



Programa de Estudios de Posgrado

**ANÁLISIS DE EDAD Y CRECIMIENTO DE *Octopus
hubbsorum* (Berry, 1953) Y *Octopus bimaculoides* (Pickford y
McConnaughey, 1949) CON LECTURAS DE ANILLOS DE
CRECIMIENTO EN LOS ESTILETES**

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación Biología Marina)

P r e s e n t a

Laura Elizabeth Ibarra García

La Paz, Baja California Sur, diciembre del 2012

ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 13 horas del día 21 del Mes de Noviembre del 2012, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

ANÁLISIS DE EDAD Y CRECIMIENTO DE *Octopus hubbsorum* (Berry, 1953) Y *Octopus bimaculoides* (Pickford y McConnaughey, 1949) CON LECTURAS DE ANILLOS DE CRECIMIENTO EN LOS ESTILETES


Presentada por el alumno:

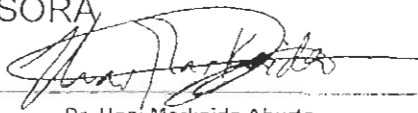
Laura Elizabeth Ibarra García

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN **Biología Marina**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA


Dr. César A. Salinas Zavala
DIRECTOR DE TESIS


Dr. Unai Markaida Aburto
CO-TUTOR


Enrique Morales Rojón
CO-TUTOR


DRA. ELISA SERVIERE ZARAGOZA,
DIRECTORA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

COMITÉ TUTORIAL

Dr. César Augusto Salinas Zavala
Director de tesis
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR)

Dr. Enrique Morales Bojórquez
Co-Tutor
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR)

Dr. Unai Markaida Aburto
Co-Tutor
El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR)

COMITÉ REVISOR DE TESIS

Dr. César Augusto Salinas Zavala
Director de tesis
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR)

Dr. Enrique Morales Bojórquez
Co-Tutor
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR)

Dr. Unai Markaida Aburto
Co-Tutor
El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR)

JURADO DEL EXAMEN DE GRADO

Dr. César Augusto Salinas Zavala
Director de tesis
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR)

Dr. Enrique Morales Bojórquez
Co-Tutor
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR)

Dr. Unai Markaida Aburto
Co-Tutor
El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR)

Dr. Eduardo Francisco Balart Páez
Suplente
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR)

RESUMEN

Los pulpos se han convertido en un recurso de amplia explotación y de gran valor comercial, por lo tanto los estudios acerca de su biología son muy importantes, como los estudios de edad y crecimiento, ya que aportan información para el manejo de las pesquerías.

En este estudio se evaluó la edad y el crecimiento a partir de lecturas de incrementos en el estilete de dos especies de pulpo del noroeste de México (*Octopus hubbsorum* y *Octopus bimaculoides*) con el fin de definir el patrón de crecimiento individual. Se validó la periodicidad de formación de los incrementos en juveniles de la especie *O. bimaculoides* de edad conocida. Para describir el patrón de crecimiento individual se utilizaron cuatro grupos de datos de talla a la edad: el primero está conformado por juveniles de *O. bimaculoides* para el cual se ajustaron modelos no asintóticos, el segundo y tercer grupo de datos fueron los adultos de ambas especies para los cuales se probaron tres modelos asintóticos y un modelo no asintótico, finalmente el cuarto grupo utilizó los datos completos (juveniles y adultos) de *O. bimaculoides* en el que se ajustaron tres modelos asintóticos y dos no asintóticos. Los parámetros de los modelos candidatos fueron calculados maximizando el logaritmo natural negativo de verosimilitud y se eligió el mejor modelo por medio del criterio de información de Akaike (AIC).

La validación mostró que en los organismos más pequeños (5-16 días de edad) un incremento equivale a un día de vida, sin embargo en organismos mayores (35-123 días) la relación varía entre 1.5 y 2 días por cada incremento. Para este estudio se consideró la periodicidad obtenida en los organismos más pequeños en la que un anillo es igual a un día y que también ha sido reportada para otras especies. El AIC mostró que para los juveniles el mejor modelo fue el exponencial representando un crecimiento acelerado en los primeros días de vida, mientras que para los adultos de *O. hubbsorum* y *O. bimaculoides* el mejor ajuste fue el de von Bertalanffy y el logístico, respectivamente, los cuales son modelos asintóticos que muestran una disminución en la tasa de crecimiento antes de alcanzar la talla asintótica. Para el set de datos completo de *O. bimaculoides* el mejor modelo fue el propuesto por Tanaka, que definió un crecimiento sigmoide, pero sin llegar a una asíntota, ya que este modelo se caracteriza por describir un crecimiento indeterminado.

Palabras clave: Edad y crecimiento, estilete, *Octopus bimaculoides*, *Octopus hubbsorum*, validación.

ABSTRACT

Octopuses have recently become a great fishery resource, so studies of age and growth are highly relevant since they provide information for better fisheries management.

In this study age and growth was evaluated from stylet increments readings of two Mexican Northwest octopus species (*Octopus bimaculoides* and *Octopus hubbsorum*) in order to define individual growth patterns. The deposition periodicity of growth increments in stylets of young known-age organisms of *O. bimaculoides* was validated. To define the individual growth pattern, four length-at-age data set were used: the first was with juveniles of *O. bimaculoides* data in which non-asymptotic models were tested, second and third data set were of adults of both species in which three non-asymptotic and one asymptotic models were fitted and the last one used the complete data set of *O. bimaculoides* (juveniles and adults), where three non-asymptotic and two asymptotic models were fitted. Models parameters were estimated using a negative log-likelihood estimator and models were compared using Akaike's information criterion (AIC).

The validation showed that in younger organisms (5-16 days) one increment is equivalent to one day of life, however in older organisms (35-123 days) the relation varied between 1.5 -2 days per increment. In this study the periodicity obtained in younger juveniles was used to define individual growth pattern, this periodicity has also been reported for other octopus species. AIC showed that the best model for juvenile data set was exponential; indicating an accelerated growth during the first days of life. In adults of *O. hubbsorum* and *O. bimaculoides* the best model was von Bertalanffy and logistic, respectively. Both are asymptotic models and show a growth rate decrement before reaching an asymptotic size. In the complete data set of *O. bimaculoides* the best model that fitted the data was that proposed by Tanaka, which defined a sigmoid growth curve but without reaching an asymptotic size, as this model is characterized by having indeterminate growth.

Keywords: Stylet; age and growth; *Octopus hubbsorum*; *Octopus bimaculoides*, validation.

DEDICATORIA

A mi familia que ha sido mi columna siempre y a quienes amo y agradezco su cariño incondicional, a mi mamá por sus sabios consejos, a mi papá que siempre me motiva a alcanzar mis metas y a mi hermano por molestarme todo el tiempo como muestra de cariño.

A las Pilas Team que han estado conmigo en las buenas y malas y que han sido mi familia aquí en La Paz. Paulina, Adriana, Abigail, Donaxi, Magda, Mariana las quiero muchísimo.

A mi novio David que llegó en el mejor momento a mi vida y ha sido mi motivación. Te quiero mucho.

AGRADECIMIENTOS

A la Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico brindado a través de la beca de maestría.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) por la formación académica y las facilidades para el desarrollo del proyecto, así como por el apoyo económico brindado para la compra del boleto de avión para la realización de las estancias de investigación concernientes a mi tesis de maestría.

A la Cooperativa Bahía Magdalena por facilitarnos el permiso para la captura de muestras.

Al Dr. César A. Salinas Zavala por su apoyo académico y motivacional durante la elaboración de la tesis.

Al Dr. Enrique Morales Bojórquez por su ayuda y paciencia en la elaboración de este trabajo, en especial con la parte estadística.

Al Dr. Unai Markaida Aburto por sus valiosas aportaciones hacia el trabajo, a pesar de la distancia.

Al Dr. Francisco Rocha por su hospitalidad, apoyo y asesoría durante la estancia de investigación y por sus sugerencias hacia el trabajo.

Al M. C. Pablo Monsalvo Spencer por su ayuda durante el mantenimiento de los organismos en cautiverio, lo cual fue indispensable para el proyecto.

Al Dr. Casimiro Quiñones por su asesoría y entrenamiento en el procesamiento de muestras.

A la M. C. María del Carmen Rodríguez Jaramillo por facilitarme el equipo y el espacio para el análisis de las muestras.

A Horacio Sandoval Gómez por su asistencia en la sala de cómputo y en los cubículos.

A Enrique Calvillo, Jorge Angulo, Oswaldo Rodríguez, Francisco Domínguez y César Salinas Jr. por su ayuda durante los muestreos en campo.

A Field School Studies por el hospedaje y en especial a Verónica Castañeda y Gustavo por su hospitalidad durante los muestreos.

A todos los integrantes del Laboratorio de Cefalópodos por su amistad y apoyo moral en todo momento (Susy, Minda, Fer, Orso, Andrés, Laura, Pablo, Abraham, Jazmín, Viridiana, Mariana y en especial a Mauricio Montoya que me sacó de apuros más de una vez).

A Milton porque siempre me ha apoyado tanto en casa como en el CIB.

Y a todas las personas que me faltaron por mencionar pero que colaboraron con su granito de arena para que llegara este momento y que les estoy muy agradecida.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
3. JUSTIFICACIÓN	9
4. OBJETIVOS	10
5. MATERIALES Y MÉTODOS	11
5.1 ÁREA DE ESTUDIO	11
5.2 TRABAJO DE CAMPO	12
5.3 TRABAJO DE LABORATORIO	14
5.4 ANÁLISIS DE DATOS	17
5.4.1 Relaciones morfométricas	17
5.4.2 Comparación de técnicas	17
5.4.3 Validación.....	19
5.4.4 Patrón de crecimiento individual	19
5.4.5 Selección del mejor modelo.....	23
5.4.6 Fechas de eclosión	24
6. RESULTADOS	25
6.1 DISTRIBUCIÓN DE TALLAS Y PROPORCIÓN DE SEXOS	25
6.2 RELACIONES MORFOMÉTRICAS.....	26
6.3 COMPARACIÓN DE TÉCNICAS.....	29
6.4 VALIDACIÓN	31
6.5 PATRÓN DE CRECIMIENTO INDIVIDUAL	32
6.6 SELECCIÓN DEL MEJOR MODELO	41
6.7 FECHAS DE ECLOSIÓN.....	42
7. DISCUSIÓN	44
8. CONCLUSIONES	56
9. LITERATURA CITADA	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Posición del estilete en el orden Octópoda.....	7
Figura 2. Puntos de muestreo en el complejo lagunar Bahía Magdalena-Almejas	12
Figura 3. Morfología del estilete	14
Figura 4. Distribución de frecuencia de LM de adultos de las especies <i>O. bimaculoides</i> y <i>O. hubbsorum</i>	25
Figura 5. Distribución de frecuencia de PT de adultos de las especies <i>O. bimaculoides</i> y <i>O. hubbsorum</i>	26
Figura 6. Relación Peso-LM de adultos de las especies <i>O. bimaculoides</i> y <i>O. hubbsorum</i>	27
Figura 7. Relación entre las medidas del estilete y la LM de adultos de las especies <i>O. hubbsorum</i> y <i>O. bimaculoides</i>	28
Figura 8. Regresión lineal simple entre los días de vida y el número de anillos de crecimiento contados en los estiletes de juveniles <i>O. bimaculoides</i>	32
Figura 9. Pendientes de crecimiento entre machos y hembras de <i>O. bimaculoides</i> y <i>O. hubbsorum</i>	33
Figura 10. Modelos ajustados al set de datos de los juveniles <i>O. bimaculoides</i>	34
Figura 11. Modelos ajustados al set de datos de los adultos <i>O. hubbsorum</i>	35
Figura 12. Modelos ajustados al set de datos de los adultos <i>O. bimaculoides</i>	36
Figura 13. Modelos ajustados al set de datos completo <i>O. bimaculoides</i>	37
Figura 14. Fechas de eclosión obtenidas a partir del retrocálculo para <i>O. hubbsorum</i> y <i>O. bimaculoides</i> ; y temperaturas de Bahía Magdalena durante el 2010 y 2011	43

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Número de organismos capturados en el 2012 por especie, mes y sitio de muestreo.....	13
Tabla II. Número de estiletes procesados para cada especie, para cada fase de vida y modo de preparación de las muestras.	16
Tabla III. Modelos ajustados en los distintos set de datos de talla a la edad.	21
Tabla IV. Número de muestras en cada nivel de calidad, valores del Índice de Error Promedio (APE) y del Coeficiente de Variación (CV) de las lecturas, tiempo de preparación y tiempo de perduración de los estiletes de adultos de ambas especies.....	30
Tabla V. Parámetros estimados con el logaritmo natural negativo de verosimilitud para los modelos candidatos en cada set de datos	38
Tabla VI. Valores de AIC, Δ_i y w_i para la selección del mejor modelo en cada set de datos.	41

1. INTRODUCCIÓN

Los cefalópodos componen abundantes biomasas en los ecosistemas marinos y son un importante recurso dentro de las pesquerías del mundo, que han ido incrementándose en los últimos años (Caddy y Rodhouse, 1998). Son muchas las especies de este grupo de invertebrados con potencial de explotación; dentro de los cuales se encuentran los miembros del orden Octopoda y principalmente algunas especies del género *Octopus*, que constituyen algunas de las pesquerías más importantes de los cefalópodos en el mundo (Roper *et al.*, 1995).

En México, la pesquería de pulpo es multiespecífica y ocupa el octavo lugar a nivel nacional en cuanto a la producción de especies marinas y el quinto lugar nacional en el valor comercial del producto con capturas alrededor de 25 mil toneladas que fueron equivalentes a un poco más de \$600 millones de pesos para el 2009. Cerca del 90% de la producción proviene del Golfo de México y Caribe mexicano donde se extraen principalmente *Octopus maya* y *Octopus vulgaris*. Del 10% restante que se captura en el Pacífico mexicano, las capturas registradas en el estado de Baja California Sur, contribuyen con apenas el 1% (SEMARNAP, 2009). La pesquería de este recurso en el Pacífico mexicano es una actividad reciente que cuenta con registros desde los años 70's (SEPESCA, 1987).

En B. C. S. se utilizan embarcaciones con motor fuera de borda y el arte de pesca más utilizado para el pulpo son las trampas de alambre galvanizado (de 5 a 50 por embarcación) principalmente en zonas rocosas desde dos hasta 50 m de profundidad. La extracción por medio de buceo, ya sea con gancho o con sustancias químicas (*i.e.* cloro), no es legal en ambos litorales de B. C. S., sin embargo es común que suceda, ya que la eficacia de las trampas es menor que la captura por medio del buceo (Programa de ordenamiento pesquero, 2010). La localidad más importante para la pesquería de pulpo en este estado es Bahía Magdalena con alrededor del 44% de las capturas del noroeste de la república, que comprende a los estados de Sinaloa, Sonora, Baja California y Baja California Sur. La captura de pulpo en Bahía Magdalena está enfocada a *Octopus hubbsorum* durante el verano y *Octopus bimaculatus* en invierno, sin embargo no existen

temporadas establecidas para la pesca de pulpo, más bien es una pesca alternativa cuando otras pesquerías, como la de las almejas, se encuentra en veda (Ojeda y Rodríguez, 2012). Por otro lado, los registros de captura de SAGARPA no indican a qué especie corresponden las capturas. En síntesis la pesquería de pulpo en B. C. S. y en general en todo el Pacífico no tiene puntos de referencia biológicos ni demográficos, como la biomasa reproductora y la mortalidad por pesca, pero se considera que es una pesquería con potencial de desarrollo (Carta Nacional Pesquera, 2004).

Los pulpos bentónicos presentan dos tipos de estrategias de historia de vida dependiendo de la especie. El primer tipo lo presentan especies que producen una puesta pequeña, es decir con pocos huevos de gran tamaño (10-12% de la longitud del manto del organismo) que dan lugar a crías bien desarrolladas al nacer, muy parecidas a los adultos y que adoptan rápidamente un hábito bentónico. El segundo tipo es en el que la puesta está conformada por un gran número de huevos pequeños (< 10% de la longitud del manto del organismo) que eclosionan en crías con extremidades poco desarrolladas, pocas ventosas y musculatura transparente. Estas crías son nadadoras libres y permanecen formando parte del plancton, por lo que ocupan un hábitat distinto al de los adultos. A esta fase se le conoce como “paralarva” (Boletzky, 1982).

Octopus hubbsorum (Berry, 1953) es la especie de pulpo que más se pesca en el Pacífico mexicano con una distribución que va desde Bahía de los Ángeles hasta Cabo San Lucas en la península de Baja California y desde Sonora hasta Oaxaca en la costa continental del Pacífico (López-Uriarte *et al.*, 2005). Recientemente, se cuenta con registros en Bahía Magdalena (Domínguez-Contreras, 2011) y zonas aledañas (en el presente estudio) que amplían la distribución de la especie en la península de Baja California. *O. hubbsorum* habita comúnmente zonas rocosas con grietas y es poco común en la zona intermareal. Es una especie que deposita hasta 500 mil huevos pequeños (aproximadamente 2 mm de longitud) que dan lugar a paralarvas planctónicas y presenta una longevidad de hasta 15 meses (López-Uriarte, 2006).

Octopus bimaculoides (Pickford y McConnaughey, 1949), por otra parte, es una especie característica de la zona inter y submareal que se distribuye desde Santa Bárbara, California, Estados Unidos hasta la costa oeste central de la Península Baja California,

México a profundidades menores de 20 m, abarcando hábitats variables como arrecifes rocosos, mantos de macroalgas gigantes, marismas y fondos arenosos (Lang, 1997). Tiene una longevidad de entre 14 y 17 meses, un peso máximo de 1.1 kg y deposita hasta 800 huevos grandes (entre 10-14 mm de longitud) que dan lugar a paralarvas bentónicas sin pasar por la fase planctónica. Se adapta fácilmente al cautiverio y tolera temperaturas desde 12 a 25 °C (Forsythe y Hanlon, 1988a, b).

Para poder mantener las pesquerías de manera sustentable es imprescindible conocer y generar información de la biología de las especies objetivo de la explotación comercial. Uno de los aspectos de gran relevancia es la determinación de la edad y el crecimiento, ya que a partir de estos conceptos se proporciona información acerca de los parámetros poblacionales, tales como la edad a la madurez, la tasa de mortalidad, la tasa de crecimiento, reclutamiento, entre otros. Esta información es necesaria en los modelos pesqueros utilizados al momento de dar pautas de manejo de las pesquerías (Campana, 2001).

Además, el crecimiento es uno de los procesos más complejos que lleva a cabo un organismo ya que es el resultado de procesos fisiológicos y de interacción con el ambiente circundante, por lo que es una medida de la adaptación del organismo. Por ello, a partir del crecimiento se pueden conocer aspectos de la biología, ecología y ontogenia de los organismos, como por ejemplo el desarrollo de etapas tempranas, cambios en el estilo de vida y temporadas reproductivas, de desove y eclosión.

2. ANTECEDENTES

Los estudios que abordan el tema del crecimiento en los cefalópodos comenzaron alrededor de la década de los 60's, tanto en poblaciones silvestres como en organismos cultivados en cautiverio, siendo objeto de gran interés para la comunidad científica desde entonces.

