)	1 (1.4)	142 (93.4)	10 (6.6)
Mediodía	64 (95.5)	3 (4.5)	132 (94.3)	8 (5.7)
Tarde	53 (86.9)	8 (13.1)	117 (87.3)	17 (12.7)
Noche	43 (70.5)	18 (29.5)	103 (76.3)	32 (23.7)

Tabla 4. Resultados de las pruebas estadísticas de χ^2 aplicadas a la frecuencia de juveniles de *H. ingens* con 21 días de nacidos (F-II) que fueron registrados desplegando alguno de dos comportamientos (conducta) durante observaciones realizadas a diferentes horas del día (momentos) en dos tratamientos de densidad (densidad). También se presentan los valores del estadístico, la significancia y el resultado interpretativo de cada prueba; * $p < 0.05$, ns $p \geq 0.05$.

Prueba	χ^2	Resultado
Mutua Independencia.	56.66 *	Existe una asociación significativa entre al menos alguna de las vías de clasificación para determinar la frecuencia de individuos en cada celda.
Parcial 1(momento vs. conducta-densidad)	56.95 *	Momento está asociado a las combinaciones de densidad-conducta para determinar la frecuencia de individuos en cada celda.
Parcial 2 (conducta vs momento-densidad).	56.68 *	Conducta está asociado a las combinaciones de momento-densidad para determinar la frecuencia de individuos en cada celda.
Parcial 3 (densidad vs momento-conducta).	2.96 ns	Densidad es independiente de las combinaciones de momento-conducta para determinar la frecuencia de individuos en cada celda.

7.3. Cambios en el comportamiento relacionados a la alimentación (Fase I)

Los cambios en las proporciones de individuos sueltos y agarrados al sustrato alrededor de los momentos asociados a la alimentación se analizaron tomando ambos tratamientos de densidad en su conjunto. Esto se hizo en virtud de que los resultados anteriores mostraron que los cambios en el comportamiento de juveniles tempranos de *H. ingens* fueron independientes de si éstos se encontraban en una densidad de cultivo alta o baja, y que esto fue consistente tanto para la fase I como la II del desarrollo (Tablas 2 y 4). Dado que los juveniles de *H. ingens* eran alimentados a las 10:00 y 14:30 horas, el análisis tomó en cuenta el momento de alimentación de la mañana y el de la tarde como el tercer factor en el análisis (Fig. 18).

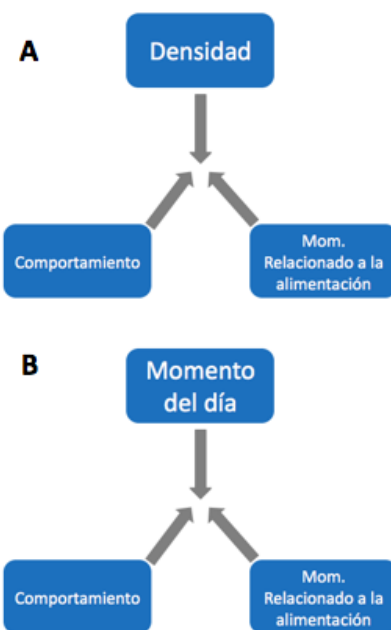


Figura 18. Esquema mostrando la interacción de los factores para el análisis de independencia del comportamiento de sujeción de juveniles tempranos de *H. ingens* en diferentes momentos de un ciclo de actividad diurna (A) y en diferentes momentos relacionados a la alimentación (B).

Al igual que en las observaciones descritas anteriormente, los juveniles de *H. ingens* que se encontraban sueltos en la columna de agua fueron siempre más frecuentes que aquellos agarrados al sustrato artificial (Tabla 5). Los porcentajes

de caballitos que fueron observados agarrados al sustrato fueron mucho menores y constantes, que los observados en la columna de agua.

En este caso, el comportamiento de sujeción al sustrato en los juveniles tempranos de *H. ingens* no se vio afectado con la presencia de alimento, y las proporciones de caballitos exhibiendo estas conductas fueron similares tanto antes como durante y después de ser alimentados (Fig. 19). Esta similitud en las proporciones de individuos sueltos/agarrados se mantuvieron constantes en la alimentación de la mañana y de la tarde (Fig. 19A y 19B). La única diferencia en el comportamiento observado consistió en que al momento de darles el alimento su actividad motriz y natatoria era mayor, es decir, pasaban de estar suspendidos en la columna de agua a una condición nado activo en busca del alimento.

Los resultados de las pruebas de χ^2 mostraron una independencia mutua entre los tres factores analizados ($\chi^2 = 7.84$; $p = 0.35$), por lo que se detuvo el análisis para concluir que la proporción de *H. ingens* sueltos es mucho mayor que la de los individuos agarrados al sustrato, y que la presencia de alimento no influye en este comportamiento en ninguno de los dos periodos de alimentación en los que hay luz natural (Tabla 5).

