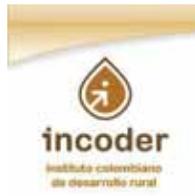


CONTRIBUCIÓN A LA BIOLOGÍA Y MANTENIMIENTO DE PECES MARINOS ORNAMENTALES

USOS POTENCIALES DE LA BIODIVERSIDAD

Marisol Santos-Acevedo
Gloria Helena Ospina-Salazar
Johann López-Navarro
Sofía Sepúlveda-Cárdenas
Javier Gómez-León



Santa Marta, septiembre de 2011

Cerro Punta Betín, Santa Marta
D.T.C.H. PBX:(57) (5) 4328600
Fax: 4328694
www.invemar.org.co

Director General

Francisco Armando Arias Isaza

Subdirector

Coordinación de Investigaciones
Jesús Antonio Garay Tinoco

Subdirector

Recursos y Apoyo a la Investigación
Carlos Augusto Pinilla González

Coordinador Programa
Biodiversidad y Ecosistemas Marinos
David Alejandro Alonso Carvajal

Coordinadora Programa
Geociencias Marinas
Georgina Guzmán

Coordinador Programa
Valoración y Aprovechamiento
de Recursos Marinos
Mario Rueda Hernández

Coordinadora Programa
Calidad Ambiental Marina
Luisa Fernanda Espinosa

Coordinadora Programa
Investigación para la Gestión Marina
y Costera
Paula Cristina Sierra

Coordinador Servicios Científicos
Oscar David Solano Plazas

Santa Marta, 2011

Coordinación INVEMAR

Javier Gómez-León

Grupo de Investigación

Marisol Santos-Acevedo
Javier E. Álvarez-Barrera
Johann López-Navarro
Gloria Helena Ospina-Salazar
Lina María Sánchez-Cardozo
Andrés Felipe Melo
Heidy Pérez
Cindy Montero
Hilda María González
Paula Polanía
Álvaro Cabrera
Sofía Sepúlveda-Cárdenas

Auxiliares de Investigación

Miguel Sánchez
Nelson Bolaño
Miguel Martelo
María Quintero

Esta publicación es producto de los proyectos: Iniciación al proceso de reproducción de dos especies de peces marinos ornamentales de interés comercial, *Gramma loreto* e *Hippocampus reidi*, en condiciones de laboratorio (código 037-2007U1182-421-07) y "Evaluación del uso de dietas alimenticias y nutricionales de dos especies de peces marinos ornamentales de interés comercial en diferentes estadios de desarrollo" (código 197-2008T6949-384-01), y fue preparada por el grupo INVEMAR-Bioprospección Marina y publicada por el INVEMAR con el apoyo financiero del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Langostinos del Llano, INCODER, Fundación Museo del Mar y el Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial, a través del Banco de Proyectos de Inversión Nacional (BPIN).

Fotos del libro tomadas por el personal del LABBIP-INVEMAR.

Diseño y diagramación

Franklin Restrepo Marín.

Impresión

MARQUILLAS S.A.

Edición general

Marisol Santos-Acevedo, Javier Gómez-León y Gloria Helena Ospina-Salazar.

Derechos reservados conforme a la ley, los textos pueden ser reproducidos total o parcialmente citando la fuente.

Cítese como:

Marisol Santos-Acevedo, Gloria Helena Ospina-Salazar, Johann López-Navarro, Sofía Sepúlveda-Cárdenas y Javier Gómez-León. 2011. Contribución a la biología y mantenimiento de peces marinos ornamentales: Usos potenciales de la biodiversidad. Serie de publicaciones generales No. 47. Santa Marta, 160 pág. ISBN: 978-958-8448-38-1.

Palabras Clave: Peces ornamentales, *Hippocampus reidi*, *Gramma loreto*, Reproducción, Mantenimiento, Alimento vivo, Microalgas, Artemia, Rotíferos, Diseño de sistemas de cultivo, Enfermedades.

Entidad de investigación y ejecutora

Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives De Andrés" – INVEMAR

Entidad del sector productivo

Langostinos del Llano LTDA.

Entidades colaboradoras

Instituto Colombiano de Desarrollo Rural – INCODER
Fundación Museo del Mar

Entidades financiadoras

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural
Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial



Juveniles de *Hippocampus reidi* nacidos en el LABBIP.
Foto: Archivo LABBIP.

CONTENIDO

PRESENTACIÓN	9
AGRADECIMIENTOS	13
INTRODUCCIÓN	17
1. GENERALIDADES DE LOS ORGANISMOS ORNAMENTALES	21
2. BIOLOGÍA Y ANTECEDENTES DE <i>H. REIDI</i> Y <i>G. LORETO</i>	27
2.1 <i>Hippocampus reidi</i>	27
2.2 <i>Grama loreto</i>	32
3. ASPECTOS GENERALES PARA EL MANTENIMIENTO DE ORGANISMOS MARINOS EN ACUARIOS	37
3.1 Adecuación de los laboratorios y descripción general de los sistemas	37
3.2 Sistema de recirculación del agua	39
3.3 Sistema de filtración del agua	39
3.3.1 Sistema de aeración	41
3.3.2 Agua de mar	41
3.4 Adecuación de los laboratorios descripción general de las áreas	44
3.4.1 Áreas de cultivo de alimento vivo	44
3.4.2 Área de reproductores de caballitos de mar	46
3.4.3 Área de levante de crías de caballitos de mar	48
3.4.4 Bioensayos para evaluar diseños de incubadoras	49
3.4.5 Área de reproductores de loreto	55
3.5 Manejo de los laboratorios	57
3.5.1 Mantenimiento de los sistemas y equipos	57
3.5.2 Manejo de los parámetros fisicoquímicos	59
3.5.3 Bioensayos de salinidad y temperatura	62
3.5.4 Consideraciones adicionales para el manejo de organismos	66
4. ALIMENTO VIVO	69
4.1 Fitoplancton	69
4.2 Zooplancton	70
4.2.1 Cultivo de rotíferos	70
4.2.2 Cultivo de Artemia	72
5. <i>HIPPOCAMPUS REIDI</i>	79
5.1 Transporte de animales	79
5.2 Aclimatación y fase de cuarentena	80
5.3 Mantenimiento de adultos	82
5.4 Mantenimiento de crías	92
5.5 Bioensayo de alimentación con alimento vivo enriquecido	98
5.6 Bioensayo para determinar la densidad de alimento vivo	101

5.7 Mantenimiento de juveniles	102
5.8 Mantenimiento de juveniles en Langostinos del Llano Ltda.	105
5.8.1 Resultados obtenidos	105
5.8.2 Mejoramiento del sistema de producción	106
5.8.3 Principales retos	108
5.9 Resumen de resultados de los ensayos con <i>Hippocampus reidi</i>	108
6. GRAMMA LORETO	115
6.1 Transporte	115
6.2 Mantenimiento de adultos	117
6.3 Mantenimiento de larvas	126
6.4 Bioensayo de alimentación de <i>Gramma loreto</i>	131
6.5 Resumen de resultados de los bioensayo con <i>Gramma loreto</i>	134
7. ORGANISMOS ORNAMENTALES MARINOS: ¿POTENCIAL USO SOSTENIBLE DE LA BIODIVERSIDAD?	137
7.1 Talleres de socialización	142
8. BIBLIOGRAFÍA.	150
Serie de Documentos Generales de INVEMAR.	159



Adulto de *Gramma loreto*.
Foto: Archivo LABBIP.

PRESENTACIÓN

La acuicultura moderna se puede clasificar en tres grupos principales: a) la industrial, que se encarga principalmente de la cría de especies con valor comercial nutricional; b) la de repoblación, que se ocupa de la propagación de especies amenazadas y c) la de orden ornamental, que se ocupa de la producción de organismos acuáticos para fines estéticos y didácticos. Esta última forma de acuicultura recientemente ha tomado impulso dado el interés que la actividad de la acuarofilia ha despertado, incrementándose el número y variedad de especies ornamentales tropicales de agua marina que son comercializadas. En la actualidad existen más de 2 millones de consumidores de organismos ornamentales marinos a nivel mundial, sumando anualmente un comercio de cerca de 46 millones de individuos de alrededor de 2.400 especies, de las cuales más del 90% son colectadas directamente del medio ambiente.

El suministro de organismos marinos para el mercado de acuarofilia ornamental se ha basado fundamentalmente en la captura directa del medio natural, originando problemas relacionados con la conservación tanto de estos organismos como de los ecosistemas de los que forman parte. El alto impacto de las técnicas de captura, tales como el uso de explosivos, cianuro y anestésicos en altas concentraciones, se suman a la destrucción de los ecosistemas. A pesar de la expansión de la acuarofilia, muy pocas especies ornamentales son actualmente cultivadas, la falta de investigaciones enfocadas en este campo, sumado a la complejidad de sus sistemas reproductivos han impedido que más especies sean producidas en cautiverio, a la fecha apenas del 1 al 10% de los peces son sujetos a reproducción en cautiverio y todavía menos especies de grupos distintos a los peces son cultivadas de manera comercial. De acuerdo con el programa ambiental de las Naciones Unidas (UNEP - United Nations Environmental Programme), la investigación en el desarrollo de protocolos de crecimiento y reproducción en cautiverio de las especies más comercializadas es esencial y debería de ser promovida en los países productores, ya que sólo así se podrá minimizar la presión sobre los recursos naturales y evitar la desaparición de una fuente de ingresos en las comunidades locales.

El INVEMAR presenta esta publicación enfocada en la reproducción de dos especies de peces ornamentales: el caballito de mar (*Hippocampus reidi*), especie amenazada listada en CITES en su apéndice II, por la fuerte presión de pesca, la destrucción de su hábitat y el aumento del comercio en diferentes lugares del mundo que no alcanzan a satisfacer su demanda en el mercado, siendo catalogada en Colombia como una especie vulnerable, con una rápida reducción en su tamaño poblacional (Acero *et al.*, 2002; CITES, 2006) y el loreto o grama real (*Gramma loreto*), que tiene un mercado importante en casi toda América, incluyendo los países donde no habita.

En su ámbito de acción misional, el INVEMAR contribuye a la difusión del conocimiento en busca de alternativas sustentables, compatibles con las prácticas locales y en armonía con nuestro ambiente biodiverso, fomentando el uso racional y sustentable de los recursos. Confiamos que esta publicación facilite la conservación de dos recursos que se encuentran en estado crítico en nuestro medio natural.



Francisco Armando Arias Isaza
Director General

Hippocampus reidi mantenido en el sistema con agua marina artificial.
Foto: Archivo divulgación INVEMAR.



AGRADECIMIENTOS

La presente publicación se deriva de un trabajo de investigación científica y técnica realizada por el Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras “Jose Benito Vives De Andrés” – INVEMAR en el marco de los proyectos: “Iniciación al proceso de reproducción de dos especies de peces marinos ornamentales de interés comercial, *Gramma loreto* e *Hippocampus reidi*, en condiciones de laboratorio” y “Evaluación del uso de dietas alimenticias y nutricionales de dos especies de peces marinos ornamentales de interés comercial en diferentes estadios de desarrollo”. Esta investigación fue posible gracias a los recursos financieros del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, el Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial a través del Banco de Proyectos de Inversión Nacional – BPIN, la empresa Langostinos del Llano Ltda., el Instituto Colombiano de Desarrollo Rural - INCODER y la Fundación Museo del Mar.

Una especial mención al grupo de trabajo conformado por los investigadores Javier Gómez-León, Marisol Santos-Acevedo, Gloria Helena Ospina-Salazar, Johann López-Navarro, Javier E. Álvarez-Barrera, Diana Isabel Gómez-López, Hilda María González, Paula Polanía, Álvaro Cabrera, Sofía Sepúlveda-Cárdenas y Andrea Bohórquez. A los tesisistas: Lina María Sánchez-Cardozo, Andrés Felipe Melo, Heidy Pérez y Cindy Montero. A los auxiliares de investigación: Miguel Sánchez, Nelson Bolaño, Miguel Martelo, María Quintero y Daniel Henao. Y a los estudiantes pasantes: Darío Cruz, Till Deuss, Vanessa Urrea y Diana Sofía Romero.

Al Director General del INVEMAR Francisco Arias Isaza por haber confiado en que sacaríamos adelante este proyecto. A los subdirectores Jesús Garay y Carlos Pinilla y Sandra Rincón asistente general de la dirección.

Al Grupo Logístico y Financiero del INVEMAR, especialmente a Santiago Márquez, Jorge Correa, Fabián Samper, Mabellinis Osorio, José Dorian Gómez, Magda Abdala y Morela Rengifo por su apoyo y colaboración en los procesos relacionados con sus áreas.

Queremos reconocer la colaboración en los procesos y trámites con el MADR a los interventores de los proyectos Hugo Ricardo Yunda y Javier Fernando Medina. También, manifestar nuestros sinceros agradecimientos a CENIACUA, especialmente a Mabel Mendoza por la capacitación en el cultivo de rotíferos y suministro de los mismos, a Fabián Cortez por su apoyo en temas estadísticos, a la Universidad del Magdalena, principalmente a Luz Adriana Velasco, y Luisa Villamil Díaz de la Universidad Jorge Tadeo Lozano por el suministro de cepas de microalgas, al CEINER, particularmente a Jaime Rojas, Juan Pablo Caldas, Javier Giraldo y Viviana Suárez por su ayuda en las salidas de campo, a María Consuelo Páez Muñoz por su colaboración en la organización y documentación de los proyectos, a Juan Carlos Narváez y Arturo Acero pioneros en el tema de peces ornamentales marinos en el INVEMAR y a Gabriel Navas por su apoyo en la formulación de los proyectos, guía y consejos en temas de acuariofilia, biología, óptica y otros.

A las personas que asistieron a los talleres cuyos aportes fueron de gran importancia para conocer el estado actual de la actividad de peces ornamentales en Colombia.

Finalmente agradecemos a Mario Rueda Coordinador del Programa Valoración y Aprovechamiento de Recursos Marinos –VAR, por sus recomendaciones y apoyo permanente; a todo el personal de la Línea de Bioprospección Marina – BIM, especialmente a Ernesto Acosta, Carlos Puentes y Katerine Carreño por su apoyo en el LABBIP.



Cría de *Hippocampus reidi*.
Foto: Archivo LABBIP.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, los peces marinos tropicales se encuentran entre los recursos acuáticos naturales más cotizados en el comercio de animales. Según la FAO (2006), el comercio internacional de estos peces cultivados, generó en el año 2000 cerca de nueve billones de dólares, de los cuales el 10% lo aportaron los peces marinos, Asia es uno de los continentes que logra aportar más del 50% de ese total, seguido por los países africanos. En Estados Unidos, los peces ornamentales cultivados se han convertido en una industria muy significativa, principalmente en el estado de la Florida, donde aproximadamente 178 productores generaron en 2003 alrededor de 47 millones de dólares. Sólo la mitad de los países de Latinoamérica y del Caribe los cultivan, contribuyendo únicamente con 4 millones de dólares en exportaciones.

En la actualidad, muchos gobiernos están impulsando el mercado de estos peces, debido al crecimiento rápido de dicha actividad, la cual incrementa el número de empleos y genera ingresos económicos en comunidades rurales y costeras; no obstante, al aumentar la oferta de peces marinos ornamentales destinada a mercados nacionales e internacionales, se impulsa en parte la extracción directa del medio natural para satisfacer ese mercado. Esta práctica nociva, que afecta principalmente los ecosistemas donde habitan los peces (p. ej. Los arrecifes de coral), no genera alternativas para la población humana, agota el recurso y despotencializa toda una actividad económica ya establecida. Colombia no es ajena a este tipo de problemática, ya que la gran mayoría de los especímenes comercializados para el negocio acuarista se extraen del medio natural y es considerada por parte del ente regulador (INCODER), como ilegal. Esto último se convierte en uno de los motivos por el cual Colombia participa pobremente en las estadísticas económicas mundiales sobre peces ornamentales marinos.

Las poblaciones naturales de caballitos de mar enfrentan diferentes tipos de amenazas y esto se ha reflejado en la velocidad en que dichas poblaciones han venido declinando en años recientes. Los problemas más comunes que presentan son la fuerte demanda que crea la medicina tradicional de los países asiáticos, principalmente China ya que les atribuye un sin número de propiedades curativas, esto sumado al alto valor que tienen como especie ornamental para acuarios marinos, ha generado que la mayor parte de la demanda sea suplida con individuos extraídos del medio natural. Adicionalmente, todas las especies del género enfrentan una acelerada destrucción de su hábitat (pastos marinos, manglares, estuarios, corales) y son frecuentemente capturados de manera accidental en redes de arrastre (Vincent y Sadler, 1995; Vincent, 1996; Lourie *et al.*, 1999; Lin *et al.*, 2006). Por todo lo anterior, el cultivo de peces ornamentales es considerado como una alternativa viable para disminuir los impactos producidos sobre las poblaciones (Hora y Joyeux, 2009) y responder a la demanda ofreciendo al mercado organismos producidos en laboratorio, aunque la baja supervivencia y la poca eficiencia reproductiva han restringido el cultivo de algunas especies (Wong y Benzie, 2003; Lin *et al.*, 2006).

El comercio de los caballitos de mar se ha ido expandiendo alrededor del mundo a través de los años, ubicándose en primer lugar los exportadores de países como Sri Lanka, Brasil, Indonesia y Filipinas, siendo China el principal importador. Según información del Global Marine Aquarium Database - GMAD, entre los años de 1998 y 2001, 102.074 especímenes fueron importados por Estados Unidos, gran cantidad de caballitos de mar secos son vendidos en Hong Kong aproximadamente por US\$300-400kg; mientras que individuos vivos son exportados desde Filipinas por un valor de US\$1,50 por animal, para luego ser vendidos por US\$43 en Canadá y US\$30 en Estados Unidos.

Otra especie de gran interés económico en el mercado de ornamentales, es el loreto *Gramma loreto*. Habita en los arrecifes de coral de la región Caribe, distribuyéndose desde las costas de Florida hasta las de Venezuela, incluyendo Colombia. Se comercializa en casi toda América, incluyendo los países donde no habita y también tiene un mercado importante en Europa. Su adaptación al cautiverio y su vistosa coloración mitad amarillo y mitad morado, lo convierten en una de las especies más populares en el acuario marino de arrecife. Actualmente, existen criaderos en USA principalmente en la Florida, que lo cultivan con fines de comercialización, donde los precios al público por unidad van desde los US\$25 en adelante; este pez tiene tanta demanda, que Puerto Rico destinó en el 2004 una cuota de captura de 12.500 peces (Reglamento de Pesca de Puerto Rico, 2004).

A pesar de conocerse el proceso reproductivo en el medio natural y en cautiverio (Pastor y Báez-Hidalgo, 2002), en Colombia ha

habido poco interés en estudiar la biología reproductiva de ambas especies, sólo se sabe que son peces fáciles de mantener en acuario, pero reproducirlos requiere de un proceso investigativo riguroso. Aunque en la actualidad virtualmente todos los peces son capturados en su ambiente y los esfuerzos para desarrollar el cultivo en cautiverio han sido limitados, hay una necesidad por desarrollar procedimientos confiables y sostenibles de obtención de organismos vivos (Wabnitz *et al.*, 2003). En años recientes, se ha incrementado el enfoque en el sistema de cultivo cerrado como una alternativa para suplir los peces en demanda; sin embargo, la falta de investigación en el campo de la acuicultura de peces marinos ornamentales, es una de las razones por la que sólo algunas pocas especies han sido reproducidas en cautiverio. Esto se debe en gran parte a la dificultad de proveerles condiciones similares a las del ambiente en el cual habitan, desconociéndose hasta la fecha mucha de la información básica sobre su biología y ecología.



Acuario con agua de mar artificial para *Gramma loreto*.
Foto: Archivo divulgación INVEMAR.

1. GENERALIDADES DE LOS ORGANISMOS ORNAMENTALES

Organismos ornamentales es un término genérico que describe a los animales acuáticos mantenidos en un acuario e incluye peces, invertebrados como corales, crustáceos (cangrejos, camarones), moluscos (caracoles, almejas) y también la roca viva (roca que contiene en sus orificios una amplia variedad de organismos, inclusive algas y microorganismos) y que se utiliza como parte del sistema de filtración biológica y química y como fondo y sustrato en el acuario.

La pesca comercial ornamental es aquella que tiene por objeto la extracción de organismos acuáticos cuyos ejemplares pueden mantenerse vivos en acuarios, estanques o pozos, como simple adorno. No se pueden aprovechar como ornamentales las especies que tradicionalmente sirven como alimento para consumo humano directo, salvo aquellas que sean el producto de la reproducción, natural o inducida, en ambientes controlados (Artículo 74 reglamentación ley de pesca decreto reglamentario 2256/91).

El mantenimiento de organismos acuáticos ornamentales es uno de los hobbies más populares en los países desarrollados, ganando cada vez mayor popularidad en muchos países en vías de desarrollo; sin embargo, no existen cifras exactas de su comercialización, ya que con frecuencia el único dato registrado sobre el comercio es el peso de los embalajes despachados y su valor. Según las estimaciones de la FAO (2004) el capital total movido por la industria ornamental supera los US\$15 billones, con una tasa de crecimiento anual del 8%, con más de 4.000 especies comercializadas, de las cuales sólo 30 a 35 especies de agua dulce dominan el mercado (Panné-Huidobro, 2010); no obstante, el creciente interés por el mantenimiento en acuarios de organismos vivos como elementos de ornato, ha incrementado el número y diversidad de especies ornamentales que son comercializados (Dayton 1995; Wabnitz *et al.*, 2003; Hoff, 2004).

Entre las principales especies marinas de importancia comercial se encuentran los peces y los crustáceos tanto por la coloración, forma, hábitos conductuales (Simoes, 2003) o dificultad para el mantenimiento, ya que su manejo se convierte en todo un reto. Entre 1,5 y 2 millones de personas en el mundo mantienen acuarios de agua de mar, los organismos se obtienen básicamente de zonas tropicales y su comercio puede estar entre 200 y 330 millones de dólares anuales (Wabnitz *et al.*, 2003). En la actualidad se cultivan tan solo entre el 1-10% de los peces y menos del 1% de las especies de corales que sustentan la acuafilia (Simoes, 2003), por lo que es obvio que el suministro proviene del medio natural, usando prácticas de captura inadecuadas con la consecuente destrucción de los hábitat y originando altas mortalidades de los organismos durante el transporte, haciendo de esta actividad un negocio con un fuerte impacto ambiental.

De acuerdo con Mancera-Rodríguez y Álvarez-León (2008) en Colombia, el comercio de peces ornamentales está centrado principalmente en la extracción de ejemplares de agua dulce; según el INCODER, las exportaciones realizadas durante el 2004 fueron de 26.587.740 unidades de ejemplares vivos que representaron un ingreso de divisas de US\$7.271.800 y para el año 2005, 29.512.391 ejemplares aportaron US\$6.257.551. En el país no se tiene información exacta sobre el número de incautaciones de peces ornamentales realizadas en los operativos de control al tráfico ilegal de fauna y no existe un conocimiento de la dinámica de este comercio ilegal.

Es importante resaltar que en otros países se ha evidenciado que es una actividad económica viable que no se requiere de grandes áreas, inversión, ni cantidad de alimento y el valor unitario de los peces ornamentales es mayor que el de los peces cultivados para consumo. A fin de potenciar esta actividad sería necesario

estandarizar técnicas de manejo y producción de las especies autóctonas de mayor interés, desarrollar modelos de manejo reproductivo en condiciones controladas, de larvicultura y crecimiento, manejo nutricional y transporte de los organismos, proponiendo metodologías tendientes a reducir el estrés y las mortalidades (Panné-Huidobro, 2010), además de normativas claras, políticas que incentiven la producción en cautiverio y un control eficiente.

El potencial de los caballitos de mar en la acuicultura se divulgó en 1995 cuando se registró que eran organismos relativamente pequeños, con gran cantidad de huevos y que sus crías nacían completamente desarrolladas.

Paralelamente al interés por cultivarlos, fue creciendo la demanda en el sureste de Asia, particularmente en Vietnam, por su uso en la medicina tradicional, incrementando los estudios de manejo y conservación. Se han posicionado como vulnerables en la lista roja de especies amenazadas, en la lista de especies en peligro CITES en su apéndice II y en Colombia la especie *Hippocampus reidi* (Figura 1) se encuentra catalogada como vulnerable, con una rápida reducción en su tamaño poblacional. Aunque esta especie es difícil de levantar en cautiverio y aún es poco lo que se sabe sobre su biología; se tiene un interés comercial sobre ella con potencial para ser cultivada (Sánchez-Cardozo, 2011).



Figura 1. Ejemplar juvenil de *Hippocampus reidi*.

Morfológicamente se caracterizan por presentar un tamaño entre 10-18cm al ser adultos, su esqueleto consta de 11+35 (31-39) anillos en su cuerpo, con una longitud promedio del hocico de 2,6cm, 17 radios en la aleta dorsal, cubriendo 2+1 anillos, 16 radios en la aleta pectoral. Una corona baja a media, redondeada, que puede ser muy larga y arrugada (como un pedazo de papel) y tubérculos redondeados a lo largo de su cuerpo (Indiviglio, 2001). Su característica más prominente e interesante es la bolsa en los machos en cuyo lugar se desarrollan los huevos dejados cuidadosamente por la hembra y de los cuales saldrán cientos de hermosas y completas representaciones en miniatura de sus progenitores.

Es una especie costera que se encuentra en fondos muy someros, generalmente en áreas de aguas claras y limpias, sujeto a algas marinas como *Sargassum* a profundidades entre los 15 y 60m, distribuida a lo largo del oeste del Océano Atlántico, desde Carolina del Norte (USA) hasta el Río Grande do Sul (Brasil), incluyendo el Golfo de México y el mar Caribe (Arcos-Pulido, 2008).

Los *Gramma loreto* (Figura 2) son conocidos en el mundo de la acuariología como loreto, pez abuela real ó merito rabirrubio. Esta especie en particular se caracteriza por tener un cuerpo pequeño, alargado, ojos grandes, generalmente

de coloración brillante o con combinaciones de colores contrastantes, con ocelos en la aleta dorsal. Presenta la línea lateral dividida en dos partes, una anterior, en la porción alta del cuerpo, que termina en una línea suave cerca del final de la aleta dorsal, y una posterior que finaliza en la parte media del pedúnculo caudal. Posee una coloración violeta en la cabeza, con dos franjas estrechas amarillas, una sobre el ojo y la otra debajo de él hasta la margen opercular. La porción anterior del cuerpo, las aletas pélvicas y la dorsal, de color violeta. La parte media posterior y las aletas pectorales y la caudal de color amarillo. La aleta caudal ahorquillada o bifurcada, los radios de la aleta pélvica alargados que llegan mucho más allá de origen de la aleta anal; aleta dorsal con 11 a 13 espinas generalmente 12; y de seis a 10 radios blandos en la aleta dorsal, presentando un punto negro en la porción anterior de ésta; tres espinas en la aleta anal y de 6 a 10 radios blandos; aleta pectoral por lo general con 16 radios blandos (Carpenter, 2002).

Gramma loreto se encuentra registrado en el Caribe desde las Bahamas pasando por Honduras, México, Belice, Colombia, Venezuela, Antillas mayores y menores y Tobago (Carpenter, 2002). En Colombia ha sido registrado en dos zonas, en los Archipiélagos de Islas Corales del Rosario y de San Andrés y Providencia (Acero y Garzón, 1985).



Figura 2. Ejemplar adulto de *Gramma loreto*.

Crías de *Hippocampus reidi* capturando Artemia para alimentarse.
Foto: Archivo LABBIP.



