



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

La preferencia de refugios y su relación con las tasas de mortalidad y el crecimiento en juveniles del pulpo *Octopus maya* en cultivo

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE BIÓLOGA

PRESENTA

JESSICA JULIANA TORRES ALVAREZ

DIRECTORES DE TESIS

DR. PEDRO PABLO GALLARDO ESPINOSA

DRA. GUILLERMINA ALCARAZ ZUBELDIA

Ciudad Universitaria, CDMX.

octubre 2023



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.

CONTENIDO

CONTENIDO	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	4
<i>Características generales de los pulpos (Orden Octopoda)</i>	4
<i>Caracteres distintivos de Octopus maya</i>	5
<i>Distribución de Octopus maya</i>	6
<i>Importancia de los refugios</i>	8
JUSTIFICACIÓN	10
PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	11
OBJETIVO GENERAL	12
OBJETIVOS PARTICULARES	12
HIPÓTESIS	12
MATERIALES Y MÉTODOS	13
<i>Obtención, manejo de los organismos y condiciones de cultivo</i>	13
<i>Preferencia de refugio</i>	15
<i>Ensayo preliminar</i>	17
<i>Ensayos definitivos</i>	17
<i>Crecimiento y supervivencia</i>	19
<i>Determinación de la frecuencia de expresión de conducta caníbal</i>	21
<i>Análisis estadístico</i>	22
Preferencia de refugio	22
Crecimiento y supervivencia	22
RESULTADOS	22
<i>Preferencia de refugio</i>	22
Parámetros fisicoquímicos	25
<i>Crecimiento y supervivencia</i>	25
Parámetros fisicoquímicos	26
<i>Determinación de la frecuencia de expresión de conducta caníbal</i>	28
DISCUSIÓN	30
CONSIDERACIONES	36
REFERENCIAS	37
Anexo 1. Registro fotográfico de los pulpos que murieron con y sin daño aparente de canibalismo	46

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue parcialmente financiado por el proyecto PAPIIT IT 201621 otorgado a Pedro Gallardo, el proyecto PAPIIT-UNAM IN-218321 otorgado a la Dra. Guillermina Alcaraz y el proyecto CONACYT 61503 otorgado a Carlos Rosas, todos de la Facultad de Ciencias, UNAM

RESUMEN

El pulpo *Octopus maya* es endémico de la península de Yucatán y es uno de los recursos pesqueros más importantes de la zona. En la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación (UMDI), en Sisal de la UNAM (Yucatán, México) se han investigado diversos aspectos de la especie con el objetivo de realizar un cultivo. Los pulpos son animales solitarios que se resguardan en refugios principalmente para evitar ser depredados. En este estudio se evaluó la preferencia de juveniles de *O. maya* por cinco tipos de refugios, se realizó un ranking de preferencia con cinco diferentes tipos de refugios (concha de gasterópodo, pasto de rafia, tubo de plástico, codo de plástico y cueva artificial), y en un segundo experimento se evaluaron el canibalismo y las tasas de crecimiento y supervivencia cuando los organismos estaban con el refugio preferido y cuando estaban con el último refugio elegido. Los pulpos eligieron como primera opción el refugio construido con tubo de PVC, mientras que eligieron pasto de rafia como última opción. Los resultados en el experimento 2 mostraron que la supervivencia al día 15 fue mayor en las rafias (70.8%) que en los tubos (37.5%). Sin embargo, el crecimiento corporal de los pulpos fue similar en los animales con refugios de tubos de PVC y de rafia, lo cual es contrastante con los resultados de supervivencia. Considerando la mortalidad causada por canibalismo, nuestros resultados apoyan la hipótesis que plantea que la respuesta de preferencia por refugios es una conducta adaptativa en las crías de *Octopus maya*.

INTRODUCCIÓN

El pulpo rojo (*Octopus maya*) es uno de los recursos pesqueros más importantes en la Península de Yucatán debido a los volúmenes de captura, así como al elevado valor comercial que alcanza el cual está asociado con la gran demanda a nivel local, nacional e internacional (Hernández y De Jesús, 2010; Cabrera *et al.* 2012). Por ser una especie

abundante y fácil de extraer su pesca se ha incrementado en los últimos 20 años (Cabrera *et al.* 2012).

Debido al aumento en la presión de pesca, diversas investigaciones abordan aspectos para la conservación y el uso adecuado de la especie. Se ha buscado implementar las mejores condiciones de cultivo de la especie a nivel industrial en la acuicultura. Actualmente, en las instalaciones de la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación (UMDI), en Sisal de la UNAM (Yucatán, México) existe una unidad piloto experimental para la producción y crianza de *O. maya* en donde se han investigado aspectos biológicos de la especie, como su reproducción (Juárez *et al.* 2015; Caamal *et al.* 2015; Tercero *et al.* 2015), fisiología (Noyola *et al.* 2013), metabolismo (Gallardo *et al.* 2017), nutrición (Domingues *et al.* 2007; Rosas *et al.* 2007a; Martínez *et al.* 2014; Gallardo *et al.* 2020), así como las condiciones fisicoquímicas adecuadas de mantenimiento como temperatura y oxígeno disuelto (Uriarte *et al.* 2011; Rosas *et al.* 2014a).

Uno de los tópicos en los que más se ha investigado es el que tiene que ver con el diseño de dietas adecuadas que favorezcan el crecimiento y la supervivencia de los juveniles (Aguila *et al.* 2007; Domingues *et al.* 2007; Rosas *et al.* 2007b; Rosas *et al.* 2008; Moguel *et al.* 2010; Uriarte *et al.* 2011; Martínez *et al.* 2012; Martinez *et al.* 2014; Méndez-Aguilar *et al.* 2014).

En la actualidad, los pulpos en cultivo son mantenidos en estanques en donde se colocan tubos de PVC o conchas de moluscos gasterópodos con el fin de proporcionar refugios artificiales que le permitan a los animales resguardarse (Domingues *et al.* 2012). Aunque esos sistemas han sido útiles para mantener juveniles y adultos, es necesario seguir investigando para encontrar sistemas de mantenimiento de las crías diseñados específicamente para

satisfacer las particularidades de las primeras etapas del ciclo de vida, periodo en el que se ha observado se presentan las mayores tasas de canibalismo (Rosas *et al.* 2014a)

Uno de los aspectos importantes para mejorar las condiciones de cultivo del pulpo rojo es el tipo de refugio que se les debe proporcionar a los organismos para maximizar su supervivencia en un sistema de cultivo. Los pulpos son organismos esencialmente carnívoros que pueden alimentarse de peces, crustáceos, moluscos, e incluso de pequeñas algas (Mather y Scheel, 2014). Estudios realizados en el laboratorio han demostrado que cuando los pulpos son alimentados con alimentos de mala calidad las conductas de canibalismo se exageran, principalmente debido a que en la etapa juvenil estos animales son altamente voraces. Por esta razón, se ha invertido un gran esfuerzo de investigación en el desarrollo de una dieta adecuada para estos animales (Martínez *et al.* 2012; Martínez *et al.* 2014). El otro aspecto a considerar en condiciones de cultivo es el de la estructura del ambiente. En los conceptos de bienestar animal se ha puesto particular énfasis en que el ambiente de crianza o cultivo de cualquier especie debe de ofrecer las condiciones más propicias para los organismos. En este sentido, el tipo de refugios aparece como un requerimiento clave para proporcionar las condiciones adecuadas para el cultivo de pulpo (Kwon y Kim, 2015). Algunos investigadores han estudiado el efecto de los refugios en el crecimiento del pulpo juvenil *Octopus vulgaris*. Por ejemplo, Kwon y Kim (2015) evaluaron la utilidad de dos tipos de refugio para reducir el canibalismo: neumáticos y tubos de PVC en tanques con condiciones controladas; mientras que Kwon *et al.* (2019) evaluaron *in situ* las tasas de crecimiento y supervivencia utilizando tres tipos de refugio: neumáticos, tubos y en ausencia de refugios. Borges *et al.* (2015) evaluaron la preferencia de refugio variando la forma, el color y el tipo de material (PVC o arcilla). A pesar de que son pocos los estudios que han abordado esta temática, podemos asegurar la importancia de este conocimiento y el creciente interés en este tema debido a la

importancia que tienen los refugios para supervivencia y el bienestar de los pulpos. El presente estudio se enfocó en evaluar la preferencia por cinco diferentes tipos de refugios 1) concha de gasterópodo, 2) pasto de rafia, 3) tubos de PVC y CPVC, 4) codos de PVC y CPVC y 5) cueva de yeso; así como el crecimiento y supervivencia de juveniles de *O. maya* en condiciones de mantenimiento en presencia del refugio preferido y de el de menor preferencia por estos animales.

ANTECEDENTES

Características generales de los pulpos (Orden Octopoda)

Los cefalópodos son moluscos marinos depredadores (Dill *et al.* 2021). La Clase *Cephalopoda* (Cuvier G, 1795) comprende a nautiloideos, sepias, calamares y pulpos (Boyle y Rodhouse, 2005), y dentro se encuentra el Orden Octopoda al que pertenecen los pulpos (Brusca y Brusca, 2003). Los pulpos tienen un cuerpo corto y redondeado con ocho brazos unidos por una membrana de piel, la membrana interbraquial (Brusca y Brusca, 2003). Los estiletes son dos pequeñas estructuras quitinosas, finas y alargadas a las que se les ha atribuido la función de soporte para el músculo del sifón y son una reminiscencia de la concha en octópodos. Los estiletes se encuentran ubicados en el manto bajo la base de las branquias (Boyle y Rodhouse, 2005; Bizikov, 2008). El manto es una estructura musculosa que alberga todos los órganos de los cefalópodos (Dill *et al.* 2021). Estos moluscos tienen un embudo muscular llamado sifón, a través del cual el agua es expulsada, proporcionando una propulsión a chorro (Brusca y Brusca, 2003). Además, los pulpos se caracterizan por tener una glándula y un reservorio de tinta para protección y escape (Castillo, 2014), y un pico y una rádula en la región bucal que les ayuda a desgarrar trozos de carne (Boyle y Rodhouse, 2005). Los pulpos segregan una sustancia paralizante (Pech-Puch *et al.* 2016) y algunos tienen una mordedura muy tóxica (Castro y Huber, 2007). Los cefalópodos son carnívoros

voraces y se ha señalado que la presencia de comportamientos caníbales está asociada con la disponibilidad de alimentos, la densidad de población y la época reproductiva, entre otros factores (Ibañez y Keyl, 2010; Miranda *et al.* 2011; Hanlon y Messenger, 2018). El canibalismo está presente en diversas especies de cefalópodos tanto de calamares como de pulpos, de los géneros *Illex*, *Octopus*, *Dosicus*, *Onychoteuthis*, *Todarodes*, entre otros (Ibañez y Keyl, 2010). El canibalismo generalmente ocurre entre conespecíficos de la misma edad, principalmente entre juveniles o también puede ocurrir cuando un animal más grande y viejo se come a uno más pequeño y joven (Hanlon y Messenger, 2018). Este patrón de canibalismo se asocia con el comportamiento de alimentación voraz, así como a sus altas tasas metabólicas, y en algunas especies a la carencia de un comportamiento social (Ibañez y Keyl, 2010). El canibalismo también se ha observado cuando la densidad de cultivo es muy alta debido a que existe una mayor probabilidad de encuentros entre crías, lo que favorece el incremento en las tasas de canibalismo (Rosas *et al.* 2014a).

Caracteres distintivos de *Octopus maya*

Octopus maya se encuentra dentro de la familia Octopodidae (MolluscanBase, 2021), es llamado “pulpo rojo” y se caracteriza por la presencia de una mancha oscura u ocelo bajo los ojos y otro en la base de los brazos II y III a ambos lados de la cabeza, haciéndose menos aparente en los adultos (Figura 1; Voss y Solís, 1966). El pulpo rojo es una especie de talla grande, con una longitud máxima de 1.30 m y un peso máximo de 5 kg (Tunnell *et al.* 2007; Forsythe y Van Heukelem, 1987).