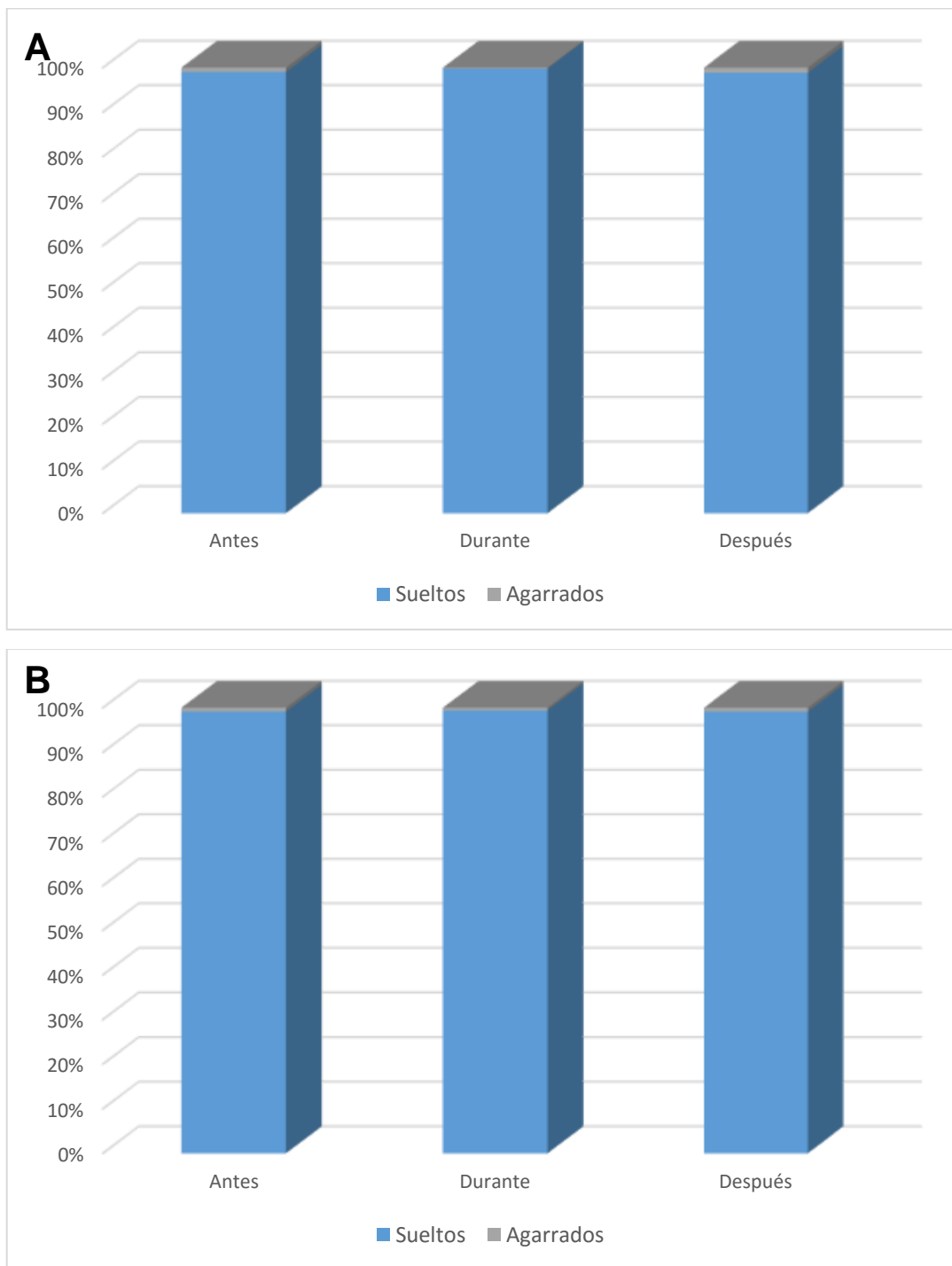


Figura 19. Porcentaje de juveniles de *H. ingens* con 21 días de nacidos (F-I) que fueron registrados sueltos en la columna de agua o agarrados a un sustrato artificial durante observaciones realizadas a 120 minutos antes de alimentar (Antes), durante la alimentación (Durante) y después de haber sido alimentados (Después), tanto en el periodo de alimentación de las 10:00 (A), como en el de las 14:30 (B); n = 8 acuarios; N = 6343 individuos en total.

Tabla 5. Frecuencia de juveniles de *H. ingens* con 21 días de nacidos (F-I) que fueron registrados sueltos en la columna de agua o agarrados a un sustrato artificial durante observaciones realizadas a 120 minutos antes de alimentar (Antes), durante la alimentación (Durante) y después de haber sido alimentados (Después), tanto en el periodo de alimentación de las 10:00 horas (A), como en el de las 14:30 horas (B); n = 8 acuarios; N = 6343 individuos en total.

	Mañana		Tarde	
	Sueltos	Agarrados	Sueltos	Agarrados
Antes	1057 (99.1)	10 (0.9)	1042 (97.7)	9 (0.8)
Durante	1063 (99.8)	2 (0.2)	1046 (98.2)	6 (0.6)
Después	1046 (98.9)	12 (1.1)	1041 (98.4)	9 (0.9)

7.4. Cambios en el comportamiento relacionados a la alimentación (Fase II)

Al igual que en la Fase I la mayor proporción de *H. ingens* de 21 días de edad también estuvieron sueltos en la columna de agua (Tabla 6). La única diferencia detectada fue que en esta etapa de desarrollo los caballitos eran más activos aún sin alimento presente. Al introducir el alimento todos los animales presentaron un nado más activo; pero pasado un tiempo y en ausencia de alimento, la actividad natatoria disminuía en intensidad y volvían a estar suspendidos en la columna de agua.

A pesar de lo anterior, en la fase II del desarrollo, las proporciones de caballitos sueltos y agarrados al sustrato artificial fueron similares independientemente de la presencia de alimento (Fig. 20), y esto fue consistente tanto para el periodo de alimentación de la mañana como para el de la tarde (Fig. 20A y 20B). Los resultados de la prueba de mutua independencia también resultó no significativa ($\chi^2 = 4.84$; $p = 0.68$). Tomando en cuenta los resultados de ambas fases de desarrollo es posible concluir que el comportamiento de sujeción de los caballitos de mar es independiente de la presencia de alimento durante cualquiera de los periodos de alimentación con luz natural, y que esto ocurre de forma estadísticamente similar en individuos desde 15 hasta 21 días de edad.