2. BIOLOGÍA Y ANTECEDENTES DE *H. REIDI* Y *G. LORETO*

2.1 *Hippocampus reidi*

El caballito de mar (Figura 3) es una especie que presenta dimorfismo sexual, es decir el macho es evidentemente distinto de la hembra. Físicamente tanto la cola como el morro de los machos son mucho más largos que los de las hembras y su madurez sexual es visible por la existencia de la bolsa incubadora que se extiende desde la parte baja del abdomen hasta una buena parte de la cola. Las hembras no poseen ninguna estructura blanda en su abdomen y parecen madurar al mismo tiempo que los machos, siendo visible su ovopositor (estructura con la que transfiere los huevos al macho) (Planas *et al.*, 2006). Se reproduce durante todo el año con preferencia entre diciembre y marzo y con mayor intensidad en febrero, los nacimientos ocurren en la madrugada; durante el cortejo, el área ventral y lateral de los individuos cambia de coloración aclarándose, la hembra deposita los

huevos dentro de una bolsa que posee el macho donde son fertilizados y al cabo de un mes aproximadamente, nacen unos 450 juveniles de 5 a 7mm de longitud total (Acero *et al.*, 1984; Cervigón, 1991; Bohórquez, 1997; Carpenter, 2002; Bruckner *et al.*, 2005; Ospina-Salazar *et al.*, 2011). Es una especie con características de vida muy particulares como: el embarazo especializado en los machos, cuidado parental prolongado, tamaño de las crías pequeñas, escasa movilidad y áreas restringidas de hábitat y distribución que han causado que sean una presa fácil de la sobrepesca y la captura incidental, viéndose afectadas por las perturbaciones antropogénicas (Vincent, 1995; Foster y Vincent, 2004; Bruckner *et al.*, 2005; Martin-Smith y Vincent, 2005; Curtis y Vincent, 2006; Freret-Meurer y Andreatta, 2008) y convirtiéndose en la actualidad en un emblema para los esfuerzos de conservación (Koldewey *et al.*, 2009).



Figura 3. Caballitos de mar *Hippocampus reidi* en condiciones de laboratorio.

Los hábitat del género *Hippocampus* se encuentran entre los más productivos del mundo y consecuentemente, son vitales y estratégicos tanto para especies marinas y costeras como para la población humana, por lo que esfuerzos para proteger y restaurar estas áreas, traerían beneficios no sólo para este valioso patrimonio natural sino para la misma supervivencia humana.

Hippocampus reidi se distribuye desde Cabo Hateras, Estados Unidos, hasta Río de Janeiro, Brasil y el Golfo de México (Lourie *et al.*, 1999; Koldewey, 2005), en la costa este de las Américas (Atlántico Occidental y Caribe). Se ha registrado en el Caribe colombiano (Acero *et al.*, 1984; Acero y Garzón, 1987 a y b) en la Bahía de Neguange y para la región de Santa Marta en general, Islas del Rosario y San Bernardo (Acero y Garzón, 1985), Cabo de la Vela (Baruque, 1978) y Bahía Portete en La Guajira (Garzón-Ferreira, 1989) Isla de San Andrés (Victoria y Gómez, 1984), Bahía de Cartagena (Álvarez y Blanco, 1985), Isla Fuerte, Islas del Rosario y San Bernardo (Gómez, 1972; Acero y Garzón, 1985) y en el Urabá chocoano (Gómez, 1972; Acero y Garzón, 1987b; Acero *et al.*, 2002).

Estudios relacionados con los aspectos biológicos de *H. reidi* muestran que son organismos de tipo agástrico con un paso directo del esófago al intestino y que a nivel microscópico el intestino medio y terminal se asemejan a un intestino delgado y grueso como en los mamíferos (Rodríguez, 2000). Silveira (2000) estudió su desarrollo óseo en laboratorio para el primer estado embrionario, mostrando que las estructuras cartilaginosas son predominantes en los organismos con una longitud total promedio de 4,85mm y Días y Rosa (2003) investigaron sus preferencias de hábitat en Brasil, obteniendo como resultado que estos organismos utilizan un total de 18 sustratos, donde las algas verdes, los tunicados y las raíces de manglar fueron predominantes. Los primeros estudios en cautiverio se hicieron en Cuba, donde se registró información del crecimiento en talla, llegando a quintuplicar su tamaño al mes de nacidos, afirmando que la temperatura es un factor determinante en el crecimiento

de las crías, al igual que la alimentación, la cual comienza inmediatamente después del nacimiento; durante los primeros días las crías presentaron hábitos pelágicos consumiendo copépodos y Artemias recién eclosionadas, mostrando una preferencia por los copépodos, después del tercer día elegían la Artemia y no los copépodos (González *et al.*, 2004).

En cuanto al comportamiento alimenticio, Felicio *et al.* (2006) realizaron un estudio detallado de los peces en condiciones naturales y en laboratorio, haciendo énfasis en la preferencia de la presa, el tiempo, la frecuencia y el comportamiento de alimentación durante los periodos no reproductivos y reproductivos de adultos, encontrando en el laboratorio que los caballitos presentan cinco estrategias de alimentación (detección, orientación visual, enfoque, posicionado y ataque), mientras que en el medio natural se describen dos estrategias de captura, una llamada "sentado y esperando" y la segunda cuando el animal nada en áreas con poca vegetación.

Uno de los cuellos de botella críticos que los cultivadores deben afrontar en el levante de caballitos de mar es la baja supervivencia de sus crías (Scaratt, 1995; Payne y Ripplingale, 2000). Esto puede estar relacionado con muchos factores como el ambiente, la comida, el comportamiento alimenticio, la intensidad de la luz y la densidad de cultivo (Woods, 2000; Chang y Southgate, 2001; Sheng *et al.*, 2006). Algunos trabajos sobre su cultivo aparecen en el 2007 donde Hora y Joyeux (2007), levantaron durante 54 días, 750 crías nacidas en cautiverio, mostrando una tasa media de crecimiento de $0,70 \pm 0,02 \text{ mm.día}^{-1}$, las crías presentaron una talla media de $7,6 \pm 0,3 \text{ mm}$ al nacer, un poco más de los 7,0mm reportados por Lourie *et al.* (2004). Costa *et al.* (2008) realizaron estudios sobre la composición de la dieta en organismos juveniles y adultos en el estado natural, donde el análisis del contenido estomacal mostró que los nematodos y crustáceos fueron los más importantes dentro de la dieta, siendo estos últimos más comúnmente encontrados en el contenido intestinal de los syngnathidos. Otro trabajo sugiere diferentes tipos de dieta que

incluían rotíferos, copépodos y Artemias para el levante de crías en cautiverio donde concluyeron que los copépodos harpaticoides como *Tisbe* sp. pueden ser considerados una presa valiosa para su cultivo, como suplemento de las dietas tradicionales basadas en rotíferos y nauplios de Artemia y que el fotoperiodo puede desempeñar un papel importante en el cultivo exitoso de esta especie (Olivotto *et al.*, 2008).

Recientemente, se han realizado varios trabajos concernientes a aspectos de reproducción y alimentación de *H. reidi*. Giacometti y Loebmann (2009), reportaron por primera vez el monitoreo de cuatro nacimientos, aportando información sobre la estimación de la fecundidad y talla de los recién nacidos en condiciones naturales. Hora y Joyeux (2009) lograron cerrar su ciclo reproductivo en laboratorio, tomando 615 crías nacidas en cautiverio, mantenidas con una dieta de zooplancton, miscidáceos silvestres y Artemia enriquecida durante 109 días. Murugan *et al.* (2009), establecieron la preferencia de alimentación de los juveniles de *Hippocampus trimaculatus* criados con una dieta mixta de rotíferos, nauplios de copépodos, copepoditos, nauplios de Artemia y copépodos adultos, después de un análisis del contenido intestinal, observando que varía con la edad. Storero y González (2009) mencionan que presenta preferencia alimenticia por determinadas presas, escogiendo en su gran mayoría a los anfípodos y *Artemia salina*, sin presentar alguna diferencia en cuanto a la cantidad de alimento consumido por las hembras y los machos.

En muchos de los trabajos realizados en crías y juveniles de caballitos la densidad de siembra utilizada, así como los sistemas de levante implementados, no son un factor determinante de las investigaciones, sin embargo pueden proveer información útil para conocer los estándares de manejo en los diferentes cultivos. Por ejemplo: Reyes-Bustamante y Ortega-Salas (1999) y Ortega-Salas y Reyes-Bustamante (2006), estudiaron la fecundidad, supervivencia y crecimiento del caballito de mar *H. ingens* bajo condiciones controladas, utilizando densidades de 3,3 y 0,2 ind.L⁻¹, alimentándolas con una mezcla de rotíferos y Artemias observando

que el éxito de obtener por lo menos 50% de supervivencia a talla comercial, depende de una buena calidad de agua y cantidad de alimento vivo. Wong y Benzie (2003), evaluaron los efectos de la temperatura, el enriquecimiento de Artemia, la densidad de siembra y la intensidad de la luz sobre el crecimiento de juveniles de caballitos de mar *H. whitei* durante 107 días, para el experimento utilizaron densidades de 0,5 y 1 ind.L⁻¹, obteniendo como resultado que la tasa de crecimiento alrededor de tres meses de edad se incrementó 0,14mm, con una temperatura de 26°C y que el uso de Artemia enriquecida con DC Selco® mejora la tasa de crecimiento, sin observar efectos importantes con las densidades de siembra usadas. Woods (2003), investigó el efecto de la densidad y la segregación de género en el crecimiento y la supervivencia de *H. abdominalis*, en densidades de 1, 2 y 5 ind.L⁻¹, durante 60 días, observando que el crecimiento es inversamente proporcional a la densidad; no se presentaron diferencias en la supervivencia en los tratamientos con 1 y 2 ind.L⁻¹ (100 y 95,8% respectivamente), mientras que en el tratamiento de 5 ind.L⁻¹ se redujo significativamente (78,3%). Martínez-Cárdenas y Purser (2007), estudiaron el efecto de los colores en los tanques, la actividad alimenticia, el crecimiento y la supervivencia en crías de *H. abdominalis* a una densidad de 1 ind.L⁻¹ encontrando que no hay diferencias significativas entre cualquiera de los parámetros de la prueba.

Los sistemas de cultivo desempeñan un rol muy importante para el mantenimiento de los organismos, muchas veces no importa el número de animales que se siembre, si el sistema no es efectivo los resultados no son favorables. Aunque ingenieros, científicos, y acuicultores hayan tenido éxito al realizar los procesos mecánicos, químicos y biológicos que aseguran la salud y la supervivencia de numerosos organismos acuáticos (Hoegh y Smith, 1989), como en cualquier proceso de diseño para acuicultura, las características de la especie son clave para la determinación de los criterios del sistema. En el caso de los caballitos de mar, la especie *H. reidi* presenta una fase pelágica hasta los 30 días de vida,

la cual es considerada crítica ya que allí, especialmente los primeros cinco días, es en donde se presenta la mayor mortalidad en cautiverio; una vez superada esta etapa, los animales pasan a una fase bentónica en la cual se requieren menos cuidados para garantizar el éxito del cultivo (Payne y Rippingale, 2000; Ospina-Salazar *et al.*, 2011).

Underwood (2010), trabajó en el diseño de un acuario para levante de crías de *H. erectus*, utilizando un desagüe central recubierto por una esponja, la forma y el movimiento del agua en el tanque de 68L le permitieron obtener un flujo laminar y circular que mantiene a los organismos en continua suspensión siendo el principio básico de los acuarios tipo Kreisel (Koldewey, 2005); aunque el sistema no impedía que los organismos floten, sí los forzaba suavemente a regresar al fondo. Chamorro y Planas (2008) y Planas *et al.* (2008), trabajaron con *H. guttulatus* evaluando cuatro unidades experimentales independientes, fabricadas con paneles verticales de metacrilato, cada unidad estaba dotada de filtro mecánico, químico, biológico, sistema de bombeo, sistema de iluminación, programación horaria y enfriamiento del agua, la entrada de agua fue sub-superficial para eliminar las posibles burbujas que se forman al bombear agua; el diseño y funcionamiento de estos acuarios fue adecuado, práctico y versátil para el mantenimiento y ensayos de reproducción, presentando los mejores resultados para la especie.

Teniendo como referencia los trabajos realizados, se evidencia la importancia de fabricar un sistema adecuado para las crías de *H. reidi* que les proporcione las mejores condiciones a los organismos y determinar si la densidad de siembra tiene algún efecto en su crecimiento, ya que a menores densidades se presentan mejores porcentajes de supervivencia, ganancia en peso y crecimiento, pero a nivel de costos de producción puede llegar a ser económicamente inviable (Tucker 1998; Álvarez-Lajonchère y Hernández-Molejón, 2001). En general, estas consideraciones pueden resumirse en una dinámica de interacciones entre la densidad de caballitos, los sistemas de levante utilizados

y sus consecuencias sobre el crecimiento, supervivencia, conversión alimenticia y heterogeneidad de tamaño (Lazard *et al.*, 2009).

En Colombia, las primeras descripciones sobre la reproducción y cría del caballito de mar *H. reidi* en laboratorio se hicieron en el CEINER (1995), donde detallan el cortejo entre machos y hembras y explican el proceso de levante de las crías, mencionan que el nacimiento de los caballitos se da especialmente en la noche, y durante los primeros días las crías se alimentan varias veces al día con rotíferos (*Brachionus plicatilis*) cultivados previamente de forma masiva con microalgas (*Tetraselmis* sp.). Años más tarde (1999), el Acuario Mundo Marino a cargo de la Universidad Jorge Tadeo Lozano en Santa Marta, puso en marcha los procesos de reproducción del caballito de mar *H. reidi* desarrollando varios estudios como el de Villamizar y Domínguez (1999), donde se describen los aspectos preliminares y requerimientos para la adaptación del caballito de mar *H. reidi* en sistemas cerrados, lográndose el establecimiento exitoso y el 100% de supervivencia de las tres primeras parejas de adultos introducidas al Acuario por espacio de más de tres años; posteriormente Villamizar (2001), realizó un estudio etológico con énfasis en el comportamiento reproductivo de *H. reidi* el cual propuso un etograma con cinco estados, seis subestados y 21 eventos a partir de los cuales se generaron los diferentes elementos conductuales de la especie bajo condiciones controladas.

De manera consecutiva, el grupo de investigación dio inicio a los ensayos experimentales para el levante de juveniles de la especie; es así como Azula y León (2000) reportan nacimientos en cautiverio con un número de crías entre 150 a 630 juveniles, haciendo énfasis en el tamaño y número de crías en cada puesta, ya que son directamente proporcionales al macho que los incuba, durante tres semanas de gestación. León y Jáuregui (2001), realizaron ensayos alimenticios en juveniles con fines de levante, mediante la implementación de dietas basadas en microalgas (*Chaetoceros* y *Spirulina*) y nauplios de *Artemia*, obteniendo supervivencias

durante 72h del 11,99% con las dieta de nauplios y 34,72% con *Spirulina*, mientras que los *Chaetoceros* mostraron un 4,16% manteniéndose sólo 48h. A partir del 2003, el proceso adelantado por el Acuario Mundo Marino con los caballitos se consideró como “Proyecto Bandera” en el marco del Programa Nacional de Conservación *ex situ*, establecido por la Asociación Colombiana de Parques Zoológicos y Acuarios - ACOPAZOA.

Más adelante, Giraldo y Polania (2005), evaluaron tres sistemas de levante para crías de esta especie, el primero consistió en una jaula flotante, el segundo en dos acuarios de 20L en recirculación y el tercero en dos tanques de 500L, utilizando una densidad de 3 ind.L⁻¹, la experiencia con la jaula flotante no fue satisfactoria, ya que todos los caballitos murieron al cabo de siete días; a las cuatro semanas se obtuvo una supervivencia del 2,42% para el sistema de 20L con recirculación y 0,9 y 6,6% para los dos tanques de 500L. Posteriormente, Cabrera (2010), menciona que los juveniles presentan en los nacimientos una variación de longitud total fluctuante entre 0,45 y 0,75cm, una tasa de crecimiento de 0,5mm.día⁻¹, utilizando durante los primeros días de edad zooplancton vivo entre 100 y 200µm como alimento y propone que los juveniles corresponden a un modelo de crecimiento que se ajusta a una línea recta con un coeficiente de correlación de 0,97; obteniendo una supervivencia del 45%, concluyendo al final de su ensayo que los juveniles son organismos que requieren control de la temperatura y pH durante sus primeras fases de desarrollo, pueden ser alimentados con plancton cultivado, y que por tanto *H. reidi* presenta características de plasticidad que le confiere ventajas para su cultivo como especie de interés para la conservación y uso ornamental. Posteriormente, Zuluaga-Arévalo (2010), sin reportar la densidad utilizada, evidenció una crisis constante en el cultivo a los cinco días de vida en esta especie (*H. reidi*), presentando al final del estudio una supervivencia del 31%.

Desde hace cuatro años en el Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras - INVEMAR, se vienen adelantando estudios en

el marco del proyecto: “Iniciación al proceso de reproducción de dos especies de peces marinos ornamentales de interés comercial *Gramma loreto* e *Hippocampus reidi* en condiciones de laboratorio”, con el objetivo de determinar la tecnología para el cultivo de estas especies, dentro de las investigaciones se incluyeron estudios relacionados con las condiciones del cultivo en donde Melo (2010) determinó la temperatura y la salinidad adecuadas para el óptimo crecimiento y supervivencia de crías de *H. reidi* en condiciones de laboratorio, concluyendo que las mejores supervivencias y respuestas en crecimiento de las crías al finalizar los 30 días de cultivo se presentaron a una salinidad de 27 y una temperatura de 26°C, proponiendo que esta especie presenta un rango óptimo de temperatura para cultivo entre 26,4-26,6°C, observándose una relación directamente proporcional entre la salinidad y la temperatura con respecto a la variabilidad de las tallas y los pesos de las crías dentro de los rangos de salinidad y temperaturas estudiadas.

En cuanto a los aspectos nutritivos, el grupo de trabajo determinó también el efecto del alimento vivo enriquecido (*Artemias* y rotíferos), sobre el crecimiento y la supervivencia de crías de caballitos de mar *H. reidi*, en condiciones de laboratorio durante el primer mes y medio de vida, en donde Sánchez-Cardozo (2011), realizó dos bioensayos; en el primero, las *Artemias* para alimentar a los caballitos fueron enriquecidas con cuatro productos: Protein Selco Plus® (PSP), alimento para pescado peletizado Azoo 9 en 1® (AZ), emulsión de Scott® (ES) y microalgas vivas de *Isochrysis galbana* (IG) el ensayo duró 46 días; en el segundo bioensayo se utilizaron también cuatro dietas, la primera únicamente con PSP, para las otras tres se realizaron combinaciones de enriquecedores con alimento para pescado Sera Marin GVG mix® (GVG) en una proporción de 50/50 de la siguiente manera: GVG+PSP, GVG+ES y GVG+IG, el experimento duró 55 días. En el bioensayo uno, los caballitos que crecieron más fueron alimentados con *Artemia* enriquecida con PSP (160,13mg) presentándose también la más alta supervivencia (50,72%), en el bioensayo dos los mejores crecimientos se dieron con el

enriquecedor PSP y PSP+GVG con 183,71 y 132,16mg respectivamente, y la supervivencia, más alta con PSP (66,67%). Adicionalmente se diseñaron sistemas adecuados para el levante y se estandarizó un protocolo para el mantenimiento y enriquecimiento del alimento vivo y un protocolo de alimentación para las crías durante el primer mes y medio de vida.

Para complementar los estudios de nutrición, el estudio realizado por Montero-Ortega (2011) buscó determinar la densidad de alimento más apropiada para el levante de crías de *H. reidi* evaluando tres densidades: 1, 3 y 6 Artemias.mL⁻¹. Como resultado los mayores crecimientos y supervivencias se encontraron en el tratamiento con la más alta densidad de alimento (6 Artemias.mL⁻¹), los otros tratamientos se comportaron de manera similar durante el primer mes; no obstante, al cabo de tres meses se evidenció que el tratamiento de 3 Artemias.mL⁻¹ fue mejor que el de 1 Artemia.mL⁻¹.

Con relación a los sistemas de acuarios para el cultivo y levante de las crías, en el estudio realizado por Pérez (2011), se evaluaron 14 sistemas de incubadoras diseñados y contruidos para el levante de crías de *H. reidi* utilizando lotes recién nacidos. Dos sistemas fueron los más efectivos: uno con una incubadora circular de 12L con cinco entradas de agua y otro cilíndrico de 16L con sistema de regadera en la entrada y esponja con malla y media velada en el desagüe, con 18,8 y 66,6% de supervivencia respectivamente, después de ocho días de muestreo; en estos sistemas las crías no presentaron problemas por burbuja, succión por el filtro de salida y la cantidad de alimento suministrado permaneció por mucho más tiempo dentro de las incubadoras. Posteriormente, usando el sistema de 16L, se realizaron tres ensayos de densidad óptima de siembra para el levante de crías durante el primer mes de vida; las densidades de siembra fueron: 1,3 y 8 ind.L⁻¹ con una duración de ocho días; 1,3 y 6 ind.L⁻¹ durante nueve días y 1, 3 y 6 ind.L⁻¹ en 13 días, obteniendo como resultado que la densidad de 1 ind.L⁻¹ presentó mayor supervivencia (21,4%). Con respecto al crecimiento en términos de

peso, los mayores valores se registraron en el tratamiento de 6 ind.L⁻¹, en peso ganado se observó que los animales incrementaron 1,64 veces más su peso inicial, mientras que en 1 y 3 ind.L⁻¹ solamente aumentó entre 1,18 a 1,37 veces respectivamente.

Estos trabajos, junto con el establecimiento de los protocolos para el mantenimiento en laboratorio de todos los estadios de crecimiento de *H. reidi* (Ospina-Salazar *et al.*, 2011), establecen la línea base para la producción en Colombia en condiciones de cautiverio.

2.2 *Gramma loreto*

El loreto (Figura 4), es un pez de tamaño pequeño, presenta el cuerpo alargado y comprimido, hocico corto y redondeado, boca protractil, una línea lateral bien desarrollada, pero interrumpida. Presenta un par de aletas pectorales redondeadas, que pueden no alcanzar el origen de la aleta anal la cual se encuentra desde la base media del cuerpo hasta la base de pedúnculo caudal, un par de aletas ventrales que en los adultos pueden llegar a ser extremadamente largas, y que utilizan muchas veces como apéndices para mantenerse erguidos sobre algún sustrato, la aleta dorsal se extiende a lo largo de todo el cuerpo y la aleta caudal que varía de forma de emarginado superficial a semilunar profunda (Böhlke y Randall, 1963). La porción anterior del cuerpo, las aletas pélvicas y la dorsal, de color violeta. La parte media posterior, las aletas pectorales y la caudal de color amarillo, los radios de la aleta pélvica llegan más allá del origen de la anal; aleta dorsal con 11-13 espinas generalmente 12 y 6-10 radios blandos, con un punto negro en la porción anterior; 3 espinas en la aleta anal y de 6 a 10 radios blandos; aleta pectoral por lo general con 16 radios blandos (Carpenter, 2002). Comúnmente encontrado en los arrecifes tropicales del Caribe (Webster, 2003), considerado como una de las especies que más ocupan los arrecife de coral (Webster y Hixon, 2000; Aguilar y Appeldoorn, 2008; Mejía y Garzón, 2000; Claro y Cantelar, 2003). Son generalmente hallados en cuevas,



Figura 4. Ejemplares de *Gramma loreto* en condiciones de laboratorio.

intersecciones, grietas o salientes, en donde se ocultan (Webster, 2004; Piecemo, 2008), en cuanto a su comportamiento se ha observado que son altamente territorialitas y agresivos, además manejan espacios reducidos al estar en comunidad, los cuales defienden activamente a través de persecuciones de un individuo a otro (Fremma y Alevison, 1983). Tienen un sistema jerárquico ampliamente ligado con la alimentación, en el que los peces más grandes se alimentan primero y en mayor cantidad, lo que impide que muchas veces los juveniles puedan hacerlo, generando efectos negativos en estas comunidades (Webster y Hixon, 2000; Webster, 2004).

En ambiente natural la alimentación de estos organismos se basa solamente en pequeños crustáceos planctónicos de vida libre en la columna de agua (Fremman y Alevison, 1983; Pastor y Báez, 2002), pero en cautiverio fácilmente aceptan alimentos artificiales, lo cual simplifica su mantenimiento. Esta especie es más abundantemente entre 1 y 40m de profundidad, aunque habita arrecifes someros de agua clara de hasta 3m y también ha sido reportado a profundidades cercanas a los 60m (Piecemo, 2008; Aquanovel, 2008a). Se asocia con un sinnúmero de corales incluyendo *Montrastrea annularis*, *Acropora palmata* y *Diploria labyrinthiformis*, y se encuentran

sobretudo donde los corales muestran un marcado desarrollo vertical (Webster, 2004).

Son escasos los estudios relacionados con el *G. loreto*, Asoh y Yoshikawa (1996) mencionan que el comportamiento y cuidado parental masculino hacia los huevos es jerárquico permaneciendo en la entrada o persiguiendo a otros peces que se acercan a los nidos. En ensayos para su levante, los huevos colectados del mar fueron llevados al laboratorio y colocados a una temperatura de 23-27°C e incubados durante 10-11 días; una vez que eclosionaron, se observó que las larvas se caracterizaron por presentar ojos pigmentados, mandíbulas desarrolladas y una pequeña cantidad de saco vitelino, alcanzando una longitud total 2,9–3,8mm. En cuanto a los aspectos reproductivos, Asoh y Shapiro, (1997) examinaron un total de 167 organismos entre pequeños, juveniles y adultos; con el propósito de observar evidencia de si los individuos que nacen hembras pueden llegar a convertirse en machos; todas las gónadas analizadas en ejemplares pequeños presentaron oocitos previtogénicos, en los machos adultos los oocitos degeneraron el tejido espermatogénico y aparecieron los conductos de la esperma para el transporte de la misma, mientras que en las hembras fue formado el lumen ovárico, los conductos preliminares de la esperma degeneraron y los oocitos continuaron creciendo.

No se encontraron características histológicas indicativas de organismos proterogénicos.

En cuanto a la reproducción y alimentación de esta especie, Pastor y Báez (2002) estudiaron ejemplares capturados en el litoral norte de La Habana, encontrado un 59% de hembras y 41% de machos, la madurez sexual se presentó en las tallas de 35-40 y 50-60mm en hembras y machos respectivamente. Se conoció que su período reproductivo es en marzo-abril y su principal dieta son los crustáceos, principalmente copépodos. Por último, Webster (2003) menciona que la regulación en la densidad de la población depende de la relación entre las generaciones de los peces. Los experimentos demostraron que tal regulación está determinada por la mortalidad, como fuente primaria de la dependencia demográfica de la densidad entre

poblaciones locales, este mecanismo implicó una respuesta en el comportamiento de los depredadores para localizar altas densidades de peces para cazar su presa.

En Colombia no existen antecedentes de trabajos realizados relacionados con esta especie, no obstante, el grupo de trabajo del INVEMAR pudo adaptar los organismos a las condiciones del laboratorio y lograr la puesta y obtención de larvas hasta de una semana de vida. Adicionalmente se realizaron ensayos de alimentación con diferentes productos comerciales en el cual se recomienda para el crecimiento óptimo de juveniles de loreto dietas con porcentajes de proteína cercanos al 54% con un contenido de lípidos no mayor del 12% (Ospina-Salazar *et al.*, 2011).