El proceso de crecimiento en cefalópodos es uno de los más rápidos del reino animal, alcanzado grandes tallas en poco tiempo y con una gran variabilidad entre individuos (Callow, 1987). El crecimiento está influenciado por numerosos factores tanto bióticos como abióticos que interfieren y pueden causar grandes modificaciones en el incremento en talla de los organismos dependiendo de la etapa de vida en que se encuentran. El ciclo de vida de los cefalópodos se divide en cuatro etapas ontogénicas: paralarva, juvenil, sub-adulto y adulto. La etapa de paralarva es la fase temprana del desarrollo en el que el organismo es de vida planctónica y abarca desde la eclosión hasta que se convierte en juvenil. Este término se utiliza debido a que en los cefalópodos no existe una metamorfosis para convertirse en adulto, por lo que las paralarvas presentan una morfología similar a la de los adultos. Juvenil es la fase entre la paralarva y el reclutamiento a la población de sub-adultos y en esta etapa el organismo cambia sus hábitos de vida de planctónica a bentónica o pelágica, dependiendo de la especie. Las fase de sub-adulto comienza cuando las estructuras reproductoras aparecen y finalmente la fase de adultos sucede cuando se alcanza la madurez sexual y debido a que son organismos semélparos esta etapa es muy corta (Young y Harman, 1988; Boletzky, 2003).

En las etapas tempranas de vida los factores abióticos, en especial la temperatura, juegan un papel crucial en las tasas de crecimiento, ya que se ha comprobado que mientras mayor sea la temperatura mayor será el crecimiento (Forsythe y Hanlon, 1988a). Otro factor importante para el crecimiento temprano es la cantidad y calidad de alimento disponibles (Forsythe y van Heukelem, 1987). Por otro lado, en la fase de crecimiento de sub-adultos y adultos, además de los factores abióticos, los factores bióticos como el género, la edad, la talla, la etapa de madurez, la reproducción y la variabilidad individual tienen un importante efecto sobre la tasa de crecimiento (van Heukelem, 1976).

La tendencia de crecimiento en los cefalópodos se divide en dos momentos de desarrollo ontogénico, esto quiere decir que se divide en una fase inicial rápida descrita como exponencial y una fase posterior más lenta referida como potencial. Durante la fase exponencial, que abarca desde las paralarvas hasta los juveniles, la tasa de crecimiento instantáneo relativo permanece constante, mientras que en la fase potencial, que abarca las etapas de sub-adultos y adultos, la tasa de crecimiento disminuye gradualmente con la edad (Forsythe y van Heukelem, 1987). Sin embargo, Lipinski (2001) describe tres fases en la curva del crecimiento: una fase de paralarva de crecimiento lento, una fase de crecimiento rápido de juveniles y sub-adultos y una fase lenta en adultos.

El modelo clásico para describir el crecimiento en la mayoría de los organismos es el de von Bertalanffy; sin embargo, Guerra (1979) y Alford y Jackson (1993) argumentan que en los cefalópodos los modelos asintóticos no son los mejores descriptores del crecimiento, ya que por su corto ciclo de vida, continúan creciendo durante toda su vida. Por lo anterior es recomendable probar modelos no asintóticos, ya que para este grupo de organismos el crecimiento asintótico no ha sido demostrado.

Los primeros estudios acerca de la edad y crecimiento de cefalópodos utilizaban el método de análisis de progresión modal (MPA), el cual consiste en establecer grupos de edades en el tiempo a través de la distribución de tallas (Guerra, 1979; Arkhipkin, 1991). A pesar de que esta técnica provee una herramienta rápida y de bajo costo para la evaluación de las pesquerías, ha sido muy criticada la precisión de este análisis para los cefalópodos ya que presentan intervalos de crecimiento amplios y variables relacionados a las condiciones ambientales, ciclos de vida cortos y mortalidades masivas después de los desoves por lo que la talla no es un buen indicador de la edad (Guerra, 1979; Domain *et al.*, 2000; Jackson *et al.*, 2000).

Los octópodos presentan además dificultades para cuantificar la talla y el peso, debido a que son animales de cuerpo blando, contráctil y que retienen gran cantidad de agua (Semmens *et al.*, 2004; Boyle y Rodhouse, 2005). Por ello, se ha recomendado utilizar tanto datos de frecuencia de tallas como lecturas de edad en estructuras duras para explicar de manera más completa y precisa los datos de crecimiento (Sparre y Venema, 1995). Adicionalmente, la lectura de anillos de crecimiento se utiliza para diferenciar cohortes de

edades en poblaciones susceptibles a la pesca que no pueden ser separadas por análisis de frecuencia de tallas (Boyle y Rodhouse, 2005), como en el caso de los cefalópodos.

En los calamares se ha utilizado el gladio o pluma y se han obtenido muy buenas correlaciones con la edad. Esta estructura quitinosa se encuentra inmersa en la parte dorsal del manto y representa la concha vestigial de los cefalópodos (Bizikov, 1991). Otra estructura utilizada con fines de estimación de la edad es el sepión en las sepias (Bettencourt y Guerra, 2001). La estructura dura más utilizada en cefalópodos, como en calamares y en sepias, han sido los estatolitos, debido a que se han obtenido validaciones de incrementos diarios (Jackson, 1994). Sin embargo, en los pulpos no se han podido obtener resultados exitosos con el uso de los estatolitos, ya que los incrementos no son significativos debido a que el proceso de mineralización y orientación de los cristales de CO_3Ca es totalmente diferente al resto de los cefalópodos (sepias y calamares) (Young, 1960).

En octópodos se han observado anillos concéntricos en los lentes oculares (Goncalves, 1993; Baqueiro *et al.*, 2011), también los estudios de determinación de la edad se han podido realizar con la lectura de las marcas de la pared lateral de la mandíbula o pico superior (Raya y Hernández-González, 1998; Hernández-López *et al.*, 2001; Perales-Raya *et al.*, 2010). El problema principal del uso de las mandíbulas en los octópodos es que presentan sesgos en las lecturas que se deben al desgaste de la estructura durante el ciclo de vida del organismo, principalmente durante la alimentación, aún cuando se ha propuesto con bases fuertes que las marcas equivalen al crecimiento diario.

Recientemente, se han comenzado a realizar estudios de edad y crecimiento en los estiletes, consistentes en dos pequeñas estructuras finas, elongadas, quitinosas y semitransparentes que representan la concha vestigial en los octópodos. Estas estructuras han sido catalogadas como herramientas potenciales para la determinación de la edad, debido a que presentan incrementos de crecimiento en forma de anillos concéntricos. Los estiletes en este orden taxonómico se encuentran embebidos en el músculo del manto bajo la base de las branquias (Figura 1). La forma y estructura de los estiletes varía entre especies y se les ha atribuido la función de soporte para el músculo del sifón y órganos internos (Bizikov, 2008).

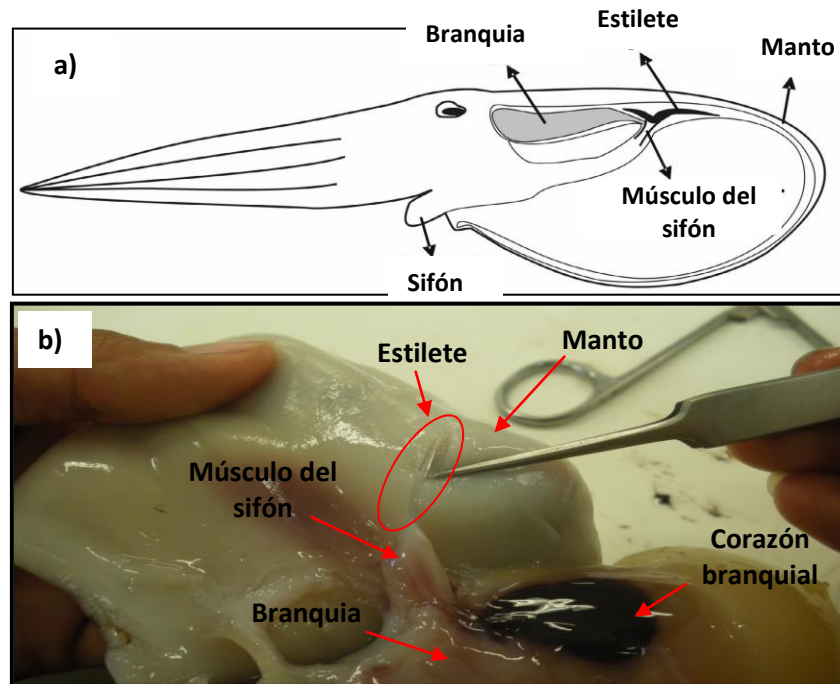


Figura 1. Posición del estilete en el orden Octópoda. (a) Esquema de la anatomía interna, imagen modificada de Márquez y Ré (2009); (b), órganos removidos durante la disección de un organismo *O. hubbsorum* para la extracción del estilete, las pinzas muestran la ubicación de la estructura (Tomada por Laura Ibarra).

Los primeros en observar incrementos continuos en estas estructuras duras fueron Reis y Fernandes (2002). Ellos encontraron una buena correlación entre la edad y el número de incrementos en la estructura, por lo que las catalogan como herramientas potenciales para la determinación de la edad. A partir de este estudio se ha validado la periodicidad de las deposiciones en esta estructura en dos especies: *O. pallidus*, por medio de organismos juveniles y adultos de edad conocida mantenidos en condiciones controladas de laboratorio (Doubleday *et al.*, 2006), y *O. vulgaris*, por medio de una marca química (tetraciclina y oxitetraciclina) en organismos en cautiverio (Hermosilla *et al.*, 2010). En ambos trabajos se obtuvo una correspondencia de una línea de crecimiento por cada día de vida del organismo. Debido a estas validaciones se han podido realizar estudios en organismos silvestres que estiman la longevidad, edad de madurez y tasas de crecimiento con la lectura de los incrementos en esta estructura (Leporati *et al.*, 2008).

Una limitante del método utilizado en estos trabajos para preparar los estiletes es que es efímero, debido a que los cortes comienzan a sufrir daño después de unos minutos de la preparación, lo que hace imposible volver a utilizar la muestra. Ante esta problemática Barratt y Allcock (2010), desarrollaron una técnica para que la estructura perdure por más tiempo y destacan la utilidad del estilete como herramienta para estimar la edad en pulpos. Sin embargo, dada la utilidad de la estructura para estudios de edad es relevante establecer una metodología que permita realizar cortes permanentes en los estiletes para posteriores verificaciones.

Napoleao *et al.* (2005) y Márquez y Ré (2009) analizaron la composición de los estiletes y concluyen que contienen alrededor del 83% de una matriz orgánica calcificada, al igual que en el resto de las conchas de otros moluscos, y el resto es materia inorgánica. Los principales elementos que los conforman son calcio, fósforo, oxígeno, carbono y cloro y su distribución varía transversalmente en la estructura. También se ha demostrado que estas estructuras almacenan elementos del medio ambiente de manera cronológica, por lo que se puede obtener información de la estructura y dispersión poblacional (Doubleday *et al.*, 2008).

En el último año se desarrolló otro método directo para la medición de la edad, en la que se extrae la lipofuscina del sistema nervioso del pulpo y se cuantifica la concentración. Doubleday y Semmens (2011) realizaron este experimento en organismos mantenidos en cautiverio y obtuvieron una buena correlación entre la concentración de este pigmento con la edad por lo que puede ser usado como método alternativo.

3. JUSTIFICACIÓN

Debido a que los octópodos son organismos muy voraces y abundantes que tienen un espectro de presas muy amplio, ocupan un lugar muy importante como depredadores en las redes tróficas de los ecosistemas a los que pertenecen; adicionalmente las especies objetivo de este trabajo son especies recientemente explotadas en B. C. S., por lo que se requiere generar información acerca de los parámetros poblacionales que faciliten el manejo adecuado de las pesquerías, como lo son los aspectos de edad y crecimiento, que también proporcionan otros datos biológicos, ecológicos y ontogénicos. Aunado a esto, la Carta Nacional Pesquera no detalla ningún tipo de reglamentación para la pesquería del pulpo en el Pacífico mexicano, lo que eleva las probabilidades de poner en peligro la sustentabilidad del recurso en la zona.

En Bahía Magdalena se maneja la pesca con base en las normas oficiales mexicanas, como las que se encuentran marcadas en la Carta Nacional Pesquera, pero las reglas no consideran diferencias regionales en la dinámica de las flotas, distribución de los recursos y los impactos sobre el recurso y los ecosistemas derivados de las pesquerías.

Por otra parte, los estudios utilizados para evaluar las pesquerías de algunas especies de pulpo en México utilizan el análisis modal de tallas, pero dado que los cefalópodos presentan gran variabilidad en el crecimiento, este método no es eficiente, por lo que se requieren estudios de lecturas en estructuras duras para realizar una estimación de la edad más certera.

4. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la edad y el patrón de crecimiento individual en organismos silvestres de las especies *O. hubbsorum* y *O. bimaculoides* a través de las lecturas de anillos en los estiletes.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Establecer la relación entre el crecimiento somático y el crecimiento de los estiletes de *O. hubbsorum*.
- Calcular la relación Longitud del manto-peso de *O. hubbsorum* y *O. bimaculoides* para determinar el tipo de crecimiento.
- Comparar la eficiencia entre dos técnicas para la preparación del estilete.
- Estimar la periodicidad de los incrementos depositados en los estiletes de juveniles *O. bimaculoides* nacidos en cautiverio.
- Relacionar el patrón de crecimiento individual con la periodicidad estimada en los incrementos en organismos nacidos en cautiverio.
- Calcular las fechas de eclosión de acuerdo a las edades estimadas.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 ÁREA DE ESTUDIO

El complejo lagunar Bahía Magdalena-Almejas se localiza en la costa sur-occidental de la península de Baja California ($24^{\circ} 16' N$ y $25^{\circ} 45' N$; $111^{\circ} 20' W$ y $112^{\circ} 18' W$) (Figura 2). Este sistema tiene tres regiones geomorfológicamente distintas: zona de Canales, Bahía Magdalena y Bahía Almejas. Bahía Magdalena se comunica con el océano Pacífico a través de una boca de 5.6 km de ancho, con una profundidad máxima de 40 m, ubicada entre Punta Entrada (Isla Magdalena) y Punta Redonda (Isla Margarita). La zona central de la Bahía tiene una profundidad entre 15 y 20 m, la cual disminuye hacia el oriente con una pendiente suave hacia la costa. Esta zona presenta extensos bosques de manglar que contribuyen de manera importante en la producción de materia orgánica, excepto en Isla Margarita e Isla Magdalena que presentan formaciones rocosas de origen volcánico principalmente. El complejo lagunar presenta condiciones anti-estuarinas como resultado de una reducida tasa de precipitación y escasa afluencia de agua dulce, así como una elevada tasa de evaporación. La plataforma occidental de Bahía Magdalena está influenciada por corrientes y procesos de mezcla originados por la marea, circulación oceánica y corrientes de gradiente horizontal que forman un complejo patrón de flujo geostrófico (Funes-Rodríguez *et al.*, 2007).

La corriente fría de California y la contracorriente cálida del sur convergen frente a Bahía Magdalena originando un sistema frontal con una permanencia mayor a nueve meses (Zaytsev *et al.*, 2003). El intercambio de nutrientes hacia la bahía es provocado por las surgencias costeras típicas de las zonas contiguas al complejo lagunar que presentan su máxima intensidad de abril a junio. La temperatura superficial del mar va desde $17.8^{\circ}C$ en Mayo hasta $27^{\circ}C$ en agosto. Generalmente, la temperatura es ligeramente más cálida dentro de la Bahía que en la zona costera adyacente (Lluch-Belda *et al.*, 2000).

Por otro lado “El Datilar” ($24^{\circ} 7' 54.7'' N$ y $111^{\circ} 4' 41.9'' W$) es un campamento pesquero que se encuentra al sur fuera de Bahía Magdalena que presenta las características

de la zona costera adyacente a Bahía Magdalena y que son muy similares a ésta (Zaytsev *et al.*, 2003).

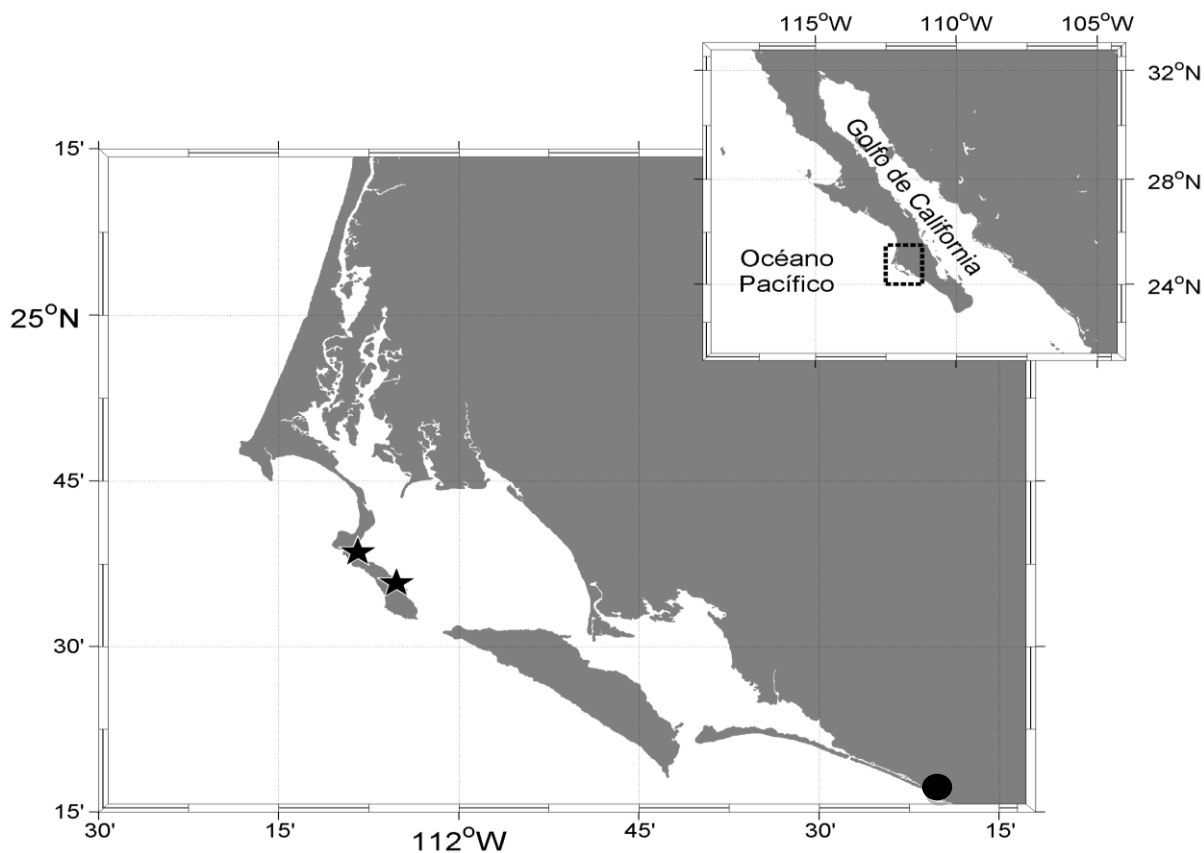


Figura 2. Puntos de muestreo en el complejo lagunar Bahía Magdalena-Almejas (★) y en el campamento pesquero El Datilar (●), Baja California Sur, México

5.2 TRABAJO DE CAMPO

Los muestreos se llevaron a cabo en dos sitios (Figura 2): en Isla Magdalena durante los meses de febrero a abril del 2011 con muestreos quincenales; y en el campamento pesquero “El Datilar” en noviembre del mismo año (Tabla I). En Isla Magdalena los organismos fueron capturados por medio de buceo libre con gancho a aproximadamente 4

m de profundidad, con previo permiso de la Cooperativa Bahía Magdalena, que es la que cuenta con la concesión del recurso en la zona, y sólo permite la extracción de pulpo por medio de trampas. En esta bahía las especies que se explotan son *Octopus hubbsorum*, *O. bimaculatus* y *O. rubescens*, sin embargo los datos de captura no se diferencian por especies. No existen temporadas oficiales de veda ni de extracción, sino que es una pesquería alternativa.