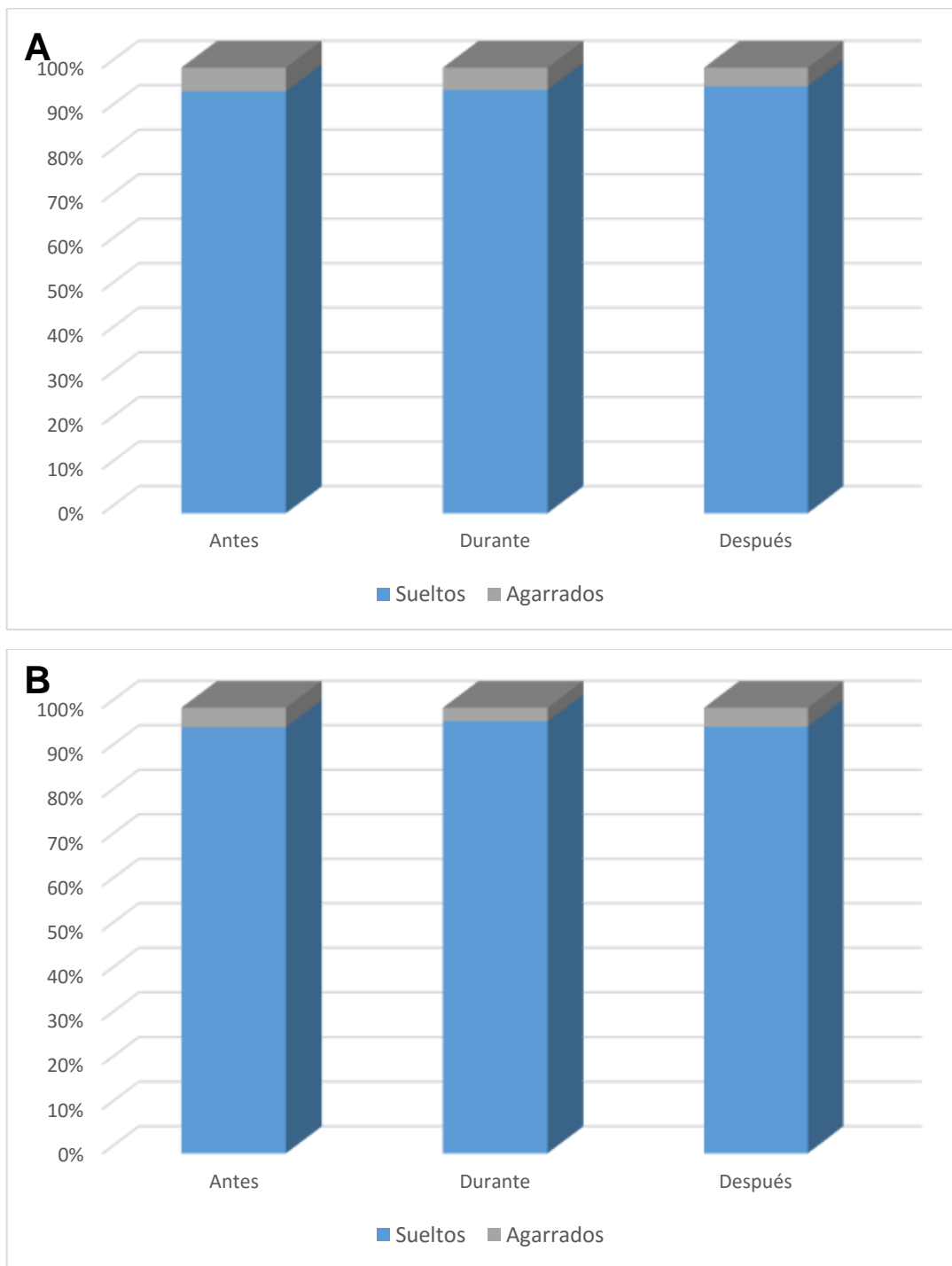


Figura 20. Porcentaje de juveniles de *H. ingens* con 21 días de nacidos (F-II) que fueron registrados sueltos en la columna de agua o agarrados a un sustrato artificial durante observaciones realizadas a 120 minutos antes de alimentar (Antes), durante la alimentación (Durante) y después de haber sido alimentados (Después), tanto en el periodo de alimentación de las 10:00 (A), como en el de las 14:30 (B); n = 8 acuarios; N = 3645 individuos en total.

Tabla 6. Frecuencia de juveniles de *H. ingens* con 21 días de nacidos (F-II) que fueron registrados sueltos en la columna de agua o agarrados a un sustrato artificial durante observaciones realizadas a 120 minutos antes de alimentar (Antes), durante la alimentación (Durante) y después de haber sido alimentados (Después), tanto en el periodo de alimentación de las 10:00 horas (A), como en el de las 14:30 horas (B); n = 8 acuarios; N = 3645 individuos en total.

	Mañana		Tarde	
	Sueltos	Agarrados	Sueltos	Agarrados
Antes	608 (94.7)	34 (5.3)	570 (88.8)	26 (4.0)
Durante	593 (95.0)	31 (5.0)	573 (91.8)	18 (2.9)
Después	578 (95.9)	25 (4.1)	564 (93.5)	25 (4.1)

8. Discusión

Las observaciones del comportamiento de *Hippocampus ingens* en el presente estudio revelaron que los juveniles tempranos de esta especie tienen la capacidad de sujeción, es decir, los caballitos de mar cuentan con una morfología y fisiología caudal que les permite desplegar este comportamiento, y que les es posible sujetarse tanto a las estructuras ofrecidas experimentalmente como entre ellos, tras sólo 12 días de haber nacido. Sin embargo, a pesar de poseer dicha capacidad, los resultados mostraron que la frecuencia de caballitos suspendidos en la columna de agua fue consistentemente mayor que aquellos sostenidos del sustrato a lo largo de todos los experimentos en las distintas condiciones y tiempos, sugiriendo que mantenerse sueltos en la columna de agua es resultado de una conducta activa; no se sujetan al sustrato por elección propia (Fig. 16, 17, 19 y 20).

Al estar suspendidos en la columna de agua, los caballitos muy pocas veces presentaron una actividad natatoria intensa, o que pudiera describirse como de búsqueda dirigida de alimento; sino que se mantenían flotando a distintas alturas de los acuarios experimentales gracias a los movimientos de la aleta caudal para los movimientos de propulsión, y de las aletas pectorales para la estabilización y dirección. Este tipo de nado es típico en estos organismos y explica parcialmente su movilidad relativamente reducida (Consi *et al.*, 2001).

Que hubiese siempre una proporción, aunque fuera pequeña, de caballitos agarrados al sustrato artificial nos permite asegurar no sólo que *H. ingens* tiene el potencial para dicha sujeción, sino que es claramente una característica consistente del comportamiento de este género en relación al sustrato ofrecido. Los hipocampos son conocidos por su asociación al sustrato, habiendo especies típicamente arrecifales (ej. *H. barbiganti*, Baine *et. al.*, 2008; *H. comes*, Perante, *et. al.*, 2002; *H. denise*, Lourie & Randall, 2003; *H. zebra*, Kuiter, 2001), otras asociadas a pastos marinos (ej. *H. capensis*, Whitfield, 1995; *H. erectus*, Teixeira

& Musick, 2001; *H. guttulatus*, Gristina *et. al.*, 2017; *H. mohnikei*, Lourie *et al.*, 1999a; *H. whitei*, Harasti *et. al.*, 2012), y a otras formas de vegetación sumergida (ej. *H. breviceps*; Kuitert, 2001; *H. coronatus*, Lourie *et. al.*, 2004). En todos los casos, los reportes de asociación al sustrato son principalmente en organismos en la fase adulta del ciclo de vida (Lourie *et al.*, 2004). Sin embargo, la mayoría de los juveniles del género *Hippocampus* pasan por un periodo planctónico inmediatamente después del nacimiento (Foster & Vincent, 2004; Otero-Ferrer *et al.*, 2010).

Estudios de laboratorio realizados con la especie *Hippocampus erectus* encontraron que la sujeción en dicha especie se presenta a pocas horas de nacidos (Alexandre, 2009; López-Hidalgo, 2014), predominando en la sujeción entre ellos para formar pequeños grupos de 3-4 organismos. A pesar de tener la capacidad de sujeción desde temprana edad, el comportamiento contrastante entre lo reportado para *H. erectus* e *H. ingens* nos hace pensar que estas especies presentan características de hábitos de vida distintos y que son estas particularidades las que les han brindado ventajas diferentes a lo largo de su historia evolutiva.

Al respecto de los hábitos de vida, se conocen únicamente seis especies de hipocampos que han sido reportadas formando parte de muestras de plancton (Kingsford & Choat, 1985; Kanou & Kohno, 2001; Vandendriessche *et al.*, 2005; Kleiber *et al.*, 2011; Luzzatto *et al.*, 2013;). No obstante, tomando en cuenta el fototactismo positivo que manifiestan las crías recién nacidas de varias especies del género (Foster & Vincent, 2004), se estima que hay otras especies podrían mostrar hábitos de vida similares (Foster & Vincent, 2004; Kleiber *et. al.* , 2011). *Hippocampus, ingens* es comúnmente encontrada en el estómago de grandes peces pelágicos como el atún, lo que permitió sugerir que son habitantes frecuentes en la zona pelágica (Foster & Vincent, 2004). A comparación de otras especies del género *Hippocampus* es un nadador relativamente fuerte llegando a habitar aguas de hasta 60 metros de profundidad (Lourie *et. al.*, 2004).