Vista externa del Laboratorio de Bioprospección Marina INVEMAR.
Foto: Archivo LABBIP.

3. ASPECTOS GENERALES PARA EL MANTENIMIENTO DE ORGANISMOS MARINOS EN ACUARIOS

3.1 Adecuación de los laboratorios y descripción general de los sistemas

Los sistemas de cultivo desempeñan un rol muy importante para el mantenimiento de los organismos, muchas veces no importa el número de animales que se siembre, si el sistema no es efectivo los resultados no son favorables. Aunque ingenieros, científicos, y acuicultores hayan tenido éxito al realizar los procesos mecánicos, químicos y biológicos que aseguran la salud y la supervivencia de numerosos organismos acuáticos (Hoegh y Smith, 1989), como en cualquier proceso de

diseño para acuicultura, las características de la especie son clave para la determinación de los criterios del sistema.

Para el desarrollo de los proyectos se diseñaron las áreas del Laboratorio de Bioprospección Marina del INVEMAR – LABBIP construyendo dos salas y adecuando las diferentes áreas de cultivo (Figura 5 y 6) y del Museo de Historia Natural Marina de Colombia – MHNMC, en la Figura 7 se detalla la adecuación de la infraestructura para el montaje de los acuarios y de los sistemas de recirculación, filtración, e iluminación en dicha área.

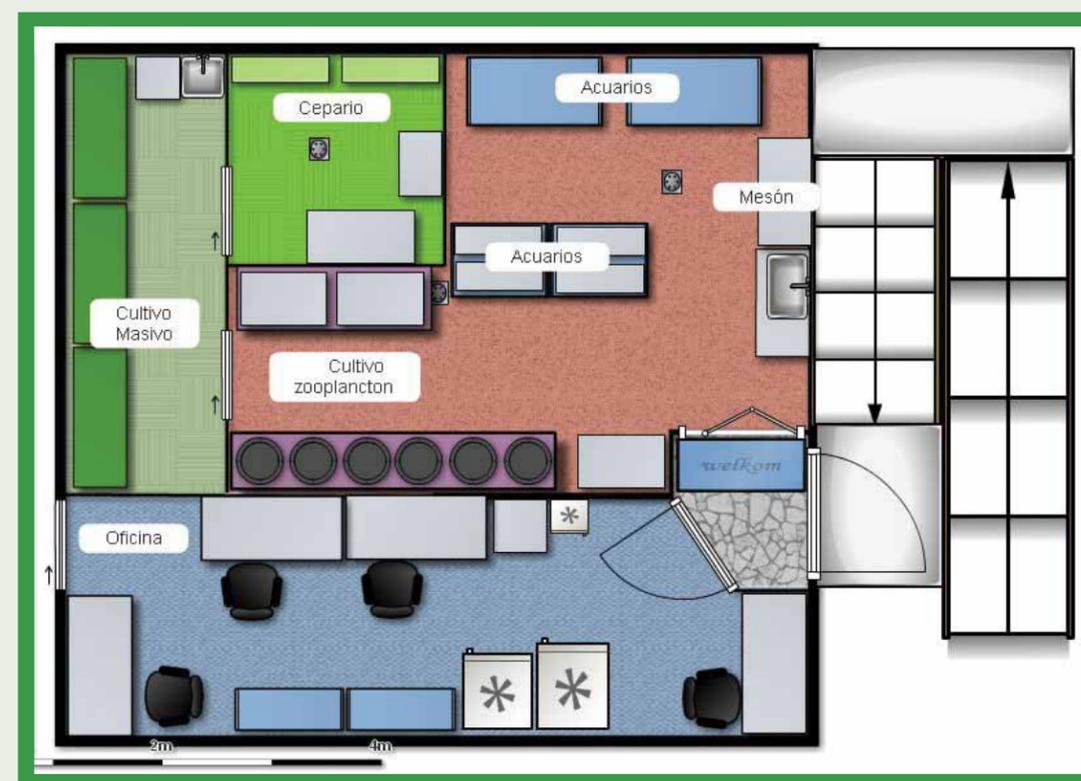


Figura 5. Vista general segundo piso LABBIP área de maricultura.

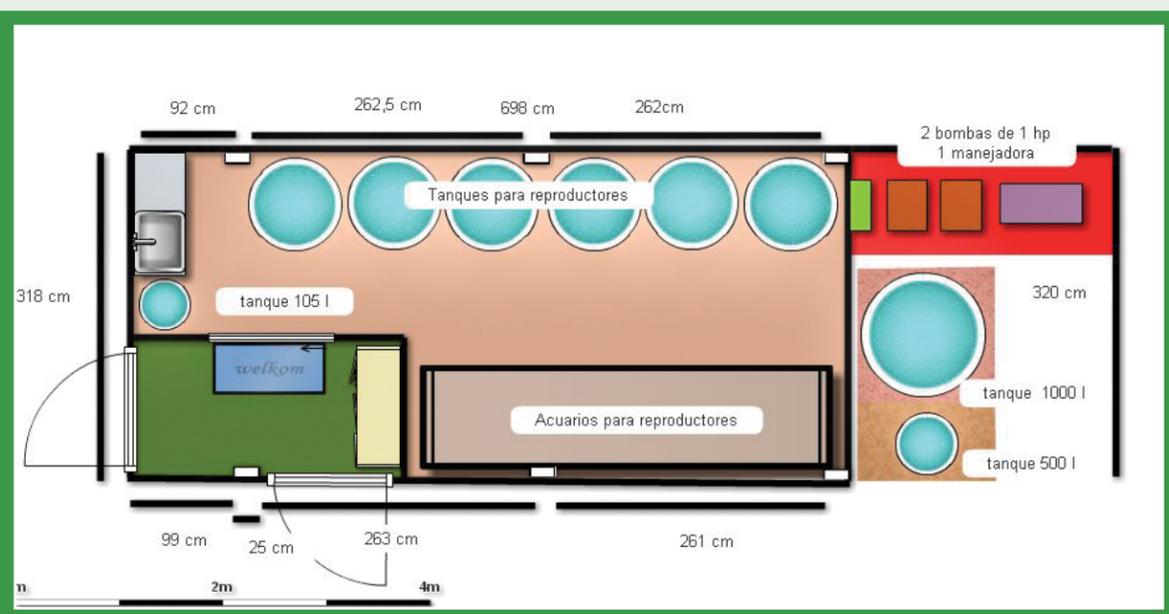


Figura 6. Vista general primer piso LABBIP área de maricultura.



Figura 7. Adecuaciones del área del corredor del MHNMC.

Las construcciones y adecuaciones se realizaron con base en los principios de un sistema de recirculación para la acuicultura (SRA), tecnología que permite el cultivo de organismos acuáticos a mayor intensidad; reutilizando el agua efluente de los tanques de cultivo luego de un acondicionamiento de los parámetros principales, eliminando sólidos en suspensión, amonio y dióxido de carbono, oxigenando y desinfectando el agua. En el SRA el ambiente es totalmente controlado, la temperatura, salinidad, pH, alcalinidad, composición química y oxígeno son monitoreados y continuamente controlados; los residuos sólidos son filtrados y removidos, se incorpora oxígeno e incluye un biofiltro para el tratamiento del efluente (Timmons *et al.*, 2001; Villegas, 2007). Aunque el sistema de recirculación requiere una mayor inversión en cuanto a equipos, mantenimiento y funcionamiento tiene ventajas a largo plazo como control de la producción de acuerdo con los requerimientos del mercado, reducción de consumo de agua y en tratamiento de efluentes, instalaciones en lugares alejados de las fuentes de agua y control constante de las variables en los términos requeridos para cada especie.

Se instalaron los sistemas de filtración: ultravioleta, cartucho, arena; los sistemas de recirculación y aeración, al igual que las divisiones de las áreas. También se instaló el sistema de aire acondicionado de acuerdo a las necesidades de cada espacio. En el área del LABBIP se utiliza agua tomada directamente del mar y en el MHNMC y en las instalaciones de Langostinos del Llano agua marina artificial. Con estos diseños se cumplen los requerimientos básicos para el mantenimiento de los organismos, esto se realizó buscando que la inversión fuera la mínima necesaria para una instalación donde se pudiesen reproducir organismos marinos ornamentales en pequeña escala.

3.2 Sistema de recirculación del agua

Este sistema está compuesto por las tuberías y equipos para hacer llegar el agua a las áreas que lo requieran y luego conducirla a los tanques

de recirculación o desagüe. Este sistema, el de filtración y aeración, deben tener un duplicado con el fin de garantizar el suministro de agua en caso de fallo y también con fines de limpieza y mantenimiento. El agua que recircula se distribuye desde los tanques elevados a la zona húmeda, sale de los tanques de cultivo y es conducida por gravedad a los tanques de almacenamiento, de donde es succionada por un par de electrobombas que la impulsan por una serie de filtros de cartucho al tanque reservorio de donde por succión, pasa por un filtro biológico, y se almacena en los tanques elevados para cerrar el circuito (Figura 8).

3.3 Sistema de filtración del agua

La filtración se define como la separación de una mezcla o solución en sus partes componentes (Prieto, 2001). En los sistemas de cultivo y particularmente en los SRA es fundamental la filtración biológica, proceso que se define como la conversión bacteriológica de compuestos orgánicos nitrogenados a nitrato. Esta conversión es de gran importancia en los cultivos de especies hidrobiológicas porque el amoníaco es un desecho metabólico altamente tóxico de los organismos cultivados y subproducto de muchas bacterias; en cuanto a toxicidad le sigue el nitrito y el nitrato que es considerado relativamente no tóxico para la mayoría de organismos acuáticos. Otro sistema de filtración biológica utiliza plantas acuáticas que poseen la habilidad para asimilar nutrientes y crear condiciones favorables para la descomposición microbiana de materia orgánica, por esta razón son conocidas como autodepuradoras de ambientes acuáticos y utilizadas principalmente en el tratamiento de aguas servidas (Villegas, 2007).

En el caso del LABBIP donde el agua que se succiona del mar es de muy buena calidad y con baja cantidad de material en suspensión, al igual que para los sistemas con agua de mar artificial, se utiliza un sistema de filtración mecánica de arena y de cartuchos de 20 y 10µm para el suministro general del laboratorio. En las áreas de cultivos accesorios, se usan adicionalmente filtros de cartucho de 5 y 1µm (Figura 9).

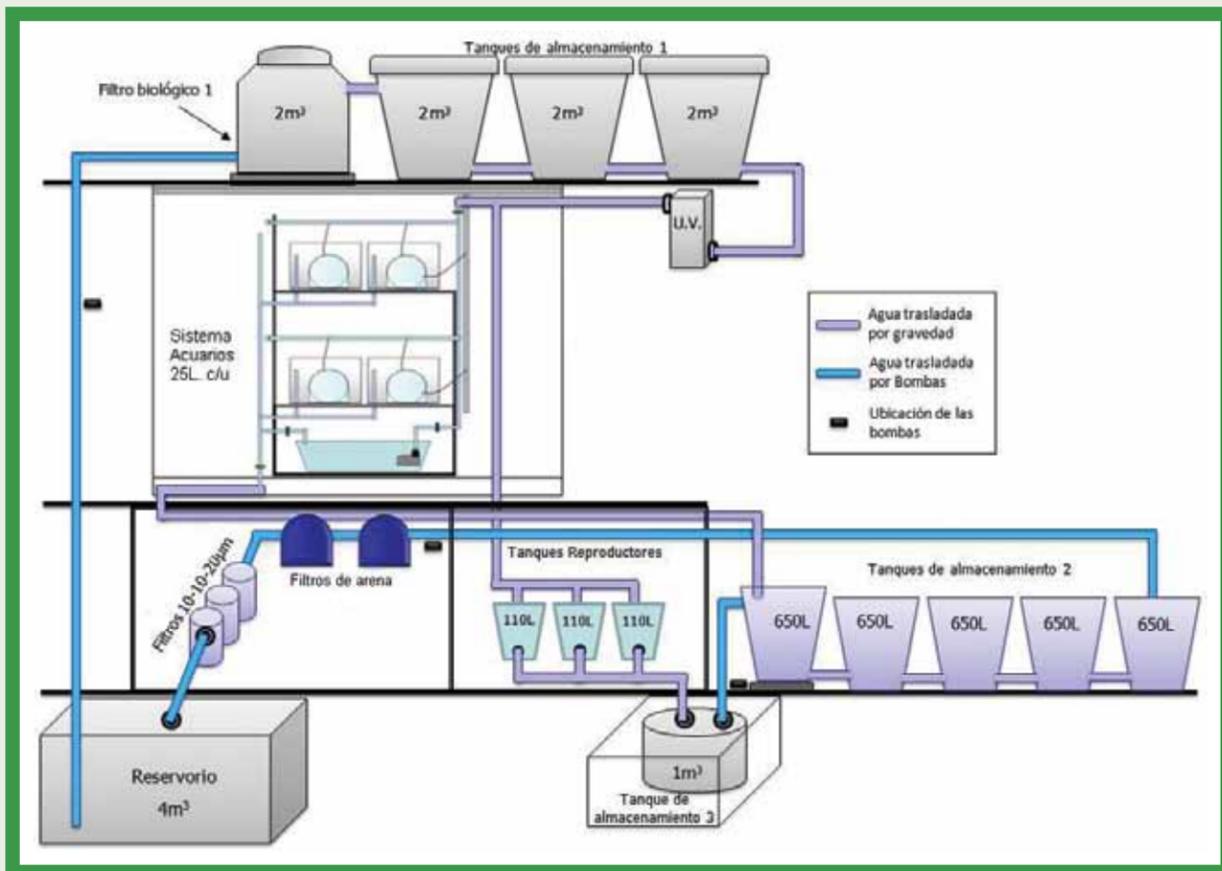


Figura 8. Sistema de recirculación del Laboratorio de Bioprospección Marina del INVEMAR (LABBIP). Imagen M. Sánchez, 2010.



Figura 9. Sistema de filtración del LABBIP. Filtros de arena (A) y de cartucho (B).

Para tratar el agua del efluente, se construyó un sistema de filtración mecánica y biológica constituida por un lecho de grava de 2–5mm en el cual se ubicaron dentro de materas plantas de mangle (*Rizophora mangle*), el cual retiene las

partículas y, posteriormente las plantas extraen los nutrientes y crean condiciones favorables para la descomposición microbiana de materia orgánica antes de que el agua regrese al mar. Para el sistema con agua de mar artificial, el

agua de descarte es mínima pero debe ser tratada en estanques de evaporación para evitar la salinización de fuentes de agua y del suelo y así recuperar las sales.

Como un sistema complementario al de filtración, se utilizó el sistema de desinfección ultra violeta – UV, que es un eficiente método de desinfección y esterilización, para la eliminación de los

microorganismos. El principio se basa en que los rayos UV penetran la membrana exterior de las bacterias, virus, hongos y algas, destruyendo el ADN (Villegas, 2007). Funciona con bajos caudales y se usa principalmente para desinfectar aguas claras, por lo que debe instalarse después de un filtro de al menos 1µm (Barnabe, 1991). Este sistema se utiliza principalmente en el cepario de microalgas (Figura 10).



Figura 10. Sistemas de esterilización UV del LABBIP.

3.3.1 Sistema de aeración

El oxígeno es el principal factor limitante tanto en los sistemas tradicionales de acuicultura como en los que emplean recirculación. Niveles menores que los necesarios conducen a una mala calidad en el agua, pobres factores de conversión alimenticia, reducción en el crecimiento e incremento en la mortalidad. La aeración agrega oxígeno del aire al agua y aumenta la capacidad de carga del sistema; el suministro del aire se realiza por medio de soplantes o blowers o compresores de baja presión.

La aeración además de aumentar la concentración de oxígeno en el agua, facilitando la absorción por parte de los organismos, es un eficiente desinfectante, ayuda a la eliminación de CO₂, contribuye al control del pH y permite manejar más organismos por tanque, mejorando los rendimientos del cultivo.

La distribución del aire se realiza por medio de difusores, con diferentes características como el tamaño de la burbuja o difusores en placa (Beaz, 2007), y también se utiliza para mover el agua con burbujas que salen directamente de las mangueras, como en el caso de las incubadoras y poder crear el movimiento circular.

3.3.2 Agua de mar

El agua de mar no es sólo una solución de cloruro de sodio y agua, sino es más bien una mezcla compleja y no completamente entendida; cualquier cosa que puede ser lavada río abajo eventualmente halla su camino a los mares y es incorporada en la solución de los océanos (Pilson, 1998). El gran volumen de los océanos del mundo asegura que la concentración de la solución de la mayoría de estos materiales sea muy pequeña, en el rango de partes por billón o menor y sin embargo los

organismos responden a materiales presentes en concentraciones aún más pequeñas que éstas (Shimek, 2008). Para el éxito de toda instalación de cultivos marinos hay dos factores básicos: la calidad y la cantidad del agua que debemos tener disponible en todo momento para asegurar la viabilidad técnica de la instalación (Beaz, 2007).

El agua de mar natural debe ser de excelente calidad, en el LABBIP es tomada a través de un filtro mecánico de cantos, grava y arena de 4m³ instalado a 15m de profundidad en la

plataforma continental de Punta Betín (Figura 11), conectado a una manguera para la succión mediante dos electrobombas ubicadas en el área de máquinas; posteriormente es filtrada por dos filtros de arena, que como se describió en la sección de filtración y almacenada en un reservorio de 4m³. De dicho reservorio es bombeada al biofiltro y a los tanques de almacenamiento de donde pasa al laboratorio por gravedad (Figura 8). El sistema se ha diseñado para trabajar en flujo abierto, cerrado o semicerrado dependiendo de los requerimientos de los organismos o del experimento.



Figura 11. Filtro sumergido de la toma de agua del LABBIP.

El filtro sumergido requiere mantenimiento general por lo menos una vez al año, en el cual se retira la tapa, se remueve la arena se completa el volumen

de lecho filtrante, se remueve la mayoría del biofouling, se revisan los empalmes y el estado de la manguera y se realiza un retrolavado (Figura 12).



Figura 12. Estado antes del mantenimiento del filtro sumergido de la toma de agua del LABBIP.

El agua de mar artificial es una mezcla de sales minerales que simula las características del agua de mar. Esta industria ha avanzado mucho en pocos años, de hecho, es difícil distinguir entre ambas una vez elaborada el agua artificial, no obstante, estas similitudes únicamente son de origen inorgánico, ya que el agua salada natural contiene microfauna muy beneficiosa para un medio densamente poblado, ávido de esas proteínas que van a formar la base de la pirámide trófica de un sistema; esto representa una gran ventaja respecto a la naturaleza inerte del agua elaborada artificialmente. El uso de agua artificial tiene sin embargo una serie de ventajas como son disponibilidad permanente, protección contra agentes externos y homogeneidad en

el aporte de agua nueva; es de destacar que muchos acuarios en sistema abierto han de tratar previamente el agua nueva con filtros presurizados de arena, desinfección por ozono y ultravioleta, esto conlleva a una esterilización que prácticamente la hace igual al agua artificial, anulando la ventaja principal de esta opción.

En los sistemas instalados, que usan agua de mar artificial, se incluye cascajo activo que incorpora una serie de organismos marinos, con el fin de reproducir un poco mejor las características del agua de mar natural. Luego de preparar el agua marina artificial, se inicia la maduración del sistema, es decir, se busca obtener las condiciones físicas y químicas para

que los organismos marinos puedan vivir en el sistema, este proceso de maduración también aplica para el sistema con agua de mar natural.

Para la maduración del sistema se dejó recirculando el agua durante un mes, tiempo en el cual se colocó el cascajo con iluminación constante en un sistema de recirculación con agua de mar natural para que se formara el complejo de organismos que complementan el sistema. Continuando con el proceso, se adicionó roca viva y se inició la medición de los parámetros fisicoquímicos (amonio, nitritos, nitratos y fosfatos principalmente) durante 20 días, hasta observar su estabilización dentro de los rangos favorables para la supervivencia de organismos marinos (Ospina-Salazar *et al.*, 2011). Durante la puesta a punto del sistema hay un período crítico en el cual se acumulan altas cantidades de nitritos por lo que es conveniente empezar sin animales, la población bacteriana se encargará no solo de transformar el amoníaco a nitrato sino también otros compuestos orgánicos como celulosa, urea y almidón (Morales, 1982). El siguiente paso consiste en introducir poco a poco los organismos, es decir, agregar a lo largo de una o dos semanas algunos peces para no recargar el sistema de una sola vez con demasiados nutrientes y permitir que los filtros biológicos empiecen a actuar de manera gradual. Si los niveles de nutrientes tienden a aumentar después de dos semanas de introducidos los organismos, es necesario desarrollar sistemas alternos que ayuden al sistema a eliminarlos como son la adición de carbón activado y la instalación de un espumador de proteínas (skimer), se deben monitorear y controlar constantemente las variables fisicoquímicas en el sistema especialmente oxígeno, pH, temperatura, salinidad y nutrientes.

3.4 Adecuación de los laboratorios descripción general de las áreas

3.4.1 Áreas de cultivo de alimento vivo

Uno de los factores limitante en cualquier cultivo es la obtención y producción de alimentos que

cubran todos los requerimientos nutricionales de las diferentes especies y que resulten económicamente viables (Torretera y Tacon, 1989). Aunque resulta mucho más sencillo utilizar dietas inertes, muy pocos peces en las etapas iniciales de su desarrollo lo aceptan y consumen con facilidad; adicionalmente la mayoría de organismos marinos en sus estadios iniciales son muy pequeños y administrarles una dieta artificial que contenga todos los nutrientes necesarios y un tamaño adecuado no es tarea fácil.

En un ambiente natural, la alimentación de las larvas de peces marinos se compone de una serie de redes tróficas que van variando a medida que el organismo se desarrolla. Para asegurar su supervivencia, las larvas deberán aprender a cazar su alimento, seleccionando presas de tamaños adecuados a su boca, poco movimiento, fáciles de digerir y que además cubran los requerimientos nutricionales esenciales. La mayoría de las larvas de peces son cazadores planctónicos visuales sin importar los hábitos alimenticios que tendrán cuando sean adultos (Hunter, 1981); sin embargo en cautividad, la dieta de estos organismos se ha restringido a un grupo muy reducido de presas con las cuales se tratan de cubrir sus requerimientos nutricionales, tanto de agua dulce como marinos, los cuales son: microalgas, rotíferos, Artemias y copépodos (Civera *et al.*, 2004).

Para el área de cultivo de alimento vivo se adecuaron, de acuerdo a los requerimientos, espacios cerrados para el cepario y el cultivo masivo de microalgas, aislados del cultivo de Artemia y rotíferos, los cuales también deben estar separados para evitar contaminación cruzada. En el área de microalgas se instalaron los muebles, los sistemas de recirculación, aeración, filtración e iluminación, el agua debe ser de la más alta calidad para lo cual se utiliza un sistema de filtración y luz ultravioleta (UV) que se compone de dos carcasas de 10" con filtros de 5 y 1µm, y una lámpara esterilizadora UV de 8W (Figura 13).

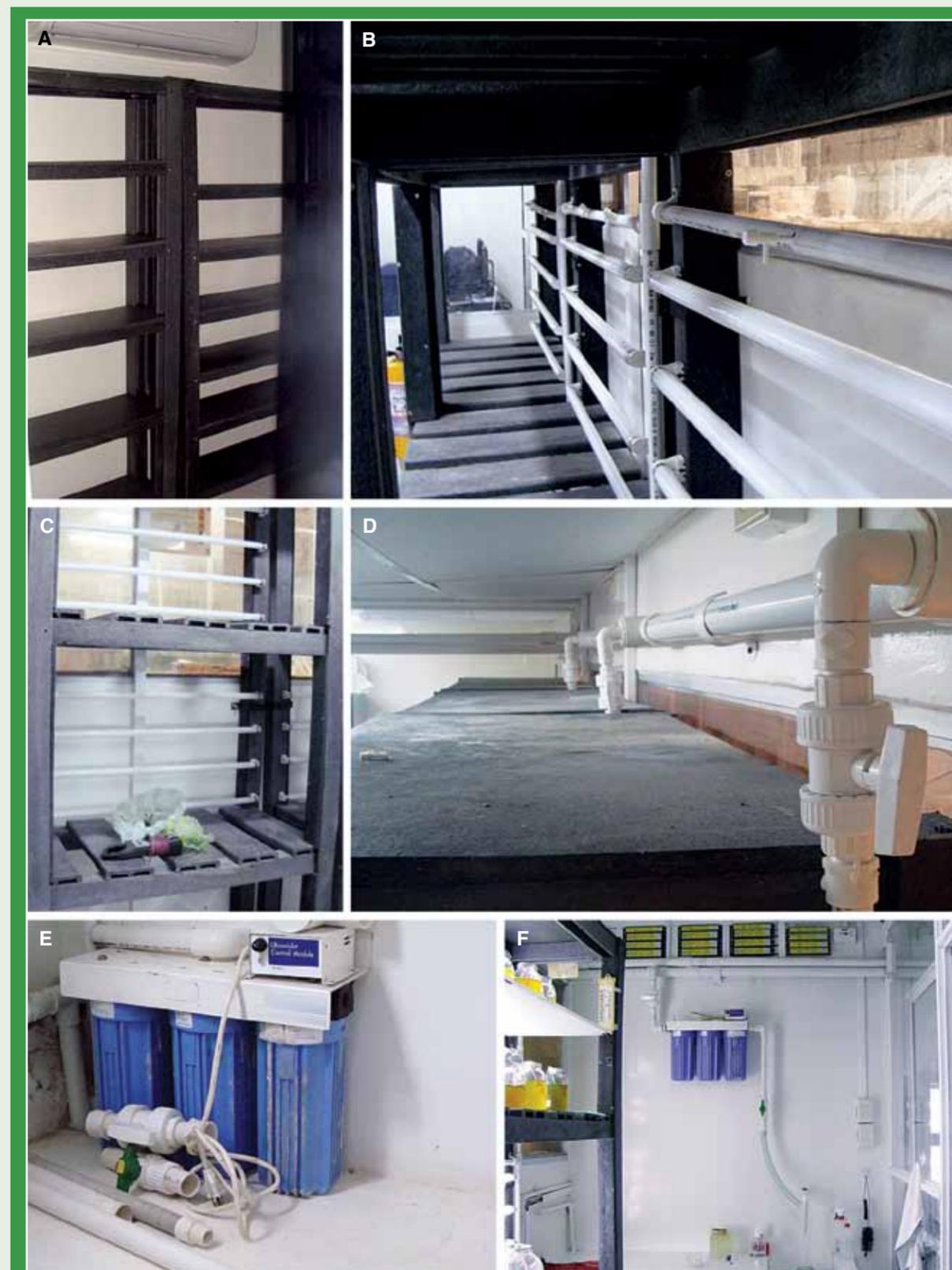


Figura 13. Instalaciones en el área de microalgas: muebles (A), iluminación (B y C), aeración (D) y filtración (E y F).

En el área de cultivo de microalgas se construyó una zona de lavado, un mesón de trabajo y estanterías para ubicar los cultivos en dos áreas principales: cepario y masivo. El cepario: es el área donde se trabaja el stock primario de algas en pequeños volúmenes que van de 10-1000mL, la temperatura debe mantenerse generalmente entre los 18-20°C (Torrentera y Tacon, 1989; Velasco *et al.*, 2008). En el cultivo

masivo se trabajan volúmenes superiores a 1L, la temperatura que se maneja puede ser más alta (20-26°C), en muchos lugares los cultivos se realizan a la intemperie utilizando iluminación natural y si la temperatura es muy alta (>28°C), el uso de polisombra, ya que la iluminación y el control de temperatura artificial incrementa los costos de producción (Ospina-Salazar *et al.*, 2011) (Figura 14).