En “El Datilar” los organismos fueron proporcionados por los pescadores del campamento que utilizan trampas para pulpo de alambre galvanizado con carcasa de pescado adentro como cebo. Estas trampas son muy parecidas a las de langosta con la diferencia de que las salidas son más pequeñas para que el organismo permanezca dentro de la trampa. Los pescadores de “El Datilar” explotan este recurso de manera oportunista, es decir, cuando comienzan a capturarlo incidentalmente en las trampas para langosta, cuya temporada es de abril a octubre.

A cada ejemplar se le registró *in situ* el peso total (PT) con una balanza de aguja de 6 kg de capacidad con una precisión de 20 g, se midió la longitud del manto (LM) con una cinta métrica (precisión de 0.1 cm), se extrajeron los estiletes y se preservaron en formol al 4% en tubos de Ependorff. Algunas hembras maduras fueron transportadas al CIBNOR para mantenerlas en cautiverio hasta obtener desoves.

Tabla I. Número de organismos capturados en el 2012 por especie, mes y sitio de muestreo.

Especie	Sexo	Bahía Magdalena			El Datilar
		Feb	Mar	Abr	Nov
<i>O. bimaculoides</i>	H	0	2	7	0
	M	3	10	4	0
	Indefinido	0	0	1	0
<i>O. hubbsorum</i>	H	0	6	7	10
	M	2	9	3	55
	Indefinido	0	3	0	3

5.3 TRABAJO DE LABORATORIO

Los estiletes preservados en formol al 4% se lavaron con agua dulce para facilitar su manipulación. Previo a la preparación de los cortes, se tomaron las medidas de los estiletes (Figura 3): longitud total (LT), ancho del nudo(A), longitud post-rostral (LPR) y longitud rostral (LR) con un vernier digital con una precisión de 0.1 mm.

Para la preparación de los estiletes se realizó un corte transversal con dos navajas de afeitar alineadas, fijas al mango de un exacto y con 0.25 mm de separación entre ellas para que todos los cortes fueran del mismo grosor. Mientras se realizaba el corte, la estructura fue sujeta con unas pinzas. Los cortes se realizaron en la zona post-rostral del estilete cerca del nudo (Figura 3), ya que esta zona es la más antigua y presenta todos los incrementos, además es la parte que menos daño sufre al momento de la extracción de la estructura y por lo tanto los anillos son más visibles (Reis y Fernandes, 2002).

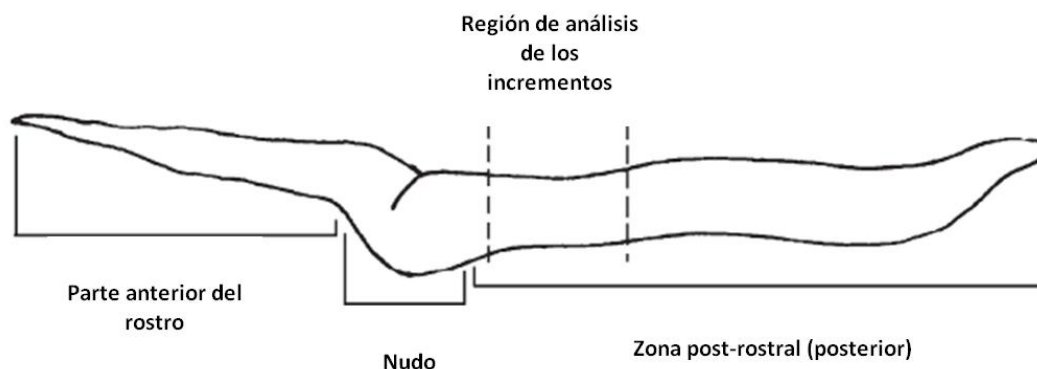


Figura 3. Morfología del estilete. Modificado de Doubleday (2006).

Se utilizaron dos técnicas para el montaje del corte en la laminilla; la primera fue la técnica utilizada por Doubleday *et al.* (2006), que se considera una técnica convencional de preparación de estatolitos con Crystalbond® aplicada a los estiletes. Se colocó un fragmento de estilete sobre un portaobjetos, se calentó el Crystalbond® hasta derretir y se dejó caer una gota encima del portaobjetos en donde está situado el corte. Una vez sólida la

resina, se lijó con una lija de 30 μm hasta dejar una superficie completamente lisa y libre de resina; después se pulió con una lija de 4 μm para eliminar posibles rayones que se hubieran formado al lijar la estructura. Al finalizar la preparación, se agregó una gota de gelatina de glicerol y un cubreobjetos, para evitar el deterioro de la estructura por deshidratación que ya ha sido reportado en trabajos anteriores con esta técnica (Doubleday *et al.*, 2006; Hermosilla *et al.*, 2010).

La segunda técnica se basa en la técnica propuesta por Bizikov (1996) para la preparación de cortes de gladio en calamares. Esta técnica consistió en colocar un pedazo de gelatina de glicerol en un portaobjetos y calentar levemente para que se fundiera, pero sin llegar al punto de ebullición, entonces se sumergió el corte del estilete en la gelatina y se le colocó un cubreobjetos. El corte se efectuó en la zona contigua al corte anterior realizado con la técnica de Crystalbond®, ya que se trabajó con un solo estilete por organismo.

La gelatina de glicerol se preparó disolviendo 100 ml de agua destilada a 37 °C, 100 g de glicerina, 17 g de gelatina pura y 1 g ó 1 ml de fenol (fungicida para preservar la preparación). Una vez que toma una consistencia pastosa se deja secar por una hora y se almacena a temperatura ambiente en frascos de vidrio, cuidando evitar el contacto directo con la luz solar (Bizikov, 1996).

Una vez listo el montaje, las lecturas se realizaron sobre imágenes tomadas a 400 aumentos (40x) a través de un microscopio óptico marca Olympus BX50 con una cámara digital integrada y la imagen fue analizada con el software Image Pro Plus 7.0. Los conteos comenzaron a partir de la primera marca visible después del núcleo, se llevaron a cabo en los puntos donde las líneas fueron más claras y cada muestra fue contada una vez por dos lectores.

Para llevar a cabo la validación de los incrementos en los estiletes de *O. bimaculoides*, se obtuvieron crías de la especie a partir de las hembras maduras que se capturaron en campo durante los muestreos y que desovaron en el laboratorio. Los huevos se dejaron al cuidado de las hembras desovadas hasta el momento de la eclosión y se realizaron verificaciones periódicas del desarrollo de los embriones para conservar los huevos viables y eliminar los inviables o los que estuvieran infectados por

microorganismos. De la especie *O. bimaculoides* desovaron cuatro hembras, dos capturadas en febrero, una capturada en marzo y otra capturada en abril. De la especie *O. hubbsorum* se capturó una hembra en noviembre que desovó en laboratorio.

Después de la eclosión las crías se mantuvieron individualizadas en un sistema cerrado con agua de mar filtrada a 1 μm y con UV, temperatura del agua entre 21 y 25.5 °C, salinidad de 35 UPS, oxigenación constante, se proporcionó alimento fresco diariamente que incluyó trozos de camarón, trozos de jaiba, almeja y cangrejos vivos y se realizaron recambios periódicos del agua del sistema (una vez por semana). Los juveniles se mantuvieron desde la eclosión hasta su muerte y se registraron las fechas de ambos acontecimientos. Un total de 16 juveniles con tallas entre 2.5 y 7 mm de LM y edades entre 5 y 123 días fueron disectados para extraer los estiletes. Para cada juvenil se utilizó uno de los estiletes para realizar un corte transversal en la zona del nudo y el fragmento se colocó en un portaobjetos con gelatina de glicerol para llevar a cabo las lecturas. El otro estilete se conservó completo, siempre que fue posible, también con gelatina de glicerol, para realizar las biometrías del mismo con ayuda del microscopio. El número total de estiletes procesados para cada especie y con cada técnica se muestra en la Tabla II.

Tabla II. Número de estiletes procesados para cada especie, para cada fase de vida y modo de preparación de las muestras.

Tamaño de muestra	Especie	Fase de vida	Preparación
91	<i>O. hubbsorum</i>	Adultos	49 ambas técnicas y el resto con gelatina
27	<i>O. bimaculoides</i>	Adultos	Gelatina
16	<i>O. bimaculoides</i>	Juveniles	Gelatina

5.4 ANÁLISIS DE DATOS

5.4.1 Relaciones morfométricas

Se estableció la relación entre la talla del organismo (LM) y las medidas morfométricas del estilete (LT, LR, LPR y A) mediante regresión lineal simple para evaluar el crecimiento del estilete con respecto al organismo, con el fin de confirmar la utilidad del estilete para estudios de edad y crecimiento.

También se obtuvo la relación LM – PT para determinar el tipo de crecimiento que presenta cada una de las especies, ajustando la ecuación 1.

$$PT = a LM^b \quad (1)$$

Donde PT es el peso total en g, LM es la longitud del manto (cm), a es la intercepción en el peso inicial ($t = 0$) y b es el coeficiente de alometría. Se aplicó una t-Student con un $\alpha = 0.05$ a la pendiente b para determinar si el crecimiento es isométrico (si b es igual a 3) o alométrico (si b es diferente a 3).

5.4.2 Comparación de técnicas de preparación del estilete

Para poder definir la eficiencia de las dos técnicas para el montaje del estilete se consideraron 4 puntos principales: la precisión entre lectores (IAPE y CV), la calidad de las preparaciones, tiempo y facilidad de preparación y tiempo de preservación de la laminilla. Se consideraron 49 estiletos únicamente de la especie *O. hubbsorum* para este análisis.

- Precisión entre lectores: Para evaluar la precisión de los conteos entre lectores, es decir, la reproducibilidad en las repeticiones de las lecturas de edad, se calculó el promedio del coeficiente de variación (CV) que se define como el radio de la desviación estándar sobre la media de la estimación de la edad de cada organismo y está descrito por la ecuación 2.

$$CV_j = 100\% \times \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^R \frac{(X_{ij} - X_j)^2}{R - 1}}}{X_j} \quad (2)$$

Donde CV_j es la precisión en la estimación de la edad del j-ésimo organismo, X_{ij} es la i-ésima determinación de la edad para el j-ésimo organismo, X_j es la media de las lecturas para el j-ésimo organismo y R es el número de veces que fue leída cada muestra (Campana, 2001).

También se obtuvo el índice de error promedio (APE, por sus siglas en inglés) que se expresa en la ecuación 3.

$$APE_j = 100\% \times \frac{1}{R} \sum_{i=1}^R \frac{|X_{ij} - X_j|}{X_j} \quad (3)$$

Donde APE_j es la precisión de la estimación para el j-ésimo organismo y el resto de los elementos representan lo mismo que en la formula anterior. Al igual que con el CV, se calculó el promedio. Ambos índices son indicadores del error que existe entre las lecturas realizadas y el promedio de éstas, presentándolo en forma de porcentaje (Campana, 2001). Se compararon los resultados de ambas técnicas por medio de una prueba de proporciones (Zar, 2010).

Las estimaciones que difirieron de la media en más del 10% fueron repetidas por tercera ocasión aleatoriamente para disminuir la diferencia entre los lectores. Si el error permanecía por arriba del 10%, la muestra no se consideraba en los análisis debido a una alta imprecisión. Las estimaciones que no excedieron el 10% se promediaron para obtener los incrementos totales de cada organismo. Para las zonas dentro del estilete que fueron poco visibles o confusas se realizó una extrapolación de los incrementos, pero si la longitud de la zona extrapolada era superior al 20% de la longitud total de la zona de lectura, era descartada.

- Calidad: Para evaluar la calidad se utilizó una escala creada por Lipinski *et al.* (1998) adaptada de los estatolitos a los estiletes. Esta escala va del 1 al 3 siendo, el número 1) una calidad pobre, con incrementos confusos y/o no visibles en algunas zonas del estilete, difícil de contar, margen oscuro, núcleo poco claro; 2) calidad media, conteo posible, pero interpretación poco clara de pocos incrementos, margen bien definido, pero irregular en zonas, núcleo puede contarse; 3) calidad buena, todas las secciones bien definidas. Ambos lectores especificaron una calificación de calidad para cada corte y se calculó el promedio para cada preparación. Las calificaciones de las técnicas fueron comparadas por medio de una prueba t-Student.
- Tiempo de preparación: Se tomó el tiempo que llevaba realizar la preparación de la laminilla para cada método.
- Tiempo preservación: Una vez terminada la preparación de las laminillas se consideró el tiempo en que la estructura permaneció intacta o sin daño aparente que impidiera las lecturas de la muestra.

5.4.3 Validación

Para validar la periodicidad de formación de las líneas de crecimiento en los estiletes se utilizaron las estructuras de juveniles de *O. bimaculoides* nacidos en laboratorio y criados bajo condiciones controladas. Se realizó una regresión lineal simple entre el tiempo (en días) transcurrido en cautiverio y el número de incrementos leídos en el estilete para determinar el tiempo que indica una marca de crecimiento.

5.4.4 Patrón de crecimiento individual

Se evaluó si existen diferencias en el crecimiento entre hembras y machos para los adultos de ambas especies por medio de una ANACOVA. Se utilizaron cuatro conjuntos de datos de talla a la edad para determinar el patrón de crecimiento (Tabla III). El primer grupo de datos incluyó a los 16 juveniles de edad conocida de la especie *O. bimaculoides*, en el que se utilizó la edad real conocida y la LM para el ajuste. Debido a que el crecimiento en

estadios tempranos está caracterizado por ser acelerado y constante, no se alcanza un límite en el crecimiento (Forsythe y van Heukelem, 1987) y por ello se utilizaron modelos no asintóticos. El segundo y tercer grupo de datos estuvieron conformados por organismos silvestres en la fase adulta de las especies *O. bimaculoides* (n = 26) y *O. hubbsorum* (n = 90) respectivamente. Se utilizaron 3 modelos asintóticos y uno no asintótico, ya que conforme los organismos crecen y se vuelven maduros la tasa de crecimiento disminuye, y dado que para los cefalópodos no se ha comprobado que el crecimiento sea asintótico (Guerra, 1979), se contrastaron estos dos tipos de modelos. El cuarto grupo de datos incluyó el conjunto total de tallas del especie *O. bimaculoides* (n = 42), es decir, las fases juvenil y adulta en conjunto. Para el cuarto grupo de datos se ajustaron dos modelos asintóticos sigmoides, que representan un crecimiento rápido en fases tempranas que va disminuyendo con la edad hasta alcanzar una asíntota, y dos modelos no asintóticos.

Tabla III. Modelos ajustados en los distintos grupos de datos de talla a la edad.

Modelo	Set de datos aplicado	Asintótico	Número de parámetros	Fórmula
Lineal	Juvenil <i>O. bimaculoides</i>	No	2	$y = a + bx$
Exponencial	Juvenil	No	2	$y = a e^{bx}$
Potencial extendido	Juvenil	No	3	$y = ax^{b-\frac{c}{x}}$
Persistencia	Juvenil	No	3	$y = ax^{be^{-\frac{c}{x}}}$
von Bertalanffy	Adultos de ambas especies	Si	3	$y = y_{\infty}(1 - e^{-a(x-b)})$
Logístico	Adultos y completo	Si	3	$y = \frac{ay_{\infty}}{a + (y_{\infty} - a)e^{-bx}}$
Gompertz	Adultos y completo	Si	3	$y = y_{\infty}e^{-ab^x}$
Schnute	Completo de <i>O. bimaculoides</i>	No	4	$y = \left[y_1^b + (y_2^b - y_1^b) \frac{1 - e^{-a(t-T_1)}}{1 - e^{-a(T_2-T_1)}} \right]^{\frac{1}{b}}$
Tanaka	Juvenil, adultos y completo	No	4	$y = \frac{1}{\sqrt{a}} \ln \left[\frac{2a(x-b) + 2\sqrt{a^2(x-b)^2 + ac}}{+d} \right]$

Los parámetros de cada uno de los modelos candidatos fueron estimados utilizando el algoritmo de búsqueda directa de Newton (Morales-Bojórquez y Nevárez-Martínez, 2005). Se asumió una distribución log-normal de los residuos y se maximizó la función objetivo del logaritmo natural negativo de verosimilitud representado por la ecuación 4.

$$-\ln L(\theta \setminus \text{datos}) = \sum_t \left[-\frac{1}{2} * \ln(2 * \pi) \right] - \left[\frac{1}{2} * \ln(\sigma^2) - \frac{w_t^2}{2 * \sigma^2} \right] \quad (4)$$

Donde $-\ln L(\theta/ \text{datos})$ es una función de probabilidad que estima el valor más probable de los parámetros dados los datos observados, θ son los parámetros para cada modelo candidato, w son los residuos, es decir, la diferencia entre la talla observada y la talla estimada por el modelo y σ es la desviación estándar que se calculó con la ecuación 5 (Morales-Bojórquez y Nevárez-Martínez, 2005).

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{t=1}^n (\ln y_1 - \ln y_2)^2} \quad (5)$$

Donde n es el tamaño total de la muestra, y_1 es la talla observada y y_2 es la talla estimada por el modelo candidato.

Para estimar los intervalos de confianza de los θ parámetros de los modelos candidatos se realizaron perfiles de verosimilitud basados en una distribución de X^2 con m grados de libertad y que obedecen a la expresión de la ecuación 6 (Morales-Bojórquez y Nevárez-Martínez, 2005).

$$2[L(Y | \theta) - L(Y | \theta_{est})] < X_{1,1-\alpha}^2 \quad (6)$$

Donde $L(Y | \theta_{est})$ es el logaritmo natural negativo del valor más probable de θ y $X_{1,1-\alpha}^2$ equivale a los valores de la distribución X^2 con un grado de libertad y un nivel de confianza de $1-\alpha$. Los intervalos de confianza para los θ parámetros quedaron limitados a los valores más probables que puede tomar θ dada la función objetivo, es decir aquellos por debajo del valor 3.84 que indica el área bajo la curva de la distribución X^2 con un grado de libertad y con un nivel de confianza del 95%.

5.4.5 Selección del mejor modelo

Se ha encontrado que el coeficiente de determinación (R^2) no es útil para la selección de modelos porque proporciona un enfoque muy pobre. Debido a que la elección depende de la bondad de ajuste del modelo (la distancia entre el modelo y los datos) y de la cantidad de parámetros estimados que éste posea (Burnham y Anderson, 2002), la elección del mejor modelo en este estudio no se basó en R^2 , sino que se utilizó el criterio de información de Akaike (AIC, por sus siglas en inglés). Este criterio evalúa la distancia mínima del modelo con respecto a la realidad (utilizando el logaritmo natural negativo de verosimilitud) y penaliza la cantidad de parámetros en el modelo. Así, el mejor modelo es el que, siguiendo el principio de parsimonia, presenta la menor cantidad de parámetros y al mismo tiempo muestra el mejor ajuste a los datos. Los modelos se jerarquizan comenzando con el que tenga el valor más bajo de AIC, estos valores se obtienen a partir de la ecuación 7 (Burnham y Anderson, 2002).

$$AIC = (2 * -lnL) + (a * \theta) \quad (7)$$

Donde $-lnL$ es el logaritmo natural negativo de verosimilitud y θ es el número de parámetros estimados en cada modelo.