En particular se sabe que los juveniles de *H. ingens* pasan por un periodo plantónico prolongado en sus primeras semanas de vida que varía normalmente entre 1 a 2 meses (Gomezjurado, 2005), pudiéndose prolongar hasta 3 meses (Pete Giwojna com pers). Incluso se ha postulado que *H. ingens* e *Hippocampus reidi* evolucionaron a partir de un ancestro común hace tres millones de años, tras el surgimiento del istmo de Panamá (Lourie *et al.*, 1999b; Teske *et al.*, 2007). Un periodo plantónico prolongado en las primeras fases del ciclo de vida ayuda a explicar la relativa amplia distribución geográfica de estas especies, permitiéndole colonizar nuevos hábitats. En este contexto, los resultados del presente estudio, que evidencian una relación poco dependiente al sustrato, concuerdan con la caracterización de los hábitos de vida singulares de *H. ingens*.

En el contexto ecológico, se sabe que las condiciones de surgencia en el Pacífico Mexicano se pueden presentar en distintas temporadas del año (Lluch-Belda *et al.*, 2000; López-Sandoval *et al.*, 2009). Asociado a las surgencias se presenta un incremento en el aporte de alimento para los organismos del zooplancton, lo cual puede brindar las condiciones adecuadas (tamaño, calidad y disponibilidad de presas) para los juveniles de *H. ingens* en sus primeros meses de vida, pudiendo ser esta una evidencia que aporta sustento a su prolongada fase pelágica. En concordancia con lo anterior, se especula que la temporada reproductiva de *H. ingens* coincide con uno de los picos de productividad en el Pacífico (Saarman *et al.*, 2010).

Con respecto al comportamiento de sujeción al sustrato asociado al ciclo dial, los resultados mostraron que *H. ingens* es una especie con características diurnas. Su actividad es mayor en las horas con mayor intensidad de luz presentando su pico alrededor de mediodía. Por el contrario, en las horas con ausencia de luz su actividad fue casi nula.

Las observaciones de comportamiento de *H. ingens* en distintos momentos del día mostraron de manera consistente un incremento en la proporción de organismos sujetos al sustrato artificial durante las horas de oscuridad (Fig. 16 y 17). Dado que los hábitos de vida planctónicos de la mayoría de los juveniles del género *Hippocampus* han sido asociados a la disponibilidad de alimento presente en el plancton (Foster & Vincent, 2004), es razonable pensar que su comportamiento eminentemente diurno esté asociado a las horas con luz en las que se alimentan. Este comportamiento de hábitos diurnos es compartido con otras del género *Hippocampus* (ej. *H. breviceps*, *H. capensis*, *H. erectus*, *H. guttulatus*, *H. hippocampus*, *H. kuda*, *H. whitei*, *H. zosterae*; Foster & Vincent, 2004), quienes presentan su periodo de mayor actividad alrededor del mediodía. Dicha actividad disminuye conforme se acerca las horas de penumbra, hasta ser prácticamente nula en periodos de completa oscuridad (Ouyang, 2005; Felício *et al.*, 2006).

Los caballitos de mar son depredadores de emboscada, que haciendo uso de su capacidad para mimetizarse con el ambiente, se esconden en los arrecifes de coral y pastos marinos esperando a que se acerque su presa (Van Wassenbergh *et al.*, 2011). La visión juega un papel muy importante en el despliegue de esta conducta de alimentación. Los miembros de la familia *Syngnathidae* poseen una característica ocular inusual consistente en una especialización fóvea. La existencia de una fóvea se ha relacionado con la ampliación de la imagen, la fijación precisa y el enfoque direccional (Lee & Bumsted O'Brien, 2011). También se ha sugerido que los pigmentos retinales y el número de células fotorreceptoras en la fóvea mejoran la discriminación de color y la detección de movimiento (Mosk *et al.*, 2007).

También poseen la capacidad de mover los ojos de manera independiente, característica que les proporciona la capacidad de dirigir independientemente sus ojos a diferentes velocidades cuando dos presas están en su línea de visión, maximizando así su efectividad en el ataque (Fritsches & Marshall, 2002). Aunque la agudeza visual podría estar relacionada con su presencia en ambientes más

turbios, esta especialización ocular les daría una ventaja adaptativa para la caza de presas pequeñas. A este respecto, existen estudios que reportan una tasa de captura menor en ambientes con bajas intensidades de luz (James & Heck Jr., 1994).

A pesar de lo anterior, nuestros hallazgos contrastan con lo observado por Gomezjurado, quien llevó a cabo observaciones del comportamiento de *H. ingens*, y describió a esta especie con actividad nocturna, sin embargo, dichas observaciones fueron realizadas *in situ*, en Tagus Cove en la Isla Isabela, Galápagos Ecuador (com. pers.). Mientras que los estudios de conducta animal en laboratorio pueden ser criticados por las condiciones relativamente artificiales en las que se mantiene a los organismos, también debe tomarse en cuenta que el comportamiento *in situ* puede verse afectado por diversas variables ambientales, así como por interacciones biológicas que no se encuentran adecuadamente controladas. En este sentido, los resultados de estudios de laboratorio, bajo condiciones controladas, constituyen un complemento necesario para los trabajos en campo, y sus aportaciones, lejos de ser descartadas, deben ser consideradas valiosas dentro de sus propias limitaciones.

Otros estudios de laboratorio donde se registró la actividad de caballitos de mar a lo largo del día reportaron que los adultos de *Hippocampus guttulatus* se encontraban en mayor proporción sueltos en la columna de agua durante el día, pero se sujetaban a las estructuras disponibles durante la noche (Faleiro *et. al.*, 2008). Algo similar se reportó en el caso de *H. erectus* recién nacidos y con un mes de vida, cuya conducta estuvo caracterizada por una actividad menor durante las observaciones nocturnas (López-Hidalgo, 2014).

En el mismo estudio sobre *H. erectus*, López-Hidalgo (2014) encontró una mayor proporción de caballitos sueltos durante e inmediatamente después de ofrecerles alimento en el periodo de alimentación de la mañana. Esta autora explicó sus resultados en términos de la necesidad de los caballitos de soltarse del sustrato

para perseguir y capturar exitosamente a sus presas. En el presente estudio, sin embargo, la proporción de *H. ingens* sueltos y agarrados al sustrato fue similar independientemente de si contaban o no con el alimento dentro de los acuarios (Fig. 19 y 20). Una posible explicación es que mientras una proporción relativamente alta de *H. erectus* estaban sujetos al sustrato antes de ofrecerles el alimento (entre 72 y 98% dependiendo del tratamiento), la mayoría de los *H. ingens* ya se encontraban sueltos cuando el alimento fue introducido al acuario (sujetos: entre 0.8 y 5.3%, Tablas 5 y 6), indicando que la presencia de alimento sólo obliga a aquellos caballitos que están pasivos y agarrados al sustrato a liberarse, pero que dicha proporción es relativamente pequeña. Estos resultados fortalecen la idea de que *H. ingens* muestra una conducta general de estar preferentemente suelto en la columna de agua.