Figura 14. Cultivo masivo (A) y cepario (B).

El área para el cultivo de Artemia que también debe estar separada del área de cultivo de rotíferos, fue adecuada con dos muebles para ubicar los botellones con la correspondiente aeración e iluminación, el engorde de la Artemia se llevó a cabo en tanques de 500L. El cultivo de rotíferos se desarrolló en tanques blancos de 200L en fibra de vidrio de color blanco (Figura 15).

Tanto para la Artemia como los rotíferos, el área de trabajo debe contemplar un desagüe y zona de lavado, ya que las labores de limpieza y mantenimiento implican el uso de agua de mar todo el tiempo. Se requiere además iluminación y aeración; el agua que se utiliza debe ser previamente filtrada por 1 o 5µm, para evitar la contaminación del cultivo con otro tipo de organismos.

Las áreas deben estar siempre limpias y secas y sólo deben utilizarse para uso exclusivo del respectivo cultivo. Sin importar el tipo de técnica que se aplique, se debe lograr un cultivo libre de bacterias, estableciendo que los lugares donde se realicen todos los procesos sean sitios desinfectados, sobre todo en el mantenimiento de las cepas de microalgas; es necesario secar y desinfectar el piso y las estanterías de cultivo con una mezcla de agua clorada a 500ppm, evitar la formación de cualquier charco o dejar recipientes sucios en los mesones de trabajo.

3.4.2 Área de reproductores de caballitos de mar

La principal consideración a tener en cuenta al momento de elaborar los sistemas donde se mantendrán los adultos es la altura de los

tanques, debido a que el cortejo y apareamiento del género *Hippocampus* está condicionado por esta variable (Chamorro y Planas, 2007). Algunos autores como Vincent (1995), han determinado que la columna de agua debe ser como mínimo de 45cm para cultivar *H. whitei*; Masonjones y Lewis (1996) observaron que *H. zosterae* sólo se desplaza en la columna entre 2-13cm al momento de aparearse; Sobolewski

(1997) considera que para la reproducción de *H. abdominales* se necesita una altura como mínimo de 90cm. Para la especie *H. reidi* la mayoría de autores recomiendan tanques de 200L sin especificar la altura necesaria (González *et al.*, 2004; Olivotto *et al.*, 2008; Hora y Jouveux, 2009), no obstante, Ospina-Salazar *et al.* (2011), recomiendan una columna de agua de al menos 65cm para la reproducción de esta especie.

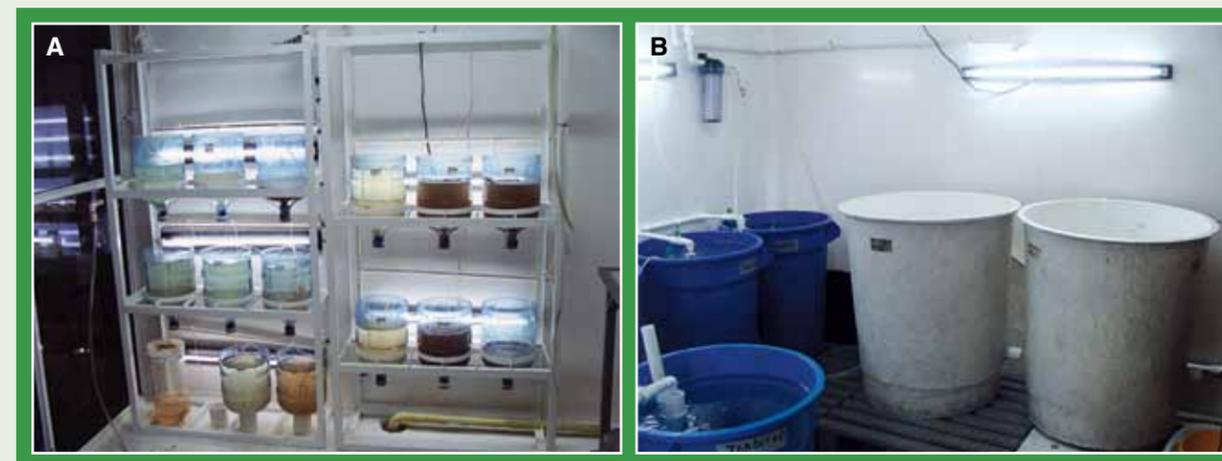


Figura 15. Montaje del sistema para cultivo de Artemia (A) y rotíferos (B).

Los tanques del laboratorio son canecas de plástico en color azul de 110L de capacidad, ya se ha observado que con este color los caballitos capturan más fácilmente su alimento y manifiestan mejor sus patrones de coloración (Martínez-Cárdenas y Purser, 2007). La entrada de agua al sistema se realiza por una tubería que llega hasta el fondo del tanque y además tiene un sistema de entrada de agua superficial a manera de regadera. El desagüe se ubica en la parte superior y está conectado al sistema de circulación del laboratorio, el cual está protegido por una pequeña malla en su superficie, lo importante es que la entrada y salida de agua se encuentren en localizaciones opuestas en la columna para garantizar una renovación de la misma (Ospina-Salazar *et al.*, 2011). El primer piso del área de maricultura del LABBIP en el INVEMAR se adecuó como área de reproductores y allí se instalaron los tanques

con sus correspondientes sistemas de aeración, recirculación e iluminación. También se adecuó el área para los tanques de recolección de aguas de recirculación y de desecho.

Aunque Chamorro y Planas (2007) no recomiendan el uso de aeración dentro de los sistemas, en el laboratorio se mantiene una línea de aeración suave con una piedra difusora en los tanques de los reproductores y juveniles mayores de 6 meses, ya que se ha observado que estos puntos sirven como estaciones de limpieza sin que promueva la formación de burbujas; adicionalmente se instalaron mallas plásticas como soporte de agarre para los caballitos (Ospina-Salazar *et al.*, 2011) (Figura 16).

Con este diseño de tanques y un mantenimiento adecuado que incluye sifonear los tanques dos veces al día para retirar los restos de

alimento y heces, se logra que los organismos se mantengan en óptimas condiciones, se reproduzcan y se pueda mantener un elevado número de caballitos de mar por tanque (30-40

juveniles). Para los procesos reproductivos se dispone de un tanque por pareja o por grupos de la misma procedencia para poder controlar los cruces.



Figura 16. Sistema de tanques de 110L para los reproductores de *H. reidi*.

3.4.3 Área de levante de crías de caballitos de mar

Hippocampus reidi, presentan una fase pelágica en las primeras semanas de vida (González *et al.*, 2004), condición que conlleva a que en cautiverio la mayoría de las crías mueran por captación de aire atmosférico al quedar atrapadas en la superficie del agua, siendo necesario romper la tensión superficial para impedir su ascenso a la superficie. Esta fase dura aproximadamente hasta los 30 días de vida, y es considerada crítica ya que allí, especialmente los primeros cinco días, es en donde se presenta la mayor mortalidad en cautiverio; una vez superada esta etapa, pasan a una fase bentónica en la cual se requieren menos cuidados para garantizar el éxito del cultivo (Payne y Rippingale, 2000; Ospina-Salazar *et al.*, 2011). Aunque la enfermedad de la burbuja de aire es una de las principales causas de mortalidad en todos los estadios de vida de los caballitos de mar, generalmente cuando los sistemas no son efectivos las crías son las más propensas a padecer de esta enfermedad (Woods, 2000), por lo tanto el diseño de sistemas de levante es fundamental para el mantenimiento de los organismos.

Teniendo como referencia los trabajos realizados, se evidencia la importancia de fabricar un sistema adecuado para el levante de crías de *H. reidi* que les proporcione las mejores condiciones a los organismos, el sistema de levante debe cumplir cada uno de los siguientes criterios de diseño (Pérez, 2011):

- Romper la tensión superficial del agua: este es el principio básico del sistema, con lo cual se pretende evitar que los caballitos permanezcan en la superficie y capten aire atmosférico, lo cual les produce burbujas en su cuerpo, aumenta la flotabilidad, dificulta el nado y la captura del alimento y causa finalmente la muerte.
- Generar una corriente suave y de forma circular dentro de la incubadora que evite los espacios muertos y que obligue a que las crías se mantengan en la columna de agua, y no atrapadas en la superficie; se debe establecer un sistema de entrada y salida del agua de forma suave que renueve el agua del recipiente pero que no cree una corriente muy fuerte que succione a los organismos.
- Retener los organismos y el alimento: se logra con un filtro que permita la salida del

agua para el recambio y actúe reduciendo la fuerza de salida para evitar que las crías queden atrapadas y al mismo tiempo retenga el alimento suministrado para que permanezca el mayor tiempo posible dentro de la incubadora, aumentando el tiempo en el que los organismos pueden alimentarse.

- Facilitar el manejo, la limpieza y la manipulación de los organismos.

3.4.4 Bioensayos para evaluar diseños de incubadoras

Para validar la selección y el diseño de los sistemas para el mantenimiento de los caballitos recién nacidos en el laboratorio se elaboró un trabajo de grado evaluando los sistemas de incubadoras (Pérez, 2011). Se evaluaron 14 sistemas diseñados y construidos para el cultivo y levante de crías de *Hippocampus reidi* utilizando lotes recién nacidos.

Como primer sistema de levante para crías de *H. reidi* se utilizó un acuario de 25L con una entrada tipo "air lift" la cual proporcionaba aeración y un leve movimiento en la superficie del agua, para evitar que las crías llegaran hasta la superficie

y captaran aire atmosférico. La entrada de agua se ubicó en la parte superior, utilizando cuatro mangueras de 1/8" distribuidas en el acuario de tal forma que el agua cayera en el centro del acuario. Con este sistema las crías no pasaron del quinto día por lo que se pensó en un sistema redondeado para lo cual se utilizó como base una canaleta de fibra de vidrio que se llenó con agua hasta la mitad y dentro de ella se ubicaron tres baldes de 18L. Este sistema debería reducir la interface agua aire al tener el desagüe por la parte superior (por rebose), la malla de 500µm ubicada en la parte superior del balde, por debajo del nivel, debería retener las crías e impedir que flotaran. La entrada de agua se realizó con mangueras que dejaban caer pequeños chorros sobre la superficie pasando por el tamiz, con el fin de romper la tensión superficial y realizar el recambio de agua en el sistema, el agua que rebosaba de los baldes caía en la canaleta, buscando reducir la fuerza de succión en los tanques. Con este sistema la mayoría de las crías se encontraban pegadas al tamiz de retención desde el primer día, probablemente por la fuerza de salida del agua, al cuarto día la mortalidad fue del 100% (Figura 17).

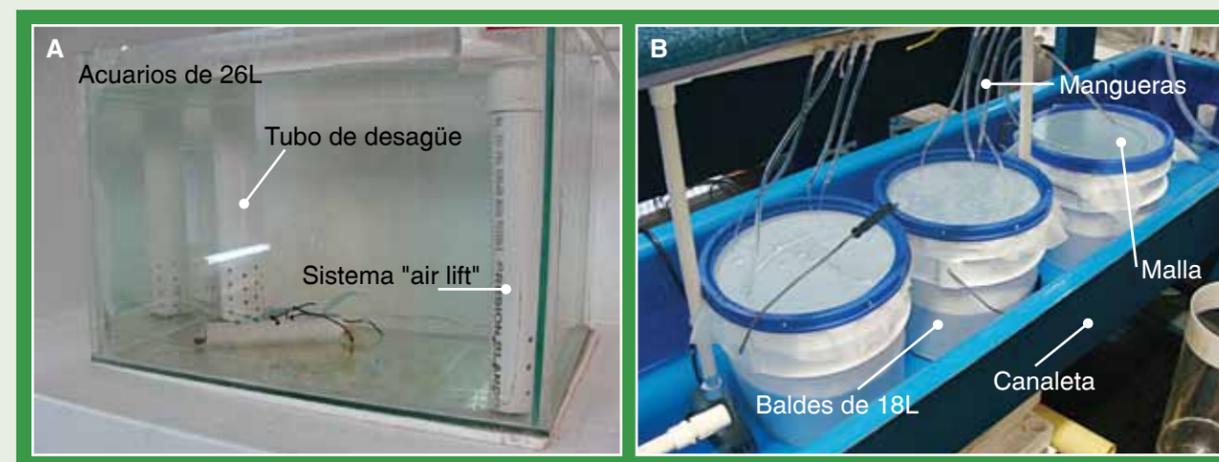


Figura 17. Sistemas para mantenimiento de crías de *H. reidi*. Acuario (A) y tanques (B) (Pérez, 2001; Ospina-Salazar *et al.*, 2011).

Se retomó la idea de utilizar recipientes sin ángulos que permitieran el movimiento circular del agua, para lo cual se usaron botellas y frascos. Se colocó una botella plástica de 2L dentro de un tanque de acrílico de 10L y este a

su vez dentro de un acuario de 25L. La entrada de agua se realizó con mangueras de 1/8" que entraban por la parte superior, con el fin de romper la tensión superficial, el desagüe consistió en una perforación de 10cm en la parte inferior de

la botella recubierta con un tamiz de 500µm. Para los frascos se utilizó el mismo principio pero se les realizaron perforaciones circulares; con el fin de

evitar la succión (Figura 18). El mejor resultado se obtuvo con el sistema de la figura 18D en donde las crías sobrevivieron hasta el sexto día.

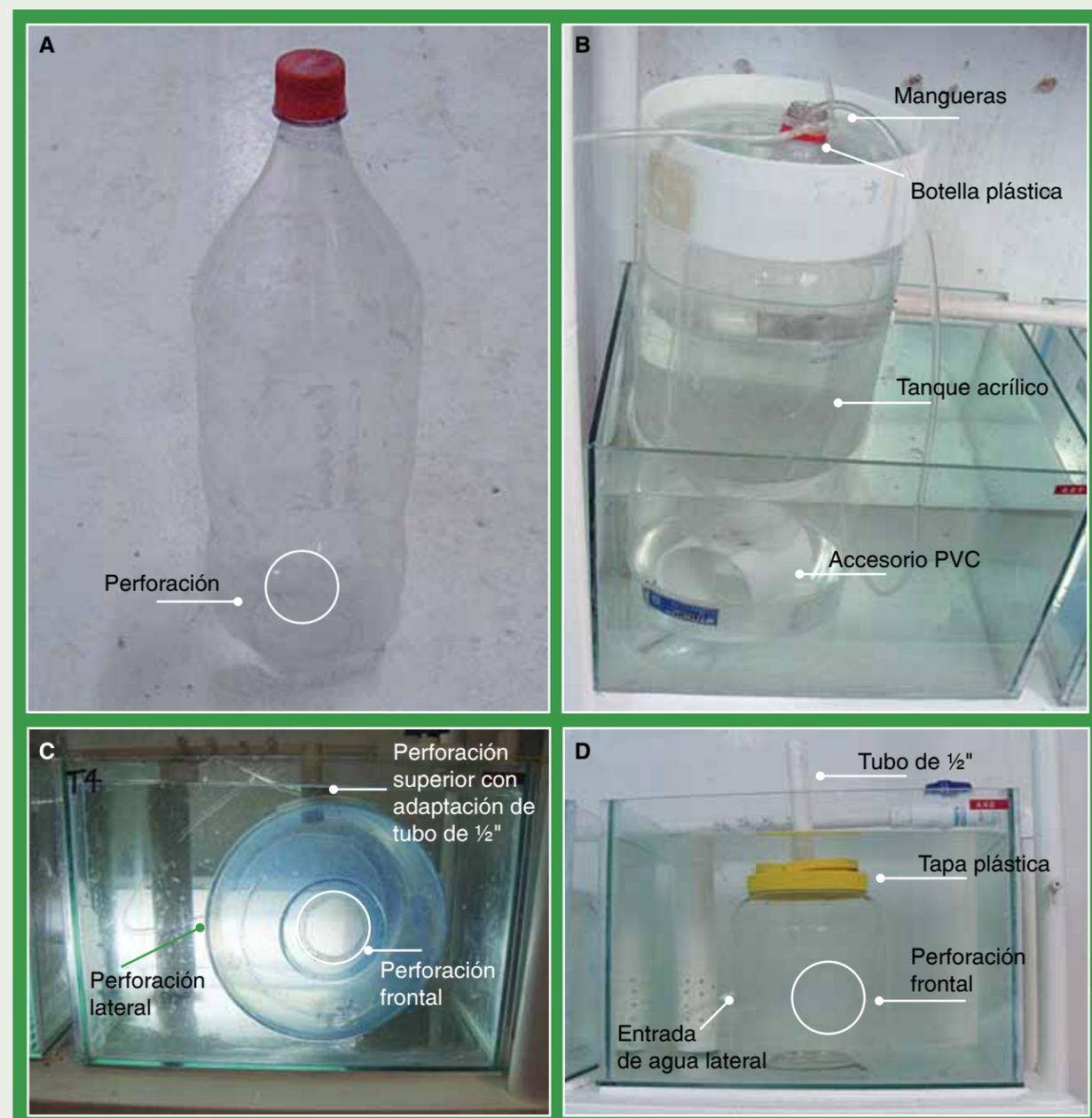


Figura 18. Sistemas para mantenimiento de crías de *H. reidi*. Botella (A y B) y recipientes cilíndricos (C y D).

Dos sistemas fueron los más efectivos: uno con una incubadora circular de 12L y otro cilíndrico de 16L. La incubadora de 12L se construyó usando como base un tanque plástico de agua

de 20L, el cual se cortó en la parte superior y se le colocó una tapa de acrílico en el corte, quedando ajustado contra los vidrios del acuario de 25L. Al tanque se le realizaron cinco entradas de agua

en la parte superior izquierda y dos entradas de aire en la parte media derecha por donde se suministró aeración a la incubadora, con esto se creaba un movimiento circular del agua, permitiendo que las crías se mantuvieran en la

columna y evitando llegar hasta la superficie. La salida de agua se realizó por medio de la perforación que se hizo en la parte inferior-derecha y que se cubrió con un tamiz de 300µm (Sánchez-Cardozo, 2011) (Figura 19).

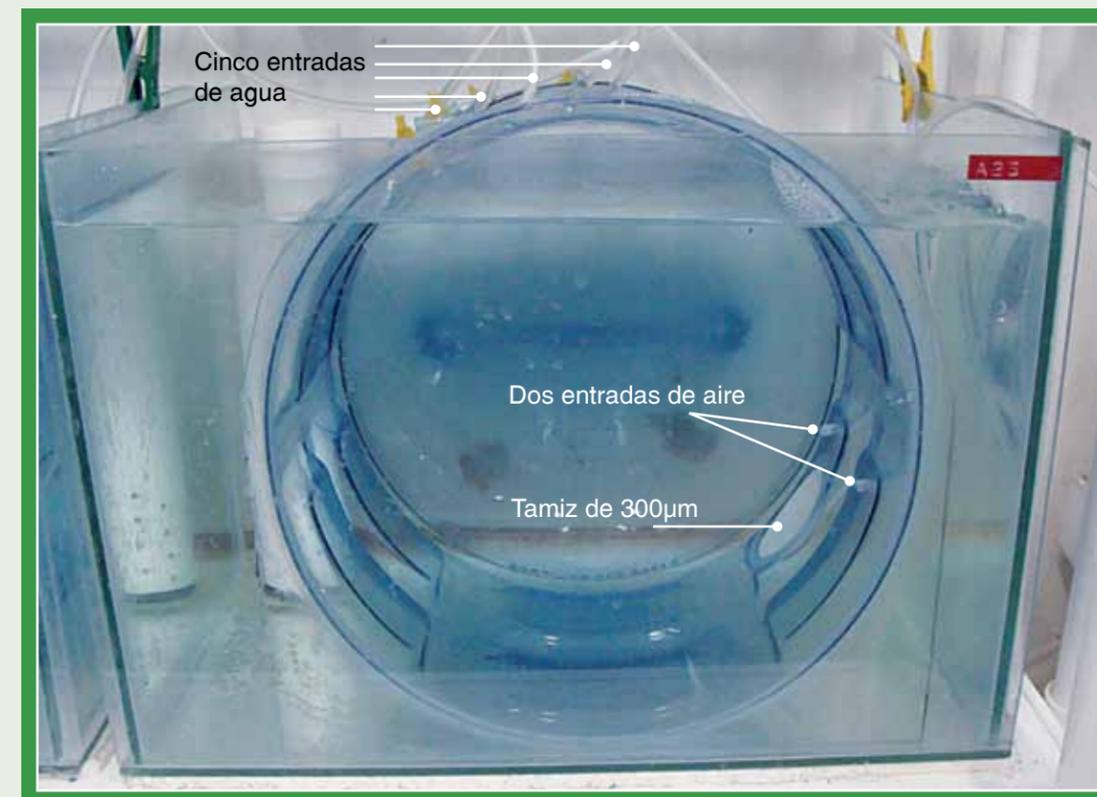


Figura 19. Incubadora de 12L para levante de crías de *H. reidi* (Sánchez-Cardozo, 2011; Ospina-Salazar *et al.*, 2011).

Con este sistema por primera vez los caballitos logran sobrevivir más de una semana, alcanzando en sus primeros ensayos un supervivencia de 18,5% a los ocho días. Este sistema se continuó mejorando y es la base del utilizado actualmente en el LABBIP, con la entrada de agua con el sistema de regadera que se describe más adelante. Durante el proceso las supervivencias continuaron mejorando logrando llegar al 51% por Sánchez-Cardozo (2011).

mantenimiento de los organismos, el sistema se construyó con botellones de 20L, cortados en la parte superior. La entrada de agua se diseñó de tal manera que la caída a manera de regadera sobre toda la superficie rompiera la tensión superficial. El sistema de desagüe consta de dos partes, la interna conformada por un tubo de PVC de ½" de aproximadamente 15cm de largo, con perforaciones, el cual se conecta con accesorios de PVC, a la parte externa constituida por un tubo de 40cm de largo ubicado de forma paralela al botellón de tal manera que regula la salida de agua y al mismo tiempo mantiene el nivel deseado dentro del recipiente (Figura 20).

La incubadora de 16L se fabricó con el fin de manejar con facilidad el volumen en la columna de agua, para ofrecer a las crías la densidad de alimento adecuada y facilitar el manejo y



Figura 20. Sistemas para mantenimiento de crías de *H. reidi* (Pérez, 2011; Ospina-Salazar *et al.*, 2011).

El mejor sistema para la entrada de agua de las dos incubadoras es un sistema de regadera construido con accesorios de PVC y pitillos en el cual se hacen orificios.

Con este sistema se logra un movimiento suficientemente fuerte y en toda la superficie para evitar los puntos muertos y romper la tensión superficial (Figura 21).



Figura 21. Sistema de regadera para la entrada del agua en las incubadoras para levante crías de *H. reidi* (Pérez, 2011; Ospina-Salazar *et al.*, 2011).

Para el desagüe de las incubadoras de 16L, se utiliza un sistema construido con un tubo de PVC con huecos el cual es recubierto por una espuma y esta a su vez por una media velada cuya función es retener las partículas, evitar que los

caballitos se peguen y retener el mayor tiempo posible la Artemia dentro de la incubadora, este sistema también se ha implementado en acuarios de 25L para caballitos mayores de dos meses obteniendo buenos resultados (Figura 22).



Figura 22. Sistemas de filtro para el desagüe de las incubadoras de 16L y acuarios de 25L (Pérez, 2011; Ospina-Salazar *et al.*, 2011).

Adicionalmente se realizó una prueba para el montaje de las incubadoras utilizando un balde plástico de 20L (enviado desde Villavicencio para evaluar este recipiente), el balde es de forma cónica y paredes lisas, semitransparente, se aplicó el mismo principio que a las incubadoras de botellones, con la entrada de agua por regadera y un sistema de desagüe donde se utilizó la botella con el filtro de 300µm (Figura 23). Se introdujeron algunas crías para observar el funcionamiento, concluyendo que

este nuevo recipiente puede manejarse de la misma manera que las incubadoras instaladas en el LABBIP, además permite una mejor visibilidad y un mayor manejo del agua y de las crías. Este sistema fue el que se instaló en Langostinos del Llano LTDA (Figura 24).

Una vez puesto en funcionamiento el sistema y debido a las condiciones propias del lugar, fue necesario realizar algunos ajustes como se muestra en la Figura 25.



Figura 23. Diseño de incubadora utilizada para el mantenimiento de crías de *H. reidi* en Langostinos del Llano LTDA.



Figura 24. Adecuación y montaje de los sistemas de producción de caballito de mar en las instalaciones de langostino del Llano LTDA. (A y B), incubadoras de 20L para levante de crías (C y D), tanques de 110L para reproductores (E), reservorio (F), sistema de bombeo (G) y sistemas en funcionamiento (H e I).



Figura 25. Sistema para el mantenimiento de crías de *H. reidi* en Langostinos del Llano LTDA. Tanques para reproductores (A), incubadoras con tapa para evitar predadores (B), set de incubadoras (C), adecuación de un skimmer (D) y mejora del sistema de desagüe al levantar un poco la esponja del fondo (E).

3.4.5 Área de reproductores de loreto

Los sistemas adecuados en el LABBIP para el mantenimiento de los loreto fueron acuarios de 500 y 900L, adaptados para trabajar tanto en recirculación con el sistema del LABBIP como de manera independiente. Ambos acuarios cuentan con un biofiltro de acrílico con biobolas en un reservorio de donde una

bomba recircula el agua pasando por un filtro de cartucho (Figura 26).

Se acondicionaron diferentes tipos de fondo en los acuarios (conchilla, cascajo o sin relleno) (Figura 27). Todo el material utilizado fue previamente lavado y enjuagado para reducir los riesgos de contaminación.



Figura 26. Montaje de acuarios para los *Gramma loreto*. Sistema para circulación del acuario de 900L (A), detalle del filtro biológico (B y D), chiller y filtro de cartucho (C) y sistema de circulación del acuario de 500L (E).



Figura 27. Adecuación del acuario de 900L para los loreto. Vista superior con los diferentes sustratos (A) y frontal (B) del acuario.

Para los ensayos de reproducción se adaptaron acuarios de 25L, recubiertos con plástico negro excepto en la parte frontal, para proveer un ambiente menos estresante a los peces y evitar enfrentamientos, los acuarios se taparon con láminas de acrílico para impedir que los animales salten. Los acuarios contaban con aeración, fondo de conchilla para evitar su reflejo en el fondo y guaridas en PVC de diferentes

diámetros para refugios e incubación de los huevos (Figura 28).

Una vez realizadas las puestas y fecundados los huevos, estos se transferían a una incubadora construida con una botella de plástico de 2L invertida, con aeración en el fondo para mantener los huevos en constante movimiento (Figura 29A). La incubadora estaba

en un acuario con un calentador para mantener la temperatura entre 26-27°C. Cuando se observaron larvas, éstas fueron transferidas a un tanque de levante que consistía en una ponchera redonda de plástico de 60L (Figura

29B), con poca iluminación y la salida del agua cubierta por una malla de 500µm para evitar el escape de las larvas. El tanque tenía aeración suave y un calentador para mantener la temperatura a 25°C.



Figura 28. Sistema de tanques y montaje realizado a los acuarios para reproducción de parejas de *Gramma loreto*.