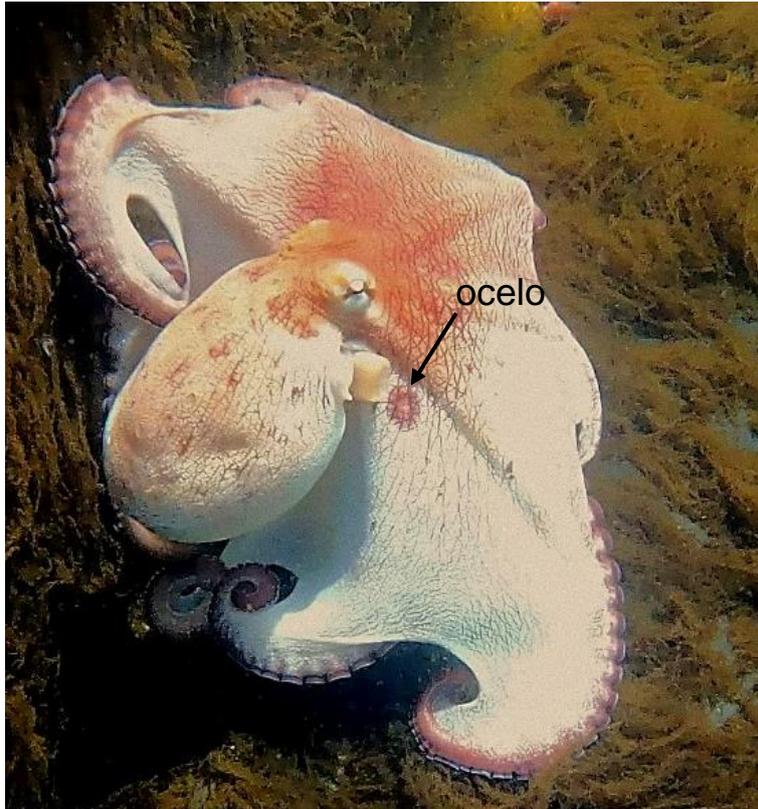


Figura 1. El pulpo rojo tiene una longitud del manto de entre 60 mm a 250 mm (Solís, 1967).

La temporada reproductiva más importante de *O. maya* se presenta durante noviembre a febrero en Yucatán (Ávila *et al.* 2016). Las hembras dejan de comer para cuidar la puesta durante los 50-60 días que lleva el periodo embrionario. En el transcurso de este periodo las hembras mantienen limpios los huevos (Solís *et al.* 1997). Una vez concluida la eclosión, las hembras mueren (Wells y Wells, 1959). *Octopus maya* tiene desarrollo embrionario directo (sin etapa de paralarva) del cual emerge un juvenil con características similares a las de un adulto (Moguel *et al.* 2010). En general, los pulpos tienen un ciclo de vida corto ya que viven de uno a dos años (Mangold, 1983).

Distribución de *Octopus maya*

Octopus maya es una especie bentónica, endémica de la península de Yucatán (Solís y Chávez, 1985), que se distribuye en aguas someras, desde Ciudad del Carmen, Campeche,

hasta Isla Mujeres en Quintana Roo. *Octopus maya* vive en aguas con temperatura de entre 22 y 30°C (Solís, 1967; Enríquez *et al.* 2013). El pulpo rojo habita en resquicios de rocas y oquedades del fondo (Figuras 2 y 3), con frecuencia forma parte de la comunidad de *Thalassia testudinum*, y también se les encuentra ocupando conchas de gasterópodos como: *Strombus gigas*, *S. costatus* y *Pleuroploca gigantea*, incluso se han encontrado escondidos en diversos objetos de origen antropogénico, tales como envases de hojalata, plástico y neumáticos (Solís y Chávez, 1985).



Figuras 2 y 3. Ejemplares silvestres de *Octopus maya* escondidos dentro de huecos de rocas de la plataforma continental adyacente a la Península de Yucatán. Foto tomada por Omar Chassin Noria

Los pulpos utilizan los refugios como un sitio para la puesta de huevos y salen de los refugios para atrapar presas, además en ellos descansan y se alimentan (Mather, 1982b; Rosas *et al.* 2014b), sus madrigueras comúnmente están bordeadas por fragmentos de exoesqueletos de crustáceos y restos de moluscos bivalvos (Solís y Chávez, 1985). En ocasiones no encuentran el lugar ideal y lo modifican limpiándolo de arena, separando frondas de algas y colocando rocas en la apertura para bloquearla (Rosas *et al.* 2014b), este comportamiento ha sido observado en múltiples especies de pulpos (Anderson, 1997).

Importancia de los refugios

Los pulpos suelen ser bastante vulnerables a la depredación debido a que tienen un cuerpo blando (Katsanevakis y Verriopoulos, 2004) y a que carecen de una estructura calcárea externa que los proteja (Cooke *et al.* 2019). Estos cefalópodos suelen usar una amplia variedad de refugios oportunistas como agujeros y grietas en las rocas, o incluso refugios artificiales como llantas de auto desechadas, tubos, hierro ferroviario o barcos abandonados (Castro y Huber, 2007; Anderson, 1997). Los refugios son importantes en la vida de un pulpo ya que les brindan protección contra la depredación, además son una base para interacciones agonísticas (Ambrose, 1982). La supervivencia de los pulpos se pone en riesgo cuando estos animales no tienen un lugar adecuado donde resguardarse, es por eso que es fuertemente influenciada por los tipos de refugios disponibles (Ambrose, 1982).

El comportamiento de cefalópodos ha sido poco estudiado debido a la dificultad para encontrarlos en el medio natural pues es común que se encuentren en profundidades de difícil acceso (una profundidad máxima de 60 metros; Solís y Chávez, 1985; Hanlon y Messenger, 2018), al hecho de que pasan la mayor parte del día ocultos en sus refugios (Katsanevakis y Verriopoulos, 2004; Portela, 2011) y a su habilidad de camuflarse con su entorno (Hanlon y Messenger, 2018). A pesar de las dificultades se han hecho estudios sobre algunas especies de pulpos, por ejemplo, para *Octopus tehuelchus* en áreas donde los refugios son escasos, las hembras compiten con los machos por los refugios más adecuados (Narvarte *et al.* 2013). En la misma especie, la fecundidad depende del tamaño de la hembra, y las hembras seleccionan los refugios que tienen un mayor volumen (Narvarte *et al.* 2013). Además, las hembras reproductoras de *Octopus tetricus* son más propensas a modificar sus refugios que las hembras no reproductoras y que los machos y, a menudo, las entradas de los refugios de estas

hembras se encuentran completamente cerradas debido a la necesidad del cuidado y protección de los huevos (Anderson, 1997). Varias características del refugio determinan la preferencia del pulpo, por ejemplo: el tamaño de las entradas es seleccionado por *Octopus joubini* (Mather, 1982a) y el tamaño total del refugio es seleccionado por *Octopus doffleini* y en *O. vulgaris* (Hartwick *et al.* 1984; Katsanevakis y Verriopoulos, 2004), además el bloqueo de la luz es importante en *O. joubini* (Mather, 1982a). La distribución de los pulpos depende en gran medida de la disponibilidad de los refugios, así como de la presencia del material con el que los modifican, y a su vez el tipo de sedimento (hábitat rocoso o hábitat con sedimento blando) influye en la presencia del material y de los refugios (Anderson, 1997; Katsanevakis y Verriopoulos, 2004). Frecuentemente, los refugios son creados o modificados por medio de la obtención de material suelto como restos de rocas o escombros (Anderson, 1997). El porcentaje de los diferentes tipos de guaridas en un área depende de la disponibilidad de materiales sólidos para su formación. En áreas aledañas a la costa, la disponibilidad de rocas que provienen principalmente de la erosión de la tierra es mayor que lejos de la costa donde puede que no haya rocas, por lo que la disponibilidad de refugios y/o de material para crearlos o modificarlos es un factor importante en la distribución de los pulpos (Katsanevakis y Verriopoulos, 2004). Los refugios artificiales se han aplicado como una medida para asegurar la concentración de biomasa, promover el reclutamiento de especies de valor comercial y favorecer lugares para la reproducción para la fauna alrededor del mundo (Zamora, 2017).

Octopus maya es una especie que se adapta fácilmente al cautiverio (Martínez *et al.* 2014). En las instalaciones de la UMDI Sisal de la UNAM se desarrolló un sistema piloto de cultivo y un programa formal de investigación del pulpo rojo (Rosas *et al.* 2014b; Vidal *et al.* 2014; Villanueva *et al.* 2014). En el cultivo de *O. maya*, tanto para las crías como para los juveniles

(hasta 10 g de peso), las conchas de los caracoles de *Strombus pugilis* se utilizan como refugios en una proporción de tres conchas por pulpo, también se han utilizado tubos de cloruro de polivinilo (PVC) de 100 mm de diámetro, así como diversos tipos de contenedores (Rosas *et al.* 2014b). Debido a que la especie se ha encontrado en praderas de *Thalassia testudinum* (Solís y Chávez, 1985) también se han usado pompones de rafia para simular el ambiente que les proporcionan los pastos marinos (Rosas Com. Pers.).

Los sistemas de acuicultura se caracterizan por una alta densidad poblacional, la falta de alimentos vivos alternativos y la ausencia de refugios naturales (Zeng *et al.* 2018). El uso de refugios se deriva del cultivo ético de animales en cautiverio con el propósito de minimizar o evitar el canibalismo y el estrés (Rosas *et al.* 2014b; O'Brien *et al.* 2021). Estefanell *et al.* (2012) mostraron que la mortalidad de *O. vulgaris* adultos era mayor cuando los pulpos se criaban en grupos sin refugios individuales, esa mortalidad se asoció con canibalismo y con comportamientos jerárquicos y reproductivos adversos. Okamoto *et al.* (2001) observaron que las especies *O. vulgaris* y *Octopus aegina* prefieren refugios de colores oscuros y de la misma manera Borges *et al.* (2015) en su estudio sobre refugios en pesquerías de pulpo, *O. vulgaris* prefirió los refugios de color negro a los de color rojo y blanco, adicionalmente en este último estudio los autores evaluaron la preferencia por el material y la forma del refugio.

JUSTIFICACIÓN

A medida que aumenta la demanda mundial de alimentos, las técnicas de cultivo para especies de pulpos y moluscos se están desarrollando y expandiendo en todo el mundo. Sin embargo, a pesar de que los cefalópodos son candidatos potenciales y valiosos para las operaciones de acuicultura marina (Kwon y Kim, 2015) son pocos los documentos que detallan los estándares de cría de cefalópodos debido a que el cultivo de estos organismos se

encuentra en fase experimental. Los estudios sobre el cultivo de pulpo se han enfocado más en la supervivencia de la paralarva y en crear un alimento que sea lo suficientemente bueno para ellos (Domingues *et al.* 2007; Rosas *et al.* 2007a). Uno de los elementos a tomar en cuenta dentro de un cultivo es el refugio en el que habitan los organismos debido a que los pulpos pasan la mayor parte del día ocultos en ellos (Katsanevakis y Verriopoulos, 2004; Portela, 2011). En condiciones de cultivo, los refugios podrían ser un factor clave que ayude a mantener una mayor tasa de supervivencia en el caso de que sea el adecuado para ellos. Es fundamental tomar en cuenta las necesidades de los organismos, y también es crucial saber qué condiciones afectarán positiva o negativamente el bienestar de los organismos para garantizar su calidad de vida (Browning, 2019). Aunque recientemente se evaluó la efectividad de refugios artificiales en dos tipos de fondo marino y con diferentes densidades con el fin de promover la repoblación, el desove y la anidación de las hembras (Zamora, 2017), particularmente para *O. maya* no hay estudios sobre refugios que se dirijan al cultivo de la especie. Es por eso que el presente estudio fue dirigido a evaluar las preferencias de refugio en un sistema experimental de cultivo de juveniles de *O. maya*. Es interesante hacer notar que a la fecha no existe información que muestre dónde están los juveniles tempranos en el medio natural. Por esa razón, los estudios que puedan realizarse en condiciones de cultivo también adquieren importancia porque ese nuevo conocimiento se puede aplicar para mejorar las condiciones de los pulpos en cultivo.