En la acuicultura las densidades de siembra son un tema importante a considerar. Dado que se busca obtener los mayores rendimientos posibles, uno de los principales objetivos en la producción es el optimizar el espacio conteniendo más animales cultivados en el menor espacio posible. Sin embargo, está bien documentado que altas densidades de cultivo afectan negativamente el bienestar animal, causando estrés crónico y afectando diversos procesos metabólicos (Vijayan *et al.*, 1990; Montero *et al.*, 1999). Esta afectación se ve reflejada en el desempeño físico, la susceptibilidad a enfermedades, alteraciones en el comportamiento y un mal aprovechamiento del alimento ocasionando un bajo crecimiento y una alta mortalidad (Iguchi *et al.*, 2003; Conte, 2004; Jha & Barat, 2005; North *et al.*, 2006; Ashley, 2007). Aunque, en el presente trabajo no se encontraron evidencias de que las densidades de cultivo utilizadas no afectaron el comportamiento de sujeción (Fig. 16 y 17, Tablas 2 y 4), las altas densidades sí afectaron de manera negativa a la sobrevivencia de los caballitos (Fig. 14), con porcentajes finales de 25 y 27.34% para los tratamientos de 8 y 16 ind l⁻¹ respectivamente.

En el estudio de López-Hidalgo (2014) realizado con juveniles de *H. erectus* en densidades de cultivo similares al presente trabajo (Baja = 10 ind l⁻¹ y Alta = 20 ind l⁻¹), la sobrevivencia fue considerablemente mayor (95% y 85% para las densidades baja y alta respectivamente). Adicionalmente, dicho autor sí encontró un efecto significativo de la densidad sobre el comportamiento de sujeción de *H. erectus*, los organismos de la fase intermedia mantenidos en densidades de cultivo altas, permanecen en mayor porcentaje sujetos al sustrato, que los organismos cultivados en baja densidad. A pesar de que varios estudios reportan que altas densidades de cultivo afectan negativamente a los organismos. Martínez-Cardenas y Purser, (2012) encontraron que el crecimiento y sobrevivencia de juveniles de *H. abdominalis* cultivados en altas (15 y 10 organismos l⁻¹) y bajas densidades (5 y 1.66 organismos l⁻¹) fueron estadísticamente similares, esto puede deberse a las características particulares de cada especie las cuales están adaptadas a las condiciones ecológicas del hábitat donde se distribuye.

Otros trabajos realizados con juveniles de *H. ingens* mostraron una sobrevivencia mayor: 60-80% (Reyes-Bustamante & Ortega-Salas, 1999); 59-69% (Ortega-Salas & Reyes-Bustamante, 2006). Cabe señalar que en ambos estudios la densidad de cultivo fue menor que la empleada en el presente trabajo (0.0395 ind l⁻¹, 12 ind l⁻¹ respectivamente). En el mismo sentido, reportes previos recomiendan que los juveniles de *H. ingens* sean cultivados en tanques pseudo-kriesel en densidades de cultivo no mayores a 6 juveniles por litro (Gomezjurado, 2005). Dado que en estos últimos trabajos no se les proporcionó ninguna estructura de soporte a los organismos, y no parece haber una respuesta negativa ante la ausencia de dichas estructuras, es razonable sugerir que las densidades de 8 y 16 organismos ind l⁻¹ utilizadas en el presente estudio fueron el factor determinante explicando la alta mortalidad de *H. ingens* observada.

Considerando lo anterior, se sugiere que el protocolo a seguir en el cultivo de juveniles de *H. ingens* sea el utilizar densidades bajas de organismos (entre 4 y 6 ind l⁻¹) sin que sea necesario suministrar estructuras de soporte, por lo menos en las primeras fases del ciclo de vida (< 30 días de nacidos). Esta metodología ha probado ser exitosa en cultivos a nivel comercial, como en la granja Ingens Cultivos Marinos, donde se utilizan densidades de cultivo bajas (1 ind l⁻¹ aproximadamente) y en ausencia de estructuras de soporte (Eliezer Zúñiga com. pers.).

Los resultados del presente estudio también hacen evidente la falta de homogeneidad en el comportamiento de sujeción al sustrato tanto entre especies del género *Hippocampus*, así como entre las distintas fases del ciclo de vida en que se encuentran. En consecuencia, a futuro se recomienda considerar la necesidad de conocer aspectos centrales de la biología de cada especie e identificar sus requerimientos particulares en el ámbito de la acuicultura, con la finalidad de asegurar el bienestar de los organismos y el cumplimiento de los estándares biológicos y estéticos que la industria de la acuarofilia demanda.

9. Conclusiones

1. Los juveniles *Hippocampus ingens* mostraron una capacidad de sujeción, tanto al sustrato como entre ellos mismos, desde los pocos días de nacidos.
2. Durante los primeros 30 días de vida, los juveniles de *H. ingens* permanecieron la mayor parte del tiempo suspendidos en la columna de agua, sin mostrar un nado activo o dirigido.
3. Los juveniles de *H. ingens* mostraron hábitos principalmente diurnos, con más actividad durante las horas con mayor intensidad de luz; durante las horas de penumbra su actividad se ve reducida, siendo casi nula.
Concordando con esto, fue durante las horas de baja intensidad de luz en las que se presentaron las mayores proporciones de caballitos sujetos al sustrato ofrecido.
4. La proporción de caballitos sueltos/agarrados fue similar en los distintos momentos asociados al suministro de alimento (antes, durante y después de alimentar); sin embargo, la actividad de juveniles de *H. ingens* que se encontraban sueltos en la columna de agua aumentó, y su nado se volvió más intenso, sobre todo durante la alimentación cuando las presas abundaban en disponibilidad.
5. Las distintas densidades de cultivo utilizadas en este estudio no afectaron el comportamiento de sujeción de los caballitos y las diferencias observadas a lo largo del día fueron similares tanto con 8 como con 16 ind l^{-1} . A pesar de ello, sí afectaron negativamente y de manera muy marcada, la sobrevivencia de juveniles tempranos de *H. ingens*. Con base en estos resultados, se recomiendan densidades de cultivo menores a 6 ind l^{-1} , sin la necesidad de suministrarles estructuras de sujeción, por lo menos para estas fases del ciclo de vida.
6. Los caballitos *H. ingens* en las Fases I y II de desarrollo ontogénico (0 a 20 y 20 a 60 días de nacidos) presentaron comportamientos de sujeción al sustrato similares, por lo que se concluye que para efectos del

comportamiento estudiado ambas etapas del desarrollo ontogénico son similares.