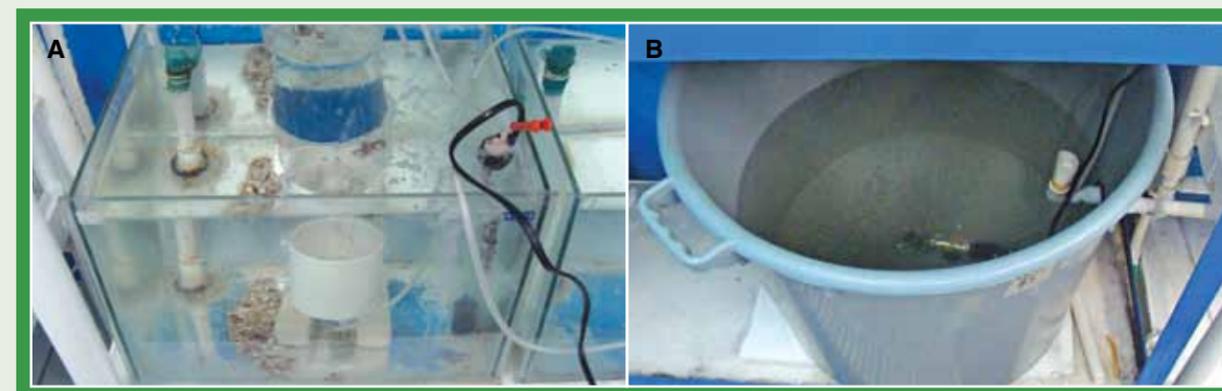


Figura 29. Instalación de la incubadora (A) y tanque de levante para larvas de *G. loreto* (B).

3.5 Manejo de los laboratorios

3.5.1 Mantenimiento de los sistemas y equipos

Parte importante del funcionamiento del laboratorio y de cualquier instalación acuícola tiene que ver

con el manejo apropiado de los sistemas que incluye todo lo relacionado con la limpieza; en el laboratorio se diseñó un instructivo para la realización y el seguimiento de los diferentes sistemas. Este instructivo indica la periodicidad y la forma en que se deben realizar, así como el registro del mantenimiento y el seguimiento de cada uno.

De acuerdo al instructivo IT-LABBIP-006 se anexa la programación del mantenimiento referente al mantenimiento de los sistemas utilizado en el LABBIP (Tabla 1).

Tabla 1. Periodicidad del mantenimiento de los sistemas del LABBIP.

SISTEMA	UNIDAD	TIPO DE LIMPIEZA	PERIODICIDAD
Filtros	Sumergido	Remoción de la arena	Anual
		Retrolavado	Semestral
	Arena	Remoción de la arena y retrolavado	Mensual
	Cartucho	Lavado en agua con cloro	Semanal
Tanques	Esterilizador UV	Lavado de carcasa	Quincenal
	Reservorios	Lavado del tanque	Anual
		Lavado de tanque	Anual
	Biofiltros	Remoción de cascajo	Trimestral
		Lavado de guata	Quincenal
	Tanques elevados	Lavado del tanque	Bimensual
Acuarios	Acuarios	Sifoneo de acuarios y limpieza de excesos de sal del acuario y las tuberías	Semanal
		Lavado de vidrios, y estructuras de PVC	Quincenal
	Canaletas	Sifoneo de canaletas y limpieza de excesos de sal las canaletas y las tuberías	Semanal
		Lavado de canaleta, y estructuras de PVC	Quincenal
Acuarios, canaletas y tanques	Tanques	Sifoneo de tanques y limpieza de excesos de sal los tanques y las tuberías	Semanal
		Lavado de tanques, y estructuras de PVC	Quincenal
Aeración	Blowers	Limpieza de los filtros de aire	Mensual
Eléctrico	Enchufes, lámparas	Limpieza externa	Quincenal

El laboratorio también realiza el mantenimiento de los equipos, el cual depende del tipo de equipo y la frecuencia de uso, pero al menos una vez al año se revisan debido a que trabajan en un ambiente salino que ocasiona problemas de corrosión y humedad. También de acuerdo al organismo con el que se está trabajando y de alimentación se deben ajustar los tiempos de mantenimiento y limpieza con el fin de garantizar las condiciones óptimas.

El personal que trabaja en el laboratorio debe seguir pautas muy estrictas de limpieza y organización, fundamentales para el buen funcionamiento de los sistemas, el control de las actividades, seguimiento de los procesos, detección de errores y establecimiento de comportamientos de los equipos y sistemas, lo cual contribuye al buen funcionamiento y a garantizar las condiciones requeridas por los organismos. También hay que tener presente

en el laboratorio todas las normas de seguridad, así como lo relacionado con el cuidado personal, haciendo correcto uso de los elementos de protección personal.

El seguimiento efectivo de los procesos contribuye al control de los sistemas, a detectar las fallas, realizar observaciones objetivas y a tomar acciones de mejora tanto de los procesos como ajustes al sistema, derivados de las observaciones y seguimientos.

3.5.2 Manejo de los parámetros fisicoquímicos

Los parámetros físicos como: pH, temperatura, salinidad y los químicos que corresponden a las concentraciones de elementos disueltos en el agua, como oxígeno, amonio, nitritos, nitratos, fosfatos; deben establecerse y controlarse ya que la variación puede producir daños en los organismos ocasionando incluso su muerte.

La concentración de oxígeno no debe ser menor al 60% del valor de saturación, el cual en el

medio natural puede llegar a oscilar entre 1,0 y 8,5mg.L⁻¹, ya que depende de la temperatura y la salinidad. La salinidad en el mar tropical oscila entre 34 y 37 y en el LABBIP entre 34 y 36, este parámetro es afectado por la temperatura, ya que su aumento significa una mayor solubilidad de las sustancias disueltas. La temperatura se mide en grados centígrados y el agua del sistema de recirculación debe oscilar entre 22 y 30°C, siendo normal que varíe en el transcurso del día, la cantidad de oxígeno disuelto debe ser mayor o igual a 5,0mg.L⁻¹. El pH en aguas marinas oscila entre 7,6 y 8,4 y en el LABBIP se maneja un rango entre 7,5 y 8,5. Adicionalmente, las concentraciones de nutrientes, resultantes de la degradación por adición de alimento y de los desechos producidos por los organismos, se deben mantener en los niveles apropiados para garantizar la supervivencia y la estabilidad del sistema. Los rangos establecidos como óptimos se relacionan en la Tabla 2 y se incluyó el procedimiento a seguir en caso de que alguno de los parámetros se encuentre fuera de los rangos (Ospina-Salazar *et al.*, 2011).

Tabla 2. Rangos para las concentraciones de nutrientes usadas en el LABBIP (Ospina-Salazar *et al.*, 2011).

PARÁMETRO	VALORES	COLOR	¿QUE HACER?
Oxígeno (mg.L ⁻¹)	≥ 5,6	Verde	Nivel óptimo
	5 - 5,5	Amarillo	Monitorear el valor de oxígeno cada hora para ver si continua disminuyendo Revisar la limpieza y buen funcionamiento de los sistemas Informar al jefe inmediato lo que ocurre
	4 - 4,9	Naranja	Aumentar la aeración Revisar que el blower funcione correctamente Iniciar un recambio de agua del 30%
	≤ 3,9	Rojo	INMEDIATAMENTE realizar un recambio del 70% Si el nivel no aumenta, empacar los organismos para traslado
T° del agua (°C)	24 - 27	Verde	Nivel óptimo
	27,1 - 28	Amarillo	Monitorear la temperatura cada hora para ver si continua aumentando Revisar sistemas de calefacción y enfriamiento Informar al jefe inmediato lo que ocurre
	28,1 - 29	Naranja	Realizar un recambio de agua Utilizar el chiller
	≥ 29,1	Rojo	Enfriar con hielo
Salinidad	23,9 - 23	Amarillo	Monitorear la temperatura cada hora para ver si continua disminuyendo Revisar sistemas de calefacción y enfriamiento, incluido el chiller Informar al jefe inmediato lo que ocurre
	22,9 - 22	Naranja	Realizar un recambio de agua Utilizar termostatos en los acuarios que se necesiten
	≤ 21,9	Rojo	Utilizar termostatos
	34 - 36	Verde	Nivel óptimo
	33,9 - 33	Amarillo	Iniciar un recambio de agua Medir la salinidad continuamente, hasta llegar al valor deseado Informar al jefe inmediato lo que ocurre
	32,9 - 31	Naranja	Agregar una mezcla concentrada de agua de mar artificial
	≤ 30,9	Rojo	Si el nivel no aumenta, empacar los organismos para su traslado
	36,1 - 37	Amarillo	Iniciar un recambio de agua del 30% Medir la salinidad continuamente, hasta llegar al valor deseado Informar al jefe inmediato lo que ocurre
	37,1 - 37,9	Naranja	Iniciar la adición de agua dulce, preferiblemente destilada y mezclarla Medir la salinidad continuamente, hasta llegar al valor deseado
	≥ 38	Rojo	Repetir los pasos anteriores Empacar los peces en bolsas con oxígeno, listos para su traslado

Continuación de Tabla 2.

PARÁMETRO	VALORES	COLOR	¿QUE HACER?
pH	8 - 8,49	Verde	Nivel óptimo
	7,99 - 7,60	Amarillo	Informar al jefe inmediato lo que ocurre
	7,59 - 7,20	Naranja	
	≤ 7,19	Rojo	
	8,50 - 8,79	Amarillo	Informar al jefe inmediato lo que ocurre
	8,80 - 9,09	Naranja	
Amonio NH ₃ (mg.L ⁻¹)	≥ 9,10	Rojo	
	0	Verde	Óptimo
Nitritos NO ₂ (mg.L ⁻¹)	pH 7 - 7,5	Amarillo	Algunas especies pueden ser sensibles a este nivel Buscar la fuente de producción. Iniciar un recambio de agua del 30% Medir nuevamente el amonio, si no han disminuido, repetir el proceso Informar al jefe inmediato lo que ocurre
	≥ 0,5	Naranja	Los peces pueden morir en caso de una larga exposición Iniciar INMEDIATAMENTE un recambio del 50% Medir nuevamente el amonio, si no han disminuido, repetir el proceso Si el nivel no disminuye, empacar los organismos para su traslado
Nitritos NO ₂ (mg.L ⁻¹)	≤ 0,3	Verde	Óptimo
	0,31 - 0,9	Amarillo	Buscar la fuente de producción Iniciar un recambio de agua del 30% Medir nuevamente los nitritos, si no han disminuido, repetir el proceso Informar al jefe inmediato lo que ocurre
Nitratos NO ₃ (mg.L ⁻¹)	≥ 0,91	Naranja	Iniciar INMEDIATAMENTE un recambio del 50% Medir nuevamente el amonio, si no han disminuido, repetir el proceso Si el nivel no disminuye, empacar los organismos para su traslado
	0 - 12	Verde	Nivel óptimo
Nitratos NO ₃ (mg.L ⁻¹)	13 - 25	Amarillo	Buscar la fuente de producción Iniciar un recambio de agua del 30% Medir nuevamente los nitratos, si no han disminuido, repetir el proceso Informar al jefe inmediato lo que ocurre
	≥ 26	Naranja	Iniciar un recambio INMEDIATAMENTE del 50% Medir nuevamente los nitratos, si no han disminuido, repetir el proceso Si el nivel no disminuye, empacar los organismos para su traslado
Fosfatos PO ₄ (mg.L ⁻¹)	≤ 0,1	Verde	Nivel óptimo
	0,2 - 0,9	Amarillo	Buscar la fuente de producción Iniciar un recambio de agua del 30% Medir nuevamente los fosfatos, si no han disminuido, repetir el proceso Informar al jefe inmediato lo que ocurre
Fosfatos PO ₄ (mg.L ⁻¹)	≥ 1	Naranja	Detiene el crecimiento de los corales: Iniciar INMEDIATAMENTE un recambio del 50% Medir nuevamente los fosfatos, si no han disminuido, repetir el proceso Si el nivel no disminuye, empacar los organismos para su traslado

3.5.3 Bioensayos de salinidad y temperatura

Con el fin de validar la información fisicoquímica, se desarrolló un trabajo de grado (Melo, 2010) para establecer los valores de salinidad y temperatura óptima de cultivo para el levante de las crías de *H. reidi*. Se evaluaron cuatro salinidades (27, 30, 33 y 36) y cuatro temperaturas (23, 26, 29 y 32°C). Los animales presentaron un peso inicial promedio de $2,11 \pm 0,86$ mg en el bioensayo de salinidad y $1,83 \pm 0,55$ mg en el de temperatura.

Se utilizaron cuatro sistemas independientes, uno por cada tratamiento a evaluar, cada uno compuesto por tres acuarios y un reservorio de agua. Los recambios de agua en cada sistema se realizaron con un tanque de 200L donde se ubicó una bomba sumergible (32W) (Figura 30). Cada acuario de 25L contenía una incubadora de 12L; en cada sistema se ubicó una bomba sumergible dentro del reservorio de agua, con el fin de mantener la recirculación al interior de cada sistema, de esta manera se mantuvo un flujo constante de agua.

Tabla 3. Protocolo de alimentación realizado en los ensayos de salinidad y temperatura.

Días	Bioensayo de salinidades			
	Alimento	Tamaño de tamiz	Ración.día ⁻¹	Densidad
1 - 5	Rotíferos enriquecidos + Nauplios Artemia	200µm	5	2-5 ind.mL ⁻¹
6 - 15	Nauplios de Artemia	200µm		
16 - 30	Artemia enriquecida	>200µm		
Días	Bioensayo de temperaturas			
	Alimento	Tamaño de tamiz	Ración.día ⁻¹	Densidad
1 - 2	Rotíferos enriquecidos + Nauplios Artemia	200µm	4	3-6 ind.mL ⁻¹
3 - 15	Nauplios de Artemia	200µm		
16 - 30	Artemia enriquecida	>200µm		

Diariamente se monitorearon los parámetros fisicoquímicos del agua, se retiró el material de desecho y el alimento sobrante y se realizó un recambio del 100% del agua del sistema.

Al inicio de cada bioensayo se tomaron 20 individuos de cada lote para registrar el peso. La mortalidad fue registrada diariamente, para evaluar la supervivencia (Figura 31).

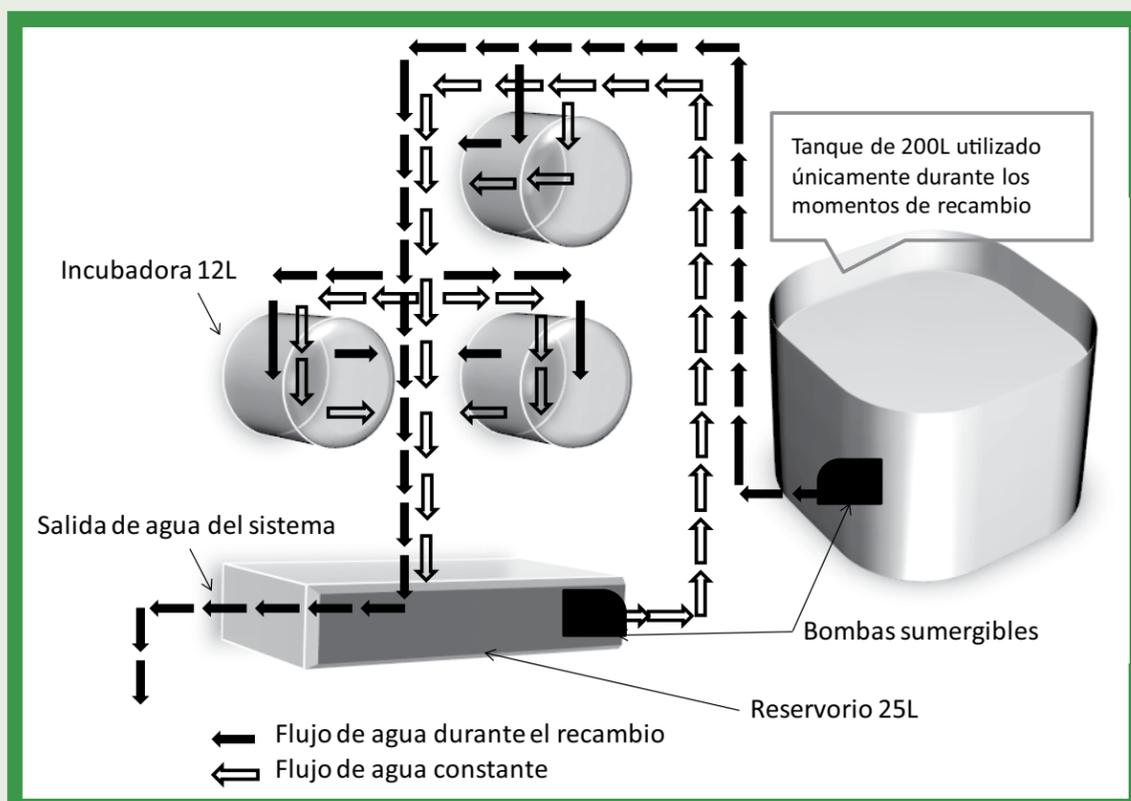


Figura 30. Montaje de los sistemas para el levante de crías de *H. reidi* durante los ensayos de salinidad y temperatura (Melo, 2010).

Una vez nacidas, las crías fueron recolectadas del tanque de reproductores y se distribuyeron manualmente con un vaso de precipitado al azar en cada incubadora. La aclimatación en el bioensayo de salinidad se llevó a cabo durante cuatro días, modificando la salinidad a razón de una parte cada cuatro horas durante el día hasta ajustarla al tratamiento. Para el

bioensayo de temperatura la aclimatación duró dos días, modificando la temperatura de los calentadores sumergibles en 2°C, cada vez que el sistema alcanzaba la temperatura indicada en el calentador, hasta conseguir la temperatura necesaria de cada tratamiento. Las crías de *H. reidi* fueron alimentadas *ad libitum* de acuerdo con las especificaciones de la Tabla 3.



Figura 31. Monitoreo y ajuste de los parámetros fisicoquímicos de los sistemas para el levante de crías de *H. reidi* durante los ensayos de salinidad y temperatura (Melo, 2010).

Para los ensayos de salinidad se sembraron un total de 36 crías de *H. reidi* por incubadora, obteniendo una densidad inicial de 3 ind.L⁻¹. Al final del experimento, la supervivencia de las crías no difirió significativamente entre los tratamientos, sin embargo se encontró una relación entre la supervivencia y las salinidades estudiadas ($r^2= 0,86$). Luego de 30 días, el mayor porcentaje ($17,59\pm2,52\%$), se presentó

en el tratamiento a 27 mientras que las crías cultivadas a 36 presentaron el menor porcentaje ($7,41\pm2,31\%$) con tan solo ocho individuos. El comportamiento de la supervivencia a lo largo del estudio muestra que del tercer al sexto día se presenta entre el 60 al 70% de mortalidad de las crías en todos los tratamientos, durante los días siguientes, la tasa de mortalidad disminuye (Figura 32).

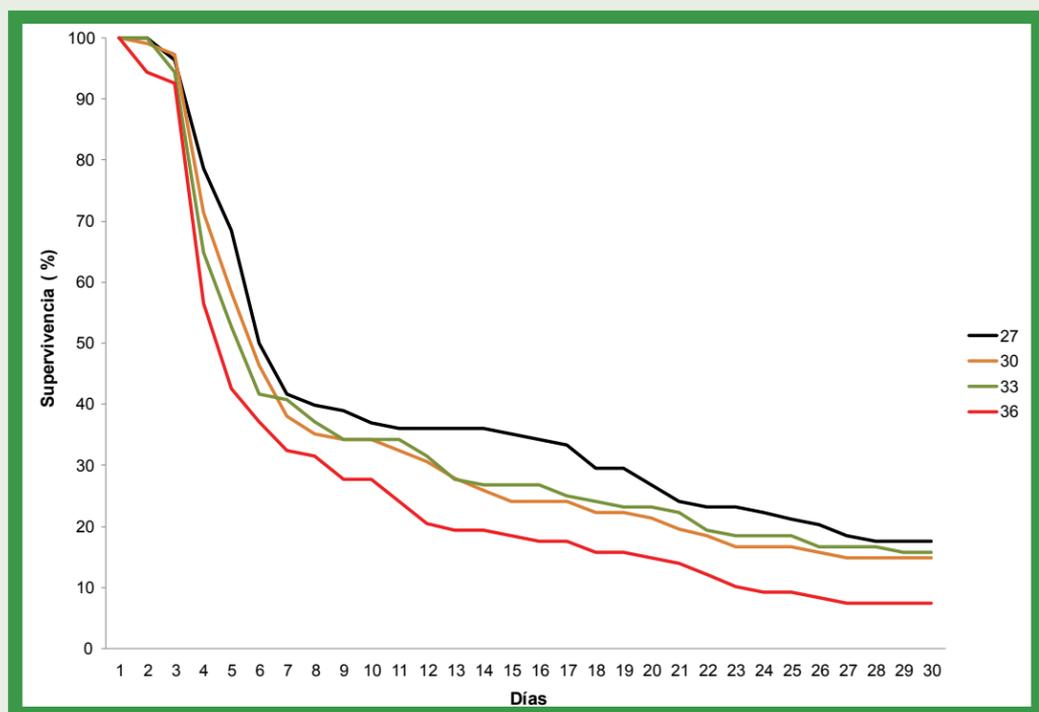


Figura 32. Comportamiento de la supervivencia (%) en crías de *H. reidi* cultivadas a diferentes salinidades.

En general, los caballitos de mar cultivados a diferentes salinidades no presentaron diferencias significativas en crecimiento; sin embargo, se observan algunas diferencias cualitativas entre los tratamientos, es así como el mayor crecimiento en peso ($54,2\pm22,3\text{mg}$) se registró a una salinidad de 36, y aunque los tratamientos a 27, 33 y 30 presentaron valores similares que no difirieron en más de 5mg, si se encontró una relación entre el peso y las salinidades evaluadas ($r^2= 0,99$). Es importante resaltar que a 36 la variación en peso de los organismos (D.E.) alcanzó los 22mg que corresponde al 41% del peso promedio final,

en contraste con los tratamientos a 27, 30 y 33 en donde las variaciones oscilaron en 6 y 13mg, y corresponden entre el 13-28% del peso promedio final.

Para el bioensayo de temperaturas la salinidad utilizada en todos los tratamientos fue de 27, correspondiente al mayor porcentaje de supervivencia en el bioensayo anterior. Las diferencias en la temperatura del agua incidieron significativamente en la supervivencia ($P=0,03$). Las crías cultivadas a 23°C tuvieron un porcentaje de supervivencia de $20\pm2,64\%$ mientras que a 32°C todas murieron luego de nueve días de bioensayo (Tabla 4).

Tabla 4. Parámetros de crecimiento y supervivencia en crías de *H. reidi* cultivadas a diferentes temperaturas. Los valores son expresados en promedio \pm D.E de tres réplicas.

Cálculos	Temperatura (°C)			
	23	26	29	32
Peso inicial (mg)	1,83 \pm 0,56	1,83 \pm 0,56	1,83 \pm 0,56	1,83 \pm 0,56
Peso final (mg)	33,43 \pm 2,30 ^a	52,05 \pm 7,54 ^a	44,13 \pm 24,08 ^a	-
LS ¹ (mm)	27,46 \pm 0,47 ^a	31,34 \pm 1,78 ^b	29,07 \pm 6,03 ^a	-
PG ² (%)	1726,96 \pm 125,84 ^a	2744,26 \pm 411,80 ^a	2311,66 \pm 1315,96 ^a	-
GPI ³ (mg.día ⁻¹)	1,05 \pm 0,08 ^a	1,67 \pm 0,25 ^a	1,41 \pm 0,80 ^a	-
TEC ⁴	9,65 \pm 0,24 ^a	11,28 \pm 0,68 ^a	10,62 \pm 1,93 ^a	-
K ⁵	0,15 \pm 0,01 ^a	0,16 \pm 0,01 ^a	0,17 \pm 0,02 ^a	-
Supervivencia (%)	20,00 \pm 2,64 ^a	16,19 \pm 3,05 ^{ab}	1,43 \pm 1,73 ^b	0

En cada fila letras distintas indican diferencias significativas ($P>0,05$). 1: Longitud estándar final; 2: Peso ganado; 3: Ganancia de peso individual; 4: Tasa específica de crecimiento; 5: Factor de condición.

En el comportamiento de la supervivencia a lo largo del estudio se observa que la mayor mortalidad al igual que el bioensayo anterior se presenta entre el tercer y sexto día, no obstante a 32°C este comportamiento se mantuvo hasta el noveno día donde murieron la totalidad de las crías. Después de la primera semana en los tratamientos a 23 y 26°C, la mortalidad

disminuye, mientras que a 29°C, aunque la pendiente se reduce un poco, la mortalidad continua siendo bastante alta sobreviviendo únicamente tres organismos al finalizar el bioensayo (Figura 33). De esta manera se observó una relación inversamente proporcional ($r^2=0,83$) entre la temperatura y la supervivencia en el intervalo evaluado.

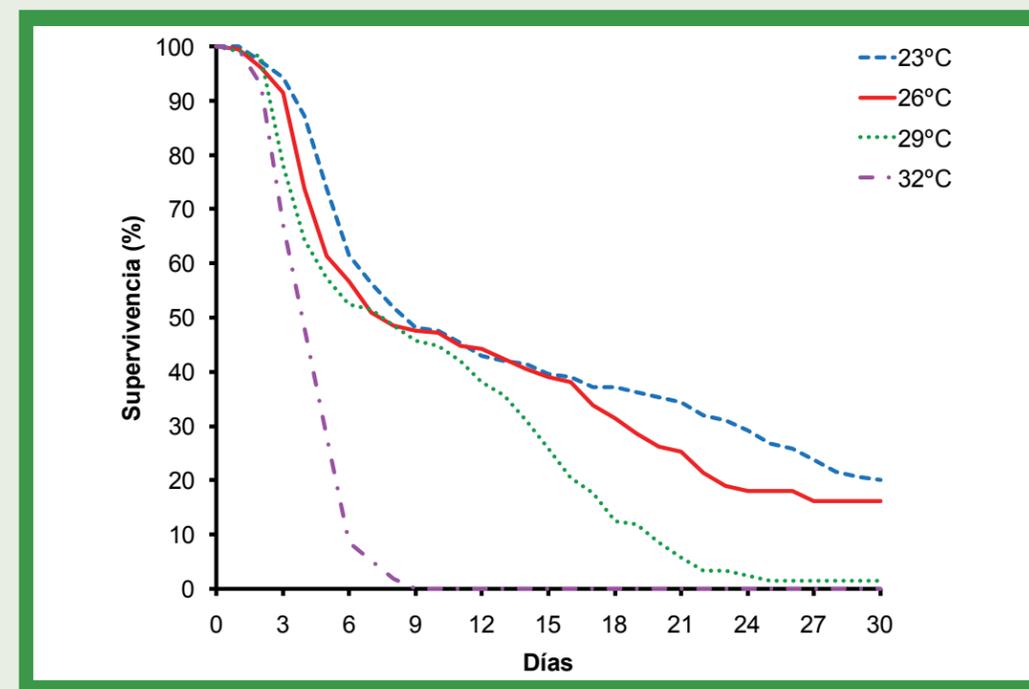


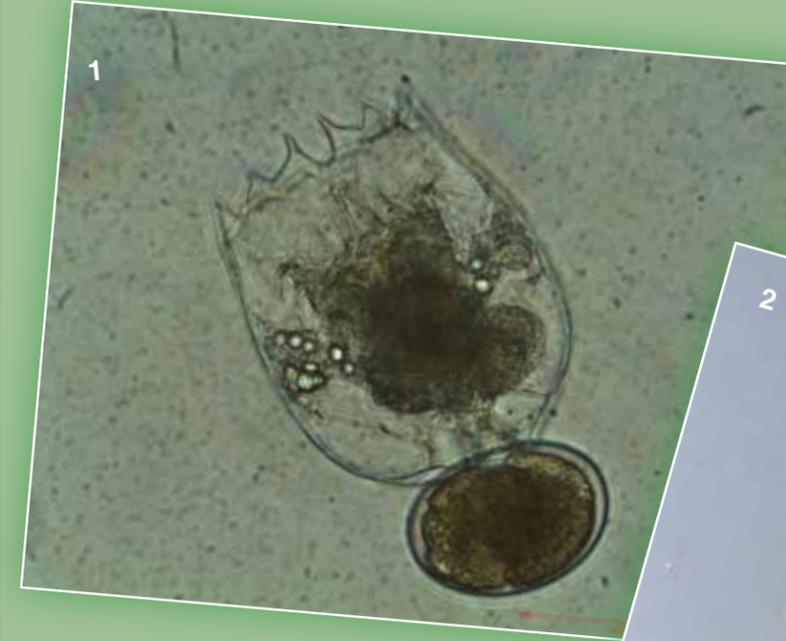
Figura 33. Comportamiento de la supervivencia (%) en crías de *H. reidi* cultivadas a diferentes temperaturas.