Sin embargo, estos valores de AIC suelen ser subjetivos para determinar un valor límite para rechazar a los modelos candidatos, ya que puede existir más de un modelo (además del que fue elegido como el mejor) que presente un buen ajuste a los datos. Es por esto que se calcularon las diferencias de Akaike (Δi) con la ecuación 8 (Burnham y Anderson, 2002).

$$\Delta i = AIC_i - AIC_{\min} \quad (8)$$

Donde AIC_{\min} es el modelo con el menor valor de AIC que fue elegido como el mejor y AIC_i son los demás modelos candidatos. Los valores de $\Delta i < 2$ tienen un alto soporte estadístico, $4 < \Delta i < 7$ tienen menos soporte, pero aún pueden ser tomados en cuenta y los

valores de $\Delta i > 10$ no tienen apoyo estadístico y no se deben de considerar (Burnham y Anderson, 2002).

Para cuantificar el peso de la evidencia a favor que presenta cada modelo con respecto al mejor modelo, se calcularon las ponderaciones de Akaike (W_i) con la ecuación 9 (Burnham y Anderson, 2002).

$$W_i = \frac{e^{-0.5\Delta_i}}{\sum_{k=1}^a e^{-0.5\Delta_k}} \quad (9)$$

5.4.6 Fechas de eclosión

Se calcularon las fechas de eclosión de los organismos capturados por medio de retrocálculo, tomando en cuenta las fechas de muerte y la edad estimada. Las temperaturas de Bahía Magdalena, Baja California Sur se obtuvieron de bases de datos proporcionadas por el laboratorio de modelación y pronóstico pesquero del CIBNOR, que fueron obtenidas a 10 m de profundidad con un termógrafo (HOBO-Data logger UA-002-64). Las temperaturas de Bahía Magdalena se utilizaron para representar las de ambos sitios de muestreo, ya que El Datilar se encuentra en la costa aledaña a la bahía y presenta condiciones oceanográficas similares.

6. RESULTADOS

6.1 DISTRIBUCIÓN DE TALLAS Y PROPORCIÓN DE SEXOS

Se analizó la frecuencia de tallas de 26 organismos adultos de la especie *O. bimaculoides* y 84 de la especie *O. hubbsorum*. Para la especie *O. bimaculoides* el intervalo de talla osciló entre 6.5 hasta 13 cm de longitud de manto (LM) con un promedio de 9.4 cm y una moda de 7 cm de LM (Figura 4a). El intervalo del peso total varió de 98 a 1160 g con un promedio de 486.4 g y una moda en el intervalo de 700-800 g (Figura 5a). La proporción de sexos fue de 2:1 machos por cada hembra.

El intervalo de tallas obtenidas para *O. hubbsorum* fue de 7 a 17 cm LM con un promedio de 12 cm y una moda en la talla de 13 cm LM (Figura 4b). El intervalo del peso total osciló entre 200 y 3100 g con un promedio en 890 g y una moda en el intervalo de 800-900 g (Figura 5b). La proporción sexual fue de 3:1 machos por cada hembra. Los intervalos de tallas mostraron que *O. hubbsorum* es una especie que alcanza mayores tallas que *O. bimaculoides*.

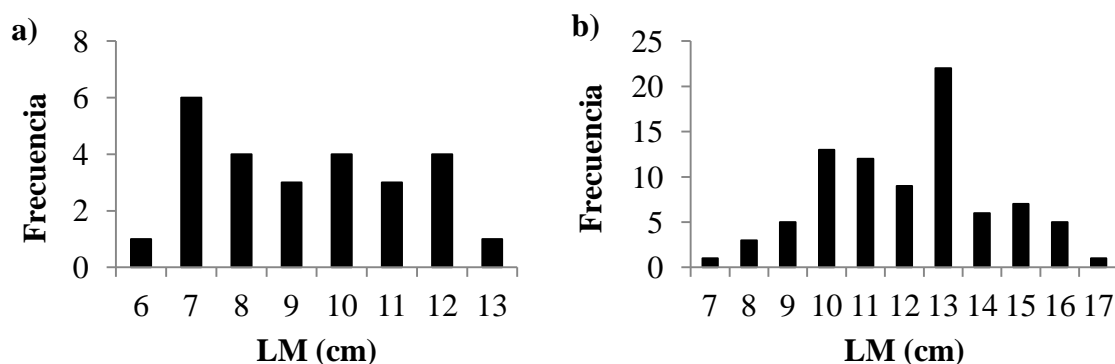


Figura 4. Distribución de frecuencia de LM de adultos de las especies *O. bimaculoides* (a) y *O. hubbsorum* (b).

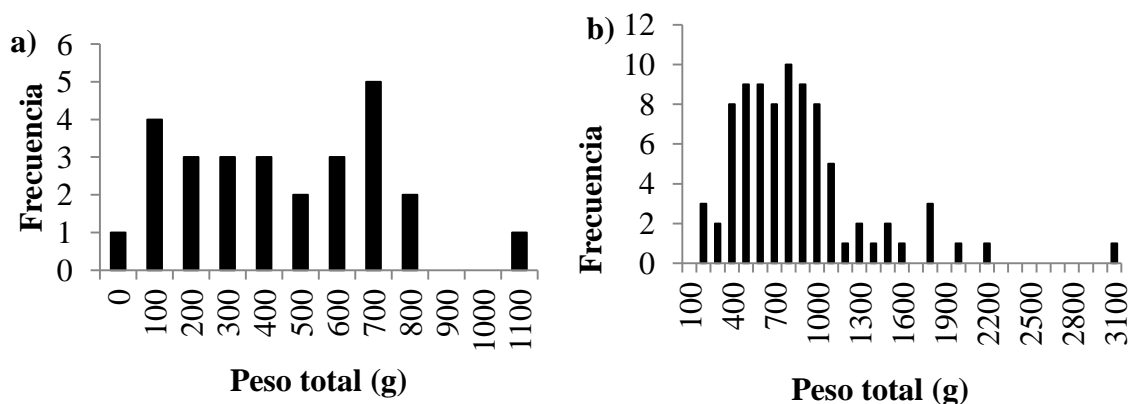


Figura 5. Distribución de frecuencia de PT de adultos de las especies *O. bimaculoides* (a) y *O. hubbsorum* (b).

6.2 RELACIONES MORFOMÉTRICAS

6.2.1 Relación peso-longitud

En el análisis de LM-PT de la especie *O. bimaculoides* se obtuvo un valor de $R^2 = 0.70$ para la relación de la longitud con respecto al peso y el coeficiente de alometría (b) fue estadísticamente igual a 3 ($t = 1.01$, $P = 0.21$) lo que, representa un crecimiento isométrico (Figura 6a). Para la especie *O. hubbsorum* se consideraron 90 organismos adultos. Se obtuvo un valor de $R^2 = 0.62$ para la relación entre ambas medidas y b al ser estadísticamente diferente a 3 ($t = 5.22$, $P < 0.05$) demostró que en esta especie se presenta un crecimiento alométrico negativo; es decir, crece más en longitud que en volumen (Figura 6b). El tipo de crecimiento fue diferente entre especies, y los valores de b indican que *O. bimaculoides* una especie que alcanza mayores tallas a menores pesos en comparación a *O. hubbsorum*.

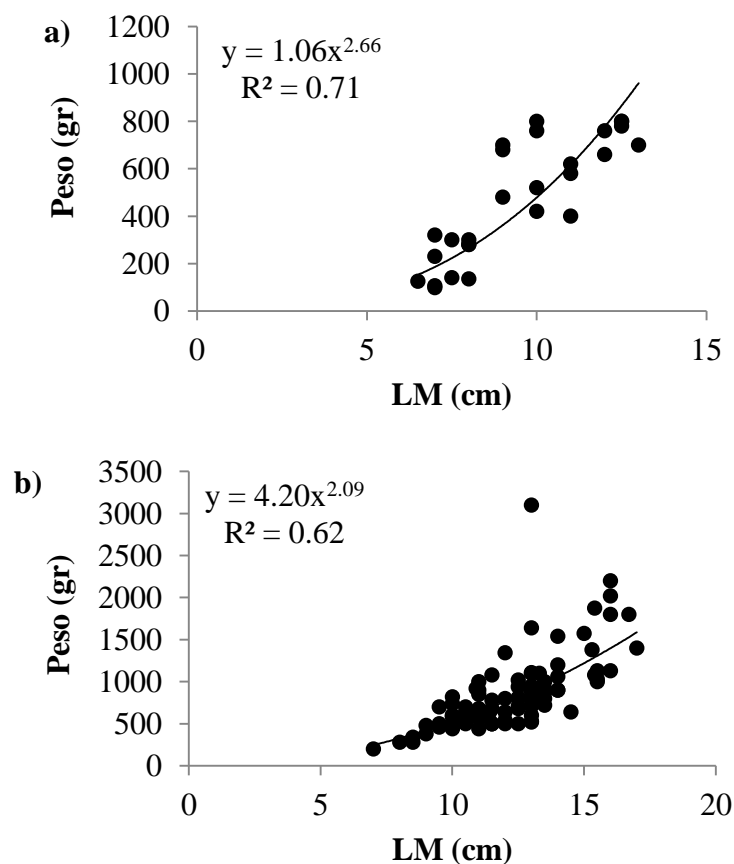


Figura 6. Relación Peso-LM de adultos de las especies *O. bimaculoides* (a) y *O. hubbsorum* (b).

6.2.2 Relación entre el crecimiento somático y el crecimiento del estilete

Se tomaron distintas medidas del estilete para relacionarlas con la LM y comparar el crecimiento del estilete con respecto al del organismo. Se consideraron 84 ejemplares de la especie *O. hubbsorum* (Figura 7a). La medida del estilete que mostró una mayor relación con la LM fue la longitud total (LT) del estilete ($F = 74.43$, $P < 0.01$, $R^2 = 0.47$), seguido por la longitud post-rostral (LPR) ($F = 69.18$, $P < 0.01$, $R^2 = 0.45$), ancho (A) ($F = 50.36$, $P < 0.01$, $R^2 = 0.38$) y longitud rostral (LR) ($F = 23.38$, $P < 0.01$, $R^2 = 0.22$). En el caso de *O. bimaculoides* se consideraron 24 organismos en el análisis (Figura 7b). La relación con el mayor coeficiente de correlación fue la LPR ($F = 21.43$, $P < 0.01$, $R^2 = 0.49$) seguido

por la LT ($F = 17.88$, $P < 0.01$, $R^2 = 0.44$), ancho del estilete ($F = 16.49$, $P < 0.01$, $R^2 = 0.43$) y finalmente LR ($F = 8.89$, $P < 0.01$, $R^2 = 0.28$). Todas las regresiones fueron significativas para ambas especies, lo cual indica que el crecimiento del estilete es proporcional al crecimiento somático en estas especies.

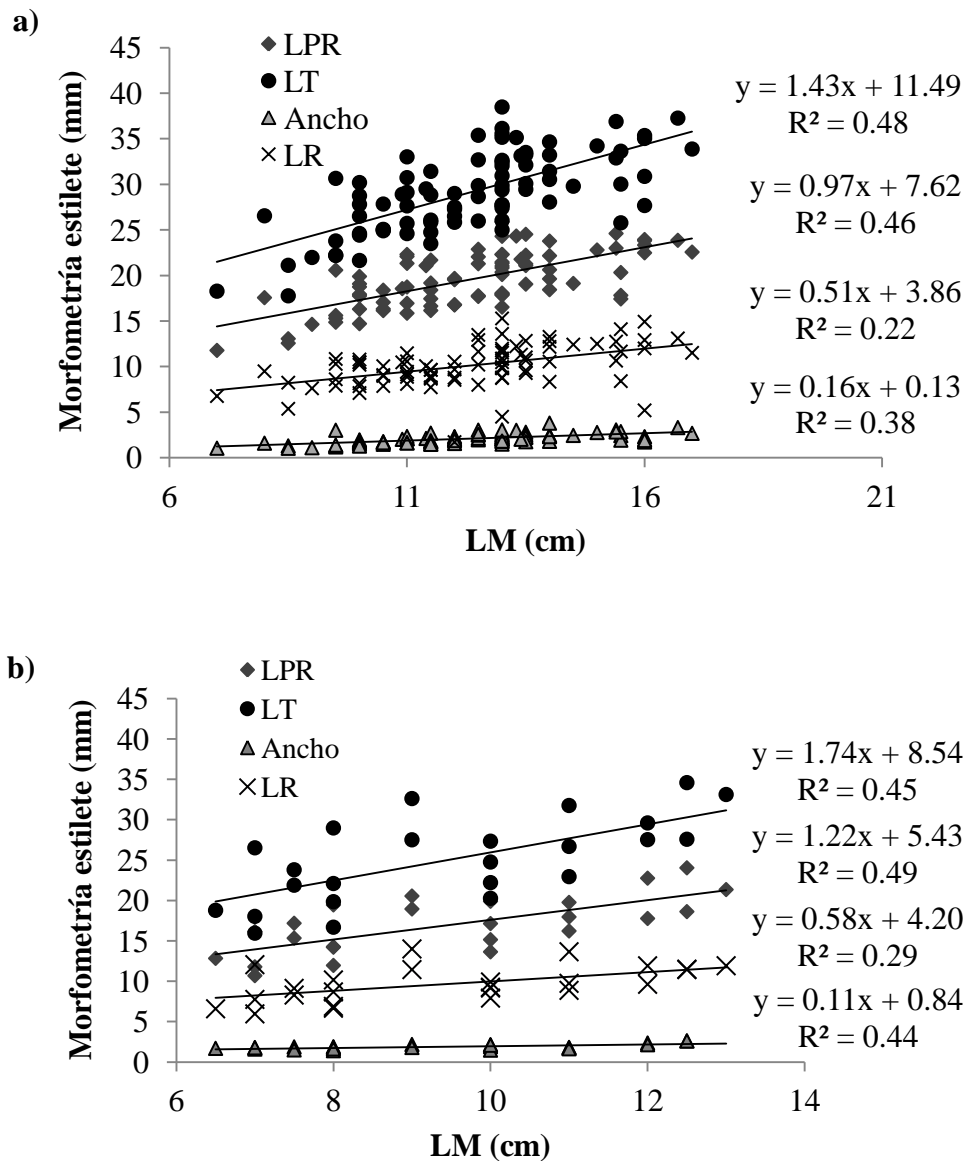


Figura 7. Relación entre las medidas del estilete y la LM de adultos de las especies *O. hubbsorum* (a) y *O. bimaculoides* (b). LPR, longitud postrostral; LT, longitud total; LR, longitud rostral.

6.3 COMPARACIÓN DE TÉCNICAS

Para comparar la eficiencia de las técnicas de preparación del estilete se utilizaron los estiletos de una sola especie (*O. hubbsorum*). Se tomaron en cuenta 49 estiletos, uno por cada organismo, para ser procesados con ambas técnicas. Ya que no existen diferencias significativas en el número de anillos de crecimiento entre el estilete izquierdo y el derecho del organismo, se utilizaron indistintamente cualquier estilete del par para las preparaciones. Los resultados de la comparación de las técnicas se muestran en la Tabla IV.

- **Precisión:** Los resultados del APE y CV indican que la precisión de las lecturas entre lectores en las dos técnicas de preparación del estilete y para ambas especies fue alta, con porcentajes de error por debajo del 10% que, de acuerdo con la literatura (Jackson y Lu, 1994; Campana, 2001), este porcentaje es el valor máximo aceptable de error, por lo tanto el promedio de ambas lecturas para cada preparación es una buena estimación que puede ser utilizada en los análisis para determinar la edad de los organismos de ambas especies. El porcentaje de error fue ligeramente menor para la técnica de gelatina con ambos índices de error, pero no se encontraron diferencias significativas en el IAPE ($Z = -0.24$, $P = 0.40$) ni el CV ($Z = -0.28$, $P = 0.39$) lo que indica que no existen diferencias en la precisión de los conteos entre las técnicas.
- **Calidad:** Para la comparación de la calidad entre las técnicas, el promedio de las calificaciones otorgadas por los dos lectores a cada muestra de acuerdo a la escala de calidad establecida (modificada de Lipinski, 1986) mostró que las preparaciones con gelatina tuvieron una calificación de calidad ligeramente mayor que las de Crystalbond®, sin embargo no hubo diferencias significativas entre la calidad de ambas técnicas ($t=1.86$, $P = 0.06$).
- **Tiempo de preparación:** La técnica con Crystalbond® llevó más tiempo en la preparación por cada muestra (aproximadamente 30 min) en comparación con la técnica de gelatina (aproximadamente 10 min) y es más laboriosa ya que requiere varias fases de lijado y pulido hasta que la muestra esté lista para los conteos.
- **Tiempo de preservación:** Las muestras preparadas con Crystalbond® comienzan a deteriorarse por completo (excepto de la superficie que es en donde tienen la cubierta

de gelatina) después de 4 días, lo que hace difícil e incluso en algunos casos imposible la lecturas de los incrementos. Las preparaciones de gelatina no mostraron deterioro alguno hasta la fecha, por lo que resultan preparaciones semi-permanentes.

Tabla IV. Número de muestras en cada nivel de calidad, valores del Índice de Error Promedio (APE) y del Coeficiente de Variación (CV) de las lecturas, tiempo de preparación y tiempo de perduración de los estiletes de adultos de ambas especies. El tamaño de muestra para cada apartado se muestra entre paréntesis.

			Gelatina	Crystalbond®
Calidad		Nivel 1	11	17
		Nivel 2	19	18
		Nivel 3	9	4
Precisión	<i>O. hubbsorum</i>	APE	2.86%	3.62%
			(49)	(49)
		CV	4.05%	5.13%
		(49)	(49)	
	<i>O. bimaculoides</i>	APE	5.01%	-
			(27)	(0)
CV		7.08%	-	
	(27)	(0)		
Preparación			10 min	30 min
			(22)	(22)
Perduración			Sin daño	4 días
			(49)	(49)

6.4 VALIDACIÓN

Se utilizaron 16 juveniles de la especie *O. bimaculoides* para validar la periodicidad de la formación de los incrementos. Los organismos cultivados murieron a edades entre cinco y cuatro meses y entre 2.5 y 7 mm de LM. Considerando a los 16 juveniles la relación entre los días de vida y el número de incrementos no es muy clara (pendiente de la recta igual a 0.6) (Figura 8a). Sin embargo, al separar los datos en dos series, en los organismos más pequeños (entre 5 y 16 días) se observa que la relación entre la cantidad de anillos y el número de días de vida del organismo se mantiene de uno a uno (pendiente = 1), es decir, un incremento por día. Para los datos de los organismos más grandes (entre 35 y 123 días) la relación resultó significativa ($F_{1,8} = 125.9$, $P < 0.01$) y parece ir aumentando con la edad, desde 1.5 hasta un valor cercano a dos días por cada línea de crecimiento (pendiente de la recta igual a 0.59) (Figura 8b). Una prueba t-Student mostró que el valor de la pendiente ($b = 0.59$) en los organismos más grandes no es significativamente distinta a 0.5 ($t = 0.81$, $P = 0.25$), lo que indica una relación de un incremento por cada dos días de vida.

Para la estimación de la edad en el patrón de crecimiento de los adultos capturados en campo se utilizó la periodicidad de un incremento por día obtenida en los organismos más jóvenes de la validación y que además, como ya se mencionó anteriormente, esta periodicidad en los estiletes ya ha sido probada para otras especies de pulpo.