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1. ¿Existe preferencia por refugios entre los juveniles de *O. maya* en cultivo?
2. De entre cinco tipos de refugio distintos (concha de gasterópodo, pasto de rafia, tubo de plástico, codo de plástico y cueva artificial), ¿cuál es el refugio que prefieren los juveniles de *O. maya* en cultivo?

3. ¿Cuál es el efecto del refugio preferido sobre la supervivencia y el crecimiento de los individuos en relación a un refugio no preferido?
4. ¿Cómo influye la preferencia por un refugio en el canibalismo entre congéneres dentro del cultivo?

OBJETIVO GENERAL

Conocer la preferencia de juveniles de *O. maya* por diferentes tipos de refugios y evaluar si la preferencia maximiza las tasas de supervivencia y crecimiento de los individuos.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar la preferencia de pulpos juveniles de *O. maya* por cinco tipos de refugio en condiciones experimentales.
- Evaluar la secuencia de preferencia por los cinco refugios, partiendo del primer refugio preferido al menos seleccionado.
- Comparar las tasas de crecimiento y supervivencia de juveniles de *O. maya* en presencia del refugio elegido como primera opción y el seleccionado como última opción en los experimentos de preferencia.
- Comparar el nivel de canibalismo entre congéneres juveniles de *O. maya* en presencia del refugio preferido y el elegido como última opción.

HIPÓTESIS

Si la preferencia de refugio de los pulpos juveniles de la especie *O. maya* es una respuesta adaptativa, entonces las tasas de crecimiento y supervivencia asociadas a los refugios donde los pulpos habitan serán mayores en el refugio elegido como el favorito respecto al último seleccionado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención, manejo de los organismos y condiciones de cultivo

Los pulpos juveniles (n=13) utilizados para el experimento de preferencia de refugio se obtuvieron del desove de una hembra reproductora y se mantuvieron en recipientes de plástico individuales de 1500 ml (13x13x9 cm), cerrados con tapa hermética con seguro y ventanas cubiertas por malla en los laterales que permitieron el flujo de agua a través del recipiente. Los organismos permanecieron en estas condiciones durante 20 días con un fotoperiodo de 12 horas luz 12 horas oscuridad. La razón de mantener a los pulpos en recipientes individuales sin refugios fue para que después de eclosionar no tuvieran un conocimiento previo sobre refugios el cual pudiera afectar el experimento, y además los mantuvimos por separado para evitar el canibalismo entre ellos. Los pulpos se alimentaron con un alimento peletizado (particulado) de acuerdo con lo establecido por Santiago (2018) dos veces al día, en la mañana (9:00) y en la tarde (17:00).

Los 13 contenedores se mantuvieron sumergidos en un tanque de 300 L (Figura 4) con un sistema de recirculación de agua y piedras de aireación. La salinidad, la concentración de oxígeno disuelto y la temperatura se registraron diariamente por la mañana y por la tarde. La temperatura y el oxígeno disuelto se midieron con un oxímetro digital multiparámetro (Marca: YSI, modelo: Pro-20), la salinidad se midió con un refractómetro de mano para acuario (Marca: VEE GEE, modelo: STX-3). Todos los días se realizaron cinco mediciones al azar dentro de los recipientes.



Figura 4. Contenedores individuales donde se mantuvieron a los 13 pulpos para el experimento de preferencia de refugios. Las conchas se colocaron sobre los contenedores para evitar que se movieran los contenedores

Las condiciones ambientales y de calidad del agua de mar utilizadas durante el mantenimiento y desarrollo de los experimentos fueron las que se reportan como adecuadas por el Laboratorio de Ecofisiología aplicada de la UMDI Sisal para el manejo tanto de hembras reproductoras como de crías y juveniles de pulpo (Rosas *et al.* 2014b), las cuales se describen en los siguientes párrafos.

Las hembras silvestres reproductoras se capturaron con la técnica de “gareteo” en la plataforma continental de la Península de Yucatán utilizando líneas artesanales con cangrejos azules *Callinectes spp.* como cebo. Las hembras se transportaron en tanques circulares de 120 L con agua de mar desde el puerto hasta el laboratorio de la UMDI Sisal. En el laboratorio, las hembras reproductoras y los pulpos recién eclosionados se mantuvieron en tanques de 250 L con agua de mar y con un sistema de recirculación de agua de mar la cual se mantuvo a $24.6 \pm 0.8^\circ\text{C}$, con salinidad de 35 ± 3 UPS, oxígeno disuelto de $6.34 \pm 0.25 \text{ mg L}^{-1}$, pH 7.42 ± 0.2 , amonio $< 1.4 \text{ mg L}^{-1}$ y un fotoperiodo de 10:14 horas de luz/oscuridad con una luz rojo oscuro. Los parámetros fisicoquímicos que se midieron en los tanques donde se mantuvieron

a los pulpos juveniles dentro de recipientes individuales durante 20 días fueron: temperatura de 23.41 ± 0.47 °C, oxígeno disuelto de 6.56 ± 1.27 mg/L y salinidad de 35 ± 1 ups.

En el estudio se requirió de una hembra reproductora únicamente y tanto el tanque de esa hembra como el tanque de los juveniles se limpiaron todos los días con el método de sifonado de fondo, retirando alimento no consumido y heces durante los 20 días previos al experimento de preferencia de refugio (Rosas *et al.* 2014b; Roumbedakis *et al.* 2018).

Preferencia de refugio

La preferencia de refugio por los juveniles de *Octopus maya* se realizó en el laboratorio húmedo de Ecofisiología Aplicada de la UMDI Sisal. Se utilizaron 13 pulpos juveniles, los cuales se colocaron en el centro de arenas experimentales (Figura 5). Las arenas consistieron de una bandeja de plástico de 30 cm de diámetro por 4 cm de alto.



Figura 5. Arenas experimentales en las que se muestran los tipos de refugios que se ofrecieron a los pulpos.

Alrededor del pulpo se colocaron cinco refugios diferentes, cada uno con dos tamaños (pequeño y grande); los refugios de dos tamaños diferentes permitieron a los individuos discriminar entre dimensiones y así permitir la elección por las características, independientemente del tamaño. Los refugios fueron: conchas del gasterópodo *S. pugilis* y de *Melongena corona bispinosa*, pasto de rafia, tubo de policloruro de vinilo (PVC) (de ½”) y de policloruro de vinilo clorado CPVC (de ½”), codo de PVC (de ¾”) y uno de CPVC (de ½”), y dos cuevas elaboradas con yeso y arena, una pequeña y una grande (Figura 6).



Figura 6. Proceso de elaboración de las cuevas de yeso y arena que ofrecimos como refugio a los pulpos.

Se colocaron los diferentes refugios en la arena de manera alternada, acomodando los refugios del mismo tipo y diferente tamaño uno frente al otro, y equidistantes al centro y entre ellos (Figura 7).



Figura 7. Disposición de los diez refugios ofrecidos a los pulpos durante los experimentos de preferencia.

Ensayo preliminar

Se realizó un ensayo preliminar en el cual se colocaron a los individuos en el centro de las arenas con los diez refugios para determinar el tiempo de duración de cada prueba experimental. Este ensayo preliminar consistió en observar el movimiento de los individuos dentro de la arena. Debido a que los pulpos no cambiaron de refugio durante las primeras cinco horas de observación (simplemente permanecieron en el primer refugio al que llegaron después de ser liberados), se establecieron 24 horas como medida temporal del registro del refugio elegido.

Ensayos definitivos

El día de registro, los pulpos juveniles se transportaron en contenedores individuales a las arenas, previamente adecuadas con los diez refugios. Los animales se colocaron al centro de la arena (un individuo por arena). Los pulpos se encerraron inicialmente al centro de la arena en un tubo de PVC de 1" de diámetro. Después de 3 minutos, se levantó el tubo y el pulpo fue liberado. Se registró la dirección hacia la que se dirigió el organismo en su movimiento inicial, tomando como referencia el refugio más cercano. Después de 24 horas se anotó el

refugio en el que se encontró el pulpo y este se registró como la opción número uno, o el refugio preferido. El refugio seleccionado se retiró de la arena, tanto el pequeño como el grande (Figura 8), y posteriormente se volvió a colocar al pulpo al centro de la arena para que volviera a elegir un refugio; el refugio en el que se encontró al pulpo después de 24 horas se registró como la opción número 2. Se retiraron de la arena los refugios elegidos como la segunda opción y una vez más, se colocó al centro de la arena al pulpo y se registró el refugio elegido por el organismo después de 24 horas, y de nuevo el refugio seleccionado y su par de otro tamaño se sacaron de la arena. Lo anterior se realizó hasta que quedó un solo refugio que elegir, para así determinar un orden de preferencia de refugios. Este experimento se realizó con 13 pulpos (repeticiones).



Figura 8. Si el pulpo eligió el tubo de PVC grande después de transcurridas las 24 hrs entonces retiramos de la arena tanto el tubo de PVC grande como el pequeño.

Durante el experimento de preferencia de refugio, los pulpos se alimentaron dos veces al día, tanto en la mañana como en la tarde. La alimentación se realizó colocando el alimento cerca del refugio en el que se encontraba el individuo en ese momento, y en los casos en los que no

se encontró al pulpo a simple vista, se colocó alimento cerca de cada refugio. Se eligió esta última alternativa para evitar mover los refugios y forzar a los animales a moverse y elegir otra opción. Los animales se alimentaron con pellets durante los experimentos. Después de una hora de colocar el alimento, éste se retiraba de la arena para evitar que se formaran bacterias que pudieran causar problemas de salud a los pulpos.

Crecimiento y supervivencia

En este experimento se evaluó y comparó las tasas de supervivencia y de crecimiento en el refugio considerado como el preferido en el experimento anterior y el refugio elegido con menor frecuencia. El experimento consistió en dos tratamientos, uno con refugios del tipo elegido como primera opción en el experimento anterior (tubo de PVC; Figura 9) y un segundo tratamiento con refugios elegidos como última opción (pasto de rafia; Figura 9). En ambos tratamientos, las condiciones fisicoquímicas y el tamaño de los tanques experimentales fueron similares, únicamente cambió el tipo de refugio (refugio preferido y el menos preferido). Cada tratamiento contó con cinco réplicas (tanques). En cuatro tanques se colocaron cinco individuos y en un tanque cuatro individuos, dando un total de 24 individuos por tratamiento. Al inicio del experimento, los organismos ($n = 48$) se pesaron en balanza granataria (Marca: Adam, modelo PMB-53). Este experimento tuvo una duración de 15 días.

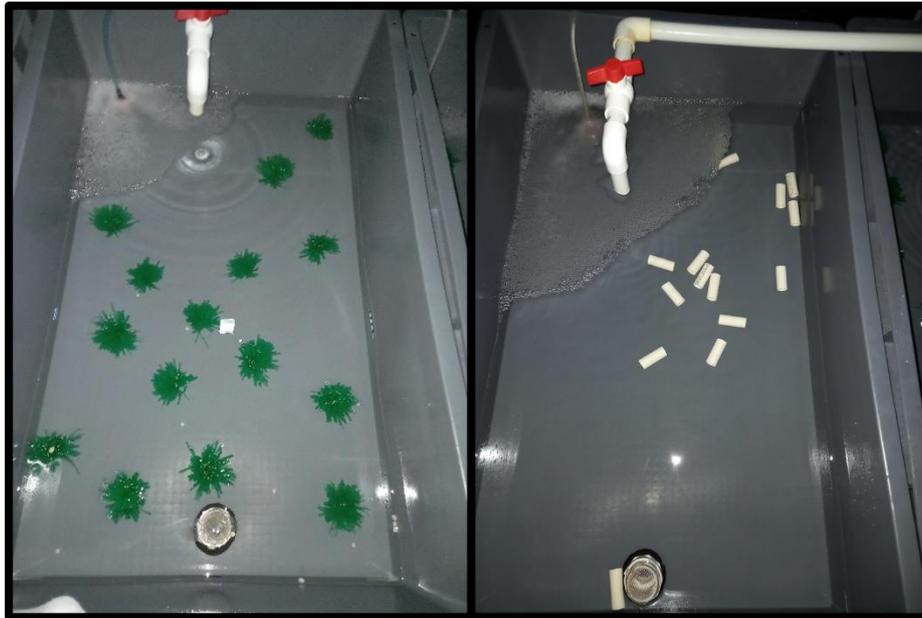


Figura 9. Distribución de los pastos de rafia como refugio (izquierda) y distribución de los tubos de PVC (derecha).