A 26°C se encontraron los caballitos más grandes ($31,34 \pm 1,78$ mm) y más pesados ($52,05 \pm 7,54$ mg); sin embargo, al analizar la D.E. de los datos en estas dos variables, se observa un aumento en el rango de los datos conforme aumenta la temperatura.

3.5.4 Consideraciones adicionales para el manejo de organismos

Además de tener en cuenta las variables fisicoquímicas, los diseños de los sistemas y de los acuarios y tanques es importante recordar la necesidad de establecer un área de cuarentena y enfermería. Esta área debe estar adecuada con todas las condiciones para el mantenimiento de los organismos, debe estar aislada y tener un control más cuidadoso de los parámetros y de los cambios. En estos acuarios o tanques

se realizarán las labores de aclimatación cuando llegan los organismos. Se hacen las observaciones sobre el comportamiento inicial, el estado de salud, si se alimenta o no y si tiene reacciones adversas en cautividad. También puede utilizarse para aislar a los organismos que muestran síntomas de enfermedad, con el fin de realizar el seguimiento, tratamiento si lo hay, y observaciones relacionadas con su evolución. Estas áreas deben estar completamente aisladas, y los materiales utilizados deben ser de uso exclusivo con el fin de evitar la contaminación del sistema tanto por agentes patógenos externos como por la proliferación de microorganismos del sistema, ya que en ocasiones las bacterias están presentes pero no se desarrollan hasta que se dan condiciones adecuadas, como pueden ser heridas, cambios en la temperatura o el pH, etc.



1. Mysicadeceo: *Mysidium columbiae*.
2. Rotífero: *Brachionus plicatilis*.
3. Artemia: *Artemia franciscana*
Foto: Archivo LABBIP.

4. ALIMENTO VIVO

4.1 Fitoplancton

Las microalgas son un grupo de plantas unicelulares que en el medio marino constituyen el fitoplancton, su tamaño varía entre las 2 y 200µm y a nivel mundial se cultivan muchas especies, la mayoría de ellas auxotróficas, es decir que adicionalmente a la luz y presencia de CO₂, requieren sustancias orgánicas en muy baja cantidad para su desarrollo (Torrentera y Tacon, 1989; Velasco *et al.*, 2008).

En términos generales, las especies que se cultivan han sido seleccionadas por poseer un potencial para formar cultivos de abundante biomasa en poco tiempo, tamaño celular, alta digestibilidad y valor nutricional (Muller, 2000); con respecto a este último punto, es clave conocer la composición química de las especies cultivadas, principalmente en aminoácidos y ácidos grasos esenciales, puesto que un

alimento bajo o pobre en nutrientes, puede llegar a causar un desarrollo anormal y una muerte masiva de las especies de cultivo (Álvarez-Lajonchère y Hernández-Molejón, 2001; Van Hauwaert *et al.*, 2007). Para nuestro caso particular, las especies seleccionadas que se cultivan en el laboratorio son *Isochrysis galbana* y *Nannochloropsis sp.*

Para el mantenimiento del cepario de microalgas se estableció un protocolo como se muestra en las Figura 34 y 35, que incluye esterilizar el material de cultivo mediante autoclavado, observar el cultivo, preparar los medios, siembra, revisar los cultivos que se van a utilizar como inóculos y usar solo los que estén sanos, y realizar conteos para determinar la densidad algal (Ospina-Salazar *et al.*, 2011). Se recomiendan densidades de 1x10⁶cel.mL⁻¹ como inóculos para cultivos masivos (Paniagua *et al.*, 1989).



Figura 34. Actividades para el mantenimiento del cepario de microalgas en el LABBIP (Ospina-Salazar *et al.*, 2011).

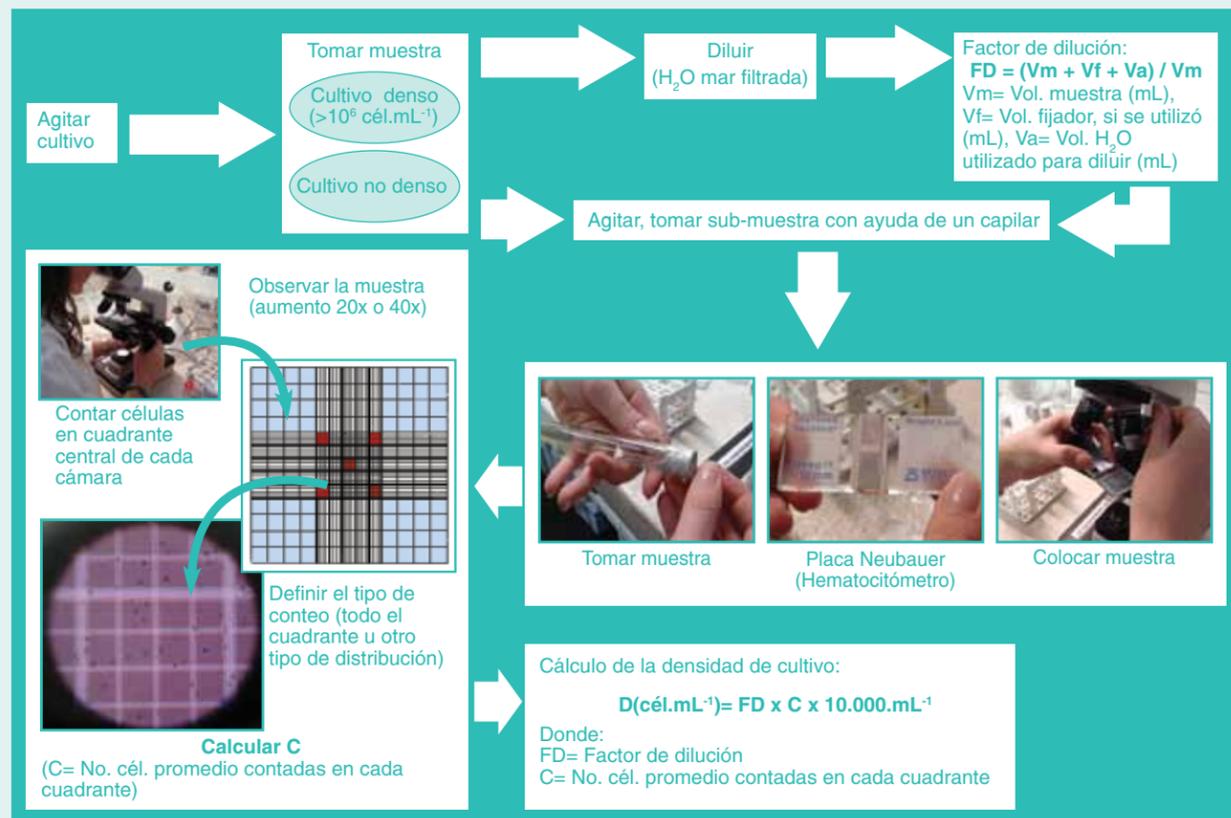


Figura 35. Protocolo para la determinación de la densidad algal (Ospina-Salazar *et al.*, 2011).

Para determinar si un cultivo está sano se utilizan los siguientes parámetros:

- Alta densidad.
- Crecimiento en fase exponencial.
- No presentar espuma.
- No presentar precipitado.
- No estar contaminado por otras especies.
- Células intactas, de tamaño homogéneo que no estén agrupadas.

Para el mantenimiento del ceparario en el LABBIP, se utilizó como medio de cultivo, el medio de Guillard F/2. La temperatura se mantuvo entre los 18-23°C y el cultivo masivo entre 19-24°C. La iluminación fue con lámparas T8 de 30W. En la Tabla 5 se presentan las condiciones óptimas de cultivo de acuerdo con diferentes autores.

4.2 Zooplancton

4.2.1 Cultivo de rotíferos

Los rotíferos, son un grupo de organismos

microscópicos entre los 0,1-0,5mm, compuesto por 2.200 especies distribuidas en diferentes tipos de hábitat semiacuáticos y acuáticos. Su cuerpo se encuentra diferenciado en tres partes: 1) La cabeza donde se encuentra el órgano rotatorio o corona, con la cual el animal es capaz de moverse y crear corrientes para atraer las partículas de comida, 2) El tronco, el cual contiene el tracto digestivo, sistema excretor y genitales y 3) El pie para adherirse al sustrato (Ortega, 1991; Lavens y Sorgeloos, 1996; Brusca y Brusca, 2003). Solo unas pocas especies del género *Brachionus* son cultivadas masivamente en acuicultura y se clasifican en dos morfotipos: *Brachionus rotundiformis* o rotíferos pequeños (Tipo S, con 100 a 210mm de tamaño) y *B. plicatilis* o rotíferos grandes (Tipo L, entre 130-340mm en talla) (Lavens y Sorgeloos, 1996). En la Figura 36 se detallan las condiciones, dietas, inóculos, densidades y tiempo necesario para iniciar un cultivo de rotíferos.

Tabla 5. Condiciones generales para el cultivo de microalgas (Ospina-Salazar *et al.*, 2011).

Parámetro	Rango óptimo (Lavens y Sorgeloos, 1996)	Rango óptimo (Torrentera y Tacon, 1989)	Rango óptimo LABBIP
Temperatura (°C)	18-24	15-22	20-22 (cepario) 22-26 (masivo)
Salinidad	20-24	37	32-36
Intensidad lumínica (lux)	2.500-5.000	2.000-4.000	Dependiendo del volumen y la densidad
Fotoperiodo (horas luz: oscuridad)	16:8 (mínimo) 24:0 (máximo)		10:14 (mínimo) 24:0 (máximo)
pH	8,2-8,7	7-9	7,6-8,5



Figura 36. Procedimiento para la siembra e implementación del cultivo de rotíferos *B. plicatilis* (Ospina-Salazar *et al.*, 2011).

El cultivo de rotíferos *B. plicatilis* se realiza en tanques de 200L de color blanco, con iluminación constante, aeración suave, temperatura entre 26 y 27°C, salinidad de 35 (donde se presenta la mayor tasa de reproducción) y pH entre 7,5 a 8,5.

Para el mantenimiento del cultivo se deben realizar limpiezas parciales del tanque para evitar acumulación de detritos. Para la cosecha o extracción de rotíferos del tanque se utiliza un filtro de 60µm sumergido en parte dentro de un balde con agua de mar, para evitar que los rotíferos queden secos o se lastimen. Con una manguera o una llave en su parte inferior del tanque, se procede a colectar el volumen deseado sobre el filtro. Los rotíferos retenidos en él se enjuagan con abundante agua y así pueden ser utilizados como alimento. Es muy común que los rotíferos puedan fácilmente contaminarse con bacterias o ciliados provenientes del agua o de los cultivos de microalgas con los que se alimenten (Lavens y Sorgeloos, 1996), en ocasiones si una contaminación con ciliados no se trata a tiempo puede eliminar por completo un cultivo en cuestión de uno o dos días (Ospina-Salazar *et al.*, 2011).

4.2.2 Cultivo de Artemia

La Artemia es un género de crustáceos Branquiópodos conocidos vulgarmente como Artemias de la cual se conocen hasta el momento 12 especies, son organismos ampliamente distribuidos que habitan las salinas costeras y lagos salados en todo el mundo. Su cuerpo en estado adulto mide entre 17-18mm y se encuentra diferenciado en tres partes: cabeza, torax y abdomen, la hembra posee un ovisaco donde incuba sus huevos (Torretera y Tacon, 1989; Ortega, 1991; Brusca y Brusca, 2003). Desde las primeras publicaciones sobre los beneficios nutricionales que poseían los nauplios, (Seale, 1933; Rollefsen, 1939), las Artemias se convirtieron en una de las dietas vivas más utilizadas en la larvicultura de peces y crustáceos cultivados. Además, aunque sus huevos pueden desarrollarse de forma normal, bajo condiciones adversas se presenta el fenómeno de criptobiosis en el cual se producen quistes que se mantienen así mientras permanezcan secos y al hidratarse, continúan su desarrollo normal a nauplios en la

actualidad, estos quistes son comercializados secos y envasados en latas al vacío (Torretera y Tacon, 1989; Lavens y Sorgellos, 1996; Álvarez y Hernández, 2001; Brusca y Brusca, 2003).

En el LABBIP el cultivo de Artemia se desarrolló con *Artemia franciscana*. Para las necesidades de producción del laboratorio se desarrollaron varios sistemas tipo "batch" en el cual se utilizan tanques de 20L y dos tanques cónicos de 500L (Figura 37); los nauplios al ser cosechados son depositados en estos tanques y mantenidos por diferentes períodos de tiempo, de acuerdo con el tamaño de alimento requerido por los caballitos y loretos.

El proceso de descapsulación presenta tres etapas: hidratación, decapsulación propiamente dicha y lavado y desactivación de los residuos. Una vez decapsulados, los quistes se pueden usar inmediatamente para la obtención de nauplios, almacenarse en refrigeración por no más de una semana o desecarse y almacenarse por semanas o meses en un congelador (Sorgeloos *et al.*, 1986; Ortega, 1991). El protocolo para la producción de Artemia en el LABBIP que se describe en la Figura 38; recomienda un tiempo no mayor a 17h de eclosión para obtener un mayor porcentaje de nauplios recién eclosionados, especialmente cuando los caballitos están recién nacidos y su tamaño de boca es muy pequeño, si las crías ya tienen una semana, la Artemia puede eclosionarse después de 24h, donde ya los nauplios presentan un mayor tamaño.

Como los nauplios presentan fototropismo positivo, se puede enfocar una luz hacia el fondo del tanque para tratar de concentrarlos en un solo punto y la separación de los huevos sea más efectiva (Lavens y Sorgeloos, 1996). Una vez se han colectado las Artemias en el filtro de 125µm, la porción de huevos retenida en el filtro de 200µm es nuevamente colocada a eclosionar por otras 24h para colectar los nauplios que no habían eclosionado y con ello aprovechar al máximo el producto, repitiendo el proceso de sifoneo y separación para finalmente descartar los quistes que no eclosionaron (Ospina-Salazar *et al.*, 2011).



Figura 37. Cultivo de Artemia. Filtración (A), tanque para engorde (B) y sistema para eclosión y levante (C) (Ospina-Salazar *et al.*, 2011).



Figura 38. Protocolo para la eclosión y cosecha de nauplios en el LABBIP (Ospina-Salazar *et al.*, 2011).

En la Tabla 6 se muestran las condiciones generales tenidas en cuenta para la eclosión

de quistes de *Artemia* recomendadas por varios autores.

Tabla 6. Condiciones generales para eclosión de quistes de *Artemia* (Ospina-Salazar *et al.*, 2011).

Parámetro	Sorgeloos <i>et al.</i> , 1986	Lavens y Sorgeloos, 1996	Ortega, 1991	LABBIP
Temperatura (°C)	25-30	25-28	28-30	25-28
Salinidad	5	5-35	28-30	15
Luz	2 tubos de 40W fluorescentes	2.000 lux en la superficie del agua	1 tubo fluorescente encima del tanque	1 tubo de 30W fluorescente en tanques de 20L
Oxígeno (mg.L ⁻¹)	>2	5	>1	5-7
pH	>8	>8	8,0-8,2	7,95-8,40

Para la alimentación de la *Artemia* se manejan tres tipos principales de alimento: la microalga *Isochrysis galbana*, *Spirulina* en polvo (2,5g *Spirulina*.L⁻¹ H₂O mar filtrada) y una mezcla enriquecida preparada con alimento para pescado Sera Marin GVG-mix®, harina siete granos (maíz, arroz, trigo, avena, cebada, soya, lenteja), harina de arroz, emulsión de Scott®, Protein Selco Plus®, ácido graso esencial docosahexaenoico (DHA), ácido graso esencial eicosapentaenoico (EPA) y ácido graso esencial araquidónico (ARA) (Ospina-Salazar *et al.*, 2011).

La preparación de esta mezcla puede hacerse con otro tipo de ingredientes de acuerdo con la disponibilidad del productor, pero se recomienda que por lo menos el preparado contenga alimento para pescado, emulsión de Scott y si es posible algún tipo de enriquecedor con contenidos altos de HUFA, nutrientes que de acuerdo con los estudios realizados en el LABBIP son esenciales para el correcto desarrollo de los caballitos de mar. Otra opción es realizar preparados de bajo costo hasta obtener el tamaño deseado de *Artemia* y la noche anterior a suministrarlas a los animales, adicionarles un preparado o enriquecedor altamente nutritivo (Ospina-Salazar *et al.*, 2011). Durante el desarrollo de algunos experimentos se utilizaron diferentes enriquecedores los cuales se describen en el apartado correspondiente a los experimentos de alimentación.

Los nauplios recién eclosionados no se alimentan ya que su aparato digestivo aún no es funcional, después de 24h el animal muda al segundo estado larvario y empieza a alimentarse; las *Artemias* son organismos filtradores que consumen partículas entre 1-40µm (Sorgeloos *et al.*, 1986). Para su alimentación en el LABBIP se manejan tres raciones durante el día, tratando en lo posible de que cada una de las raciones sea con una fuente diferente de alimento que en conjunto, le proporcione un paquete más completo de nutrientes y que éstas se mantengan en enriquecimiento prolongado (Ospina-Salazar *et al.*, 2011).

Uno de los factores importantes durante el desarrollo de *H. reidi* tiene que ver con su selectividad para escoger las presas, especialmente por la densidad y el tamaño. Al suministrar a los animales alimento de tallas por encima o por debajo de su rango hace que no se interesen por las presas dejando de comer (Sánchez-Cardozo, 2011). Por esto una vez los animales son juveniles requieren alimento de mayor tamaño y también cambian los requerimientos nutricionales por lo que en el laboratorio además de *Artemia* adulta enriquecida, se utilizan misidáceos, que son crustáceos malacostráceos de amplia distribución geográfica que incluye aguas tropicales y subtropicales, ocupan ambientes acuáticos diversos, forman agregaciones

en aguas tranquilas y transparentes y en áreas de arrecifes coralinos que poseen lugares protegidos de corrientes. Son de gran importancia trofodinámica, tanto por su papel detritívoro y herbívoro como por ser la fuente alimenticia para peces, macrocrustáceos y

otras especies (Yamamura e Inada, 2001). En el laboratorio se utilizan *Mysidium columbiae* colectados del medio natural, los cuales se suministran vivos o congelados dos a tres veces al día, dependiendo de la disponibilidad en el medio (Figura 39).



Figura 39. Colecta y conservación de misidáceos para alimento (A) y ejemplar de *Mysidium columbiae* (B).

Como una alternativa para alimentar a los caballitos de mar tanto juveniles grandes como adultos principalmente en las instalaciones en Villavicencio, se están utilizando camarones de agua dulce *Macrobrachium rosenbergii*, producidos en las instalaciones de Langostinos del Llano LTDA. Los camarones se mantienen

en tanques de cemento con agua dulce y aeración, el día antes de alimentar a los juveniles o adultos, éstos deben ser alimentados con peletizados ricos en ácidos grasos insaturados para enriquecerlos y ofrecerlos a los caballitos, quienes los comen ávidamente (Figura 40).

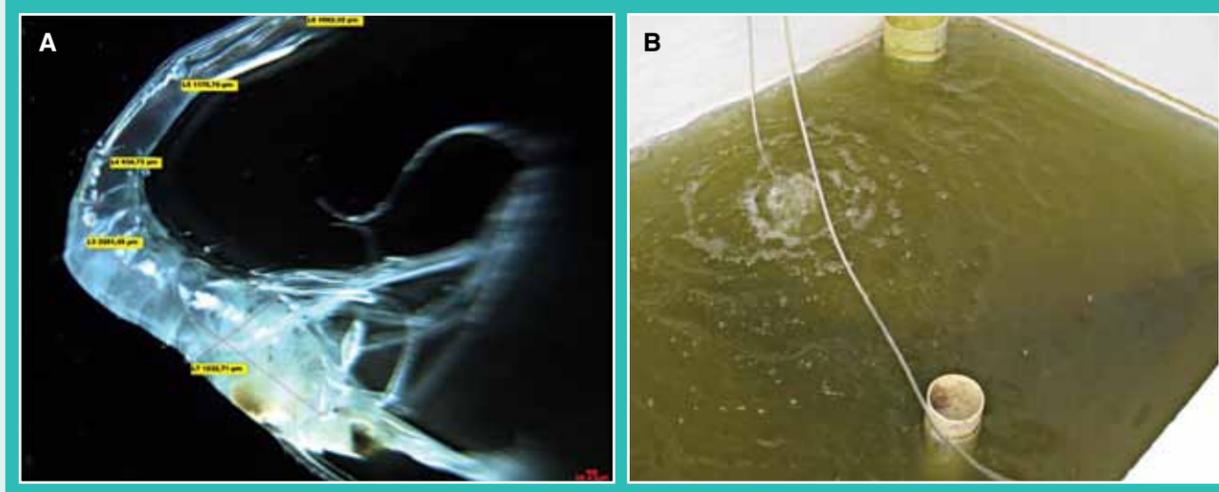
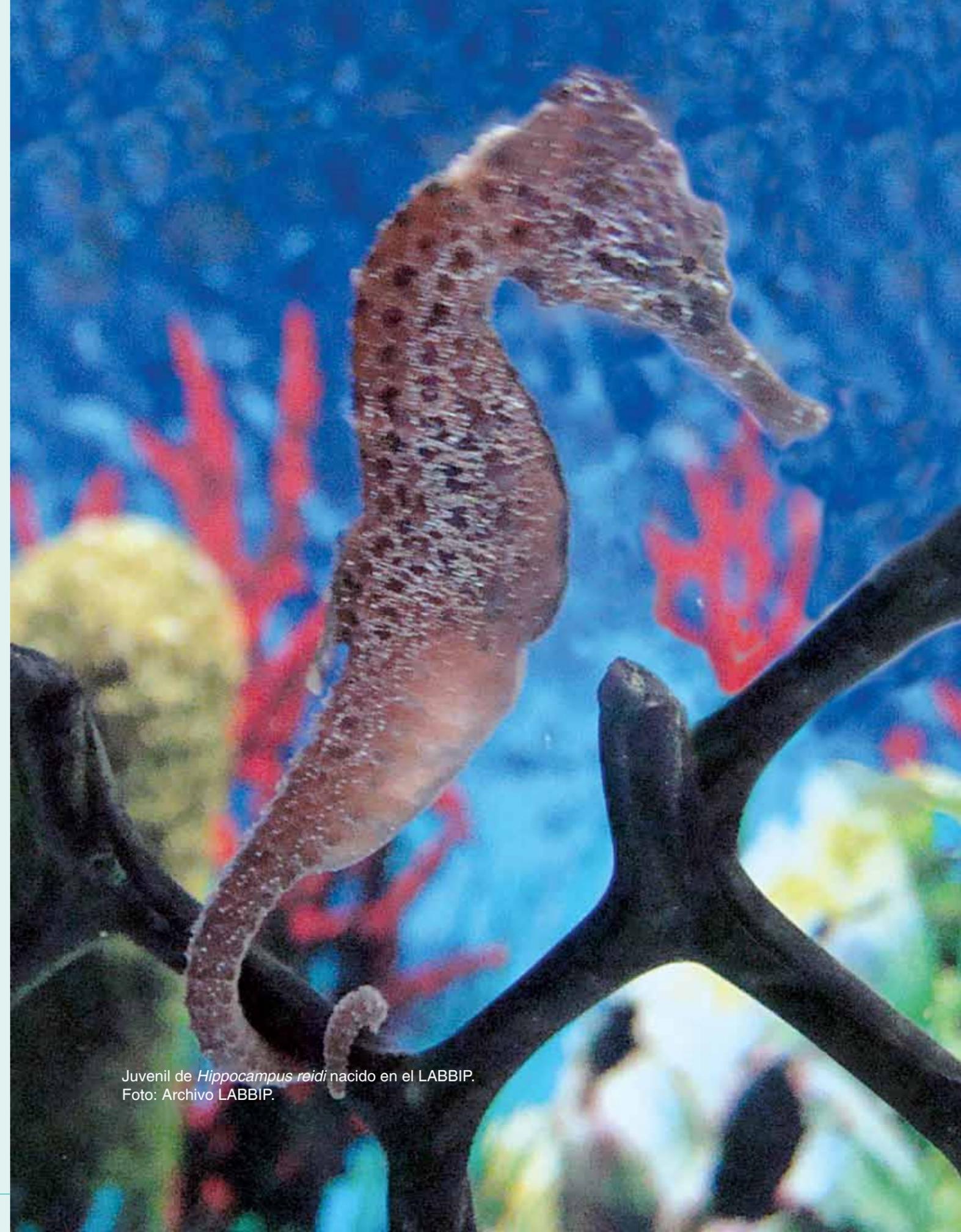


Figura 40. Camarones de agua dulce. Individuo con las medidas (Escala 98,43µm) (A) y tanques donde se cultivan (B).



Juvenil de *Hippocampus reidi* nacido en el LABBIP.
Foto: Archivo LABBIP.

5. HIPPOCAMPUS REIDI

5.1 Transporte de animales

El transporte de peces, es una de las actividades más importantes en el mantenimiento y cultivo de estos organismos, durante esta actividad los organismos sufren diferentes tipos de estrés relacionados con el confinamiento, los cambios en las condiciones físicas y químicas del agua, así como movimientos inusuales. Por esto se debe contar con diferentes alternativas de embalaje que contengan agua sin que se salga, donde puedan ser empacados cierto número de peces y que su envío sea de manera rápida y directa, una vez hayan sido ubicados en los recipientes seleccionados (Bocek, 2000).

Como primera medida para el transporte de animales se requiere que toda la documentación relacionada con la movilización, captura o producción y con el cumplimiento de la reglamentación este completa y actualizada. Además hay que contar con personal calificado tanto en el proceso de empaque como durante la recepción, incluir un listado de organismos enviados, que indique claramente la procedencia y el destino; también es importante que se anexe un protocolo para el manejo de los animales especialmente si tiene algunas condiciones particulares en cuanto a requerimientos fisicoquímicos o de espacio, entre otras.

Para transportar los caballitos de mar se deben seleccionar los organismos, garantizando que se encuentren en perfecto estado de salud, para posteriormente empacarlos de forma individual. Se recomienda no alimentar los animales por al menos 12h antes del envío, para no generar productos de excreción que carguen de nutrientes el agua, además cuando su sistema digestivo está libre de alimento, los peces soportan mejor el transporte. El agua donde se colocará el animal debe ser de óptima calidad (temperatura, salinidad y pH) y el manejo debe hacerse de forma muy delicada para no generar daños físicos o estrés, se debe

evitar que el organismo entre en contacto con el aire atmosférico para no generar problemas de burbuja.