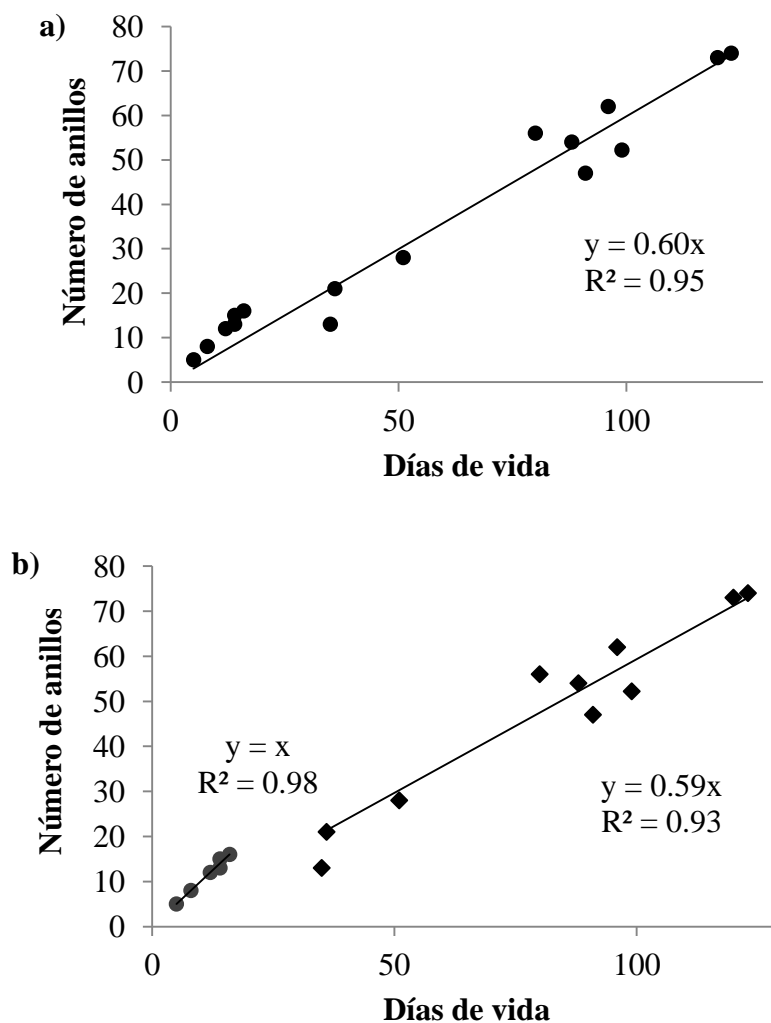


Figura 8. Regresión lineal simple entre los días de vida y el número de anillos de crecimiento contados en los estiletes de juveniles *O. bimaculoides*. (a) Correlación con todos los datos, (b) correlación separando los juveniles más longevos.

6.5 PATRÓN DE CRECIMIENTO INDIVIDUAL

Una prueba de ANACOVA mostró que no hay diferencias significativas (Figura 9), en el crecimiento entre hembras y machos tanto para *O. hubbsorum* ($F_{1, 80} = 16.3$, $P = 0.24$) como para *O. bimaculoides* ($F_{1, 25} = 6.47$, $P = 0.52$), por lo que para determinar el patrón de crecimiento, hembras y machos, se consideraron como un solo grupo de datos para cada especie.

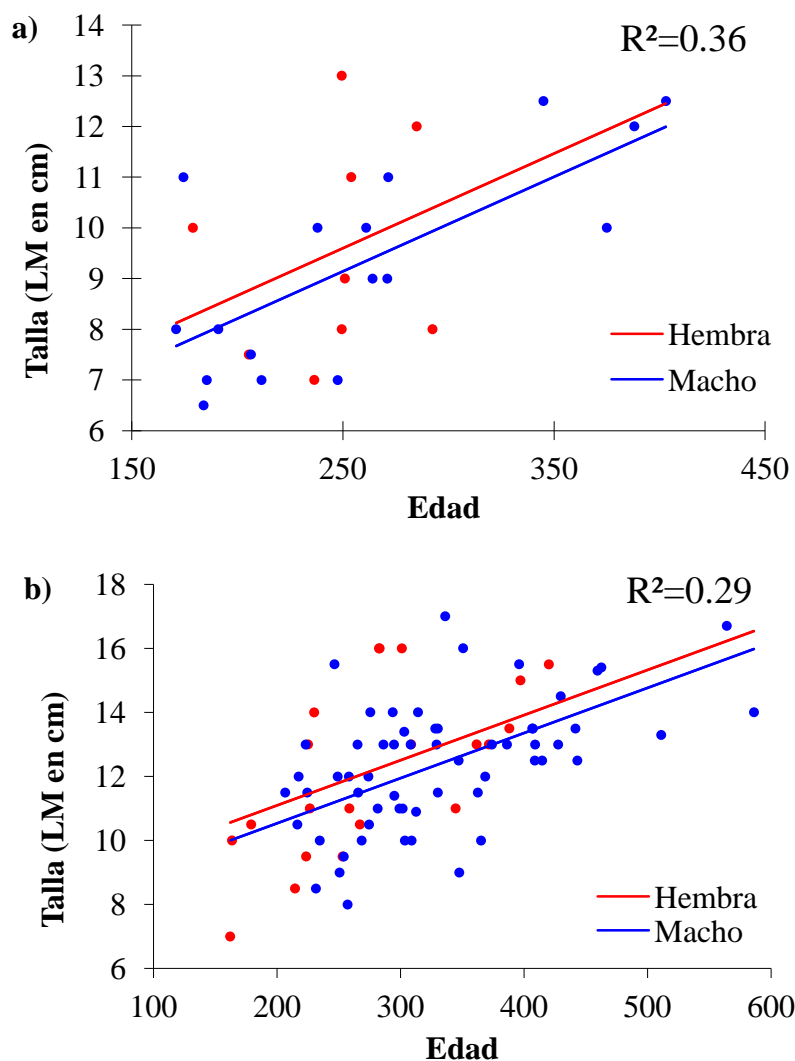


Figura 9. Pendientes de crecimiento entre machos y hembras de *O. bimaculoides* (a) y *O. hubbsorum* (b).

Los modelos ajustados al grupo de datos de los juveniles de *O. bimaculoides* obtenidos en cultivo, con excepción del lineal que presenta un crecimiento constante a lo largo de toda la fase juvenil, muestran un crecimiento lento durante los primeros días de vida que aumenta conforme transcurre el tiempo para terminar con un crecimiento muy rápido. Los modelos potencial extendido y de persistencia, además de la forma exponencial de la curva, muestran una disminución en la talla en los primeros días de vida antes de la fase acelerada de crecimiento (Figura 10).

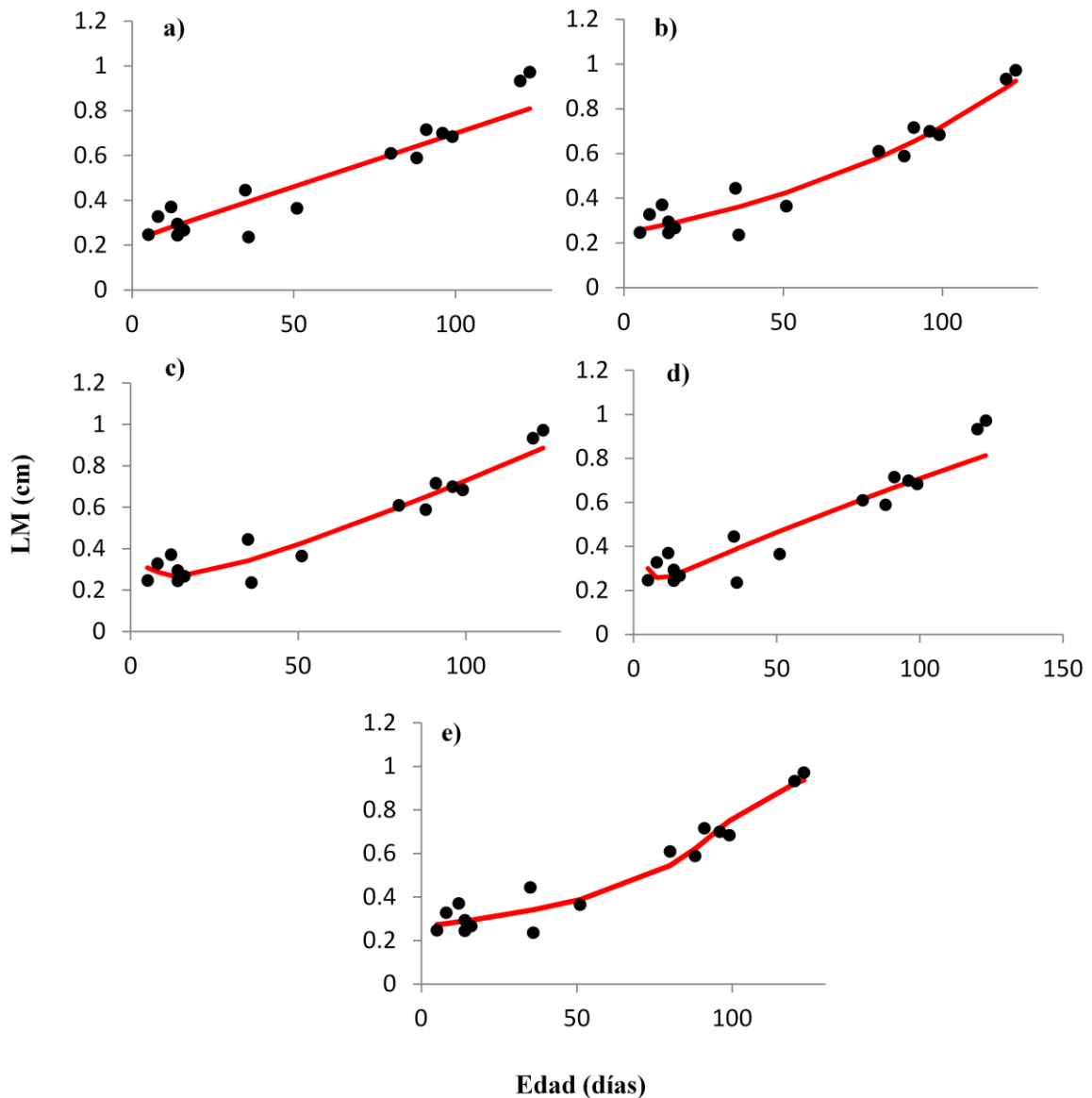


Figura 10. Modelos ajustados al set de datos de los juveniles *O. bimaculoides*. (a) lineal, (b) exponencial, (c) potencial extendido, (d) persistencia, (e) Tanaka.

Los modelos ajustados al grupo de datos de adultos *O. hubbsorum* mostraron curvas de crecimiento muy similares, representando una pendiente del crecimiento que disminuye gradualmente hasta alcanzar la talla asintótica alrededor de los 14 cm de LM. El modelo de Tanaka, ya que es un modelo no asintótico, fue el único que no presentó una talla asintótica, pero sí una notable disminución de la pendiente de crecimiento (Figura 11).

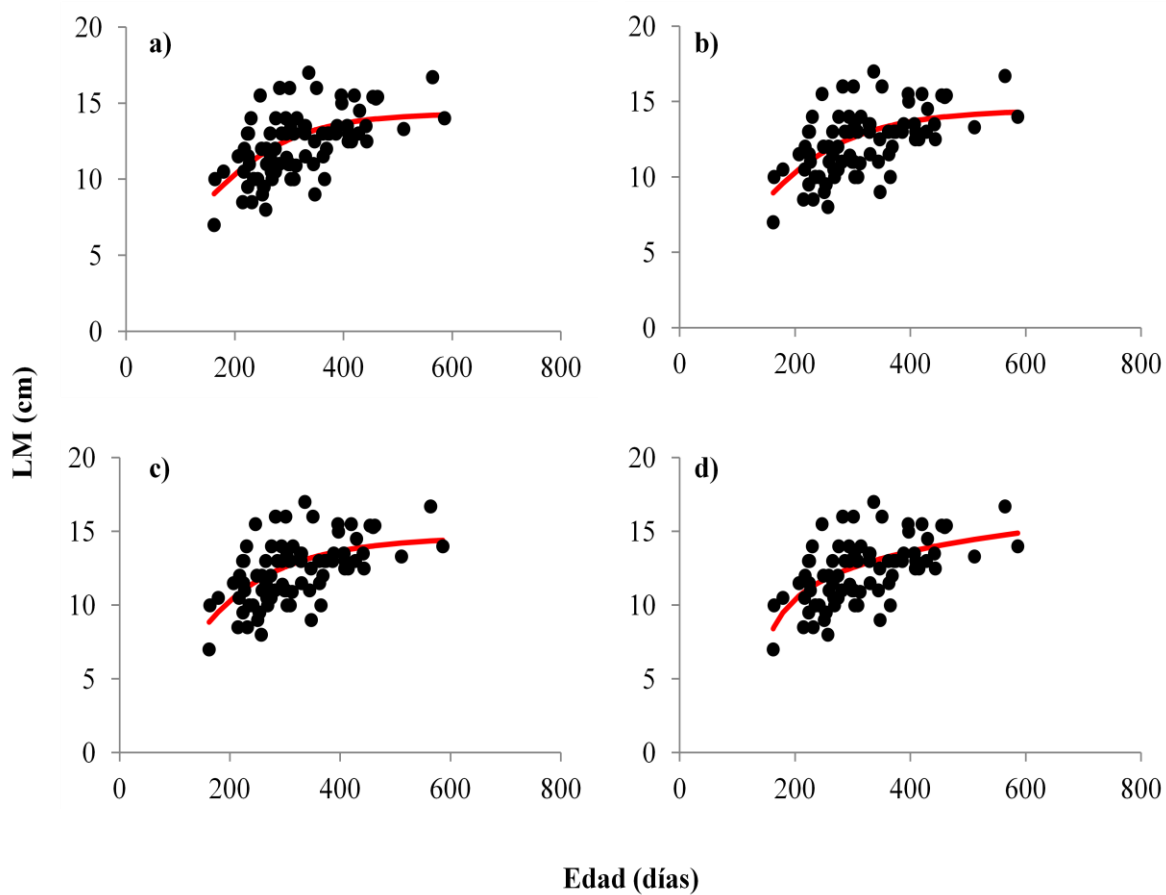


Figura 11. Modelos ajustados al set de datos de los adultos *O. hubbsorum*. (a) Logístico, (b) Gompertz, (c) von Bertalanffy, (d) Tanaka.

Por su parte, todos los modelos ajustados al grupo de datos de los adultos *O. bimaculoides* indicaron una relación lineal entre la edad y la talla del organismo, sin embargo la talla asintótica estimada por los modelos logístico y de von Bertalanffy no fue muy elevada (Figura 12).

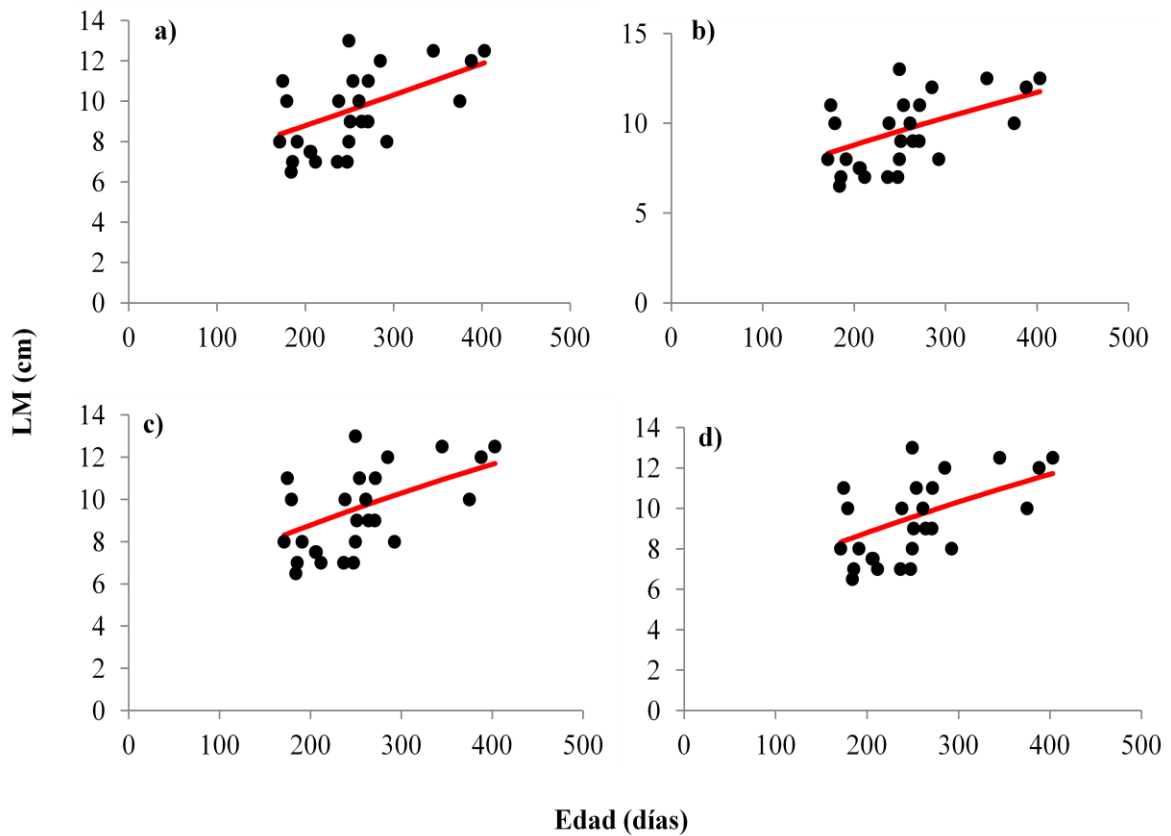


Figura 12. Modelos ajustados al set de datos de los adultos *O. bimaculoides*. (a) Logístico, (b) Gompertz, (c) von Bertalanffy, (d) Tanaka.

Finalmente, los modelos ajustados al grupo de datos completo de *O. bimaculoides* indican un crecimiento de tipo sigmoide, con un crecimiento acelerado en la primera fase de vida hasta llegar a la máxima tasa crecimiento y después conforme aumenta la edad el crecimiento disminuye hasta llegar a una talla asintótica, incluso los modelos no asintóticos de Tanaka y Schnute mostraron este mismo comportamiento (Figura 13). El valor de los parámetros estimados para cada modelo y para cada set de datos, así como los intervalos de confianza para cada parámetro se muestra en la Tabla V.