Los tanques experimentales (0.77 m X 0.6 m X 0.9 m) tuvieron un sistema de recirculación de agua y piedras de aireación. Los parámetros fisicoquímicos registrados del agua de mar utilizada durante el bioensayo fueron: temperatura, salinidad y oxígeno disuelto. Los organismos se alimentaron todos los días tanto en la mañana (9:00) como en la tarde (17:00) con alimento peletizado. Los tanques se limpiaron cada día por la mañana antes de alimentar a los animales. Al finalizar el experimento se registró la supervivencia de los animales y los pulpos se pesaron en balanza granataria.

La supervivencia se calculó con base en el número inicial y final de organismos al final del periodo experimental (día 15), de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$S = \frac{Nf}{Ni} (100)$$

donde Nf es el número final de pulpos y Ni el número inicial (Martínez *et al* 2014). Los valores son expresados en valores porcentuales. El crecimiento se calculó mediante la tasa

específica de crecimiento tomando como referencia el peso inicial al día 1 y el peso final al último día del experimento (día 15) de acuerdo a la siguiente fórmula (Martínez *et al* 2014):

$$TEC \% día = \left\{ \frac{[\ln Pf - Pi]}{t} \right\} * 100$$

donde:

ln = Logaritmo natural

Pf = Peso final

Pi = Peso inicial

t = Tiempo

Determinación de la frecuencia de expresión de conducta caníbal

Los pulpos muertos se observaron mediante un lente macro para el celular para evaluar si presentaban alguna lesión en los brazos, en el manto o en otra parte del cuerpo del individuo que indicaría la expresión de canibalismo entre congéneres. Se realizó un registro fotográfico de cada uno de los individuos muertos (Anexo 1) y al finalizar el experimento se contaron cuántos individuos murieron por efecto de canibalismo. Se comparó el grado de canibalismo en los diferentes tipos de refugio (refugio preferido y refugio no preferido) para relacionarlo con la supervivencia de los individuos por refugio.

El porcentaje de mortalidad por canibalismo se calculó con base a la mortalidad total por refugio al final del periodo experimental (día 15) de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% Mc = \frac{Mc}{Mt} (100)$$

donde Mc es el número de individuos que murieron por canibalismo y Mt es el número total de individuos muertos (Martínez *et al* 2014).

En cuanto al crecimiento, se calculó la tasa específica de crecimiento expresada en % día⁻¹, así como la ganancia en peso expresada en g día⁻¹.

Análisis estadístico

Preferencia de refugio

Los datos obtenidos de la selección de refugio se analizaron mediante un coeficiente de correlación parcial por rangos de Kendall, el cual nos indica el orden de preferencia de refugios de la elección de los animales (Kendall, 1938).

Crecimiento y supervivencia

Los datos de la supervivencia se analizaron mediante una prueba de U de Mann-Whitney y el análisis de crecimiento se realizó mediante una prueba de t de student. Los valores expresados en porcentaje se transformaron a valores arc-seno antes de realizar las pruebas estadísticas (Zar, 2010).

Debido a que los grupos de pulpos difirieron en cuanto al número de animales ($n= 4$ y $n= 5$ pulpos) usamos un índice de supervivencia (IS) para poder hacer una comparación adecuada de acuerdo al número de organismos. El IS se calculó de la siguiente manera:

$$IS = (S_{obs}-1) / (S_{max}-1)$$

donde S_{obs} representa el número de pulpos sobrevivientes y S_{max} , el número máximo de sobrevivientes que puede haber en cada grupo (“4 o 5 pulpos”; Mathiron *et al.* 2015). Calculamos un índice por tanque para cada tipo de refugio (rafia y tubo) para realizar la prueba estadística de la supervivencia.

RESULTADOS

Preferencia de refugio

En el experimento de preferencia de refugio observamos que los pulpos se movieron a lo largo del día entre los distintos refugios tanto al alimentar por la mañana y por la tarde (Tabla 1, figura 10). Los pulpos permanecieron dentro del refugio cuando un observador se

acercaba, aunque se buscó que la perturbación fuera mínima al momento de observar a los individuos cuando se debían retirar los refugios.



Figura 10. Un individuo en el pasto de rafia (izquierda) y un individuo dentro de una concha de gasterópodo (derecha).

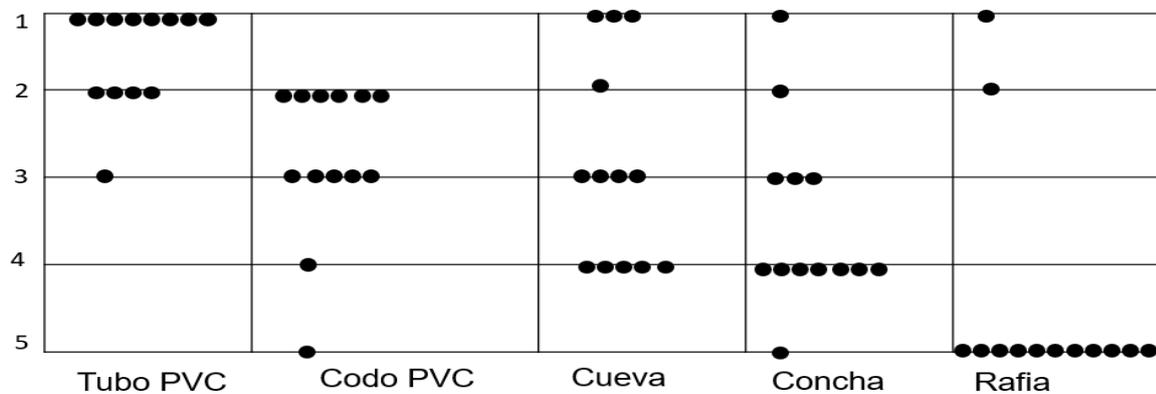
Tabla 1. Registro de los refugios donde encontramos a los individuos durante los diferentes días del experimento al alimentarlos por la mañana (recuadro gris) y por la tarde (recuadro azul).

	Día 1		Día 2		Día 3		Día 4		Día 5		Día 6
Pulpo 1	Af de Cva Pq	Af de Cva Pq	Ad de Cva Gde	NE	Ad de Tb Gde	NE	NE	NE	Det de Coc Gde	Ba de Par Gde	Ecm de Par Gde
Pulpo 2	Af de Tb Gde	Ba de Par Pq	Ad de Cva Gde	Ba de Coc Gde	NE	NE	NE	NE	NE	Ba de Par Gde	Ecm de Par Gde
Pulpo 3	Ad de Cva Pq	NE	NE	Af de Cva Gde	NE	NE	Ad de Cva Gde	Ba de Coc Pq	Det de Coc Gde	Ba de Par Gde	Ecm de Par Gde
Pulpo 4	Af de Coc Pq	Ad de Cva Gde	Ad de Cva Gde	NE	NE	NE	NE	Ba de Par Gde	NE	Ba de Par Gde	Ecm de Par Pq
Pulpo 5	Af de Cva Gde	Af de Cd Gde	NE	NE	NE	Ad de Cd Pq	Ba de Cd Gde	NE	Det de Cva Gde	FR	Ba de Par Pq
Pulpo 6	Af de Cva Gde	NE	NE	NE	NE	Det de Coc Gde	Ad de Coc Gde	Det de Cva Gde	Det de Cva Gde	Ecm de Par Gde	NE
Pulpo 7	Af de Cva Gde	Ad de Tb Pq	NE	NE	NE	Ad de Cva Gde	Ad de Cva Gde	NE	Det de Coc Gde	NE	Ba de Coc Gde
Pulpo 8	Af de Cd Pq	NE	NE	NE	NE	NE	NE	Ad de Cva Pq	Ad de Coc Pq	NE	NE
Pulpo 9	Det de Par Gde	NE	NE	NE	NE	NE	NE	Det de Cva Gde	Det de Cva Gde	Ad de Par Pq	Ecm de Par
Pulpo 10	Af de Cva Pq	Det de Cd Pq	NE	NE	Af de Cd Gde	Det de Cva Pq	NE	NE	Ba de Cva Gde	Ecm de Par Gde	Ba de Par Pq
Pulpo 11	Ad de Cva Pq	Af de Cd Pq	NE	Af de Cva Gde	Ad de Cd Pq	Ad de Cva Gde	Ad de Cva Gde	NE	Ba de Coc Gde	Ba de Par Gde	Ecm de Par Gde
Pulpo 12	Ad de Tb Pq	Det de Cva Gde	Af de Coc Pq	NE	Ad de Cva Pq	NE	NE	Ba de Coc Gde	Ad de Coc Gde	NE	NE
Pulpo 13	Ba de Coc Gde	NE	NE	NE	NE	NE	Det de Cva Pq	NE	NE	Ba de Par Gde	Ecm de Par Gde

Leyenda: Afuera = Af, Adentro= Ad, Debajo =Ba, Detrás= Det, Cerca = Crc, Encima/sobre = Ecm, Cueva=Cva, Pasto de rafia = Par, Tubo= Tb, Codo= Cd, Concha= Coc, Pequeño = Pq, Grande = Gde, No se encontró= NE, Fuera de refugio= FR

Después de esperar 24 horas, registramos que ocho pulpos eligieron el tubo de PVC como primera opción (Tabla 2) y ninguno seleccionó el codo de PVC; posteriormente seis pulpos eligieron el codo de PVC como segunda opción. Cinco pulpos eligieron el codo de PVC como tercera opción y ninguno eligió el pasto de rafia; al siguiente día siete pulpos eligieron la concha de gasterópodo como cuarta opción; y finalmente once pulpos eligieron el pasto de rafia como última opción y sólo un pulpo eligió la concha de gasterópodo y el codo de PVC. En general, observamos una preferencia por el tubo de PVC, la mayoría de los pulpos lo eligieron el primer día, y para el tercer día ya sólo quedaba un tubo de PVC en la arena número 2. Por el contrario, el refugio que menos prefirieron fue el pasto de rafia ya que sólo un pulpo lo eligió como primera opción y otro pulpo como segunda opción, y fue la última opción para once pulpos. Respecto al tamaño de los refugios: de los trece pulpos, once seleccionaron el tubo y el codo pequeños, mientras que diez pulpos seleccionaron la cueva y el pasto de rafia grande, y doce eligieron la concha grande.

Tabla 2. Secuencia de preferencia de refugio (n=13 pulpos). Los puntos muestran el número de veces que se eligió cada refugio como la primera (1) a la quinta (5) opción cuando los cinco tipos de refugios se presentaron simultáneamente.



El análisis estadístico realizado mediante el coeficiente de concordancia de Kendall ($W_{(4,13)} = 0.48$, $p < 0.001$; $X^2 = 24.92$), indicó que la secuencia de elección de los refugios fue consistente ($W = 0.48$). El orden de preferencia decreciente fue el siguiente: tubo → codo → cueva → concha → pasto de rafia ($p < 0.01$). La secuencia de preferencia tiene una concordancia significativa ya que la W es de 0.48 entre un intervalo que va de 0 a 1 y p es menor de 0.05 (0.001).

Parámetros fisicoquímicos

Los parámetros fisicoquímicos que medimos en las arenas durante el experimento de preferencia de refugio fueron: temperatura de 22.13 ± 0.84 °C, oxígeno disuelto 4.94 ± 1.13 y salinidad de 35 ups.