Para el empaque se utilizan bolsas plásticas de poco diámetro pero de suficiente altura y fondo plano (10x30cm), se colocan dos bolsas una dentro de la otra para evitar fuga o goteo de agua. Estas se deben llenar con agua a una altura que más o menos duplique el tamaño del animal, pero que aproximadamente el 50% de la bolsa quede vacía, esta porción sobrante se deberá llenar con oxígeno inyectado en una proporción de ¼ de tamaño de la misma, evitando que entre en contacto directo con el agua y genere burbujas, el sobrante de bolsa debe ser suficiente para poder cerrar y asegurar la boca con una banda de caucho para evitar que se escape el oxígeno. Se debe tener en cuenta que la densidad de animales no depende tanto del volumen de agua sino de la cantidad de oxígeno suministrado (Sepherd y Bromage, 1988). Una vez empacados los animales, se colocan dentro de una caja de icopor recubierta con una lámina de espuma, que además da soporte para las bolsas logrando que queden ajustadas, manejando 10 animales por cava, ésta se tapa tratando de que quede herméticamente sellada (Figura 41).

El transporte se hace vía terrestre o aérea o una combinación de ambas, dependiendo del destino final, hay que resaltar que lo ideal es que se escoja la ruta y medio de transporte más rápido, suave y directo posible (Bocek, 2000). Es importante tener en cuenta no solo la duración del viaje sino el tiempo en la aduana, ya que no se puede adicionar oxígeno para continuar el recorrido. Además hay que tener en cuenta la cuarentena que exigen algunos países, antes de permitir el ingreso de animales hasta confirmar que estén libres de agentes patógenos o invasores. Una vez los animales lleguen a su destino deberá iniciarse el proceso de aclimatación y cuarentena.

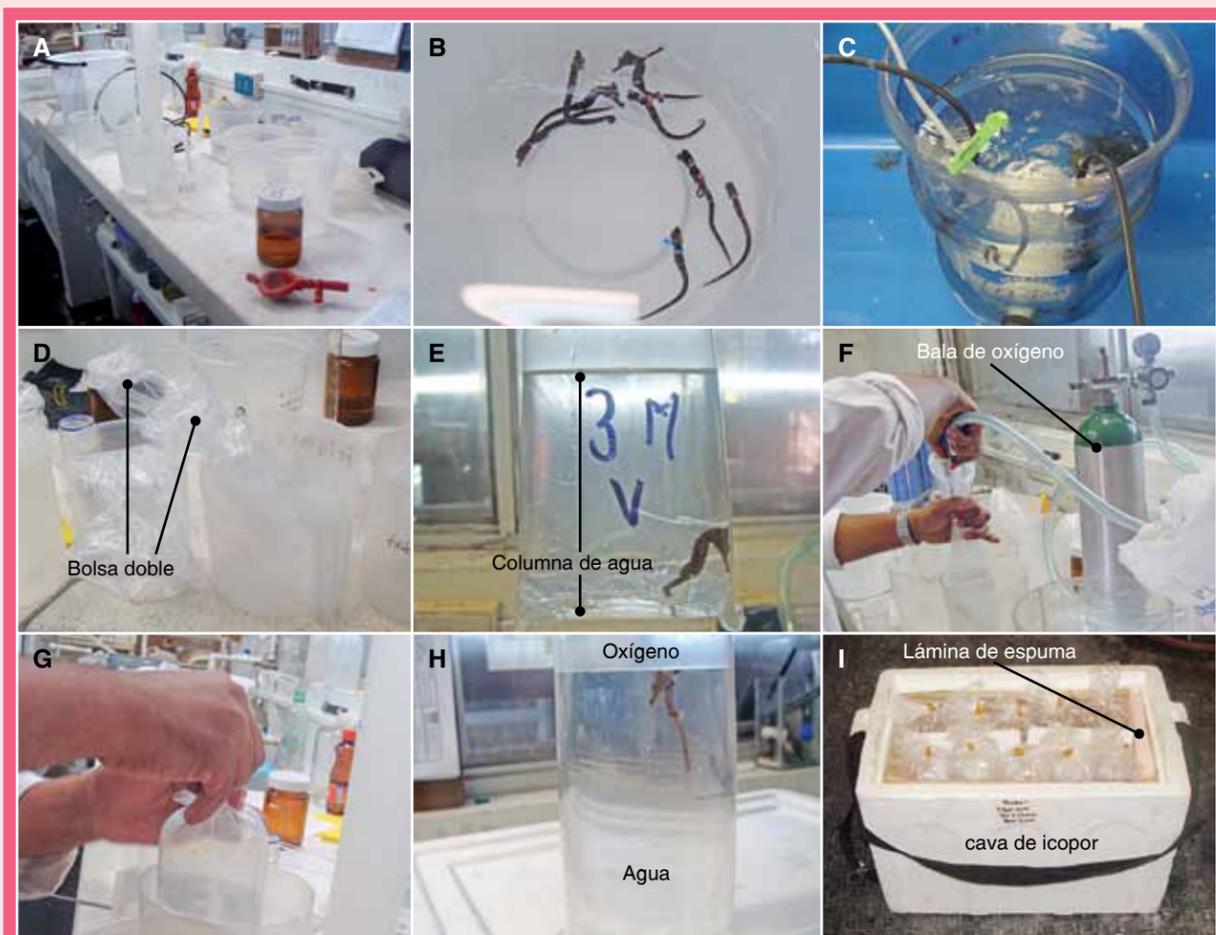


Figura 41. Proceso de empaque y transporte de caballitos de mar *H. reidi*. Preparación del material (A), selección del lote (B), proceso de aclimatación (C), bolsas para el empaque (D), caballito empaquetado (E), inyección de oxígeno (F), amarre (G), caballito con agua y oxígeno (H) y cava de icopor con 10 bolsas para el envío de caballitos (I).

5.2 Aclimatación y fase de cuarentena

Una de las mayores causas de estrés y por tanto de muerte entre los peces marinos, es una aclimatación inadecuada o la exposición a condiciones demasiado agresivas donde van a ser mantenidos (Aquanovel, 2008b). La aclimatación consiste en adaptar los organismos de forma muy lenta a nuevas condiciones de carácter fisicoquímicas que se manejan de forma controlada. Al recibir los animales se deben medir los parámetros en cada bolsa con el fin de compararlos con los del nuevo sistema con el fin de conocer los rangos de variación de los parámetros fisicoquímicos y poder dar inicio al proceso de aclimatación. Como primera

medida se iguala la temperatura, y una forma fácil y lenta es introducir el recipiente o bolsa que contienen a los animales dentro del tanque o acuario donde se mantendrán finalmente, si el rango de diferencia entre la bolsa y los tanques no es muy amplio (2-3°C), este proceso se lleva a cabo por alrededor de 10 minutos, tiempo considerado como suficiente para igualar las temperatura a través de transferencia térmica (Aquanovel, 2008b), si el rango es mayor se recomienda esperar un tiempo prudencial entre (1-2h) hasta que se igualen. Posteriormente, se empiezan a añadir pequeños volúmenes de agua directamente dentro de la bolsa (50-200mL) teniendo en cuenta el volumen en que se

transportan los animales, este proceso se repite cada 20 minutos hasta igualar las condiciones. Durante esta segunda fase del proceso se está equilibrando a la vez la salinidad, lo que permite a los peces ajustarse a los cambios de condiciones iónicas con el fin de evitar choques osmóticos que pueden provocar la muerte al animal o daños internos muy graves (Bocek, 2000), de igual forma se aumentan los niveles de oxígeno y se equilibra el pH que es otro factor de gran importancia, el cual generalmente baja sus niveles por la producción de CO₂ debido a la respiración del animal, lo que disminuye la alcalinidad del agua (Aquanovel, 2008b). Una vez se han equilibrado las condiciones del agua de la bolsa, la manera más rápida de sacar los animales sin provocar daños es simplemente volteando la bolsa o el recipiente dentro del acuario donde se mantendrán y así liberarlos.

Con la aclimatación básicamente se da inicio al proceso de cuarentena, ya que ésta se realiza directamente en acuarios aislados, puesto que se está trabajando con animales y agua ajenos a la instalación. La cuarentena no es más que un periodo de tiempo en el que los animales se mantienen en un sistema aislado con el fin de limpiarlos, permitir la recuperación de los organismos debida al estrés del transporte o heridas producidas durante el mismo, reducir la entrada al sistema de posibles agentes

patógenos y evitar al máximo el riesgo de un posible contagio o de alguna enfermedad (Bocek, 2000). Aunque cuarentena es sinónimo de 40 días, este proceso se puede dar por culminado luego de dos o tres semanas (Aquanovel, 2008b) y se realiza en acuarios sin decoración salvo algunos refugios para que los animales se sientan tranquilos. El sistema aislado permite manejar las condiciones físicas y químicas con mayor facilidad, pero se debe realizar un monitoreo más frecuente y mayor número de observaciones con el fin de detectar cualquier cambio que pueda indicar signos de enfermedad.

Las instalaciones de cuarentena también son usadas como enfermería para procesos de recuperación ante enfermedades adquiridas en el laboratorio donde se lleva a cabo un seguimiento más riguroso de los organismos y se aplican diferentes tratamientos de acuerdo con el tipo de patología (Figura 42). Es recomendable para trabajar con acuarios, en particular marinos, que se incluya el sistema de cuarentena, el cual no implica demasiados costos ni infraestructura y si es una garantía para el mantenimiento de las condiciones del agua, de los sistemas de filtración y para proporcionar mejores condiciones tanto para la llegada de los organismos a las instalaciones como para la aplicación de tratamientos para el control de enfermedades.

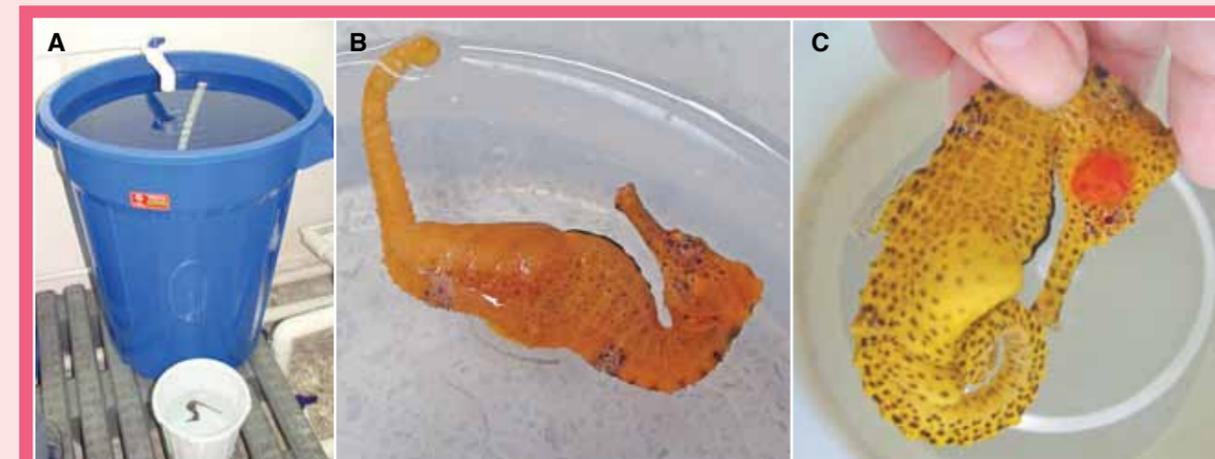


Figura 42. Tanque de cuarentena/enfermería. Tanque aislado del sistema (A); Caballito con enfermedad de la burbuja (B) y caballito con burbuja en el opérculo (C).

5.3 Mantenimiento de adultos

Los caballitos de mar adultos se manejan en los tanques de 110L de capacidad instalados en el área de reproductores, en donde se les suministra alimento vivo tres veces al día, generalmente misidáceos (*Mysidium columbiae*) y cuando su colecta es difícil *Artemia* adulta.

Durante el ciclo de vida del caballito de mar (Figura 43), la reproducción es una de las características biológicas que lo convierten en una especie vulnerable a la sobrexplotación pesquera (Gonzales *et al.*, 2004), ya que es el único animal donde el que queda embarazado es el macho, la hembra utiliza su ovopositor en el momento de la cópula para depositar los

huevos maduros dentro de la bolsa incubadora del macho donde son fertilizados (Montolio y Gonzales, 2008). Una vez fertilizados los óvulos se empotran en la pared de la bolsa siendo envueltos por los tejidos que revisten el interior sellándola y el macho desarrolla entonces los embriones, el oxígeno se difunde a través de los capilares del tejido que reviste los óvulos. Las hormonas ayudan a crear un fluido placental que baña una pequeña parte del huevo que sobresale de los tejidos de la bolsa, el medio creado por el fluido en la bolsa se altera durante el embarazo pasando de ser fluido corporal a parecerse al agua de mar circundante, presumiblemente para reducir el estrés de las crías al momento del parto.



Figura 43. Ciclo de vida de *Hippocampus reidi*.

El macho inicia el cortejo, aclarando la porción lateral del cuerpo que le muestra a la hembra, mientras busca asirse de su cola prensil y ensancha su bolsa de incubación exhibiéndose ante ella; una vez la hembra está lista, se posicionan para la cópula iniciando el ascenso en la columna de agua, la hembra le traslada al macho los óvulos, quien después de la transferencia se separa de la hembra y se balancea de un lado a otro para acomodarlos en su bolsa de incubación, el embarazo tiene una duración de entre 13 y 14 días, pasado este tiempo el macho entra en “labores de parto”, en donde por medio de contracciones y bombeado del interior de la bolsa hacia el exterior expelle a las crías, que son replicas en miniatura de sus padres de 7-9mm (Ospina-Salazar *et al.*, 2011), los cuales son totalmente independiente, este proceso puede durar varias horas, las crías que llegan a madurar son muy pocas ya que la mortalidad durante su ciclo de vida es bastante

alta (CITES, 2004; Planas *et al.*, 2006; Carpio y Cabellos, 2008; Montolio y Gonzales, 2008).

Un factor importante que hay que tener en cuenta cuando se quieren reproducir caballitos de mar en cautividad es el tamaño de la columna de agua, ya que de ello depende en parte el éxito reproductivo. Cuando la columna de agua es insuficiente la transferencia de óvulos al saco incubador del macho no es completa, ya que este proceso inicia en el fondo del tanque y se continúa mientras van ascendiendo, pero al llegar a la superficie se interrumpe, por ende si la altura de la columna no es suficiente, la hembra no tiene el tiempo para trasladarle al macho todos sus óvulos y al separarse los individuos, los óvulos no fecundados caen al fondo del tanque, esta situación se presentó en los ensayos realizados durante el diseño de los recipientes para el mantenimiento de los reproductores (Figura 44).

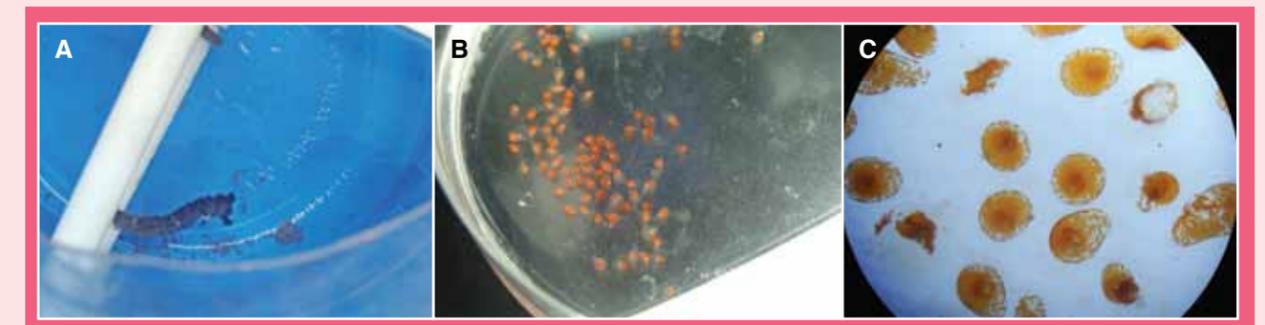


Figura 44. Ovocitos en el fondo del botellón (A), colecta y observación de los ovocitos al microscopio (B y C).

En el LABBIP se realizan seguimientos periódicos de los organismos, para establecer su estado, utilizando como criterios los incrementos en peso y en longitud, al igual que observaciones del comportamiento y la ubicación. Para realizar un monitoreo del crecimiento se recomienda sedar a los animales con Benzocaína preparada a una concentración de 1g.L⁻¹ con lo cual se reduce el estrés por la manipulación del animal, evita la posible ingestión de aire atmosférico y las mediciones de peso y longitud pueden ser más exactas (Figura 45). Para aplicar la anestesia se coloca el individuo en un recipiente con un volumen conocido de agua y se agregan pequeñas cantidades de anestésico observando

la reacción, el animal debe empezar a relajarse paulatinamente en un lapso de uno a no más de dos minutos, si no observa ninguna reacción adicione un poco más del anestésico; de esta manera se establece la cantidad de anestésico necesaria de acuerdo con el tamaño del lote, cuyo tamaño es similar, organismos de hasta dos meses de edad no requieren más de 10 o 30mL diluidos en 50mL de agua de mar, a medida que aumentan de tamaño se deben utilizar mayores concentraciones. Este procedimiento se aplica para todas las edades teniendo en cuenta las consideraciones del tiempo y la concentración de anestésico requerida para cada lote.



Figura 45. Proceso para aplicar anestesia a los organismos. Preparación de la benzocaina (A), aplicación de la anestesia (B) y proceso de recuperación de los organismos (C).

Una vez el animal se encuentra adormilado, se coloca en un recipiente en el cual se ha ubicado previamente una tablilla con papel milimetrado o una regla, sobre la cual se extiende al animal para determinar la longitud total. Posteriormente se saca del agua y se coloca rápidamente sobre un papel absorbente para colocarlo en el recipiente con agua ubicado sobre la balanza, previamente se ha registrado

el peso del recipiente y el del animal. Luego se procede a ayudar al pez a despertar de la anestesia colocándolo en agua de mar con la misma temperatura en la que se encontraba y se mueve con un asa de manera suave y constante para evitar que se vaya al fondo. Una vez el animal ha despertado completamente y nada de manera normal sin ayuda se ubica en el acuario asignado (Figura 46).



Figura 46. Monitoreo de los caballitos de mar. Registro de longitud (A), observaciones (B) y pesaje (C).

Los monitoreos se realizan con una frecuencia mensual, para registrar la longitud, observaciones generales, ajustar las marcas, determinar si tienen parásitos o si muestran signos de enfermedad, el pesaje requiere más tiempo de anestesia y aumenta el riesgo de que los animales sufran efectos secundarios por lo que se realiza de manera semestral, ya que la longitud es un buen indicador del estado en que se encuentra el organismo. Para el seguimiento de los lotes

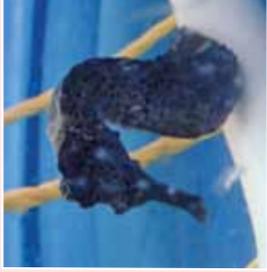
de organismos menores de seis meses sólo se toma una muestra significativa, ya que usualmente son grupos numerosos y también son más susceptibles a tener problemas por la manipulación o la anestesia. La Tabla 7 muestra la forma de documentar los muestreos.

Cuando los ejemplares alcanzan la madurez sexual, se utilizan como reproductores para lo cual se coloca una hembra y un macho en un tanque, observando si se presenta el cortejo.

Tabla 7. Seguimiento de los juveniles y adultos de *H. reidi*.

No.	SEXO	COLOR	PESO (g)	LONGITUD (cm)	UBICACIÓN	MARCACIÓN	IMAGEN
1	Macho	Inicial: Café oscuro Cambio a: Amarillo claro	9	13	TA 05	Caucho rosado	
2	Hembra	Inicial: Amarillo con marrón No cambió coloración	3	9	TA 04	Caucho amarillo	
3	Hembra	Negra con rojo Cambio a Rojo fuerte	16	16	TA 04	Caucho rojo	
5	Macho	Inicial: Café oscuro Cambio a: Amarillo claro vivo	3	9	TA 05	Caucho verde	
8	Hembra	Inicial: Naranja No ha cambiado su color, sólo se ha aclarado un poco más	3	9	TA 04	Caucho azul	

Continuación Tabla 7.

No.	SEXO	COLOR	PESO (g)	LONGITUD (cm)	UBICACIÓN	MARCACIÓN	IMAGEN
11	Macho	Inicial: Naranja No ha cambiado su color	18	16	TA 05	Caucho negro	
12	Macho	Inicial: Negro con vetas café claras No ha cambiado de color	14	14	TA 05	Caucho anaranjado	
13	Macho	Inicial: Negro No ha cambiado de color	12	14	TA 05	Caucho blanco	
15	Macho	Inicial: Negro	12	12	TA 05	Caucho gris	

Como parte del mantenimiento de los adultos se relacionan a continuación las enfermedades detectadas en el laboratorio que afectan principalmente a los adultos. La primera y la de mayor impacto es enfermedad de la burbuja, la cual se presenta con mucha más frecuencia en machos que en hembras y eventualmente

termina ocasionándoles la muerte de los organismos por desnutrición y agotamiento, ya que el aire que se acumula en sus cuerpos actúa como un flotador que los obliga a estar en la superficie impidiendo que coman y consumiendo mucha energía en tratar de mantenerse en el fondo (Figura 47).



Figura 47. Caballitos de mar *H. reidi* con enfermedad de la burbuja en la cola (A) y en la bolsa de incubación (B).

Como tratamiento se ha intentado sacar el aire de las burbujas haciendo presión, también se ha probado después de sacar el aire hacer baños con varios tipos de antibióticos, sin tener todavía ningún resultado satisfactorio. Los animales que presentan burbujas en la cola y se les extrae el aire muestran alguna mejoría pero fácilmente vuelven a aparecerles, los que la presentan en la zona abdominal, por el contrario parecen empeorar con cualquier tipo de tratamiento.

Se realizó un aislamiento de bacterias para tratar de establecer las causas de la enfermedad de la burbuja, para lo cual se hizo una incisión en la parte del saco de incubación para la toma del primer frotis, el segundo fue tomado de la parte interna de la cola reventando una de las burbujas y por último se tomó muestra de tejido de la cola. Las muestras se colocaron por separado en tubos Eppendorf con 900µL de agua de mar estéril antes de ser sembradas en el agar. Para tener una colonia mayoritaria en las cajas de Petri, cada muestra fue diluida de la siguiente forma: Se tomaron 100µL del tubo Eppendorf inicial y se diluyeron en 900µL de agua estéril (dilución

10^{-1}), de este frasco se tomaron nuevamente 100µL (dilución 10^{-2}) añadiendo 900µL de agua de mar estéril. De cada dilución se tomaron 50µL y se colocaron dos gotas en medios separados y se esparcieron con un rastrillo de vidrio por el método de agotamiento en agar nutritivo con 1% de NaCl y TCBS (Figura 48).

Las cajas de Petri se dejaron a temperatura ambiente por 48h (Figura 49A), posteriormente de cada caja de Petri se tomó una muestra de las colonias mayoritarias, que fueron sembradas de nuevo en cajas de Petri con agar nutritivo con 1% de NaCl por el método de agotamiento para su aislamiento; las cajas se dejaron 48h a temperatura ambiente y después fueron llevadas a refrigeración (Figura 49B). Por último las cepas de bacterias se congelan a -4°C , en glicerol estéril con caldo nutritivo con 1% de NaCl en una proporción de 25 y 65% respectivamente, para tener una colección de referencia y realizar estudios posteriores que permitan determinar si la enfermedad de la burbuja es de origen bacteriano, para poder caracterizar la cepa como un primer paso para tratar esta enfermedad.



Figura 48. Aislamiento de las colonias bacterianas obtenidas a partir de frotis realizados a dos machos de *H. reidi* con enfermedad de la burbuja.

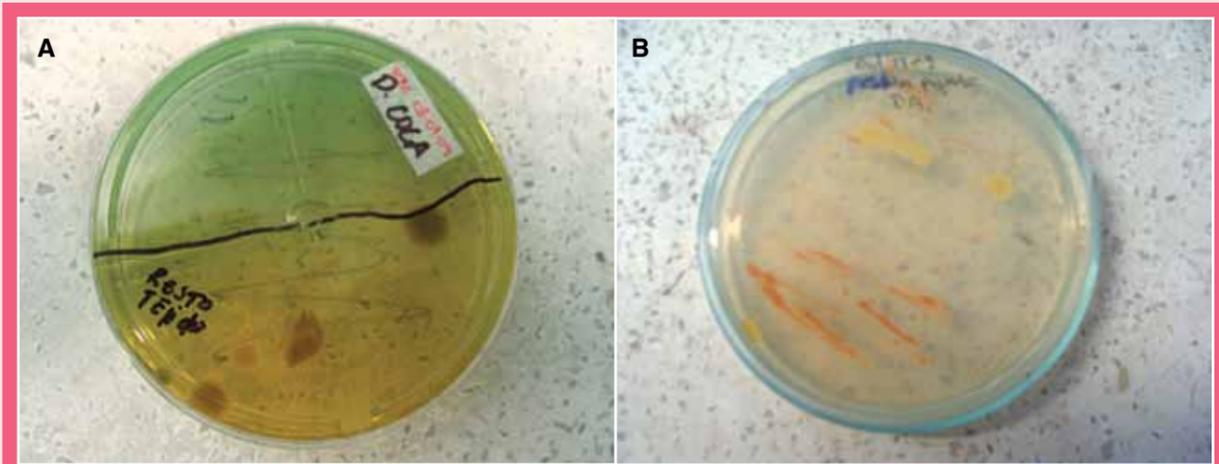


Figura 49. Crecimiento bacteriano a partir de los frotis. Primera siembra (A) y aislamiento de las colonias dominantes (B).

Después de tomar las muestras para los cultivos se realizaron observaciones a nivel interno de la enfermedad de la burbuja, para lo cual se realizó una incisión desde la parte anterior ventral hasta la parte posterior ventral, aproximadamente hasta el quinto anillo de la cola. Se observó que el macho posee una vejiga natatoria de

dos cámaras bastante grandes que abarca la totalidad del tronco, adicionalmente a ésta, desde el primer anillo del tronco en las paredes del peritoneo y en la parte ventral anterior se encontraron distribuidas las burbujas, las cuales son lisas e incoloras, separadas cada una por tejido, el área que presenta las burbujas ocupa

tres a cuatro anillos del tronco pero pocas son del diámetro de un anillo. Las burbujas pueden encontrarse simétricas es decir ubicadas en el lado izquierdo y derecho (Figura 50B), mientras que otras aparecen justo en el centro (Figura 50C). Se presentaron burbujas en el

interior del tubo digestivo el cual se encuentra ubicado en la parte dorsal del individuo y a diferencia de las burbujas del peritoneo, las del sistema digestivo son más alargadas, su tamaño es menor y no se encuentran separadas (Figura 50D).