7. Las diferencias en el comportamiento de sujeción al sustrato entre juveniles de distintas especies del género *Hippocampus* son evidencias de una variación importante en los hábitos de vida, que seguramente responden al conjunto de adaptaciones para vivir en los ambientes donde se distribuyen. Por lo anterior, es difícil que se puedan homologar protocolos de cultivo para todas las especies de hipocampos, y es importante estudiarlas caso por caso.
8. Es necesario conocer la biología y ecología de las especies sujetas a cultivo de manera que se puedan satisfacer sus requerimientos, asegurando que su desarrollo fisiológico y conductual sea el óptimo, y que su cultivo sea exitoso, así como generando información base que sirva para desarrollar estrategias de manejo de acorde a sus necesidades.
9. La acuicultura es una herramienta importante en el manejo integral de las costas, proveyendo una alternativa a la extracción de organismos del medio natural. El cultivo de especies ornamentales es un sector, que debido a los objetivos de producción que busca (individuos sobre biomasa), no necesita grandes extensiones de terreno para desarrollarse, siendo más fácil su manejo, y por lo tanto es más factible que se implementen estrategias que alcancen los objetivos de sustentabilidad establecidos para la actividad acuícola.

10. Bibliografía

- Alexandre, D. (2009). *Sobrevivência e Crescimento de juvenis de cavalos-marinhos (Hippocampus sp.)*. Tese de Mestre. Universidade do Algarve. Campus Gambelas, Faro, Portugal 96 p.
- Alvarez-Lajonchere, L., Cerqueira, V. R., Silva, I. D., Araujo, J., & Dos Reis, M. (2002). Mass Production of Juveniles of the Fat Snook *Centropomus parallelus* in Brazil. *Journal of the World Aquaculture Society*, 33(4), 506–516. <http://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2002.tb00031.x>
- Ashley, P. J. (2007). Fish welfare: Current issues in aquaculture. *Applied Animal Behaviour Science*, 104(3–4), 199–235. <http://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.09.001>
- Baine, M. S. P., Barrows, A. P. W., Ganiga, G., & Martin-Smith, K. M. (2008). Residence and movement of pygmy seahorses, *Hippocampus bargibanti*, on sea fans (*Muricella* spp.). *Coral Reefs*, 27(2), 421. <http://doi.org/10.1007/s00338-007-0352-5>
- Baum, J. K., & Vincent, A. C. J. (2005). Magnitude and inferred impacts of the seahorse trade in Latin America. *Environmental Conservation*, 32(4), 305. <http://doi.org/10.1017/S0376892905002481>
- Bell, J. D., Clua, E., Hair, C. A., Galzin, R., & Doherty, P. J. (2009). The Capture and Culture of Post-Larval Fish and Invertebrates for the Marine Ornamental Trade. *Reviews in Fisheries Science*, 17(2), 223–240. <http://doi.org/10.1080/10641260802528541>
- Bruckner, A. W. (2005). The importance of the marine ornamental reef fish trade in the wider Caribbean. *Revista de Biología Tropical*, 53(SUPPL. 1), 127–137.
- Calado, R., Olivotto, I., Planas, M., Holt, G.J. (2017) *Marine Ornamental Species Aquaculture*. UK.Wiley Blackwell. 712 p.
- CITES Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre. Apéndices I , II y III (2015).

- Conte, F. S. (2004). Stress and the welfare of cultured fish. *Applied Animal Behaviour Science*, 86(3–4), 205–223. <http://doi.org/10.1016/j.applanim.2004.02.003>
- Consi, T. R., Seifert, P. A., Triantafyllou, M. S., & Edelman, E. R. (2001). The dorsal fin engine of the seahorse (*Hippocampus sp.*). *Journal of Morphology*, 248(1), 80–97. <http://doi.org/10.1002/jmor.1022>
- Damsgård, B., Juell, J.-E., & Braastad, B. O. (2006). *Welfare in farmed fish. Physiology* (Vol. 5). <http://doi.org/10.1007/s10695-011-9538-4>
- Dalbeek, J. C. (2001) Coral Farming: past, present and future trends. *Aquarium Sciences and Conservation*, 3, 171-181
- Faleiro, F., Narciso, L., & Vicente, L. (2008). Seahorse behaviour and aquaculture: How to improve *Hippocampus guttulatus* husbandry and reproduction? *Aquaculture*, 282, 33–40. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.05.038>
- FAO. *Desarrollo de la acuicultura. 4. Enfoque ecosistémico a la acuicultura*. FAO Orientaciones Técnicas para la Pesca Responsable. No. 5, Supl. 4. Roma, FAO. 2011. 60p.
- FAO. (2014). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). Roma, Italia. 253 p.
- Felício, A. K. C., Rosa, I. L., Souto, A., & Freitas, R. H. A. (2006). Feeding behavior of the longsnout seahorse *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933. *Journal of Ethology*, 24(3), 219–225. <http://doi.org/10.1007/s10164-005-0189-8>
- Flores-Nava, A. & Euán, J. (2004). *La Acuicultura en el marco del Manejo Integral de la Zona Costera: Reflexiones Generales*. En E. Rivera Arriaga, G. J. Villalobos, I. Azuz Adeath, y F. Rosado May (eds.). *El Manejo Costero en México*. Universidad Autónoma de Campeche, SEMARNAT, CETYS-Universidad, Universidad de Quintana Roo. 654 p.
- Foster, S. J., & Vincent, A. C. J. (2004). Life history and ecology of seahorses: implications for conservation and management. *Journal of Fish Biology*, 65(1), 1–61. <http://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2004.00429.x>

- Fraser, D., Weary, D. M., Pajor, E. A., & Milligan, B. N. (1997). A scientific conception of animal welfare that reflects ethical concerns. *Animal Welfare*, 6(3), 187–205.
- Fritsches, K. a, & Marshall, N. J. (2002). Independent and conjugate eye movements during optokinesis in teleost fish. *The Journal of Experimental Biology*, 205(Pt 9), 1241–52.
- Gomezjurado, J. (2005). Pacific Seahorse, *Hippocampus ingens*. En H. Koldewey (Ed.), *Syngnathid Husbandry in Public Aquariums* (p. 137). London, UK.
- Gristina, M., Cardone, F., Desiderato, A., Mucciolo, S., Lazic, T., & Corriero, G. (2017). Habitat use in juvenile and adult life stages of the sedentary fish *Hippocampus guttulatus*. *Hydrobiologia*, 784(1), 9–19. <http://doi.org/10.1007/s10750-016-2818-3>
- Hale, M. E. (1996). Functional Morphology of Ventral Tail Bending and Prehensile Abilities of the Seahorse, *Hippocampus kuda*. *Journal of Morphology*, 5(227), 51–65.
- Håstein, T., Scarfe, A. D., & Lund, V. L. (2005). Science-based assessment of welfare: aquatic animals. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz*, 24(2), 529–547.
- Harasti, D., Martin-Smith, K., & Gladstone, W. (2012). Population dynamics and life history of a geographically restricted seahorse, *Hippocampus whitei*. *Journal of Fish Biology*, 81(4), 1297–1314. <http://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2012.03406.x>
- Iguchi, K., Ogawa, K., Nagae, M., & Ito, F. (2003). The influence of rearing density on stress response and disease susceptibility of ayu (*Plecoglossus altivelis*). *Aquaculture*, 220(1–4), 515–523. [http://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00626-9](http://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00626-9)
- IUCN. (2016) The International Union for Conservation of Nature Red List of Threatened Species Version 2016-3. Retrieved 07 April 2017. www.iucnredlist.org