Crecimiento y supervivencia

Los pulpos utilizados en esta fase experimental ($n = 48$ individuos) tuvieron un peso inicial promedio de 0.120 ± 0.016 gr. El día 1 iniciamos el experimento con un total de 48 individuos: 24 individuos en presencia de rafia y 24 individuos en presencia de tubo. En presencia de rafia, la supervivencia se mantuvo relativamente alta ya que el día 2 murió un individuo; el día 13 incrementó la mortalidad hacia el término del experimento (día 15; 70.8% de supervivencia). La supervivencia al día 14 fue del 62.5% equivalente a 15 individuos. En presencia de tubo, la supervivencia fue del 100% hasta que se presentó mortalidad el día 12 (murió un individuo); al día 15 la supervivencia fue del 37.5%.

Debido a la gran mortalidad observada durante el experimento, el día número 16 aplicamos un tratamiento bactericida con 1 gramo de oxitetraciclina por cada 100 L de agua a cada uno de los tanques por 1 hora (Rosas *et al.* 2014b). Al día siguiente murieron todos los individuos en presencia de tubo, por lo que dimos término al experimento el día 15.

En el análisis estadístico de la supervivencia encontramos diferencias significativas entre los animales que se mantuvieron en tanque con tubo de PVC y rafia como refugios. Al final de los 15 días de experimento la supervivencia fue mayor en los pulpos que utilizaron pasto de rafia como refugio (Mann-Whitney, $X^2 = 3.76$, $p = 0.05$) (Figura 11).

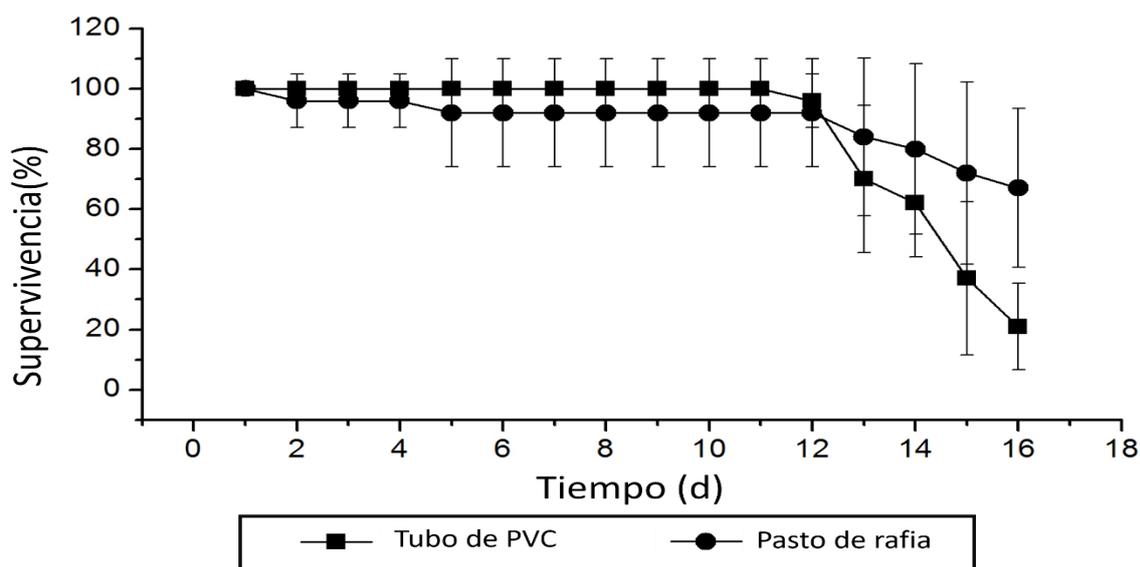


Figura 11. Supervivencia (%) de juveniles de *O. maya* desde el día 1 hasta el día 16 en presencia de tubo y pasto de rafia. (media + D.E.).

Parámetros fisicoquímicos

Durante el bioensayo, las condiciones fisicoquímicas del agua de mar en los tanques experimentales mostraron los siguientes promedios: temperatura de $25.7 \pm 3.2^\circ\text{C}$, oxígeno disuelto de 6.1 ± 0.8 mg/L y salinidad de 33 ± 1 ups. Los valores promedio de los parámetros fisicoquímicos en cada tanque experimental registrados para cada réplica (tanque) se pueden observar en la tabla 3.

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos registrados en los diferentes tanques de experimentación. Valores promedio y en paréntesis la desviación estándar.

	T °C	Salinidad UPS	O ₂ mg/L
Tanque 1	25.4 (0.76)	33.2 (0.85)	6.4 (0.42)
Tanque 2	25.7 (4.51)	33.0 (5.70)	6.2 (1.13)
Tanque 3	25.6 (4.48)	33.3 (5.76)	6.1 (1.11)
Tanque 4	25.6 (0.8)	33.1 (0.84)	6.1 (0.38)
Tanque 5	25.6 (0.87)	33.1 (0.88)	6.1 (0.43)
Tanque 6	25.7 (0.86)	33.1 (0.77)	6.0 (0.33)
Tanque 7	25.7 (4.5)	33.0 (5.75)	6.2 (1.24)
Tanque 8	25.8 (4.52)	33.2 (5.74)	6.0 (1.1)
Tanque 9	25.7 (4.5)	33.3 (5.77)	6.0 (1.07)
Tanque 10	25.5 (0.93)	33.2 (0.83)	6.1 (0.34)

La ganancia en peso (g/semana) entre los pulpos mantenidos en los dos tipos de refugios (*t* de student; $t = -0.11$; $p = 0.91$) no mostró diferencias (Tabla 4; Figura 12a). La tasa específica de crecimiento de los pulpos fue similar cuando se mantuvieron con tubos de PVC y rafia como refugios (*t* de student; $t = 0.33$; $p = 0.74$; Tabla 4; Figura 12b).

Tabla 4. Valores estadísticos de crecimiento de pulpos mantenidos en dos tipos de refugios.

	TUBO PVC		RAFIA		
	MEDIA	DESV EST	MEDIA	DESV EST	P
Peso inicial (gr)	0.12	0.01	0.12	0.01	/
Peso final (gr)	0.23	0.05	0.23	0.05	/
Ganancia en peso (g/semana)	1.03	0.19	1.05	0.43	0.91
TEC (%/día)	3.69	0.02	3.50	0.08	0.74

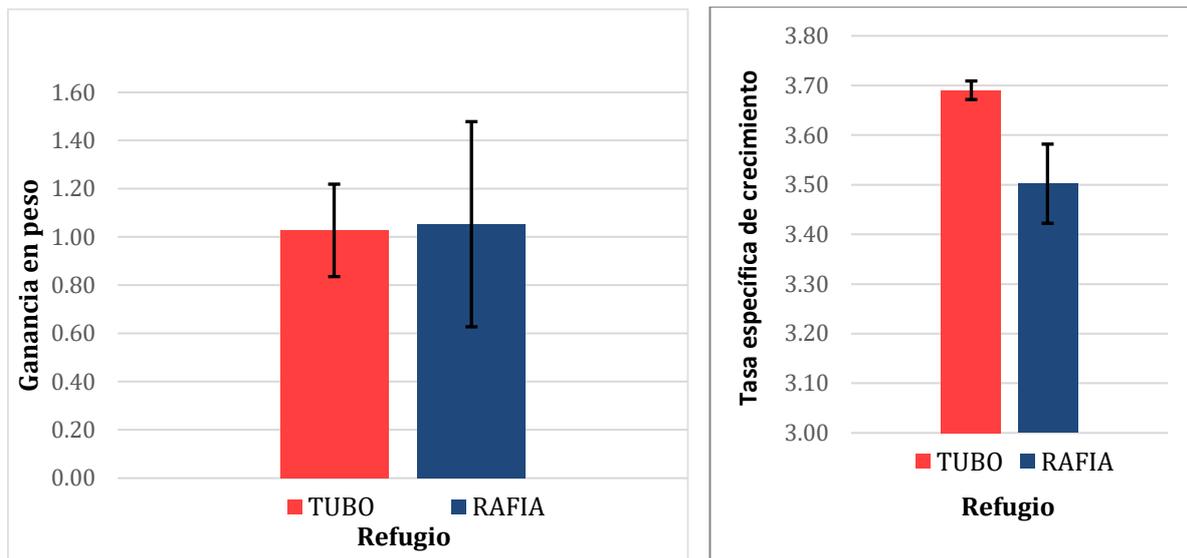


Figura 12. El crecimiento de los pulpos fue similar cuando se mantuvieron con tubos de PVC y rafia como refugios. (a) Ganancia en peso (g/semana) y (b) Tasa específica de crecimiento (%/día). Se muestran los promedios y la desviación estándar.

Determinación de la frecuencia de expresión de conducta caníbal

Durante el experimento de crecimiento y supervivencia se presenciaron cuatro eventos de canibalismo (figura 13). Al día 2 de iniciado el experimento se encontró un individuo muerto en el pasto de rafia. Este organismo presentaba lesiones severas que no permitían distinguir las partes de su cuerpo y apenas se podían ver sus ojos, como se puede ver en la tabla del registro fotográfico (Anexo 1). En general, los pulpos muertos por efecto del canibalismo se observaron mordidos de los brazos, del manto o de ambas partes del cuerpo, además observamos laceraciones en la piel de algunos individuos y los brazos de algunos pulpos estaban retraídos hacia su cabeza. Otro caso de canibalismo fue el de un individuo muerto en presencia de rafia del día 15, el cual tenía los brazos mordidos y retorcidos, y debido a la lesión uno de sus ojos se veía muy pigmentado y el color de su cuerpo se veía rojizo a diferencia de otros pulpos con color blanco en el cuerpo. En presencia de tubo no se observaron individuos muertos por efecto del canibalismo, mientras que en presencia de rafia observamos cuatro individuos muertos por canibalismo. El porcentaje de mortalidad por

canibalismo, calculado con base en la mortalidad total fue mayor en los organismos donde el pasto de rafia se utilizó como refugio en comparación a aquellos donde se utilizó el tubo (tabla 5). Es importante mencionar que la mayoría de los pulpos estaban bien alimentados, y esto se puede confirmar observando las fotos del anexo en donde se indica que la glándula digestiva se ve llena de alimento.



Figura 13. Un evento de canibalismo presenciado durante el experimento

Tabla 5. Datos de la mortalidad asociada al canibalismo en pasto de rafia y tubo del experimento de crecimiento y supervivencia. Datos registrados al día 15

	Tubo	Rafia
No. individuos inicial	24	24
No. individuos final (al día 15)	9	17
Mortalidad total (No. Individuos)	15	7
Mortalidad por canibalismo (No. Individuos)	0	4
Mortalidad por canibalismo (%)	0	57.1

DISCUSIÓN

Los pulpos pueden obtener una gran variedad de opciones de refugios en su ambiente natural y parecen tener una “idea clara” de lo que constituye un refugio preferido al modificarlos frecuentemente (Ambrose, 1982; Mather 1982a). Los pulpos en el experimento de preferencia por refugio se encontraron durante los periodos de alimentación en distintos sitios de la arena: afuera de los refugios, adentro de ellos, sobre los refugios o incluso debajo de ellos. Hubo ocasiones en las que se observaron organismos debajo de la cueva o debajo de la concha de gasterópodo. Esto indica que los pulpos se mueven entre distintas zonas. Anderson (1997) estudió a un grupo de adultos silvestres y observó diferencias en el uso de refugios entre sexos y estado reproductor de *O. tetricus*: los machos y algunas hembras no reproductoras se encontraron expuestas en la entrada del refugio, lo que el autor interpretó como un resultado de su necesidad constante de forrajeo; en contraste, las hembras reproductoras se encontraron adentro de los refugios, con barricadas construidas por ellas mismas, debido posiblemente a que no necesitaban de una entrada abierta al refugio por el cuidado y protección constantes de los huevos. En el presente estudio, los pulpos eligieron el tubo de PVC como el refugio preferido y el pasto de rafia fue el refugio menos preferido. Los pulpos eligieron probablemente el tubo de PVC porque su arquitectura larga y estrecha impide el acceso a depredadores de talla grande, además les ofrece dos posibles salidas de escape en caso de riesgos. Aunque en el ambiente natural los pre-adultos y adultos pueden refugiarse en pastos marinos, es más común encontrarlos en resquicios de rocas calizas o cuevas donde pasan la mayor parte del tiempo (Figura 14), y en oquedades de fondos arenosos (Solís, 1967).