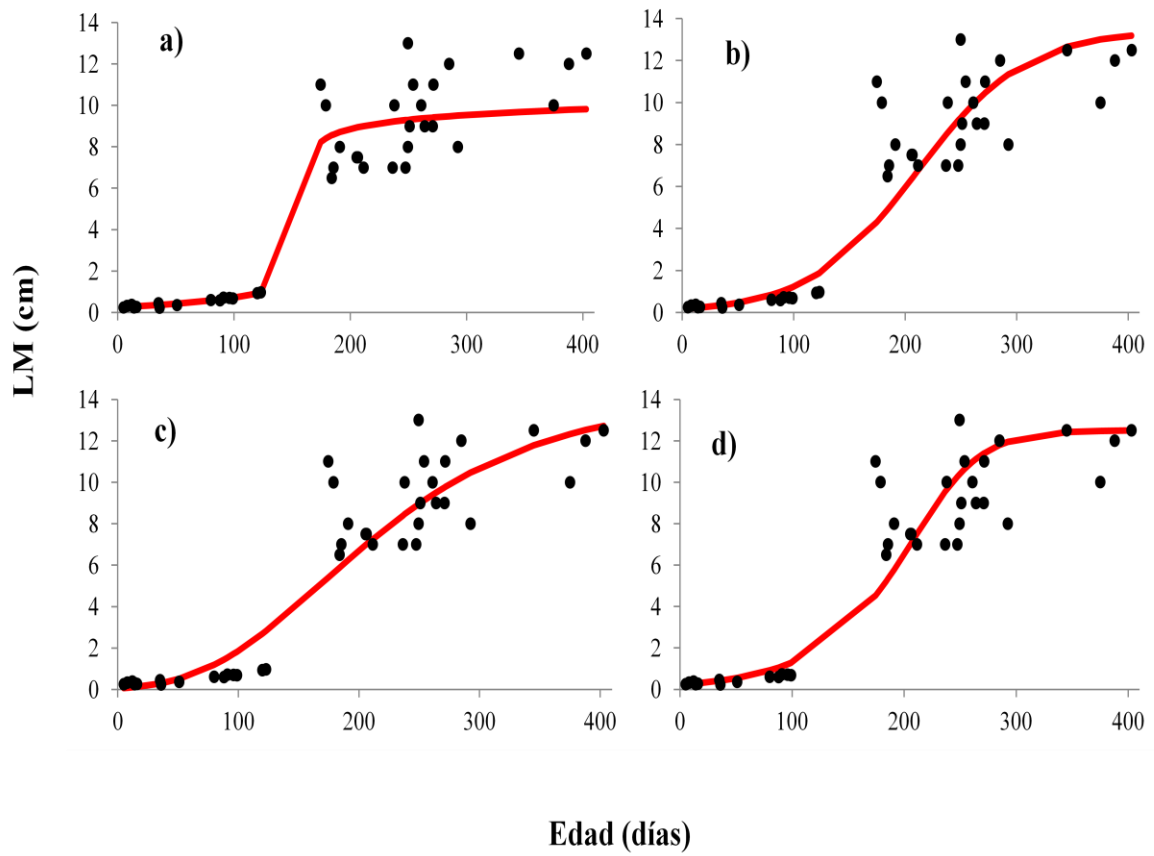


Figura 13. Modelos ajustados al set de datos completo *O. bimaculoides*. (a) Tanaka, (b) Logístico, (c) Gompertz, (d) Schnute.

Tabla V. Parámetros estimados con el logaritmo natural negativo de verosimilitud para los modelos candidatos en cada set de datos. Los intervalos de confianza (X^2 , $P < 0.05$) para cada parámetro se muestran entre paréntesis.

		Parámetros				
Estadio de vida	Modelo	A	b	c	d	y^∞
Juveniles <i>O. bimaculoides</i>	Lineal	0.222 (0.19 – 0.26)	0.04 (0.0041 – 0.0056)			
	Exponencial	0.245 (0.23 – 0.26)	0.010 (0.0098 – 0.0119)			
	Potencial Extendido	0.001 (0.0009 – 0.001)	1.30 (1.29 – 1.33)	-11.10 (-10.7 – -11.6)		
	Persistencia	0.017 (0.016 – 0.019)	0.768 (0.75 – 0.79)	-4.13 (-3.6 – -4.6)		
	Tanaka	37.4 (35.4 – 40.4)	94.21 (88 – 100)	6981.5 (6181 – 8581)	-0.438 (-0.41 – -0.46)	
Adultos <i>O. hubbsorum</i>	Logístico	4.89 (4.5 – 5.4)	0.007 (0.0067 – 0.0077)			15.1 (14.5 – 15.7)

Continuación tabla V...

Estadio de vida	Modelo	a	b	c	d	y_{∞}
	Gompertz	2.10 (2.1 – 2.7)	0.99 (0.9909 – 0.9921)			14.43 (13.8 – 14.4)
	von Bertalanffy	0.004 (0.0043 – 0.0049)	-21.09 (-6 – -41)			15.74 (15.3 – 16.2)
	Tanaka	0.100 (0.091 – 0.109)	93.92 (73 – 108)	2.69 (1.1 – 3.8)	-1.76 (-1.4 – -2.1)	
	Logístico	5.61 (5.4 – 6.0)	0.001 (0.0017 – 0.0021)			5283.6 (1300 – 8200)
Adultos <i>O. bimaculoides</i>	Gompertz	1.22 (1.18 – 1.42)	0.99 (0.9974 – 0.9982)			18.8 (16.8 – 19.2)
	von Bertalanffy	4.8E-05 (4.6E-05 – 5.1E-05)	-247.93 (-219 – -279)			384.8 (364 – 404)
	Tanaka	0.013 (0.013 – 0.015)	733.1 (703 – 763)	143.07 (135 – 153)	19.6 (19.2 – 20.2)	
	Tanaka	3.8 (3.82 – 3.91)	164.1 (158 – 170)	0.004 (0.0038 – 0.0043)	5.6 (5.61 – 5.67)	
Completo <i>O. bimaculoides</i>	Tanaka					

Continuación tabla V...

Estadio de vida	Modelo	a	b	c	d	y^∞
		0.169	0.020			13.4
	Logístico	(0.15 – 0.2)	(0.02 – 0.0218)			(11 – 16)
	Gompertz	5.5	0.99			14.0
		(5.3 – 5.6)	(0.99 – 0.992)			(13 – 17)
	Schnute	0.03	-2.07			
		(0.034 – 0.039)	(1.92 - -2.22)			

6.6 SELECCIÓN DEL MEJOR MODELO

Los valores de AIC, Δ_i y w_i que fueron utilizados como criterio para la selección del mejor modelo de crecimiento para cada grupo de datos se presentan en la Tabla VI. De acuerdo con los valores del AIC, el mejor modelo para los juveniles *O. bimaculoides* fue el modelo exponencial el cual, según los resultados de Δ_i , es el que presenta el mayor soporte estadístico, pero también el resto de los modelos candidatos presentaron soporte estadístico.

Para los adultos de *O. hubbsorum* el mejor modelo fue el de von Bertalanffy seguido por el logístico, Tanaka y Gompertz. Al igual que en el set de datos anterior todos los modelos tienen soporte estadístico ya que poseen valores de Δ_i menores de 4 y por lo tanto representan un porcentaje de evidencia estadística a favor.

De manera similar sucedió para los adultos *O. bimaculoides* donde el modelo de Logístico fue seleccionado como mejor modelo de acuerdo a los valores de AIC y representa el 38% de la evidencia estadística a favor, sin embargo el resto de los modelos probados son muy buenos candidatos ya que presentan valores de Δ_i menores de 4.

En el set de datos completo de *O. bimaculoides* el modelo que mejor se ajusta a los datos fue el de Tanaka. En este caso el resto de los modelos tienen un valor de Δ_i mayor a 10, es decir, no tienen soporte estadístico y por lo tanto el modelo ganador posee el 100% de la evidencia estadística a favor.

Tabla VI. Valores de AIC, Δ_i y w_i para la selección del mejor modelo en cada set de datos.

Estadio de vida	Modelo	AIC	Δ_i	w_i
Juveniles	Exponencial	-8.4	0.0	61%
	Tanaka	-6.0	2.4	18%
	Potencial extendido	-5.5	2.9	15%
	Lineal	-3.4	5.0	5%
	Persistencia	-0.1	8.3	1%
Adultos <i>O. hubbsorum</i>	von Bertalanffy	-77.3	0.0	40%

Continuación tabla VI...

Estadio de vida	Modelo	AIC	Δ_i	w_i
Adultos <i>O. bimaculoides</i>	Logístico	-77.0	0.3	35%
	Tanaka	-75.6	1.7	17%
	Gompertz	-74.1	3.2	8%
	Logístico	-12.0	0.0	38%
	von Bertalanffy	-11.8	0.2	35%
	Tanaka	-10.0	2.0	14%
	Gompertz	-9.7	2.3	12%
Completo	Tanaka	-13.7	0.0	100%
	Schnute	29.1	42.8	0%
	Logístico	36.9	50.6	0%
	Gompertz	77.3	91.0	0%

6.7 FECHAS DE ECLOSIÓN

De acuerdo con el retrocálculo y tomando en cuenta que solamente se muestrearon los meses comprendidos de febrero a mayo y el mes de noviembre del 2011, la figura 14a muestra que las eclosiones de la especie *O. hubbsoum* ocurrieron prácticamente durante todo el año (febrero 2010- abril 2011), pero en diferente magnitud. Los meses en los que la frecuencia de eclosión observada fue mayor fueron agosto y septiembre del 2010 y diciembre y enero del 2011 (Figura 14a). *O. bimaculoides* eclosionó entre los meses de mayo y octubre del 2010 (Figura 14b). Las temperaturas más elevadas del 2010 en Bahía Magdalena ocurrieron en septiembre, que coincide con las modas de eclosión estimadas para ambas especies. Las temperaturas más frías del 2010 y 2011 ocurrieron en mayo y junio, meses en los que la frecuencia de eclosión fue muy baja o nula para ambas especies

(Figura 14c). Sin embargo, con esta información no es concluyente la definición de picos de desove o eclosión debido a que no se muestreó el año completo.

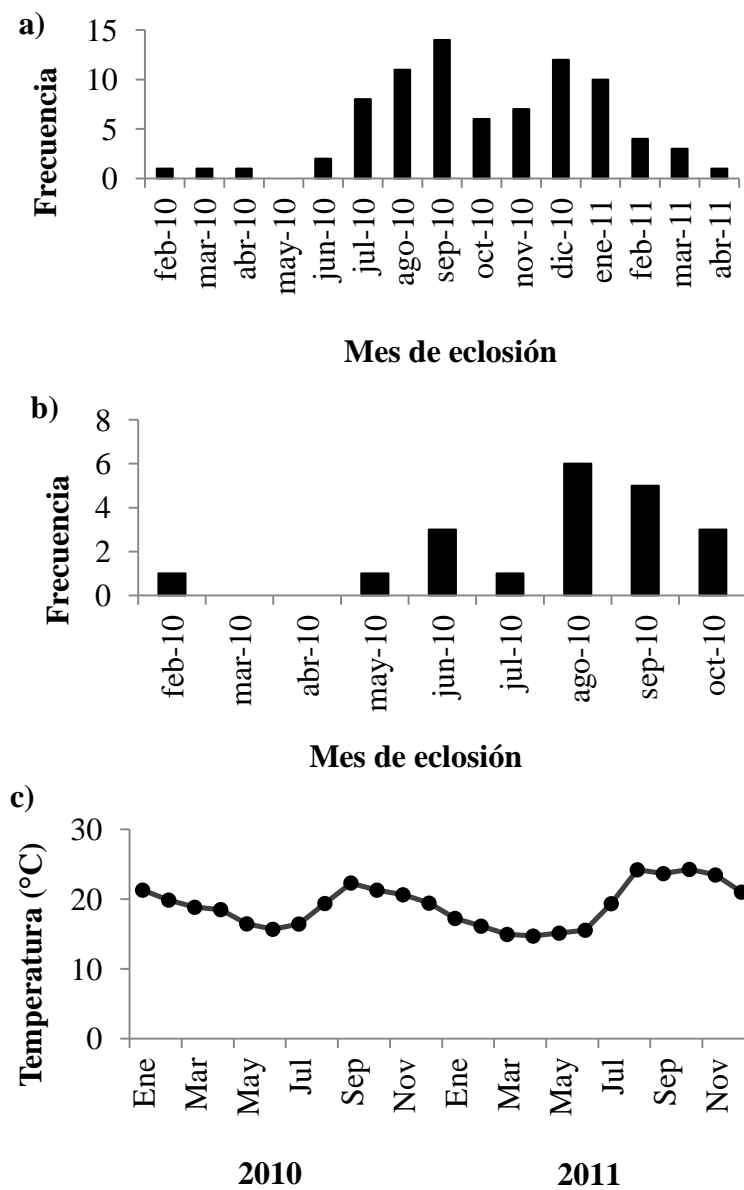


Figura 14. Fechas de eclosión obtenidas a partir del retrocálculo para (a) *O. hubbsorum* y (b) *O. bimaculoides*; y (c) temperaturas de Bahía Magdalena durante el 2010 y 2011 (obtenidos del laboratorio de modelación y pronóstico pesquero del CIBNOR).

7. DISCUSIÓN

El crecimiento en los cefalópodos ha sido un tema que ha despertado gran interés en la comunidad científica ya que debido a las características del grupo como las elevadas tasas de crecimiento, alta variabilidad entre organismos de la misma especie (aún entre los que han sido mantenidos bajo las mismas condiciones; Leporati *et al.*, 2008), ciclos de vida cortos y que son organismos de cuerpo blando con pocas estructuras duras; se presentan dificultades para llegar a un consenso tanto como para describir el patrón de crecimiento como para validar la periodicidad de las líneas de crecimiento en diversas estructuras (Boyle y Rodhouse, 2005).

Los incrementos de crecimiento en estiletes y estatolitos están constituidos por un anillo estrecho y oscuro y uno ancho y claro (Márquez y Ré, 2009). En estas estructuras estos incrementos se forman como resultado de los ritmos endógenos realizados durante el ciclo día-noche (Cobb *et al.*, 1995). Por esta razón las validaciones en estatolitos han demostrado que la periodicidad con la que se forman las líneas de crecimiento de estas estructuras en los calamares es de un día (Jackson, 1993). De igual manera en los picos y estiletes de octópodos adultos se ha obtenido la equivalencia de un anillo por cada día de vida en las especies *O. vulgaris* (Hernández-López *et al.*, 2001; Hermosilla *et al.*, 2010) y *O. pallidus* (Doubleday *et al.*, 2006).

Esta periodicidad diaria se obtuvo para los juveniles de *O. bimaculoides* más pequeños de edad (entre 5 y 16 días de vida), aunque en pulpos grandes la periodicidad disminuyó conforme aumentó la edad, desde 1.5 hasta 2 días por cada línea de crecimiento. Esto puede ser ocasionado por la alimentación proporcionada en cautiverio, ya que el alimento es uno de los principales factores que interfieren en el crecimiento de los cefalópodos en etapas tempranas (Forsythe y Van Heukelem, 1987). Conforme crece el organismo sus necesidades nutrimentales son mayores para seguir creciendo más rápidamente y tal vez el alimento proporcionado no fue el adecuado para cubrir estas necesidades. El crecimiento pudo ser afectado y por lo tanto el grosor de los incrementos en la estructura también, siendo más delgados cada vez y al mismo tiempo más difíciles de observar durante los conteos. Se ha demostrado que las líneas son proporcionales al crecimiento somático, es decir, mientras más rápido crezca un organismo las líneas serán

más gruesas y mientras más lento sea el crecimiento las líneas serán más delgadas (Arkhipkin y Pérez, 1998). Considerando que la formación de los anillos depende de ritmos endógenos más que de factores externos, el hecho de que no haya sido posible observarlos todos durante los conteos no significa que no se hayan formado, sino que tal vez fueron muy delgados para poderlos distinguir. Por esta razón, para describir el patrón de crecimiento se utilizó la periodicidad de un incremento diario obtenida para los juveniles de menor edad y que ya ha sido obtenida para otras especies (Hernández-López *et al.*, 2001; Doubleday *et al.*, 2006; Hermosilla *et al.*, 2010).

En los octópodos se ha sugerido utilizar el peso del organismo en lugar de la longitud del manto para estudios de edad y crecimiento debido a que esta última medida suele ser muy variable ya que los pulpos carecen de una estructura rígida de soporte en el manto, además los datos de peso pueden compararse más fácilmente con los datos de capturas que están registrados también en peso. A pesar de lo anterior, en este trabajo se utilizaron únicamente los datos de LM a la edad para elaborar las curvas de crecimiento de las especies estudiadas debido a que los datos de peso no estaban completos en todos los grupos de datos utilizados en el análisis. Para reducir la variabilidad de la medida de la LM, los organismos fueron medidos considerando que tuvieran el manto relajado, además con la relación longitud-peso se pueden convertir los datos de LM a peso. Por otro lado, en un estudio de crecimiento en diferentes temperaturas de *O. bimaculoides* mantenido en cautiverio se observaron las mismas relaciones de crecimiento tanto para peso total como para LM (Forsythe y Hanlon, 1988a), por lo tanto la LM también puede ser utilizada para el análisis de crecimiento.

En general para los cefalópodos se conoce que el crecimiento en etapas tempranas de vida está representado por una curva de crecimiento exponencial, en la que la tasa de crecimiento va aumentando con el tiempo hasta llegar a un máximo para después empezar a disminuir al alcanzar la madurez sexual (Forsythe y van Heukelem, 1987). Así mismo, Forsythe y Hanlon (1988a) encontraron este patrón de crecimiento para juveniles de esta especie desde la eclosión hasta los 156 días de vida, con una tasa de crecimiento de 3.5% en peso por día.

Coincidentemente, los resultados mostraron que el mejor modelo es el exponencial, que es un modelo de dos parámetros en el cual uno de ellos (a) muestra la talla inicial a la edad 0, mientras que el otro (b) representa la tasa de crecimiento.

Los trabajos de crecimiento de cefalópodos en etapas tempranas de vida son escasos. Villanueva (1995) determinó que paralarvas de *O. vulgaris* crecen exponencialmente duplicando su peso en 8.5 días con tasas de crecimiento entre 5.5-11.5%. Hernández-García *et al.* (2000) e Itami *et al.* (1963) obtienen un ajuste exponencial para las paralarvas del pulpo común. Cortez *et al.* (1999b) analizó el ciclo completo de vida de *O. mimus* en cautiverio y en la fase de paralarva encontró un crecimiento exponencial.

A diferencia de las tasas de crecimiento que se han observado en juveniles de otras especies, el valor que se estimó con el modelo exponencial para la tasa de crecimiento de los juveniles de *O. bimaculoides* en este estudio fue mucho menor, tan sólo del 1%.

Por otro lado, el AIC indicó que también los modelos de persistencia, potencial extendido y lineal pueden ser considerados para describir el patrón de crecimiento, ya que presentan un porcentaje de evidencia estadística a favor (W_i) que los sustenta. Los primeros dos modelos tienen un patrón similar al exponencial en el que el crecimiento es cada vez más acelerado conforme incrementa la edad, con la diferencia de que estos muestran un pequeño decremento en la talla en los primeros días después de la eclosión. Este decremento se ha observado en paralarvas de *O. vulgaris* en donde es atribuido al cambio de la alimentación endógena (vitelo) a una exógena (caza de presas) (Villanueva, 2007); igualmente, se ha observado este comportamiento en otros grupos de organismos como en peces (Fukuhara, 1990). Por otro lado, el crecimiento lineal se caracteriza por una tasa de crecimiento constante, que se ha observado en otros grupos de organismos como en peces, en donde las larvas que aún se alimentan de vitelo presentan esta forma de crecimiento (Fukuhara, 1990).

Por otro lado, en la fase adulta de los cefalópodos el crecimiento suele ser diferente entre hembras y machos, sobre todo en especies que presentan dimorfismo sexual (Forsythe y van Heukelem, 1987). En *O. hubbsorum* se ha reportado que hay un crecimiento diferencial entre sexos; las hembras incrementan en mayor proporción el peso que los machos y además éstas presentan una tasa de crecimiento mayor (López-Uriarte, 2006).