- James, P. L., & Heck Jr., K. L. (1994). The effects of habitat complexity and light intensity on ambush predation within a simulated seagrass habitat. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 176(2), 187–200. [http://doi.org/10.1016/0022-0981\(94\)90184-8](http://doi.org/10.1016/0022-0981(94)90184-8)
- Jha, P., & Barat, S. (2005). The Effect of Stocking Density on Growth, Survival Rate, and Number of Marketable Fish Produced of Koi Carps, *Cyprinus carpio* vr. *koi*, in Concrete Tanks. *Journal of Applied Aquaculture*, 17(3), 89–102. http://doi.org/10.1300/J028v17n03_07
- Kanou, K., & Kohno, H. (2001). Early life history of a seahorse, *Hippocampus mohnikei*, in Tokyo Bay, Japan. *Ichthyological Research*, 48(2001), 361–368. <http://doi.org/10.1007/s10228-001-8159-9>
- Kingsford, M. J., & Choat, J. H. (1985). The fauna associated with drift algae captured with a plankton-mesh purse seine net. *Limnology and Oceanography*, 30(3), 618–630. [http://doi.org/10.1016/0198-0254\(85\)93952-4](http://doi.org/10.1016/0198-0254(85)93952-4)
- Kleiber, D., Blight, L. K., Caldwell, I. R., & Vincent, A. C. J. (2011). The importance of seahorses and pipefishes in the diet of marine animals. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 21(2), 205–223. <http://doi.org/10.1007/s11160-010-9167-5>
- Koldewey, H. J., & Martin-Smith, K. M. (2010). A global review of seahorse aquaculture. *Aquaculture*, 302(3–4), 131–152. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.11.010>
- Kuiter, R. H. (2001). Revision of the Australian seahorses of the genus *Hippocampus* (Syngnathiformes: Syngnathidae) with descriptions of nine new species. *Records of the Australian Museum*, 53(3), 293–340. <http://doi.org/10.3853/j.0067-1975.53.2001.1350>
- Lee, H. R., & Bumsted O'Brien, K. M. (2011). Morphological and behavioral limit of visual resolution in temperate (*Hippocampus abdominalis*) and tropical (*Hippocampus taeniopterus*) seahorses. *Visual Neuroscience*, 28(2011), 351–360. <http://doi.org/10.1017/S0952523811000149>

- Lluch-Belda, D., Elorduy-Garay, J., Lluch-Cota, S. E., & Ponce-Díaz, G. (2000). *Centros de Actividad Biológica del Pacífico mexicano*. México: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. 264 p.
- López-Hidalgo, A. M. (2014). Estudio del comportamiento de fijación en cautividad de juveniles de *Hippocampus erectus* (Perry 1980) durante las fases tempranas de desarrollo. Tesina de Maestría. Universidad Las Palmas de Gran Canaria.
- López-Sandoval, D. C., Lara-Lara, J. . R., Lavín, M. F., Álvarez-Borrego, S., & Gaxiola-Castro, G. (2009). Primary productivity in the eastern tropical Pacific off Cabo Corrientes , Mexico. *Ciencias Marinas*, 35(2), 169–182.
- Lourie, S. A., Pritchard, J. C., Casey, S. P., Truong, S. K., Hall, H. J., & Vincent, A. C. J. (1999a). The taxonomy of Vietnam's exploited seahorses (family *Syngnathidae*). *Biological Journal of the Linnean Society*, 66(2), 231–256. <http://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1999.tb01886.x>
- Lourie, S. A., Vincent, A. C. J., & Hall, H. J. (1999b). Seahorses. An Identification Guide to the World's Species and their Conservation. London, UK: Project Seahorse.
- Lourie, S. A., & Randall, J. E. (2003). A New Pygmy Seahorse *Hippocampus denise* (Teleostei: Syngnathidae) from the Indo-Pacific. *Zoological Studies*, 42(2), 284–291.
- Lourie, S. A., Foster, S. J., Cooper, E. W. T., & Vincent, A. C. J. (2004). A Guide to the Identification of Seahorses. Project Seahorse and TRAFFIC North América. Washington D.C.: University of British Columbia and World Wildlife Fund.
- Luzzatto, D. C., Estalles, M. L., & Díaz de Astarloa, J. M. (2013). Rafting seahorses: The presence of juvenile *Hippocampus patagonicus* in floating debris. *Journal of Fish Biology*, 83(3), 677–681. <http://doi.org/10.1111/jfb.12196>

- Martinez-Cardenas, L., & Purser, G. J. (2012). Effect of stocking density and photoperiod on growth and survival in cultured early juvenile pot-bellied seahorses *Hippocampus abdominalis* Lesson, 1827. *Aquaculture Research*, 43(10), 1536–1549. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02958.x>
- Montero, D., Izquierdo, M. S., Tort, L., Robaina, L., & Vergara, J. M. (1999). High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiology and Biochemistry*, 20, 53–60. <http://doi.org/10.1023/A:1007719928905>
- Mosk, V., Thomas, N., Hart, N. S., Partridge, J. C., Beazley, L. D., & Shand, J. (2007). Spectral sensitivities of the seahorses *Hippocampus subelongatus* and *Hippocampus barbouri* and the pipefish *Stigmatopora argus*. *Visual Neuroscience*, 24(3), 345–354. <http://doi.org/10.1017/S0952523807070320>
- North, B. P., Turnbull, J. F., Ellis, T., Porter, M. J., Migaud, H., Bron, J., & Bromage, N. R. (2006). The impact of stocking density on the welfare of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 255(1–4), 466–479. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.01.004>
- Olivotto, I., Planas, M., Simões, N., Holt, G. J., Avella, M. A., & Calado, R. (2011). Advances in Breeding and Rearing Marine Ornamentals. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42(2), 135–166. <http://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2011.00453.x>
- Ortega-Salas, A. A., & Reyes-Bustamante, H. (2006). Fecundity, survival, and growth of the seahorse *Hippocampus ingens* (Pisces: Syngnathidae) under semi-controlled conditions. *Biología Tropical*, 54(4), 1099–1102.
- Otero-Ferrer, F., Molina, L., Socorro, J., Herrera, R., Fernández-Palacios, H., & Soledad Izquierdo, M. (2010). Live prey first feeding regimes for short-snouted seahorse *Hippocampus hippocampus* (Linnaeus, 1758) juveniles. *Aquaculture Research*, 41(9), 8–20. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02505.x>
- Ouyang, Z. (2005). *Locomotor activity of cultured seahorses*. University of Tasmania. 98 pp.