Figura 14. Imagen de un ejemplar de *O. maya* adulto en una cueva natural localizada en la plataforma continental de la Península de Yucatán, frente a las costas de la población de Sisal

Es probable que los pulpos no hayan elegido cuevas como primera opción porque un refugio con dos salidas, como los tubos, pudieran brindar mejores beneficios que las cuevas con una entrada y una salida. Alternativamente, es probable que el tamaño de la entrada de la cueva que diseñamos haya sido muy pequeño para ellos. Este supuesto se sustenta en que observamos una clara preferencia por un tamaño de refugio dependiendo de su tipo, sobre todo en el caso de las cuevas; la mayoría de los individuos eligieron el tubo pequeño, el codo pequeño, y la cueva, concha y rafia grandes. Los pulpos no eligieron un refugio únicamente por las características arquitectónicas o de forma propias de la estructura, sino que también por su tamaño. Los pulpos pequeños y medianos suelen excavar pozos que pueden adaptar a su tamaño a medida que van creciendo. Igualmente, usan las rocas para reducir su exposición al reducir el diámetro de la entrada del refugio, por lo que la habilidad de excavar y modificar físicamente su entorno puede permitirle a un pulpo ocupar un refugio que al principio era demasiado pequeño para él (Anderson, 1997; Katsanevakis y Verriopoulos, 2004;). Lo anterior también se ha reportado en campo para *O. doffleini* (Hartwick y Thorarinsson, 1978) y en el laboratorio para *O. joubini* (Mather, 1982a) que eligieron refugios de un volumen aproximadamente igual a su tamaño. Nuestros resultados destacan la importancia de

proporcionar refugios disponibles de tamaño adecuados a los pulpos en el cultivo a medida que vayan creciendo.

La supervivencia de los animales en los dos tipos de refugios fue relativamente alta al día 15 en ambos tipos de refugio. Aunque la supervivencia de los pulpos en los pastos de rafia (70.8%) fue mayor que en los tubos de PVC (37.5%), el porcentaje de animales muertos como resultado del canibalismo fue mayor en las rafias (57.1%) que en los tubos de PVC. La hipótesis de este trabajo predecía que, si la elección del refugio era una respuesta adaptativa, entonces la supervivencia sería mayor en presencia de tubos de PVC, que fue el refugio preferido, en contraste con el pasto de rafia, que fue el refugio menos elegido. Los resultados de este trabajo apoyan la hipótesis planteada, demostrando que la conducta de elección de refugios es adaptativa dado que disminuye la mortalidad por canibalismo. Los resultados que obtuvimos son interesantes considerando que los pulpos seleccionan en condiciones de aislamiento (un solo organismo) un refugio que les favorece en cuanto a su supervivencia cuando se encuentran en grupos. En el experimento de preferencia colocamos un pulpo para elegir su refugio favorito, mientras que en el experimento de crecimiento colocamos seis pulpos con una cantidad suficiente de refugios pero que compartían un mismo espacio. Esta condición, donde los pulpos se mantuvieron en colectivo demuestra que los pulpos tienen la capacidad de prever en su elección posibles riesgos futuros debido a que la supervivencia fue favorecida como producto de esa selección. Estos resultados reflejan que las necesidades y comportamiento de los pulpos se mantienen cuando se encuentran en solitario y en grupo, destacando la importancia de elegir un sitio en donde poder esconderse de sus congéneres y posiblemente de otros depredadores.

La menor tasa de mortalidad por canibalismo de los pulpos (día 15) en los tubos de PVC indica que estas estructuras constituyen un mejor refugio que la rafia, debido posiblemente a que era más difícil encontrar a los individuos o bien capturarlos estando en los tubos respecto a los pastos de rafia. Los tubos podrían permitir a los pulpos esconderse visualmente de una manera tan efectiva, o bien las dos salidas de los tubos podrían darles la oportunidad de escapar fácilmente de los atacantes. En comparación con los tubos donde encontrábamos a un solo pulpo por tubo, en varias ocasiones encontramos a más de un pulpo en un pasto de rafia, lo que pudo haber facilitado el número de encuentros y los ataques entre congéneres en los pastos de rafia. Es importante señalar que los pulpos en condiciones naturales modifican la entrada de las cuevas donde se esconden, colocando material suelto como rocas y escombros, para estar menos expuestos al ambiente (Anderson, 1997). Sería interesante realizar análisis más detallados de los refugios que utilizan estos animales en la naturaleza con el fin de entender de manera más clara sus estrategias de construcción y escape en refugios con diferente arquitectura.

La supervivencia de los animales de todos los tanques experimentales se modificó drásticamente a partir del día 12 de experimentación. Este aumento en la mortalidad de los animales se asoció probablemente a una infección bacteriana que causó mortalidad en otros animales que se mantenían en la Unidad en ese momento. Observaciones realizadas al microscopio mostraron daño de tejido en los animales. Ante tal situación se realizó una limpieza general de los reservorios de agua salada pues esos episodios de infección también provocaron mortalidad en otros experimentos con pulpos que se estaban llevando a cabo. Analizando las muestras de tejido se pudo notar que la mortalidad observada a partir del día 12 pudo haber sido ocasionada por la presencia de agentes patógenos como bacterias de los géneros *Vibrio*, *Aeromonas* y *Pseudomonas*, las cuales están asociadas con lesiones en la piel

de pulpos en cultivo y pulpos silvestres (Fichi *et al.* 2015). Se observaron puntos blancos y laceraciones en donde no se veían cromatóforos. Estas lesiones en la piel de los pulpos pudieron ser ocasionadas por golpes o rozaduras con el tanque o mordidas de ataques entre congéneres. Diversas especies de bacterias se pueden alojar en las lesiones y provocar enfermedades (Hanlon *et al.* 1984; Vidal *et al.* 2014). La confirmación de la presencia de patógenos requería realizar pruebas bacteriológicas específicas y cortes histológicos, análisis que no realizamos. No obstante, no se descarta la posibilidad de que una infección haya causado la alta y repentina mortalidad de los pulpos.

A partir de que aparece la infección, la tendencia de la supervivencia general de los animales se invirtió. Mientras que durante los primeros días de experimentación la supervivencia fue mayor en los animales que utilizaron tubos de PVC como refugios que en el pasto de rafia, después del día 12 la mortalidad en los tubos fue mucho mayor que en la rafia (interacción entre el tipo de refugio*tiempo; ver figura 11). La mayor tasa de mortalidad en los tubos de PVC una vez que se desencadenó la infección se podría atribuir a que los tubos facilitaron el crecimiento bacteriano, generando un mayor grado de infección a los pulpos mantenidos en este tipo de refugios. El estrés ambiental promueve la vulnerabilidad de los pulpos a infecciones bacterianas que pueden causar alta mortalidad (Rosas *et al.* 2014b) y es probable que en estos casos el uso de tubos de PVC no resulte ventajoso para los animales.

Debido al comportamiento antisocial de los pulpos, la mala distribución de los refugios puede ser un factor de estrés que propicie el contagio de infecciones. El evitar encuentros intraespecíficos escondiéndose en sus refugios sin que los otros pulpos u otros animales tengan acceso a ellos puede ser la mejor forma de defensa (O'Brien *et al.* 2021). La distribución de los refugios puede ser un factor clave en la supervivencia debido a que los

tubos de PVC se acumulaban todos en el centro por el arrastre de la corriente de agua en recirculación y eso permitía un mayor contacto entre los pulpos. La cercanía entre los tubos pudo haber incrementado la probabilidad de contagio bacteriano.

Por otro lado, la limpieza del tanque es importante para la salud de los pulpos. Una desventaja de los pastos de rafia es la dificultad de limpiar sus superficies. Los pastos de rafia son más difíciles de limpiar que los tubos de PVC, ya que las partículas alimentarias y las heces se acumulaban entre los hilos y es necesario tener cuidado de no succionar a un pulpo durante la limpieza. Así que los restos de materia orgánica olvidados por una mala limpieza podrían facilitar la proliferación bacteriana. Por esta razón, es importante considerar la facilidad de limpieza del tanque y de los refugios en un cultivo ya que cualquier irregularidad en el sistema puede generarles estrés a los animales y por tanto incrementar su vulnerabilidad a infecciones.

La tasa de crecimiento específica (TEC) así como la ganancia en peso fue similar en los organismos sometidos a ambos tratamientos. Kwon y Kim (2015) evaluaron la supervivencia y el crecimiento de *O. vulgaris* en dos diferentes tipos de refugios (tubos y neumáticos) y observaron que los pulpos exhibieron un comportamiento y crecimiento similares con ambos refugios. En comparación con otros estudios, sus tasas de crecimiento fueron bajas, lo cual lo atribuyen a las altas densidades del cultivo, a las temperaturas fluctuantes del agua de mar utilizada y al estado reproductor de las hembras. Sin embargo, las TEC's obtenidas en el presente trabajo (3.69 ± 0.02 % día⁻¹ y 3.5 ± 0.08 % día⁻¹) fueron similares a lo reportado por Martínez *et al.* (2014) en donde evaluaron una dieta con pasta de calamar-jaiba para *O. maya*, con un valor promedio de 3.04 ± 0.39 % día⁻¹, lo que nos indica que las TEC's son las esperadas para esta especie. Por otro lado, la densidad inicial de cultivo en este estudio (16

individuos/m²) fue menor que la densidad óptima reportada para crías recién eclosionadas de *O. maya* de 25 a 70 individuos/m² (Rosas *et al.* 2014a), lo que posiblemente favoreció el crecimiento de los animales mantenidos con los dos tipos de refugios.

El canibalismo es un problema constante en el cultivo de estos cefalópodos. Aún en jaulas de engorde, Chapela *et al.* (2006) reportaron canibalismo en el pulpo *O. vulgaris* cuando los animales llevaban un tiempo prolongado en las jaulas, y esta conducta ocurre incluso cuando el suministro de alimentos es suficiente. Los resultados de este estudio mostraron que los juveniles tempranos de *O. maya* eligen de manera adaptativa tubos de PVC como refugios entre otros tipos de estructuras, como pastos y conchas de gasterópodos. No obstante, considero que es necesario realizar experimentos que permitan determinar si los tubos de PVC pueden promover la diseminación de infecciones bacterianas. Este estudio es un primer acercamiento al comportamiento con refugios de juveniles tempranos de *O. maya* en cultivo que da pauta a muchas interrogantes que deberán ser respondidas en un futuro, de tal forma que se espera generar más información enfocada al comportamiento de esta especie que ayude a definir las condiciones de cultivo que le beneficiarán.

CONSIDERACIONES

Debido al constante crecimiento de los pulpos durante su etapa juvenil, en un cultivo se deben elegir refugios que se asemejen más al tamaño corporal de los pulpos a medida que vayan creciendo, de manera que los refugios deberán cambiarse cuando el tamaño corporal de los pulpos aumente.

La distribución y movilidad de los refugios debe de ser considerado como un factor importante en el uso de refugios en condiciones de cultivo. Debido a que son organismos solitarios, se debería de garantizar que sus refugios se mantengan separados entre sí para que

se eviten encuentros entre congéneres que pueden provocar comportamientos caníbales o contagio de infecciones.

La limpieza de los tanques se considera importante para evitar infecciones en los pulpos, por lo que se recomienda realizarla por lo menos tres veces al día.