Para *O. bimaculoides* se ha reportado que los machos crecen más rápido y son más pesados que las hembras (Forsythe y Hanlon, 1988a). En este estudio no se obtuvieron diferencias significativas en el crecimiento entre sexos para las dos especies estudiadas. Esto puede deberse a que se obtuvieron muy pocos ejemplares de hembras como para poder separar diferencias en el crecimiento con respecto a los machos. Debido a lo anterior, para determinar el patrón de crecimiento no se diferenció entre machos y hembras, sino que se manejaron los datos en conjunto para cada una de las especies.

La tasa de crecimiento en la mayoría de los organismos, y específicamente en cefalópodos, es mayor en las etapas tempranas de vida y decae exponencialmente conforme incrementa el tamaño corporal, es decir durante la fase adulta (Forsythe y van Heukelem, 1987). Sin embargo, debido a que en este grupo de organismos no se ha demostrado que el crecimiento sea asintótico, sino que pueden seguir creciendo durante toda su vida (Boyle y Rodhouse, 2005), en adultos de ambas especies se confrontaron modelos tanto asintóticos como no asintóticos.

Los resultados de talla a la edad en *O. hubbsorum* mostraron que el mejor modelo fue von Bertalanffy. Este modelo es el más utilizado en estudios de crecimiento de la mayoría de los organismos; es un modelo asintótico que carece de un punto de inflexión y cuyos parámetros tienen significado biológico (Karkach, 2006). El resto de los modelos candidatos para este set de datos mostraron curvas de crecimiento muy similares al modelo ganador, por lo que también obtuvieron porcentajes de evidencia estadística a favor (W_i) para describir el patrón de crecimiento.

A pesar de que se argumenta con bases fuertes que el crecimiento en cefalópodos está limitado por la muerte del organismo y por ello no hay evidencias de que exista una talla asintótica (Boyle y Rodhouse, 2005), los modelos ajustados a los datos de adultos de *O. hubbsorum* mostraron una talla asintótica alrededor de los 15 cm de LM, con excepción del modelo de Tanaka el cual es un modelo de crecimiento indeterminado. Sin embargo, este modelo, si bien no obtiene una talla asintótica (el punto donde la tasa de crecimiento es igual a cero), sí muestra una abrupta disminución en la tasa de crecimiento alrededor de los 15 cm de LM.

Para esta misma especie en las costas de Jalisco, López-Uriarte (2006) evaluó el crecimiento probando los modelos logístico, von Bertalanffy, Gompertz y exponencial con datos de distribución de talla. El modelo que mejor se ajustó fue Gompertz indicando que el crecimiento en esta especie está descrito por una curva sigmoideal y con una talla asintótica de 22.4 cm para hembras y machos en conjunto.

En el caso de *O. bimaculoides* el mejor modelo fue el logístico, pero de igual manera que en *O. hubbsorum*, el resto de los modelos mostraron ajustes similares y todos presentan evidencia estadística a favor (W_i). El modelo logístico y el de von Bertalanffy estimaron una talla asintótica (y_∞) de 5283 y 384 cm, respectivamente, y a pesar de que estos modelos fueron los que contaron con los valores más altos de AIC, estos valores parecen no tener sentido biológico. No obstante, el resultado podría ser interpretado como que la especie no alcanza una talla asintótica durante su ciclo de vida, ya que estos modelos poseen este parámetro en su estructura y no puede ser excluido del cálculo, pero los datos parecen mostrar que la asíntota no se alcanza. Por otro lado, Gompertz, que fue el que obtuvo la menor evidencia estadística a favor (W_i), estimó una talla asintótica de 18 cm.

El crecimiento en pulpos se ha determinado por medio del análisis modal de tallas. Guerra (1979) ajustó el modelo de von Bertalanffy a la población de *O. vulgaris* en el Mediterráneo y aunque argumentó que la muerte ocurre cuando aun tienen una tasa de crecimiento significativa, y que por lo tanto la y_∞ nunca se alcanza por ningún organismo de la población, menciona que el crecimiento puede ser descrito por la ecuación de von Bertalanffy. Hernández-López (2000) obtuvo una curva de tipo logarítmica para adultos de esta misma especie con LM entre 4.8 y 165 mm LM. Cortez *et al.* (1999a) determinaron que para la población silvestre de *O. mimus* en Chile existe una marcada disminución en la tasa de crecimiento de la especie en la fase adulta. Cortez *et al.* (1999b) estudiaron organismos de la especie *O. mimus* en cautiverio y argumentaron que la ecuación de von Bertalanffy no es apropiada para describir el crecimiento en octópodos.

Desde hace varios años se ha mencionado también, que el crecimiento en los cefalópodos, más que ser asintótico, está limitado por la maduración y la puesta y como no hay evidencia de que realmente exista un crecimiento asintótico en cefalópodos, los ajustes de modelos asintóticos deben de ser tomados con cautela (Mangold-Wirz, 1963). También

se ha mencionado que cuando parece que una población de cefalópodos alcanza una asíntota en la talla se debe a que las tallas mayores se encuentran ausentes por emigración o muerte post-desove (Boyle y Rodhouse, 2005).

Hay pocos estudios donde se haya analizado el crecimiento de pulpos por medio de métodos directos. Albarrán-Mélzer (2010) determinó que el mejor modelo que describe el crecimiento de *O. maya* fue el logístico. Leporati *et al.* (2008) estudió el crecimiento en la especie *O. pallidus* en Australia, pero no encontró correlación significativa entre el peso total y la edad de los organismos de esta especie.

En este estudio pudieron representarse por separado las dos fases de vida de la especie *O. bimaculoides* (juveniles y adultos), pero la utilización conjunta de ambas fases de vida proporciona una aproximación más completa a la descripción teórica del patrón de crecimiento a lo largo del ciclo de vida. Los datos completos de la especie *O. bimaculoides* muestran una escasez de información en la parte media de la curva, es por esto que los modelos ayudaron a teorizar cómo podría ser el crecimiento en esas etapas faltantes.

Ya se han reportado curvas sigmoidales para el crecimiento en los cefalópodos (Semmens *et al.*, 2004) que representan que la tasa de crecimiento va aumentando con el tiempo hasta llegar a un máximo para después empezar a disminuir, con un punto de inflexión que marca la división entre las dos fases de vida y que coincide con la madurez (Mangold, 1983). Para *O. bimaculoides* Forsythe y Hanlon (1988b) observaron que la disminución en la tasa de crecimiento concuerda con la madurez sexual a los 156 días, donde para los machos coincide con la aparición del hectocotilo y las hembras dejan de crecer cuando desovan.

Para el conjunto de datos completo de *O. bimaculoides*, es decir el que considera la fase juvenil y la fase adulta, la ecuación que mejor describe el patrón de crecimiento, y la única con soporte estadístico (W_i), fue la ecuación de Tanaka (1982) la cual es un modelo de cuatro parámetros que define una curva que comienza con un periodo de crecimiento lento y otro exponencial y finaliza con un periodo lento pero indefinido, es decir, no marca una talla asíntótica. Este modelo mostró un crecimiento de forma sigmoideal y continua, es decir, sin llegar a una tasa de crecimiento de cero, tal y como se sostiene que sucede en los cefalópodos (Forsythe y van Heukelem, 1987). La forma sigmoideal que toma el modelo

Tanaka, aunque no es asintótico, se asemeja al resultado obtenido para el set de datos de los adultos de esta misma especie, donde el ganador fue el modelo logístico, sin embargo los valores de la talla máxima obtenidos con este último modelo están sobreestimados y no tienen sentido biológico. Los resultados de los modelos para ambos set de datos de *O. bimaculoides* indican que estos organismos no llegan a un límite de crecimiento durante su ciclo de vida.

Se ha estimado que los pulpos, al igual que todos los cefalópodos en general, con algunas excepciones, son organismos que viven alrededor de un año (Boyle y Rodhouse, 2005). Como en el caso de *O. vulgaris* que se ha estimado que tiene una longevidad entre 10 y 18 meses (Mangold y Boletzky, 1973; Raya y Hernández-González, 1998; Hernández-López *et al.*, 2001); para *O. mimus* la edad máxima ha sido de 13 meses en cultivo (Cortez *et al.*, 1999b) y *O. maya* hasta 12 meses (van Heukelem, 1983,).

La longevidad de *O. hubbsorum* en Jalisco para hembras y machos en conjunto se ha estimado en 15 meses (López-Uriarte, 2006), mientras que en este trabajo el organismo de mayor edad fue de 19 meses, lo que sugiere un ciclo de vida un poco más largo para esta especie en Bahía Magdalena. Para *O. bimaculoides* en cautiverio la longevidad se ha estimado entre 14 y 17 meses dependiendo de la temperatura (Forsythe y Hanlon, 1988a). En el presente estudio el individuo más longevo fue de 13 meses, aunque no se estudiaron ejemplares senescentes, por lo que la longevidad de la especie podría extenderse aún más.

Por otro lado, se ha observado que las especies con paralarvas planctónicas tienen ciclos de vida más largos que las especies que poseen paralarvas bentónicas, debido al periodo en que las paralarvas planctónicas permanecen en el plancton que es de entre uno y tres meses (Forsythe y Van Heukelem, 1987). Este periodo corresponde a entre 10-15% de la longevidad de la especie, por lo que se vuelve un aspecto importante al considerar el ciclo de vida (Villanueva, 1995). Esto pudo observarse al comparar la longevidad de ambas especies estudiadas, ya que *O. hubbsorum*, que es una especie de paralarvas planctónicas, tuvo una longevidad varios meses mayor a la de *O. bimaculoides* que es una especie de desarrollo directo (holobentónico).

La relación peso-longitud es otro indicador del tipo de crecimiento de los organismos y está determinada por el coeficiente de alometría b el cual indica si el

crecimiento es isométrico, cuando el valor del coeficiente resulta igual a tres, e indica que todas las partes del organismo crecen de manera proporcional. Si el valor de b es diferente a 3 el crecimiento es alométrico, es decir, que las diferentes partes del organismo crecen desproporcionalmente (Forsythe y van Heukelem, 1987). *O. hubbsorum* presentó un crecimiento alométrico negativo (valor de $b < 3$), esto quiere decir que crece más en longitud que en peso. Este tipo de crecimiento es el más común en los cefalópodos y generalmente se debe al crecimiento diferencial entre los brazos y el manto (Boyle y Rodhouse, 2005). Este tipo de crecimiento ya había sido reportado en estudios realizados en Bahía Magdalena (Domínguez-Contreras, 2011), Jalisco (López-Uriarte, 2006) y Oaxaca (Alejo-Plata *et al.*, 2009). El crecimiento alométrico se ha observado también en otras especies de pulpos como *O. briareus*, *O. joubini* y *O. digueti* (Forsythe y Hanlon, 1988a).

O. bimaculoides presentó un crecimiento isométrico. Este crecimiento de proporciones corporales constantes ya había sido observado en esta especie bajo condiciones controladas en laboratorio para dos distintas temperaturas (23 y 18 °C). Este crecimiento también se ha reportado para otras especies como *O. vulgaris* y *Eledone moschata* (Forsythe y Hanlon, 1988a). De acuerdo con la relación peso-longitud obtenida, los organismos de esta especie alcanzan un mayor peso a una menor talla en comparación de los especímenes de *O. hubbsorum*, lo que se ve reflejado en LM menores en *O. bimaculoides*. Sin embargo, también la diferencia entre los tamaños de muestra para cada una de las especies podría estar influyendo en esta variación del tipo de crecimiento, ya que para *O. bimaculoides* se obtuvieron muy pocos datos.

O. hubbsorum ya ha sido estudiado en Bahía Magdalena (Domínguez-Contreras, 2011), donde alcanza los 22 cm de longitud de manto (LM) y 3705 g de peso total que son las tallas más grandes reportadas en todo su ámbito de distribución (López-Uriarte, 2006 en Jalisco hasta 23 cm LM y 2470 g PT; Roper *et al.*, 1995 en Bahía San Carlos hasta 9 cm LM; Bravo-Olivas, 2008 en Bahía de Loreto hasta 1108 g de PT; Pliego-Cardenas *et al.*, 2011 en Isla Espíritu Santo hasta 1400 g de PT y Alejo-Plata *et al.*, 2009 en Bahía Puerto Ángel hasta 19 cm de LM y 1020 g de PT). Este hecho puede deberse a que existen variaciones latitudinales en la talla de una misma especie, debido principalmente a la variación de la temperatura, las surgencias regionales y el alimento disponible. Mangold

(1987) y Hanlon y Forshyte (1987) argumentan que en zonas más frías suelen crecer más los organismos. En el caso de Bahía Magdalena, la temperatura es más templada en comparación con el resto de las zonas estudiadas de la distribución de la especie y presenta surgencias marcadas en los meses de febrero a Mayo, lo que provoca que la población que habita en esta bahía crezca, en promedio, más que el resto. Sin embargo, en este estudio se obtuvieron LM menores (máxima 17 cm) que las que ya se han observado para la especie en esta zona, pero se obtuvieron organismos más pesados (máxima 3100 g) que en el resto de la distribución. Esto puede deberse a que los muestreos se llevaron a cabo durante la temporada de reproducción y desove de las especies estudiadas, ya que se observaron hembras cuidando huevos en los meses de muestreo. Durante la temporada de reproducción los organismos ganan peso para prepararse para el evento reproductivo e incluso las tallas mayores pueden estar ausentes debido a la mortalidad después de la reproducción (Mangold, 1987). Por otro lado, para *O. bimaculoides* existen muy pocos estudios. Forsythe y Hanlon (1988a) reportan un peso total máximo de 800 g para esta especie en cautiverio, mientras que en el presente trabajo se obtuvieron pesos mayores (1160 g) en organismos silvestres.

En los cefalópodos es común encontrar una mayor proporción de machos que de hembras en algunas temporadas del año, debido a que durante la temporada reproductiva las hembras se refugian para desovar y cuidar de los huevos, lo que las hace difíciles de encontrar y capturar, mientras que los machos quedan más expuestos a ser capturados durante los muestreos al estar buscando hembras para el apareamiento. También suele haber una desproporción de sexos en las temporadas después de los desoves debido a las mortalidades masivas que presentan las hembras al término del cuidado de los huevos (Mangold, 1987). Esto explicaría la gran diferencia de machos con respecto a las hembras en ambas especies durante los muestreos, ya que se observaron hembras cuidando huevos; de febrero a mayo en Bahía Magdalena para la especie *O. bimaculoides* y en noviembre en El Datilar para *O. hubbsorum*. Además, para esta última especie ya ha sido reportada la temporada reproductiva en Bahía Magdalena de mayo a octubre y una proporción de sexos a favor de los machos de mayo a noviembre (Domínguez-Contreras, 2011).

Los estiletes son estructuras muy frágiles por su composición quitinosa (Bizikov, 2008), lo que dificulta su procesamiento, es por esto que es necesario establecer una técnica que permita su manipulación y perduración. La técnica de Crystalbond® es la que más se ha utilizado para la preparación del estilete en los trabajos de edad y crecimiento que se han realizado con esta estructura. Esta técnica presenta una buena calidad en la visibilidad de los anillos de crecimiento en la estructura debido a que conlleva un proceso de lijado y pulido que provee una superficie totalmente lisa. Sin embargo, el estilete comienza a deteriorarse a los pocos minutos de terminar la preparación por lo que los conteos deben realizarse por medio de fotografías y el tiempo para tomarlas es reducido. Además, las muestras no pueden volver a ser utilizadas más adelante para alguna corroboración (Doubleday *et al.*, 2006; Doubleday *et al.*, 2008; Hermosilla *et al.*, 2010). Por esta razón, se modificó la técnica agregando gelatina de glicerol en la superficie, pero aún así el daño fue irreversible. Sin embargo se logró postergarlo ya que los cortes del estilete se mantuvieron en buen estado durante cuatro días debido a que la gelatina de glicerol mantiene hidratada a la estructura.

La técnica de gelatina de glicerol es una técnica más sencilla y rápida de utilizar, y aunque se esperaba que la calidad en la visibilidad de los anillos fuera afectada debido a que carece del proceso de lijado y pulido y depende totalmente de la precisión con la que se realice el corte, los resultados mostraron que no hubo diferencias en la calidad de las preparaciones ni en el error entre lectores. Los cortes preparados de esta manera permanecieron sin daño hasta la fecha. Sin embargo, debido a que el medio de preservación es gelatinoso, después de algunos meses puede verse perjudicado por la invasión de microorganismos, tal vez por la desaparición del fenol. Por ello estas preparaciones se consideran semipermanentes. En climas cálidos, además, la preparación se torna semilíquida y debería de conservarse en frío (Markaida, *com. per.*).

Debido a la facilidad y rapidez de preparación de las muestras y a que se obtiene el mismo resultado que con la técnica de Crystalbond®, se recomienda utilizar la gelatina de glicerol para la realización de estudios posteriores de edad con el estilete.

Las temporadas en las que se estimó la eclosión en ambas especies coincidieron con la temperatura más elevada de Bahía Magdalena que es la de septiembre. En *O. hubbsorum*

las fechas de eclosión también se extienden hasta meses más fríos como diciembre y enero. Para esta misma especie en distintas localidades ya se ha observado que las temporadas reproductivas suelen ser en meses donde la temperatura del agua es cálida (Bravo-Olivas, 2008: Bahía de Loreto entre 19.5 – 26.0°C; Pliego-Cárdenas *et al.*, 2011: Isla Espíritu Santo entre 24 – 30°C; López-Uriarte, 2006: costas de Jalisco entre 22.8 – 30.6°C y Alejo-Plata *et al.*, 2009: en costas de Oaxaca entre 25.5 – 30°C), debido a que estos organismos parecen alimentarse en los meses fríos cuando hay surgencias (en el caso de Bahía Magdalena) y se reproducen en los meses cálidos (Domínguez-Contreras, 2011).

De acuerdo con Domínguez-Contreras (2011), sólo hay un pico reproductivo para esta especie en Bahía Magdalena que es de mayo a octubre. Sin embargo según las fechas de eclosión estimadas y considerando que el desarrollo embrionario en esta especie dura entre 1 y 2 meses dependiendo de la temperatura (*obs. pers.*), la temporada reproductiva podría abarcar incluso hasta diciembre. Sin embargo no se obtuvieron muestras de ejemplares adultos durante el resto de los meses del año como para definir correctamente los periodos de eclosión y/o desove.

Por otro lado, la diferencia temporal en las fechas de eclosión, que se extienden durante varios meses, en donde la variación en temperatura puede ser hasta de 5°C en la zona, provoca que se puedan desarrollar dos cohortes. De acuerdo con la teoría de la alternancia de generaciones, los diferentes periodos de eclosión implican cambios en la temperatura que provocan diferencias significativas en el crecimiento de las paralarvas y posiblemente en la estructura poblacional de estos octópodos, ya que las paralarvas que nacen primero y se desarrollan en los meses más cálidos tienen una tasa de crecimiento mayor, alcanzan la madurez a una edad más corta, se reproducen antes y por lo tanto tienen ciclos de vida más cortos y alcanzan tallas más pequeñas que las paralarvas que nacen y crecen en los meses más fríos (Forsythe, 1993).

En el caso de *O. bimaculoides* las temporadas de desoves han sido documentadas en Santa Bárbara, California de diciembre a mayo con eclosiones de mayo a septiembre y en San Quintín, Baja California los desoves se observaron de octubre a enero y las eclosiones de enero a mayo (Forsythe y Hanlon, 1988b). En Bahía Magdalena la temporada de desoves y eclosión parece coincidir más con la reportada en Santa Bárbara, ya que durante

los meses de muestreo (febrero a mayo) se observaron hembras con desoves en campo y la mayor abundancia de eclosiones estimadas correspondió a agosto y septiembre.