- Palmtag, M. R., & Holt G. J. (2007). Experimental Studies to Evaluate Larval Survival of the Fire Shrimp, *Lysemata debelius*, to the Juvenile Stage. *World Aquaculture Society*, 38(1), 102-113. <http://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2006.00078.x>
- Perante, N. C., Pajaro, M. G., Meeuwig, J. J., & Vincent, A. C. J. (2002). Biology of a seahorse species, *Hippocampus comes* in the central Philippines. *Journal of Fish Biology*, 60(4), 821–837. <http://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2002.tb02412.x>
- Reyes-Bustamante, H., & Ortega-Salas, A. A. (1999). Cultivo del caballito de mar, *Hippocampus ingens* (Pisces: Syngnathidae) en condiciones artificiales. *Revista de Biología Tropical*, 47(4), 1045–1049.
- Reynoso-Lango, F., Castañeda-Chávez, M., Zamora-Castro, J. E., Hernández-Zárate, G., Ramírez-Barragán, M. A., & Solís-Morán, E. (2012). La acuariofilia de especies ornamentales marinas: un mercado de retos y oportunidades. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 40(1), 12–21. <http://doi.org/10.3856/vol40-issue1-fulltext-2>
- Roscoe, J. T., & Bryars, J. A. (1971). Sample size restraints commonly imposed on the use of chi-square statistic. *Journal of the American Statistical Association*, 66, 755–759.
- Saarman, N. P., Louie, K. D., & Hamilton, H. (2010). Genetic differentiation across eastern Pacific oceanographic barriers in the threatened seahorse *Hippocampus ingens*. *Conservation Genetics*, 11(5), 1989–2000. <http://doi.org/10.1007/s10592-010-0092-x>
- SEMARNAT. NORMA oficial Mexicana MOM-059-SEMARNAT-2010. Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo, Diario Oficial 78 (2010). México.
- SEMARNAT. Plan de Manejo Tipo de Para Peces Marinos de Ornato (2012). México.
- Sheng, J., Lin, Q., Chen, Q., Gao, Y., Shen, L., & Lu, J. (2006). Effects of food, temperature and light intensity on the feeding behavior of three-spot juvenile

- seahorses, *Hippocampus trimaculatus* Leach. *Aquaculture*, 256(1–4), 596–607. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.02.026>
- Sweet, T. (2017) A CORAL SPECIAL REPORT: The State of the Marine Breeders' Art 2017. <http://www.reef2rainforest.com/2016/11/17/coral-magazines-captive-bred-marine-fish-species-list-for-2017/> (consultado el 11 de mayo de 2017)
- Teixeira, R. L., & Musick, J. a. (2001). Reproduction and food habits of the lined seahorse, *Hippocampus erectus* (Teleostei: Syngnathidae) of Chesapeake Bay, Virginia. *Revista Brasileira de Biología*, 61(1), 79–90. <http://doi.org/10.1590/S0034-71082001000100011>
- Teske, P. R., Hamilton, H., Matthee, C. A., & Barker, N. P. (2007). Signatures of seaway closures and founder dispersal in the phylogeny of a circumglobally distributed seahorse lineage. *BMC Evol Biol*, 7, 138. <http://doi.org/10.1186/1471-2148-7-138>
- Thomson, M. (1993). The Locomotory and Myotomal Musculature of the Seahorse *Hippocampus abdominalis*. Master's Thesis. University of Canterbury. 201 pp.
- Tlusty, M. (2002). The benefits and risks of aquaculture production for the aquarium trade. *Aquaculture*, 205, 203–219. Retrieved from http://ac.els-cdn.com/S0044848601006834/1-s2.0-S0044848601006834-main.pdf?_tid=c4e6674d1f2163ebb89540511c0b89ce&acdnat=1345568271_a5761d14a26e64875224254be2544aeb
- Van Wassenbergh, S., Roos, G., & Ferry, L. (2011). An adaptive explanation for the horse-like shape of seahorses. *Nature*, 2(1), 164. <http://doi.org/10.1038/ncomms1168>
- Vandendriessche, S., Messiaen, M., Vincx, M., & Degraer, S. (2005). Juvenile *Hippocampus guttulatus* from a neuston tow at the French-Belgian border. *Belgian Journal of Biology*, 135(1), 101–102.
- Vijayan, M. M., Ballantyne, J. S., & Leatherland, J. F. (1990). High stocking density alters the energy metabolism of brook charr, *Salvelinus fontinalis*. *Aquaculture*, 88(3–4), 371–381. [http://doi.org/10.1016/0044-8486\(90\)90162-G](http://doi.org/10.1016/0044-8486(90)90162-G)
- Vincent, A. C. J. (1995). Keeping seahorses. *Maquaculture*, 3, 1–6.

- Vincent, A. C. J., Foster, S. J., & Koldewey, H. J. (2011). Conservation and management of seahorses and other Syngnathidae. *Journal of Fish Biology*, 78, 1681–1724. <http://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2011.03003.x>
- Wabnitz, C., Taylor, M., Green, E., & Razak, T. (2003). *From ocean to aquarium. The global trade in marine ornamental species*. Cambridge, UK. Retrieved from http://www.unep-wcmc.org/resources/publications/UNEP_WCMC_bio_series/17.htm
- Whitfield, A. K. (1995). Threatened fishes of the world: *Hippocampus capensis* Boulenger, 1990 (Syngnathidae). *Environmental Biology of Fishes*, 44, 362. <http://doi.org/10.1007/BF00008251>
- Wijesekara, R. G. S., & Yakupitiyage, A. (2001). Ornamental Fish Industry in Sri Lanka: Present Status and Future Trends. *Aquarium Sciences and Conservation*, 3, 241–252. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1023/A%3A1013154407298>
- Willadino, L., Souza-Santos, L. P., Mélo, R. C. S., Brito, A. P., Barros, N. C. S., Araújo-Castro, C. M. V, ... Cavalli, R. O. (2012). Ingestion rate, survival and growth of newly released seahorse *Hippocampus reidi* fed exclusively on cultured live food items. *Aquaculture*, 360–361, 10–16. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.06.025>
- Wilson, A. B., Ahnesjö, I., Vincent, A. C. J., & Meyer, A. (2003). The dynamics of male brooding, mating patterns, and sex roles in pipefishes and seahorses (family Syngnathidae). *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 57(6), 1374–1386. <http://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2003.tb00345.x>
- Wood, E. (2001). Collection of coral reef fish for aquaria: Global trade, conservation issues and management strategies. Marine Conservation Society, UK.
- Zar, J. H. (1999). *Bioestatistical Analysis*. London, UK: Prentice-Hall. 663 pp.