REFERENCIAS

- Aguila J., Cuzon G., Pascual C., Domingues P., Gaxiola G., Sánchez A., Maldonado T. y Rosas C. (2007). The effects of fish hydrolysate (CPSP) level on *Octopus maya* (Voss and Solís) diet: digestive enzyme activity, blood metabolites and energy balance. *Aquaculture* 273, 641-655.
- Ambrose R. (1982). Shelter utilization by the moluscan cephalopod *Octopus bimaculatus*. *Marine Ecology Progress Series* 7, 67-73.
- Anderson T. (1997). Habitat selection and shelter use by *Octopus tetricus*. *Marine Ecology Progress Series* 150, 137-148.
- Ávila O. H., Koueta N., Benítez V. F., Santos V. J. y Rosas C. (2016). Reproductive traits of *Octopus maya* (Cephalopoda: Octopoda) with implications for fisheries management. *Molluscan Research* 36, 22-44.
- Bizikov V. A. (2008). *Evolution of the shell in cephalopoda*. VNIRO Publishing. 444.
- Borges T., Calixto P. y Sendao J. (2015). The common Octopus fishery in south Portugal: a new shelter-pot. *Mediterránea. Serie de Estudios Biológicos*. 128-154.
- Boyle P. y Rodhouse P. (2005). *Cephalopods: ecology and fisheries*. Blackwell science. 439 pp.
- Browning H. (2019). What is Good for an octopus?. *Animal Sentience*. 26 (7).
- Brusca R. C. y Brusca G. J. (2003). *Invertebrates*. Sinauer Associates. 2ª edición. 936 pp.

- Caamal M. C., Mascaró M., Gallardo P., Rodríguez S., Noreña B. E., Domingues P. y Rosas C. (2015). Effects of maternal diet on reproductive performance of *O. maya* and its consequences on biochemical characteristics of the yolk, morphology of embryos and hatchling quality. *Aquaculture*. 441, 84-94.
- Cabrera M., Ramos M. J., Salas S., Flores F. D. y Sosa L. A. (2012). Análisis de la Estructura Poblacional del Pulpo Rojo (*Octopus maya*) en la Península de Yucatán, México. *Proceedings of the 64th Gulf and Caribbean Fisheries Institute*. 480-485.
- Castillo R. Z. (2014). Biodiversidad de moluscos marinos en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 85. 419-430.
- Castro P. y Huber M. (2007). *Biología marina*. McGraw Hill. 6ta edición. 514 pp.
- Chapela A., González A. F., Dawe E. G., Rocha F. J. y Guerra A. (2006). Growth of common octopus (*Octopus vulgaris*) in cages suspended from rafts. *Scientia marina*. 70, 121-129.
- Cooke G. M., Tonkins B. M. y Mather J. A. (2019). *Care and enrichment for captive cephalopods*. En Carere C., Mather J. *The Welfare of Invertebrate Animals*. Springer. 18, 179-208 pp.
- Cuvier G. (1795). Second mémoire sur l'organisation et les rapports des animaux à sang blanc, dans lequel on tracee de la Structure des Mollusques et de leur division en ordre. *Magazin Encyclopédique o Journal des Sciences, des Lettres et des Arts*. 2, 433-449.
- Dill O. J., Berzins I. K., LaDonceur E. y Camus A. C. (2021). *Mollusca: Cephalopoda*. En LaDonceur E. *Invertebrate Histology*. John Wiley & Sons. 133-162 pp.
- Domingues P., López N. y Rosas C. (2012). Preliminary trials on the use of large outdoor tanks for the on-growing of *Octopus maya* juveniles. *Aquaculture Research*. 43, 26-31.

- Domingues P., López N., Muñoz J. A., Maldonado T., Gaxiola G. y Rosas C. (2007). Effects of an artificial diet on growth and survival of the Yucatan octopus, *Octopus maya*. *Aquaculture Nutrition*. 13, 1-9.
- Enriquez C., Mariño-Tapia I., Jerónimo G y Capurro-Filograsso L. (2013). Thermohaline processes in a tropical coastal zone. *Continental Shelf Research*. 69, 101-109.
- Estefanell J., Roo J., Fernández P. H., Izquierdo M., Socorro J. y Guirao R. (2012). Comparison between individual and group rearing systems in *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797). *Journal of the World Aquaculture Society*. 43, 63-72.
- Fichi G., Cardeti G., Perrucci S., Vannu A., Cersini A., Lenzi C., De Wolf T., Fronte B., Guarducci M. y Susini F. (2015). Skin lesion-associated pathogens from *Octopus vulgaris*: first detection of *Photobacterium swingsii*, *Lactococcus garvieae* and betanodavirus. *Diseases of aquatic organisms*. 115, 147-156.
- Forsythe J. W. y Van Heukelem W. F. (1987). *Growth*. En Boyle P.R (Ed). *Cephalopod life cycles*. Academic Press. 135-155 pp
- Gallardo P., Olivares A., Martínez Y. R., Camaal M. C., Domingues P., Mascaró M., Sánchez A., Pascual C. y Rosas C. (2017). Digestive physiology of *Octopus maya* and *O. mimus*: temporality of digestion and assimilation processes. *Frontiers in Physiology*. 8, 1-9.
- Gallardo P., Villegas G., Rosas C., Domingues P., Pascual C., Mascaró M., Sánchez A., Stefanell J., y Rodríguez S. (2020). Effect of different proportions of crab and squid in semi-moist diets for *Octopus maya* juveniles. *Aquaculture*. 524, 1-8.
- Hanlon R. T. y Messenger J. B. (2018). *Cephalopod behaviour*. Cambridge University Press. 2a edición. 365 pp.
- Hanlon R. T., Forsythe J. W. y Cooper K. M. (1984). Fatal penetrating skin ulcers in laboratory-reared octopuses. *Journal of invertebrate pathology*. 44, 67-83.

- Hartwick E. B. y Thorarinsson G. (1978). Den associates of the giant Pacific octopus *Octopus dofleini* (Wulker). *Ophelia*. 17, 163-166.
- Hartwick E. B., Ambrose R. F. y Robinson S. M. C. (1984). Den utilization and the movement of tagged *Octopus dofleini*. *Marine Behaviour and Physiology*. 11 (2). 95-110.
- Hernández S. A. y De Jesús N. A. (2010). Parámetros de crecimiento, mortalidad y tasa de explotación del pulpo *Octopus maya* en Holbox, Quintana Roo, México. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. 45 (3). 415-421.
- Ibáñez C. M. y Keyl F. (2010). Cannibalism in cephalopods. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 20, 123-136.
- Juárez O. E., Galindo S. C., Díaz F., Re, D., Sánchez G. A., Camaal M. C. y Rosas, C. (2015). Is temperature conditioning *Octopus maya* fitness?. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 467, 71-76.
- Katsanevakis S. y Verriopoulos G. (2004). Den ecology of *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797, on soft sediment: availability and types of shelter. *Scientia Marina*. 68, 147-157.
- Kendall M. (1938). A New Measure of Rank Correlation. *Biometrika*. 30, 81-89.
- Kwon I. y Kim T. (2015). Growth and mortality of the juvenile common Octopus (*Octopus vulgaris*) in pipe- and tire-type shelters placed in Flow-through seawater tanks. *Journal of the Korean Society of Fisheries Technology*. 51, 1-8
- Kwon I., Moon, S., Lee H., Lee J. y Kim T. (2019). Growth of juvenile common Octopus (*Octopus vulgaris*) in Korean Waters is affected by shelter type. *Aquacultural Engineering*. 85, 1-8.
- Mangold K. (1983). Food, feeding and growth in cephalopods. *Memoirs of the National Museum Victoria*. 44, 81-93.
- Martínez E. (2014). Plan de Manejo Pesquero de pulpo (*O. Maya* y *O. Vulgaris*) del Golfo de México y Mar Caribe. DOF - Diario Oficial de la Federación.

- Martínez R., Gallardo P., Pascual C., Navarro J. C., Sánchez A., Caamal M. C. y Rosas C. (2014). Growth, survival and physiological condition of *Octopus maya* when fed a successful formulated diet. *Aquaculture*. 426-427, 310-317.
- Martínez R., Santos R., Mascaró M., Canseco L., Caamal C. y Rosas C. (2012). Digestive dynamics during chyme formation of *Octopus maya* (Mollusca, Cephalopoda). *Aquaculture Research*. 43, 1119-1126.
- Mather J. (1982a). Choice and competition: their effects on occupancy of shell homes by *Octopus joubini*. *Marine Behaviour Physiology*. 8, 285-293.
- Mather J. (1982b). Factors affecting the spatial distribution of natural populations of *Octopus joubini* *robson*, *Animal Behaviour*. 30 (4), 1166-1170.
- Mather J. y Scheel D. (2014). *Behaviour*. En Iglesias J., Fuentes L. y Villanueva R. *Cephalopod culture*. Springer. 383-396 pp.
- Mathiron A. G. E., Crane, A. L., Ferrari, M. C. O. (2015). Individual vs. social learning of predator information in fish: does group size affect learning efficacy? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 69, 939-949.
- Méndez-Aguilar D., Olvera-Novoa M., Rodríguez S. y Rosas C. (2014). Nutritive value of four by-product meals as potential protein sources in diets for *Octopus maya*. *Hidrobiológica*. 24, 69-77.
- Miranda R. M. Espinoza V., Dorner J., Farías A. y Uriarte K. (2011). Sibling cannibalism on the small octopus *Robsonella fontaniana* (d'Orbigny, 1834) paralarvae. *Marine Biology Research*. 7, 746-757.
- Moguel C., Mascaró M., Ávila-Poveda O., Caamal C., Sánchez A., Pascual C. y Rosas C. (2010). Morphological, physiological, and behavioural changes during post-hatching development of *Octopus maya* (Mollusca: Cephalopoda) with special focus on digestive system. *Aquatic Biology*. 9, 35-48.

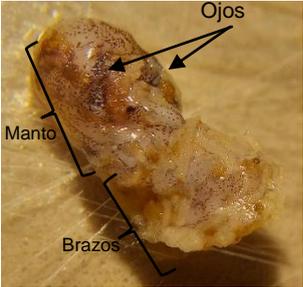
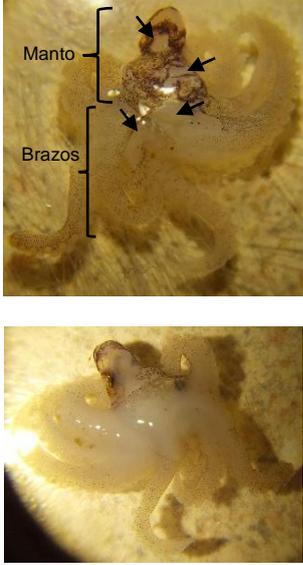
- MolluscaBase eds. (2021). MolluscaBase. *Octopus maya* Voss & Solís, 1966. Acceso mediante <https://molluscabase.org/aphia.php?p=taxdetails&id=341996> el 26-01-2021
- Narvarte M., González R. A., Storero L. y Fernández M. (2013). Effects of competition and egg predation on shelter use by *Octopus tehuelchus* females. *Marine Ecology Progress Series*. 482, 141-151.
- Noyola J., Mascaró M., Caamal C., Noreña B. E., Díaz F., Re D., Sánchez A. y Rosas C. (2013). Effect of temperature on energetic balance and fatty acid composition of early juveniles of *Octopus maya*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 445, 156-165.
- O'Brien D., Taylor M. L., Masonjones H. D., Boersch S. P. H. y O'Shea O. R. (2021). An experimental assessment of social tolerance and den ecology in a high-density octopus population. *Marine Biology*. 168 (61), 1-14.
- Okamoto M., Anraku K., Kawamura G. y Tanaka Y. (2001). Selectivity of color of shelter by *Octopus vulgaris* and *O. aegina* under different background colors. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 67(4), 672-677.
- Pech-Puch D., Cruz-López H., Canché-Ek C., Campos-Espinosa G., García E., Mascaró M., Rosas C., Chávez-Velasco D. y Rodríguez-Morales S. (2016). Chemical tools of *Octopus maya* during crab predation are also active on conspecifics. *PLoS ONE*. 11(2), 1-22.
- Portela R. E. (2011). Caracterización de la conducta selectiva de alimentación en juveniles del pulpo rojo. *Tesis de maestría en Ciencias del Mar y Limnología*. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 81 pp.
- Rosas C, Mascaró M, Mena R, Caamal-Monsreal C, Domingues P (2014a). Effects of different prey and rearing densities on growth and survival of *Octopus maya* hatchlings. *Fisheries and Aquaculture Journal*. 5, 108.