Forsythe y Hanlon (1988a), observaron que los ejemplares de *O. bimaculoides* en Santa Bárbara, California, coincidían con el ciclo de vida que corresponde a la alternancia de años, en la que la especie parece desovar aproximadamente cada dos años, pero suponen que al sur de la distribución de la especie, donde las temperaturas son más elevadas, la población podría desovar anualmente.

De acuerdo a las fechas de eclosión calculadas y las fechas de desove (observadas en campo durante los muestreos), ambas especies parecen estar teniendo desoves y ciclos de vida anuales, lo que coincidiría con las suposiciones de Forsythe y Hanlon (1988a) para sitios cálidos al sur de la distribución de la especie.

8. CONCLUSIONES

Los estiletes de ambas especies estudiadas son estructuras que crecen de manera proporcional al organismo, por lo que es una herramienta útil para describir el crecimiento.

O. hubbsorum presenta un crecimiento alométrico negativo, es decir, crece más en longitud que en peso, mientras que *O. bimaculoides* presenta un crecimiento isométrico que representa que todas sus partes del cuerpo crecen de manera proporcional.

No hubo diferencias entre técnicas de preparación del estilete en la calidad y precisión de las lecturas, sin embargo la técnica de la gelatina de glicerol es más rápida y duradera que la técnica de Crystalbond® que es la que se utiliza comúnmente, por lo que se sugiere la utilización de esta técnica en estudios posteriores de edad y crecimiento con esta estructura.

La periodicidad de formación de cada incremento de crecimiento en los estiletes de juveniles de *O. bimaculoides* fue de un día en los juveniles más pequeños, mientras que en los juveniles más grandes la disminución en la periodicidad parece ser un efecto de una mala visibilidad de los anillos debida a la disminución en el ancho de estos, probablemente por una alimentación deficiente de los organismos en cautiverio.

Los juveniles de *O. bimaculoides* presentaron un crecimiento exponencial en el que la tasa de crecimiento aumentó con la edad.

Los adultos de *O. hubbsorum* presentaron una curva de crecimiento que se ajusta a la ecuación de von Bertalanffy, con una talla asintótica de 14 cm de LM.

Los adultos de *O. bimaculoides* presentaron un crecimiento descrito por la ecuación logística, sin un patrón asintótico definido.

Los datos combinados de *O. bimaculoides* mostraron una curva de crecimiento sigmoideal descrita por la ecuación de Tanaka en la que no se muestra una talla asintótica, pero sí una clara disminución en el crecimiento en la fase adulta, mientras que el crecimiento es acelerado en la etapa temprana.

De acuerdo con las edades estimadas, sin ser definitivas, las fechas de eclosión de *O. hubbsorum* pudieran ser en agosto y septiembre y diciembre y enero, mientras que *O. bimaculoides* nace en agosto y septiembre. Parece ser que ambas especies tiene desoves y ciclos de vida anuales y además la diferencia de temperaturas de los meses de eclosión pudieran provocar que se generen dos cohortes.

9. LITERATURA CITADA

- Albarrán-Mélzer, N. C. 2010. Edad y crecimiento del pulpo rojo *Octopus maya* (Voss y Solis, 1966) por medio de la lectura de incrementos en el estilete. Tesis de Maestría en Ciencias. El Colegio de la Frontera Sur. Campeche, México. 101 pp.
- Alejo-Plata, M., Gómez-Márquez, J. L., Ramos-Carrillo, S., J. E. Herrera-Galindo. 2009. Reproducción, dieta y pesquería del pulpo *Octopus hubbsorum* (Mollusca: Cephalopoda) en la costa de Oaxaca, México. *Rev. Biol. Trop.* 57 (1-2): 63-78.
- Alford, R. A., G. D. Jackson. 1993. Do cephalopods and larvae of other taxa growth asymptotically?. *Am. Nat.* 141: 717–728.
- Arkhipkin, A. I. 1991. Methods for cephalopod age and growth studies with emphasis on statolith ageing techniques. En: Jereb, P., S. Ragonese, S. V. Boletzky (eds.). Squid age determination using statoliths. Proceedings of the international workshop held in the Istituto di Tecnologia della Pesca e del Pescato (ITPP - CNR). Mazara del Vallo, Italia. 9-14 Octubre 1989. N.T.R.- I.T.P.P. Spec. Publ. no 1, 11-17 p.
- Arkhipkin, A. I., J. A. A. Perez. 1998. Life-history reconstruction. En: Rodhouse, P. G., E Dawe, R. K. O'Dor (Eds.). Squid recruitment dynamics. The genus *Illex* as a model. The commercial *Illex* species. Influences on variability, 157–180 pp. FAO Fisheries Technical Paper 376. FAO, Rome.
- Baqueiro, E., S. Medrano, R. Contreras, N. Guzman, F. Briceño, M. J. Villegas, R. Paredes. 2011. Eye lens structure of the octopus *Enteroctopus megalocyathus*: evidence of growth. *J. Shellfish Res.* 30(2):199-204.
- Barratt I. M., A. L. Allcock. 2010. Ageing octopods from stylets: development of a technique for permanent preparations. *ICES J. Mar. Sci.* 67: 1452–1457.
- Bello, G. 1991. Growth by weight versus growth by length in cephalopods. En: P. Jereb, S. Ragonese, S.V Boletzky (eds). Squid age determination using statoliths. Proceedings of an International Workshop, 9-14 October 1986, Mazara del Vallo, Italia. NTR-ITPP Spec. Publ. 1:35-37.

- Bettencourt, V., A. Guerra. 2001. Age studies based on daily growth increments in statoliths and growth lamellae in cuttlebone of cultured *Sepia officinalis*. Mar. Biol. 139: 327–334.
- Bizikov, V. A. 1991. A new method of squid age determination using the gladius. En: Jereb, P., S. Ragonese, S. V. Boletzky (eds.). Squid age determination using statoliths. Proceedings of the international workshop held in the Istituto di Tecnologia della Pesca e del Pescato (ITPP - CNR). Mazara del Vallo, Italy. 9-14 October 1989. N.T.R.- I.T.P.P. Spec. Publ. no 1, 39- 51 p.
- Bizikov, V. A. 1996. Atlas of Morphology and Anatomy of the gladius of squids. VNIRO Publishing. Rusia. 248 p.
- Bizikov, V. A. 2008. Evolution of the Shell in Cephalopoda. VNIRO Publishing, Moscú, Rusia. 444 pp.
- Boyle, P., P. Rodhouse. 2005. Cephalopods: Ecology and fisheries. Blackwell Publishing. Oxford, USA. 452 pp.
- Bravo-Olivas, M. L. 2008. Aspectos reproductivos del pulpo *Octopus hubbsorum* Berry, 1953 en el parque nacional “Bahía de Loreto” Golfo de California. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Instituto Politécnico Nacional. La Paz, B. C. S. México. 87 p.
- Boletzky, S.v. 1982. Structure of the embryonic integument and its relation to the mode of hatching in cephalopods. B. Soc. Zool. Fr. 107: 475–482.
- Boletzky, S. V. 2003. Biology of early life stages in cephalopod molluscs. Adv. Mar. Biol. 44: 143-203.
- Burnham, K. P., D. R. Anderson. 2002. Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach. New York, Springer. 488 pp.
- Caddy, J. F., P. G. Rodhouse. 1998. Cephalopod and groundfish landings: evidence for ecological change in global fisheries? Rev. Fish Biol. Fish. 8(4): 431-444.
- Callow, P. 1987. Fact and theory – an overview. En: P. R. Boyle (Ed). Cephalopods Life Cycles. Volumen 2. Academic Press, London. 351–365 pp.

- Campana, S. E. 2001. Accuracy, precisión and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *J. Fish. Biol.* 59: 197-242.
- Carta Nacional Pesquera. 2004. Diario Oficial de la Federación. Lunes 15 de marzo de 2004. Segunda sección. 47–48 p.
- Cobb, C. S., S. K. Pope, and R. Williamson. 1995. Circadian rhythms to light-dark cycles in the lesser octopus, *Eledone cirrhosa*. *Mar. Freshw. Behav. Physiol.* 26: 47–57.
- Cortez, T., A. F. González, A. Guerra. 1999a. Growth of *Octopus mimus* (Cephalopoda: Octopodidae) in wild populations. *Fish. Res.* 42: 31-39.
- Cortez, T., A. F. González, A. Guerra 1999b. Growth of cultured *Octopus mimus* (Cephalopoda, Octopodidae). *Fish. Res.* 40(1): 81-90.
- Domain, F., D. Jouffre, A. Caveriviere. 2000. Growth of *Octopus vulgaris* from tagging in Senegalese waters. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 80: 699-706.
- Domínguez-Contreras, J. F. 2011. Reproducción del pulpo *Octopus hubbsorum* Berry, 1953 en Bahía Magdalena, B.C.S, México. Maestría en Ciencias. UNAM. México. 70 pp.
- Doubleday, Z. A., J. M. Semmens. 2011. Quantification of age-pigment lipofuscin in known-age octopus (*Octopus pallidus*): a potential tool for age determination. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 397: 8-12.
- Doubleday, Z., J. M. Semmens, G. Pecl, G. Jackson. 2006. Assessing the validity of stylets as ageing tools in *Octopus pallidus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 338: 35–42.
- Doubleday, Z. A, G. T. Pecl, J. M. Semmens, L. Danyushevsky. 2008. Stylet elemental signatures indicate population structure in a holobenthic octopus species, *Octopus pallidus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 371: 1-10.
- Forsythe, J.W. 1993. A working hypothesis of how seasonal temperature change may impact the field growth of young cephalopods. En: Okutani T, R. K. O'Dor, T. Kubodera (eds). Recent advances in cephalopod fisheries biology. Tokai University Press, Tokyo. 133-144 pp.
- Forsythe, J.W., W.F van Heukelem. 1987. Growth. En: Boyle, P.R. (Ed.). Cephalopod Life Cycles, Vol. II. Comparative Reviews. Academic Press, London. 135-156 pp.

- Forsythe, J. W., T. Hanlon. 1988a. Effect of temperature on laboratory growth, reproduction and life span of *Octopus bimaculoides*. Mar. Biol. 98: 369-379.
- Forsythe, J. W., T. Hanlon. 1988b. Behavior, body patterning and reproductive biology of *Octopus bimaculoides* from California. Malacologia. 29(1): 41-55.
- Fukuhara, O. 1990. Effect of temperature on yolk utilization, initial growth and behaviour of fed and unfed marine fish-larvae. Mar. Biol. 106: 169–174.
- Funes-Rodríguez, R., J. Gómez-Gutiérrez, R. Palomares-García. 2007. Estudios ecológicos en Bahía Magdalena. Instituto Politécnico Nacional. México. 311 pp.
- Gonçalves, J. M. A. 1993. *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 (polvo-comun): sinopse da biologia e exploração. Ms.C. thesis. Universidade dos Açores. Horta, Açores. 470 p.
- Guerra A. 1979. Fitting a von Bertalanffy expression to *Octopus vulgaris* growth. Inv. Pesq. 43:319–327.
- Hermosilla, C. A., F. Rocha, G. Fiorito, A. F. González, A. Guerra. 2010. Age validation in common octopus *Octopus vulgaris* using stylet increment analysis. ICES J. Mar. Sci. 67: 1458–1463.
- Hernández-García, V., A. Y. Martín, and J. J. Castro-Hernández. 2000. Evidences of external digestion of crustaceans in *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) paralarvae. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 80: 559–560
- Hernández-López, J. L., J. J. Castro-Hernández, V. Hernández-García. 2001. Age determined from the daily deposition of concentric rings on common octopus (*Octopus vulgaris*) beaks. Fish. Bull. 99 (4): 679-684.
- Itami, K., Y. Izawa, S. Maeda, and K. Nakai. 1963. Notes on the laboratory culture of the Octopus larvae. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 29:514–520.
- Jackson, G.D. 1994. Application and future potential of statolith increment analysis in squids and sepioids. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 51: 2612–2625.
- Jackson, G. D., C. C. Lu .1994. Statolith microstructure of seven species of Antarctic squid captured in Prydz Bay, Antarctica. Antarct. Sci. 6: 195–200.
- Jackson, G. D., R. A. Alford, J. H. Choat. 2000. Can length frequency analysis be used to determine squid growth? An assessment of ELEFAN. ICES J. Mar. Sci. 57: 948–954.

- Karkach, A. 2006. Trajectories and models of individual growth. *Demogr. Res.* 15,347–400.
- Lang, M. A. 1997. *Octopus bimaculoides*. En: Lang, M. A., F. G. Hochberg (Eds.). *Proceedings of the Workshop on the Fishery and Market Potential of Octopus in California*. Washington, DC. Smithsonian Institution. 1-9 pp.
- Leporati, S. C., J. M. Semmens, G. T. Pecl. 2008. Determining the age and growth of wild octopus using stylet increment analysis. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 367: 213-222.
- Lipinski, M. 1998. Method for the validation of squid age from statoliths. *Mar. Biol.* 66: 505-526.
- Lipinski, M. R. 2001. Growth of cephalopods: a conceptual method. *Abhandlungen der geologischen bundesanstalt.* 57: 153-138
- López-Uriarte, E. 2006. Ciclo vital y pesca del pulpo *Octopus hubbsorum* Berry 1953 (Cephalopoda: Octopodidae) en la costa de Jalisco, México. Doctorado en Ciencias Biológicas. UDG. México. 194 pp.
- López-Uriarte, E., E. Ríos-Jara, M. Pérez-Peña. 2005. Range extension for *Octopus hubbsorum* (Mollusca: Octopodidae) in the Mexican Pacific. *Bull. Mar. Sci.* 77(2): 171-175.
- Lluch-Belda D., M. E. Hernández-Rivas, R. Saldiera-Martínez, R. Guerrero-Caballero. 2000. Variabilidad de la temperatura superficial del mar en Bahía Magdalena, B. C. S. *Oceánides.* 15(1): 1-23.
- Mangold, K. 1983. *Octopus vulgaris*. En: Boyle, P. R. (Ed.). *Cephalopod life cycles, vol. I, species accounts*. Academic Press. London. 335–364 p.
- Mangold, K. 1987. Reproduction. En: P.R. Boyle. *Cephalopod life cycles. 2: comparative reviews*. London: Academic Press. 157-200 pp.
- Mangold, K., S. von Boletzky. 1973. New Data on Reproductive Biology and Growth of *Octopus vulgaris*. *Mar. Biol.*, 19: 7-12.
- Mangold-Wirzt, K. 1963. Biologie des Cephalopodes benthiques et nectoniques de la Mer Catalane. *Vie. Milleu. Supl.* 13: 285p.

- Márquez, F., M. E. Ré. 2009. Morphological and chemical description of the stylets of the red octopus, *Enteroctopus megalocyathus* (Mollusca: Cephalopoda). *Molluscan Res.* 29(1): 27-32.
- Morales-Bojórquez, E., M. O. Nevárez-Martínez. 2005. Spawner-recruit patterns and investigation of Allee effect in Pacific sardine *Sardinops sagax caeruleus* in the Gulf of California, Mexico. *CalCOFI Rep.* 46: 161-173.
- Napoleao, P., C. S. Reis, L. C. Alves, T. Pinheiro. 2005. Morphologic characterization and elemental distribution of *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 vestigial shell. *Nuc. Inst. Meth. B.* 231: 345-349.
- Ojeda, M. A., M. R. Rodríguez. 2012. Interacciones ribereñas en Bahía Magdalena-Almejas, Baja California Sur. *Región y Sociedad.* 24(53): 189- 204.
- Perales-Raya, C., A. Bartolomé, M. T. García-Santamaría, P. Pascual-Alayón, E. Almansa. 2010. Age estimation obtained from analysis of octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) beaks: Improvements and comparisons. *Fish. Res.* 106(2): 171-176.
- Pliego-Cárdenas, R., García-Domínguez, F. A., Ceballos-Vázquez, B. P., Villalejo-Fuerte, M., M. Arellano-Martínez. 2011. Aspectos reproductivos de *Octopus hubbsorum* (Cephalopoda: Octopodidae) en la Isla Espíritu Santo, Golfo de California, México. *Cienc. Mar.* 37 (1): 23–32.
- Programa de ordenamiento pesquero para las pesquerías de almejas y pulpo en el complejo Llgunar Ojo de Liebre, Baja California Sur, México. 2010. CIB, Sagarpa y Gobierno del estado de B. C. S. 35 pp.
- Raya, C. P., C. L. Hernández-González. 1998. Growth lines within the beak microstructure of the *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797. En: Payne, A. I. L., M. R. Lipinski, M. R. Clarke, M. A. C. Roeleveld (Eds.). *Cephalopod biodiversity, ecology and evolution.* S. Afr. J. Mar. Sci. 20: 135–142.
- Reis, C. S., R. Fernandes. 2002. Growth observations on *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 from the Portuguese waters: Growth lines in the vestigial shell as possible tools for age determination. *Bull. Mar. Sci.* 71(2): 1099-1103.
- Roper, C. F. E., M. J. Sweeney, F. G. Hochberg. 1995. Cefalópodos. En: Fischer, W., F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K. E. Carpenter, V.H. Niem (Eds.). *Guía FAO*

- para la identificación para los fines de la pesca. Pacífico centro oriental. Volumen I. Plantas e Invertebrados. Roma, Italia. 306-353.
- SEMARNAP. 2009. Anuario estadístico de Pesca 2009. Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. México, D. F. 311 p.
- Semmens J.M., G. T. Pecl, R. Villanueva, D. Jouffre, I. Sobrino, J. B. Wood, P. R. Rigby. 2004. Understanding octopus growth: patterns, variability and physiology. *Mar. Freshw. Res.* 55 (4): 367–377.
- SEPESCA. 1987. Pesquerías Mexicanas. Estrategias para su administración. Secretaría de Pesca, México. 1061 p.
- Sparre, P., S. C. Venema. 1995. Introducción a la evaluación de recursos pesqueros tropicales. Parte 1. Manual FAO. Documento técnico de pesca. N°306/1.
- van Heukelem, W. F. 1976. Growth, bioenergetics and life-span of *Octopus cyanea* and *Octopus maya*. Ph.D. Dissertation, University of Hawaii, Honolulu.
- van Heukelem, W.F. 1983. *Octopus maya*. In: Boyle PR (ed) Cephalopod life cycles: species accounts. Vol. 1. Academic Press, London. 311-324 pp.
- Villanueva, R. 1995. Experimental rearing and growth of planktonic *Octopus Vulgaris* from hatching to settlement. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 52, 2639–2650.
- Villanueva, R., Moltschaniwskyj, N.A., Bozzano A., 2007. Abiotic influences on embryo growth: statoliths as experimental tools in the squid early life history. *Rev. Fish Biol. Fish.* 17, 101-110.
- Young, J. Z. 1960. The statocysts of *Octopus vulgaris*. *Proc. Roy. Soc. Lond. B.* 152: 3-29.
- Young, R. E., R. F. Harman. 1988. "Larva", "paralarva" and "subadult" in cephalopod terminology. *Malacologia.* 29: 201-208.
- Zar, J. H. 2012. Biostatistical Analysis. Prentice Hall. USA. 944 pp.
- Zaytev O., R. Cervantes-Duarte, O. Montante, A. Gallegos-García. 2003. Coastal upwelling activity on the Pacific shelf of the Baja California Peninsula. *J. Oceanogr.* 59: 489-502.