- Rosas C., Cazares R. J., Caamal M. C., Ávila-Poveda O. H., Moguel C., Sánchez A. y Pascual, C. (2007a). Adaptaciones morfológicas y digestivas durante los primeros días de vida de los juveniles del pulpo de costa *Octopus maya* (Voss y Solis). *XIII congreso bienal, Asociación Mexicana de Especialistas en Nutrición Animal*, 23–26 Oct, Veracruz, México
- Rosas C., Cuzon G., Pacual C., Gaxiola G., López N., Maldonado T. y Domingues P. (2007b). Energy balance of *Octopus maya* fed crab and artificial diet. *Marine Biology*. 152, 371-378.
- Rosas C., Gallardo P., Mascaró M. y Caamal C. (2014b). *Octopus maya*. En Iglesias J., Fuentes L. y Villanueva R (Eds). *Cephalopod culture*. Springer Science+Business. 383-396 pp.
- Rosas C., Tut J., Baeza J., Sánchez A., Sosa V., Pascual C., Arena L., Domingues P. y Cuzon G. (2008). Effect of type of binder on growth, digestibility and energetic balance of *Octopus maya*. *Aquaculture*. 275, 291-297.
- Roumbedakis K., Mascaró M., Martins M. L., Gallardo P., Rosas C., y Pascual C. (2018). Health status of post-spawning *Octopus maya* (Cephalopoda:Octopodidae) females from Yucatán Peninsula, Mexico. *Hydrobiología*. 808, 23-34
- Santiago A. M. I. (2018). Efecto de un alimento artificial húmedo y seco en el crecimiento, supervivencia y consumo de oxígeno de juveniles tempranos del pulpo rojo *Octopus maya*. *Tesis para obtener el título de biólogo*. Universidad de Guadalajara, México. 64 pp.
- Solís R. M. J. (1967) Aspectos biológicos del pulpo *Octopus maya* Voss y Solís. *Instituto Nacional de Investigaciones Biológico Pesqueras*. 18, 1-90.
- Solís R. M. J. y Chávez, E. (1985). Evaluación y régimen óptimo de pesca del pulpo en la península de Yucatán, México. *Anales del Centro de Ciencias del Mar y Limnología*. México. 1-18.

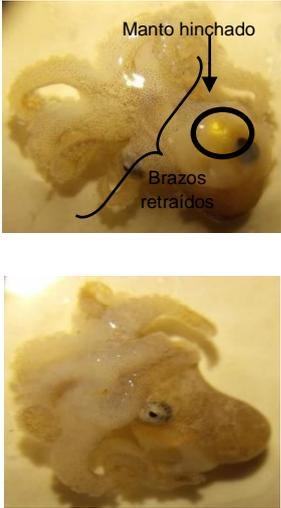
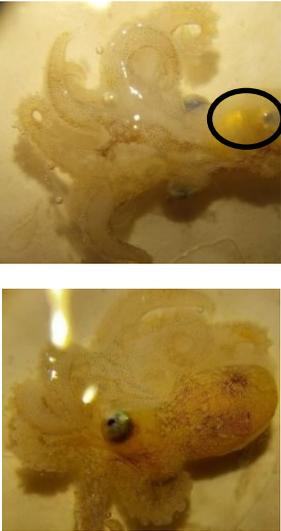
- Solís R. M. J., Arreguín S. F. y Sejio, J. (1997). *Pesquería de pulpo de la plataforma continental de Yucatán*. En: Flores H., Sánchez G y Sejio J. *Análisis y diagnóstico de los recursos Pesqueros Críticos del Golfo de México*. Universidad Autónoma de Campeche: EPOMEX Serie Científica. 7, 61-80 pp.
- Tercero J.F., Rosas C., Mascaró M., Poot M., Domingues P., Noreña E., Caamal C., Pascual C., Estefanell J. y Gallardo P. (2015). Effects of parental diets supplemented with different lipid sources on *Octopus maya* embryo and hatching quality. *Aquaculture*. 448, 234-242.
- Tunnell J. W., Chávez E. A. y Withers K. (2007). Coral reefs of the Southern Gulf of México. *Texas A&M University Press*. 1ª edición. 115.
- Uriarte I., Iglesias J., Domingues P., Rosas C., Viana M., Navarro J., Seixas P., Vidal E., Ausburger A., Pereda S., Godoy F., Paschke K., Farías A., Olivares A. y Zúñiga O. (2011). Current status and bottle neck of octopod aquaculture: the case of american species. *Journal of the world aquaculture society*. 42 (6), 735-752.
- Vidal E., Villanueva R., Andrade J., Gleadall I., Iglesias J., Koueta N., Rosas C., Segawa S., Grasse B., Franco-Santos R., Albertin C., Caamal-Monsreal C., Chimal M., Edsinger-Gonzales E., Gallardo P., Le Pabic C., Pascual C., Roumbedakis K. y Wood J. (2014). *Cephalopod culture: current status of marine biological models and research priorities* en Vidal, E. *Advances in marine biology. Advances in Cephalopod science: biology, ecology, cultivation and fisheries*. Academic Press. 67, 1-79 pp
- Villanueva R., Sykes A., Vidal E., Rosas C., Nabhitabhata J., Fuentes L., Iglesias J. (2014). Current Status and Future Challenges in Cephalopod Culture. En Iglesias J., Fuentes L. y Villanueva R. (eds) *Cephalopod culture. Spinger Science+Business Media*. 479-489.
- Voss G. L. y Solís M. (1966). *Octopus maya*, a new species from the bay of Campeche, México. *Bulletin of Marine Science*. 6 (3), 615-625.

- Wells M. J. y Wells J. (1959). Hormonal control of sexual maturity in Octopus. *Journal of Experimental Biology*. 36, 1-33.
- Zamora R. M. (2017). Evaluación de la utilización de refugios artificiales como sitios de reproducción del pulpo *Octopus maya*. *Tesis de licenciatura*. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 67 pp.
- Zar J. H. (2010). *Biostatistical Analysis*. 5th ed. Prentice Hall, New York, USA. 944 pp.
- Zeng Q., Jeppesen E., Gu X. y Mao Z. (2018). Cannibalism and Habitat Selection of Cultured Chinese Mitten Crab: Effects of submerged aquatic vegetation with different nutritional and refuge values. *Water*. 10, 1-14.

Anexo 1. Registro fotográfico de los pulpos que murieron con y sin daño aparente de canibalismo

Día	Tanque	Tratamiento	Fotos	Observaciones
2	6	Rafia		El canibalismo fue muy evidente en este individuo debido a que estaba totalmente lesionado tanto de los brazos como de la cabeza y el manto, a tal grado que se veía comprimido y no se apreciaban bien las partes de su cuerpo.
5	6	Rafia		El individuo fue mordido de los brazos, en la región cercana a la boca y esa región se ve inflamada. En el manto se observaron laceraciones señaladas con flechas. El individuo presentaba una reducción en su cabeza, no se aprecian sus ojos y además en la foto inferior se observa que sus brazos estaban retraídos hacia su cabeza en una posición que no es natural para los pulpos.
12	1	Tubo		No se observaron indicios de canibalismo, el individuo no presentó laceraciones. Los brazos y el manto del pulpo se veían completos. La glándula digestiva se encontraba llena, lo que indica que el individuo estaba bien alimentado. En la foto superior, la glándula se ve como un punto amarillo señalado con un círculo.

				
13	1	Tubo	 	<p>No se observaron indicios de canibalismo, el individuo no presentó laceraciones. Los brazos y el manto del pulpo se veían completos.</p> <p>La glándula digestiva se encontraba llena, lo que indica que el individuo estaba bien alimentado. En la foto superior, la glándula se ve como un punto amarillo señalado con un círculo.</p>
13	1	Tubo	 	<p>No se observaron indicios de canibalismo, el individuo no presentó laceraciones. Los brazos y el manto del pulpo se veían completos.</p> <p>La glándula digestiva se encontraba llena, lo que indica que el individuo estaba bien alimentado. En la foto superior, la glándula se ve como un punto amarillo señalado con un círculo.</p>

13	5	Rafia		<p>El individuo tenía el manto mordido e hinchado, y sus brazos se veían retraídos hacia su cabeza y sin su forma natural, lo que indica que fueron mordidos.</p> <p>En la foto superior se observa la glándula digestiva llena señalada con un círculo.</p>
13	6	Rafia		<p>No se observaron indicios de canibalismo, el individuo no presentó laceraciones. Los brazos y el manto del pulpo se veían completos.</p> <p>La glándula digestiva se encontraba llena, lo que indica que el individuo estaba bien alimentado. En la foto superior, la glándula se ve como un punto amarillo señalado con un círculo.</p>
13	7	Tubo		<p>No se observaron indicios de canibalismo, el individuo no presentó laceraciones. Los brazos y el manto del pulpo se veían completos.</p> <p>La glándula digestiva se encontraba llena, lo que indica que el individuo estaba bien alimentado. En la foto inferior, la glándula se ve como un punto amarillo señalado con un círculo.</p>

13	8	Tubo		<p>No se observaron indicios de canibalismo, el individuo no presentó laceraciones. Los brazos y el manto del pulpo se veían completos.</p> <p>La glándula digestiva se encontraba llena, lo que indica que el individuo estaba bien alimentado.</p>
14	3	Tubo	 	<p>No se observaron indicios de canibalismo, el individuo no presentó laceraciones. Los brazos y el manto del pulpo se veían completos.</p> <p>La glándula digestiva se encontraba llena, lo que indica que el individuo se estaba bien alimentado. En la foto superior, la glándula se ve como un punto amarillo señalado con un círculo.</p>
14	5	Rafia	 	<p>No se observaron indicios de canibalismo, el individuo no presentó laceraciones. Los brazos y el manto del pulpo se veían completos.</p> <p>La glándula digestiva se encontraba llena, lo que indica que el individuo estaba bien alimentado. En la foto inferior, la glándula se ve como un punto amarillo señalado con un círculo.</p>
14	9	Tubo		<p>No se observaron indicios de canibalismo, el individuo no presentó laceraciones. Los brazos y el manto del pulpo se veían completos.</p> <p>La glándula digestiva se encontraba llena, lo que indica que el individuo estaba bien alimentado. En la foto inferior, la glándula se ve como un</p>

14	9	Tubo		<p>punto amarillo señalado con un círculo.</p>
			 	<p>No se observaron indicios de canibalismo, el individuo no presentó laceraciones. Los brazos y el manto del pulpo se veían completos. La glándula digestiva se encontraba llena, lo que indica que el individuo estaba bien alimentado. En la foto inferior, la glándula se ve como un punto amarillo señalado con un círculo.</p>
15	1	Tubo	 	<p>No se observaron indicios de canibalismo, el individuo no presentó laceraciones. Los brazos y el manto del pulpo se veían completos. La glándula digestiva se encontraba llena, lo que indica que el individuo estaba bien alimentado. En la foto superior, la glándula se ve como un punto amarillo señalado con un círculo.</p>

15	4	Rafia		No se observaron indicios de canibalismo, el individuo no presentó laceraciones. Los brazos y el manto del pulpo se veían completos.
15	5	Rafia	 	El individuo tenía los brazos completamente mordidos y la región bucal se encontraba hinchada, lo que ocasionaba que sus brazos estuvieran retorcidos de una forma no natural para los pulpos, además uno de los ojos se observó rojo.
15	8	Tubo	 	No se observaron indicios de canibalismo, el individuo no presentó laceraciones. Los brazos y el manto del pulpo se veían completos.
15	8	Tubo		No se observaron indicios de canibalismo, el individuo no presentó laceraciones. Los brazos y el manto del pulpo se veían completos. La glándula digestiva se encontraba llena, lo que indica que el individuo estaba bien alimentado. En la foto inferior, la glándula se ve como un punto amarillo señalado con un círculo.

				
15	8	Tubo	 	No se observaron indicios de canibalismo, el individuo no presentó laceraciones. Los brazos y el manto del pulpo se veían completos.
15	9	Tubo	 	No se observaron indicios de canibalismo, el individuo no presentó laceraciones. Los brazos y el manto del pulpo se veían completos. La glándula digestiva se encontraba llena, lo que indica que el individuo estaba bien alimentado. En la foto inferior, la glándula se ve como un punto amarillo señalado con un círculo.