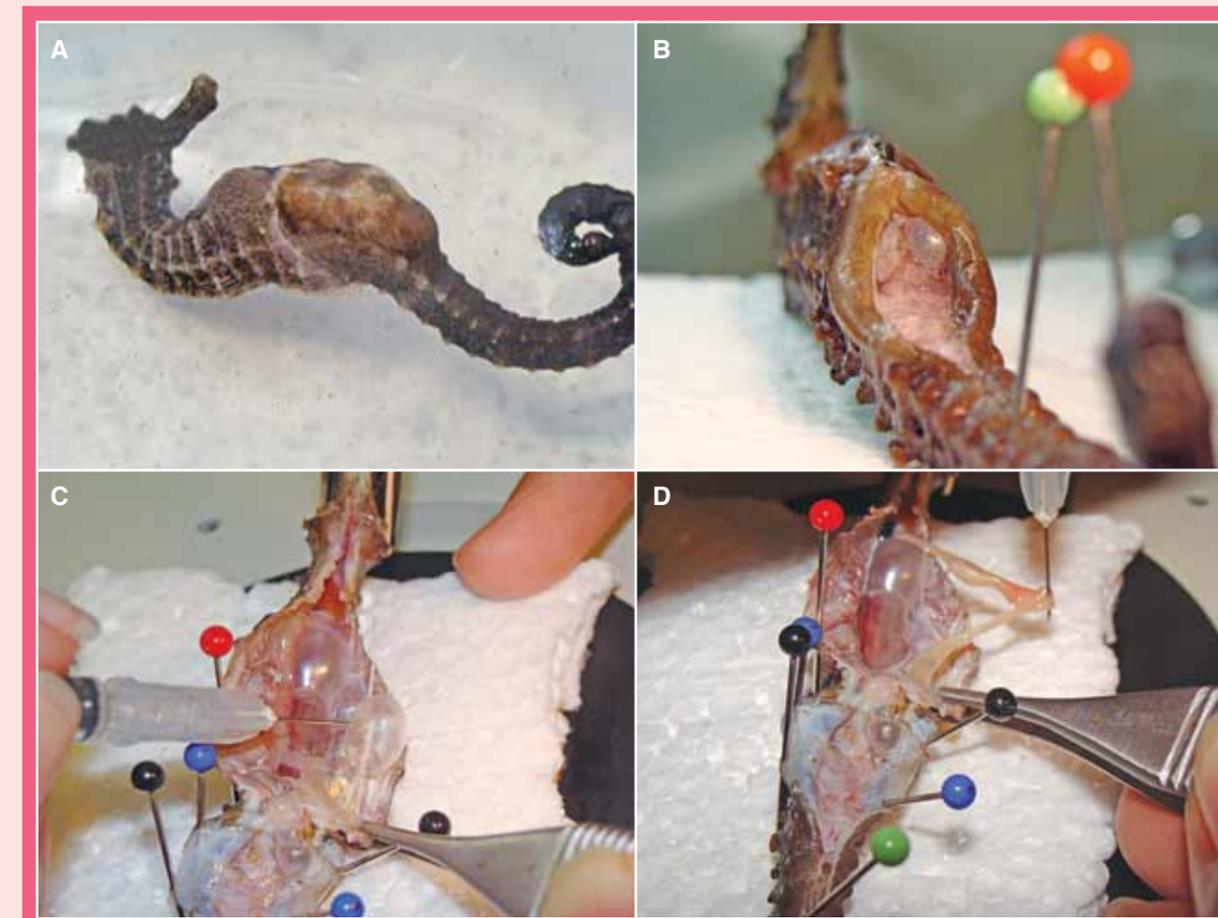


Figura 50. Macho adulto con enfermedad de la burbuja(A), burbujas simétricas en el saco de incubación (B), en la zona abdominal ventral (C) y el sistema digestivo (D).

Se presentó en una ocasión un individuo con parásitos, el animal no mostraba laceraciones o algún signo visible atípico. En observaciones al estereoscopio, se detectaron gusanos en las depresiones de los anillos del tronco en grupos de tres a cinco individuos; los cuales tenían forma alargada, con aplanamiento dorso-ventral y dos pares de ojos, algunos presentan manchas oscuras (Figura 51).

Algunos ejemplares han presentando una coloración blanca muy pronunciada con pérdida

de escamas y tejido (Figura 52), estos síntomas son atribuidos a dos tipos de bacterias: *Cryptobia* sp y *Costia* sp, o a infecciones de *Vibrio* sp. (Alcaide *et al.*, 2001; Petraccini, 2001; Koldewey, 2005; Burns, 2007). Esta enfermedad puede ser fatal ya que ataca el órgano más grande del animal, la piel y le producen un gran daño literalmente erosionándola. Los síntomas iniciales incluyen la turbidez de la piel y su desprendimiento, ojos nublados, hinchazón localizada, cuando la afección avanza aparecen lesiones y llagas que se vuelven sangrientas, eventualmente erosionando

hasta el hueso. Wooten (2004) recomienda el uso de antibióticos como tetraciclina y oxitetraciclina y soluciones de yodo o formalina; en el laboratorio

se han utilizado baños de sal (2-3 cucharitas por galón) en un baño de 5-10 minutos con resultados favorables en casos no muy avanzados

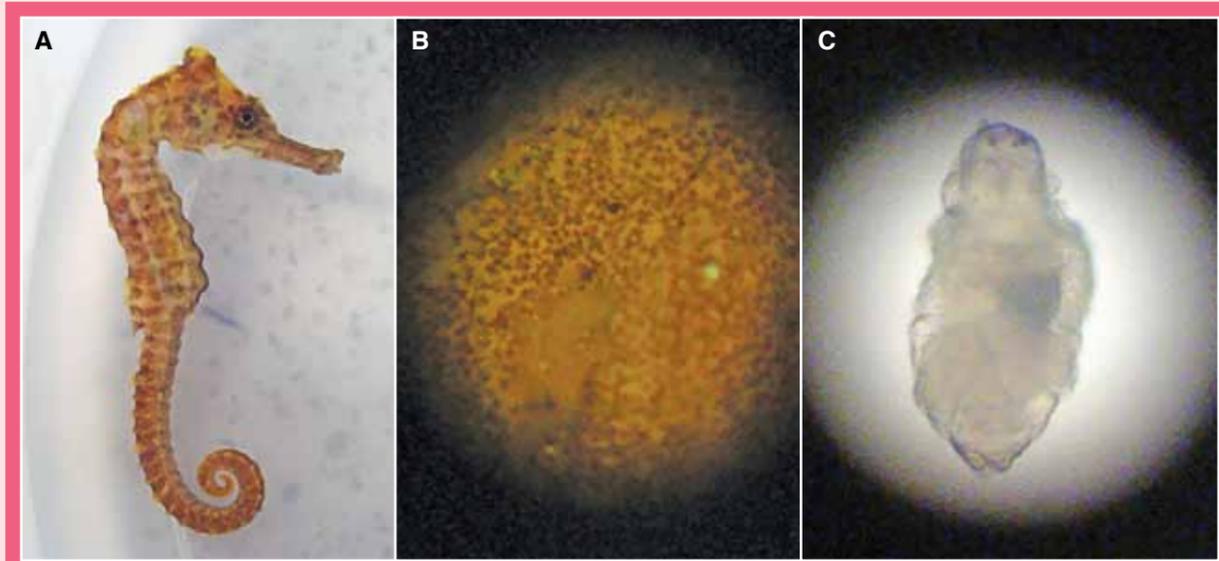


Figura 51. Hembra adulta de *H. reidi* (A), detalle de la zona afectada (B) y gusanos vistos al microscopio en aumento 40X (C).



Figura 52. Macho adulto detalle de los ojos nublados (A), cuerpo erosionado (B) y laceraciones en la cola (C).

La exoftalmia es una afección que puede aparecer por supersaturación de gas o por una infección interna producida por hongos (usualmente *Ichthyosporidium hoferi*), infección por parásitos (usualmente trematodos) o infección bacteriana (usualmente *Mycobacterium marinum*), en todos los casos el globo ocular sobresale desde su cavidad, lo que puede dañar el órgano mismo

o el tejido circundante si no se toman medidas (Figura 53). Aunque no es letal, los agentes que lo provocan si pueden serlo si no se tratan rápida y apropiadamente. No existe un tratamiento específico, se debe tratar de eliminar el agente causante utilizando antibióticos o ensayar los baños recomendados anteriormente (Petracini, 2001; Wooten, 2004).



Figura 53. Ejemplar de *H. reidi* con exoftalmia.

Se ha observado que debido a la gran cantidad de alimento suministrado en los sistemas, empiezan a proliferar pequeñas anémonas, las cuales inicialmente se fijan a las superficies pero en ocasiones se detectan adheridas a los caballitos. Éstas, de acuerdo al lugar en que se fijen, pueden causar irritaciones en la piel que

deteriora la salud del animal, haciéndolo más propenso a infecciones de la piel en las zonas urticadas, además los caballitos afectados por anémonas se ven incómodos y tratan de retirarlas. Se ha observado que en ejemplares en los que las anémonas se fijan en el hocico estas les impide comer (Figura 54).



Figura 54. Organismos con heridas causadas por anémonas (Ver círculo).

5.4 Mantenimiento de crías

Una vez nacen las crías estas son colectadas del tanque de los reproductores con una manguera y transferidas a una recipiente con agua para ser trasladadas a las incubadoras, este proceso debe realizarse muy rápidamente, luego se toma una muestra de 10 organismos a los cuales se les mide talla y peso para

estimar el tamaño de los organismos del lote (Figura 55). Se estableció en el LABBIP que para que un lote sea viable el promedio de peso de los animales debe ser mayor o igual a 1,6mg; lotes con tamaños inferiores presentan grandes mortalidades durante los primeros días y finalmente solo se consigue levantar algunos pocos (Ospina-Salazar *et al.*, 2011).



92 **Figura 55.** Colecta y siembra de las crías (A) y pesaje y medición (B).

Desde el momento en que se empezaron a tener nacimientos en el 2009 en el LABBIP se han registrado 111 de estos eventos con corte a agosto del 2011. Se observa que los nacimientos se han incrementado con el paso del tiempo y las mejoras a los sistemas y metodologías de mantenimiento y alimentación (Figura 56).

Muchos de los lotes viables se utilizaron para la realización de los ensayos realizados durante los trabajos de grado o para probar las adecuaciones de los sistemas y metodologías. Adicionalmente un gran número de lotes se utilizó para realizar análisis bromatológicos con el fin de establecer la composición de las crías al nacer y con esta

información realizar una mejor aproximación a los protocolos de alimentación que se deberán diseñar durante los procesos de mejora del paquete tecnológico del levante de caballito de mar en sistemas cerrados de acuarios.

Las crías presentan un crecimiento rápido que es notorio especialmente durante los primeros tres meses de vida. Este incremento en tamaño hace que sea necesario ir variando el tamaño del alimento que se suministra con alguna regularidad pero principalmente haciendo observaciones ya que todos los lotes no se comportan de la misma manera (Figura 57).

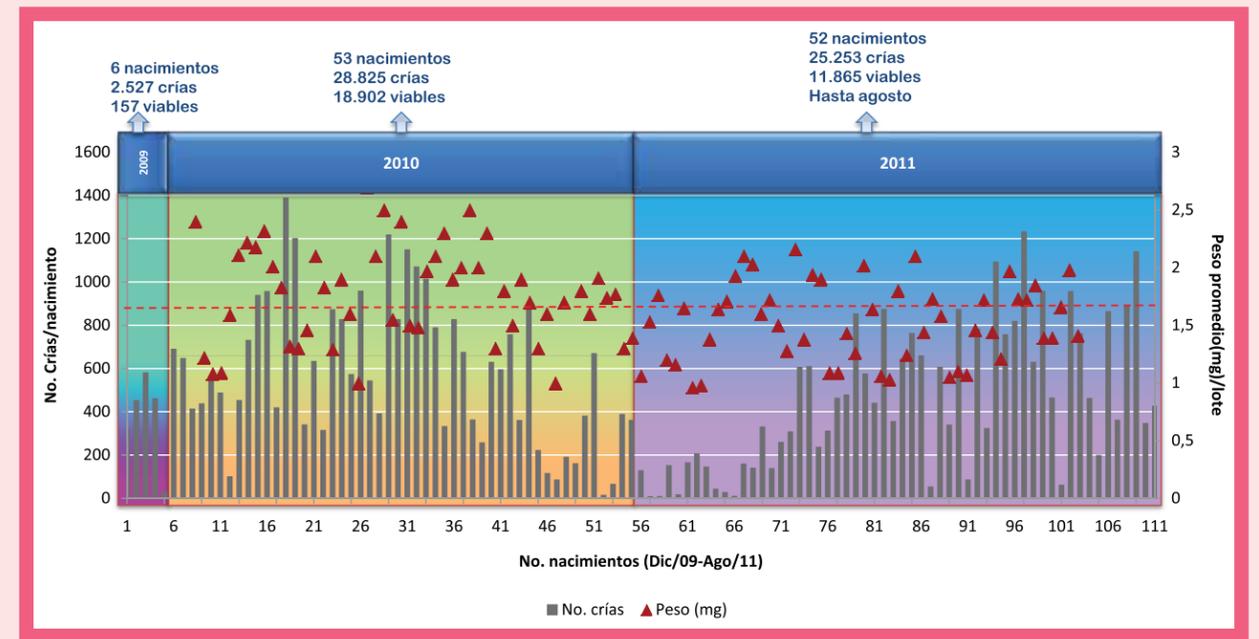


Figura 56. Gráfica resumen de los nacimientos producidos en el LABBIP durante el desarrollo de los proyectos.

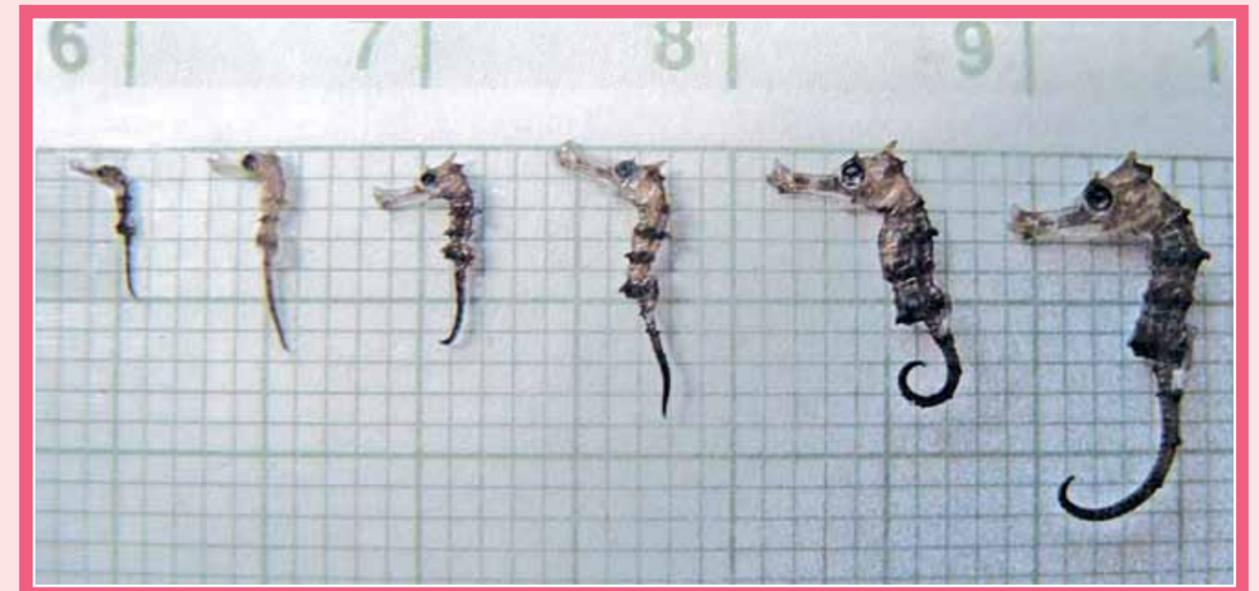


Figura 57. Incremento en tamaño de las crías de *H. reidi* en el LABBIP.

Con el fin de suministrar una dieta adecuada para los animales se determinó el ancho del hocico (AH) para conocer el tamaño de la boca del animal durante las diferentes etapas de su crecimiento y así observar su relación con el crecimiento y el tamaño de partícula a suministrar. Las mediciones se realizaron cada dos días durante los primeros

11 días de vida, utilizando las crías que iban muriendo en las incubadoras. A partir del día 13, se midieron cada semana hasta el día 55 de edad, las medidas se realizaron en la parte media del hocico, desde la parte superior hasta la inferior, siendo delimitado por la presencia de pigmentación en la piel (Sánchez-Cardozo, 2011) (Figura 58).

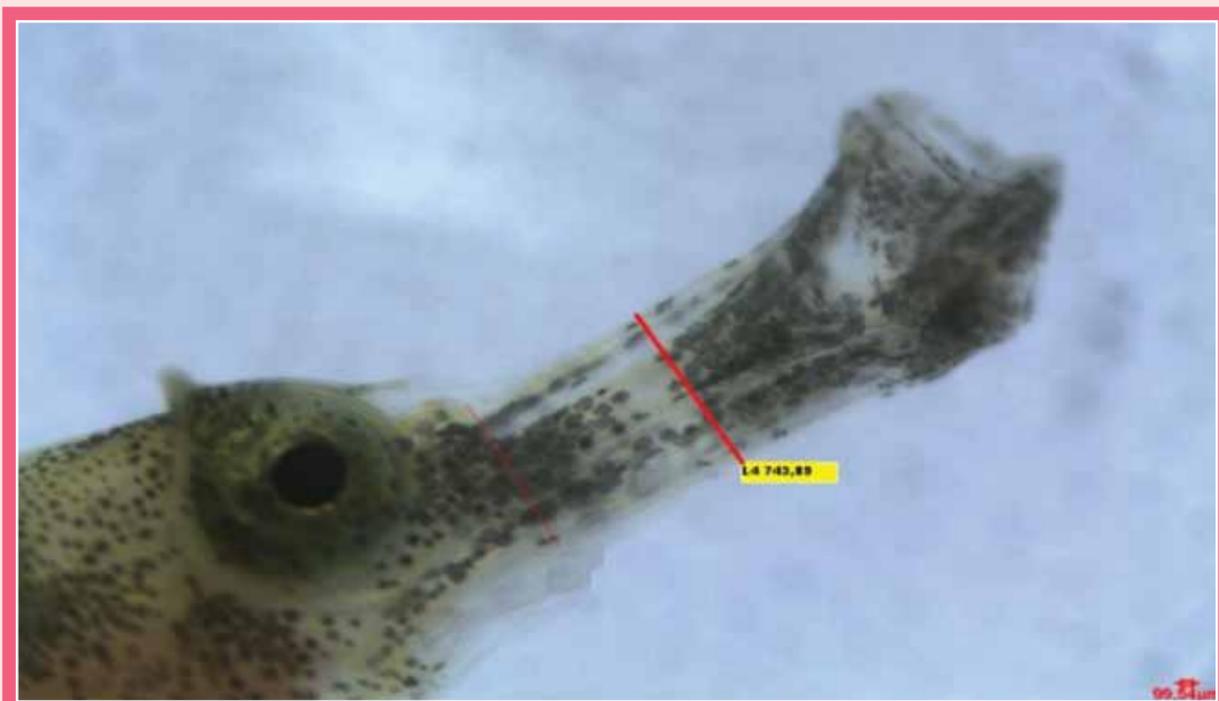


Figura 58. Medición del ancho del hocico (AH) utilizando el software Launch ImageFocus (Sánchez-Cardoso, 2011).

Los datos mostraron una periodicidad en los incrementos importantes de tamaño del hocico, por lo que se recomienda hacer ajustes al tamaño del alimento cada dos semanas durante los primeros 4 meses de vida (Tabla 8).

Estos ajustes deben ser mezclas de Artemia del tamaño que se viene suministrando y del que se quiere incorporar para garantizar que todos los caballitos puedan alimentarse, ya que hay gran variabilidad de tamaño al interior de los lotes.

Tabla 8. Variaciones en el ancho del hocico (AH) en crías y juveniles de *H. reidi* (Sánchez-Cardoso, 2011).

Día	AH (μm)
0	375,65 \pm 68,51
7	444,08 \pm 103,63
13	721,88 \pm 26,75
20	826,73 \pm 46,35
27	915,26 \pm 41,84
34	1026,16 \pm 29,53
41	1057,50 \pm 30,52
48	1.089,00 \pm 47,65
55	1.215,18 \pm 79,33

Durante los primeros 30 días los animales son alimentados siete veces al día; las dos primeras semanas se suministra Artemia de 17h de

incubación que tiene un tamaño menor a 200 μm de ancho, durante la tercera y cuarta semana, Artemia de 24h de incubación. La Artemia se

suministra a razón de 6 art.mL⁻¹. Para garantizar buenos resultados es necesario ser muy estricto con las raciones el tamaño y la cantidad de alimento durante el primer mes de vida, pero particularmente en la primera semana, que es cuando se presentan las mayores mortalidades en esta especie, las que generalmente son causadas porque los caballitos no se alimentan, ya sea por que el tamaño de partícula ofrecido no es el adecuado (muy grande) o la cantidad de alimento es insuficiente. Como son organismos agástricos (Rodríguez, 2000), su digestión no es muy buena y requieren muchas raciones en el día para satisfacer sus requerimientos energéticos y nutricionales. A partir de la quinta semana se puede disminuir el número de raciones entregadas durante el día a cinco y al cuarto mes a cuatro y desde el sexto mes pueden ser tres raciones.

Por la cantidad de alimento suministrada es muy importante que después de cada dos raciones se realice un sifoneo de las incubadoras, con esto se remueve el exceso de Artemia que no fue consumida por los caballitos y los desechos; con lo cual, se garantiza la calidad del agua y se evita la proliferación de anémonas.

Durante los procesos de alimentación y de limpieza se debe prestar atención al comportamiento de los animales, ya que hay señales de alerta que si se detectan rápidamente, permiten realizar ajustes para mejorar el estado de los animales o evitar su muerte. Entre estas señales tenemos:

- Los animales comen activamente una vez se suministra el alimento. Al cabo de unos minutos, en la gran mayoría se debe observar que la región abdominal toma una coloración rojiza propia de la Artemia. Si esto no ocurre, es porque se está suministrando alimento de tamaño inadecuado y debe corregirse de inmediato ya que después de dos o tres raciones en las que no pueden alimentarse, los animales frenan su comportamiento alimenticio y al cabo de pocos días mueren.

Si los animales empiezan a formar agrupaciones densas todos agarrados, puede ser porque o los individuos débiles se aferran de los otros o como también se ha observado, los caballitos

saludables tratan de ayudar a los más débiles, pero una vez son utilizados como soporte es difícil que se logren deshacer estas agrupaciones, convirtiéndose los débiles o moribundos en un lastre para los sanos, que les impide nadar y comer con lo que al final terminan muriendo muchos animales. Por eso durante cada limpieza hay que sacar los muertos y separar los débiles y pasarlos a un sistema diferente (Figura 59A).

Cada cierto tiempo se deben ajustar los lotes por tamaño; durante los dos primeros meses de vida cada 15 a 20 días y posteriormente al menos cada mes. El crecimiento de las crías no es uniforme en todo el lote y en ocasiones hay organismos del doble del tamaño de los otros, dificultando el suministro del tamaño adecuado del alimento, por lo tanto es mejor organizar los ejemplares en grupos lo más homogéneos posibles para facilitar la selección del tamaño del alimento. A partir de la segunda semana se introducen estructuras para que los caballitos se agarren, las cuales deben ser adecuadas al tamaño de los animales (Figura 59B).

Los dos primeros meses también es fundamental que el sistema proporcione constantemente las condiciones necesarias para la supervivencia de los caballitos durante la fase planctónica (Figura 60), se ha observado que suspender durante algunos minutos el movimiento circular del agua o el goteo que rompe la tensión superficial del agua, ocasiona, que días después se produzca una mortalidad masiva. A partir del tercer mes se puede suspender temporalmente la circulación interna y el goteo durante la alimentación o la limpieza y a partir del sexto mes ya se pueden colocar en acuarios sin estas adaptaciones.

En el laboratorio se probaron diferentes densidades de siembra para las crías, al parecer este no es un factor determinante en la supervivencia, por ejemplo se han ensayado los sistemas de 12L a densidades de hasta de 17 caballitos.mL⁻¹, con excelentes resultados. Al usar altas densidades se requiere menos alimento, al parecer los animales se estimulan más a comer y se requieren menos incubadoras, lo cual reduce el tiempo del operario para realizar el mantenimiento.

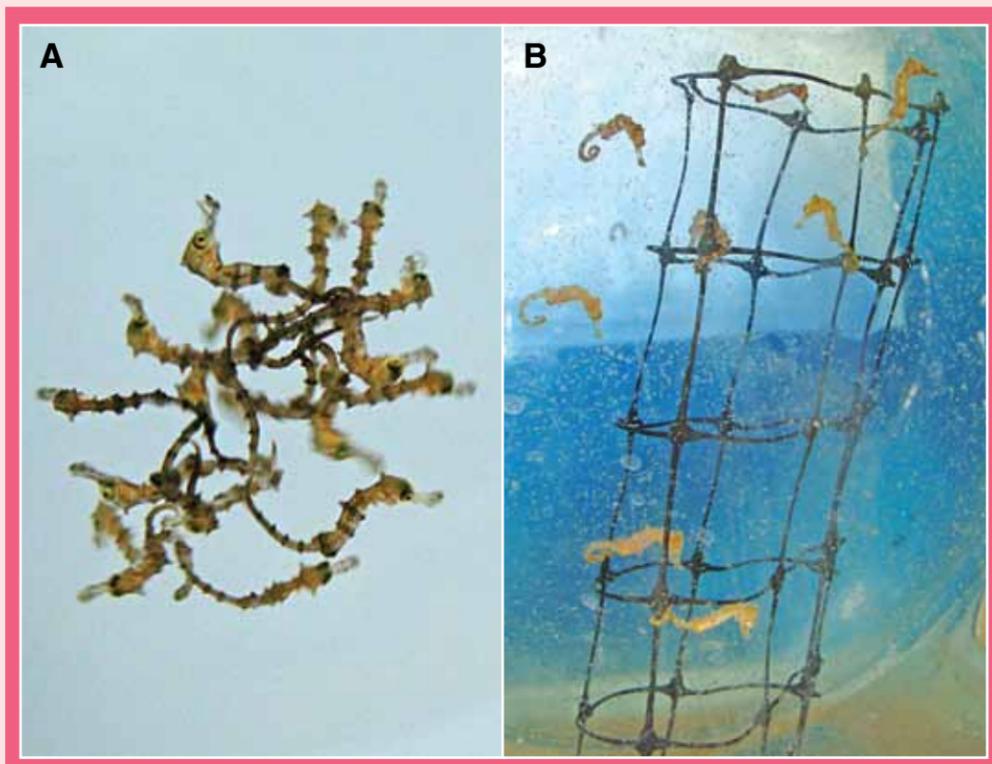


Figura 59. Crías de *H. reidi* formando agrupaciones (A) y estructuras de sujeción para las crías (B).



Figura 60. Incubadora con crías de *H. reidi*. Nótese el movimiento circular y el goteo que rompe la tensión superficial.

La enfermedad que con mayor frecuencia se observa en las crías es la enfermedad de la burbuja de aire, que aunque es una de las principales causas de mortalidad en todos los estadios de vida de los caballitos de mar, generalmente cuando los sistemas no son efectivos las crías son más propensas a padecer de esta enfermedad (Woods, 2000). Se presenta ensanchamiento de la cavidad torácica, aumento de tamaño de la vejiga natatoria (Figura 61), flotabilidad e inapetencia. No se ha detectado un tratamiento que evite la

muerte de las crías, suministrar los sistemas de incubadoras adecuados que eviten el contacto con la superficie del agua lo minimiza considerablemente.

Las anémonas también parasitan a las crías y su efecto es más devastador que en juveniles y adultos debido a su fragilidad (Figura 62). Para evitar su proliferación se debe mantener el acuario lo más limpio posible retirando el exceso de alimento, que es el principal detonante del incremento de estos organismos.

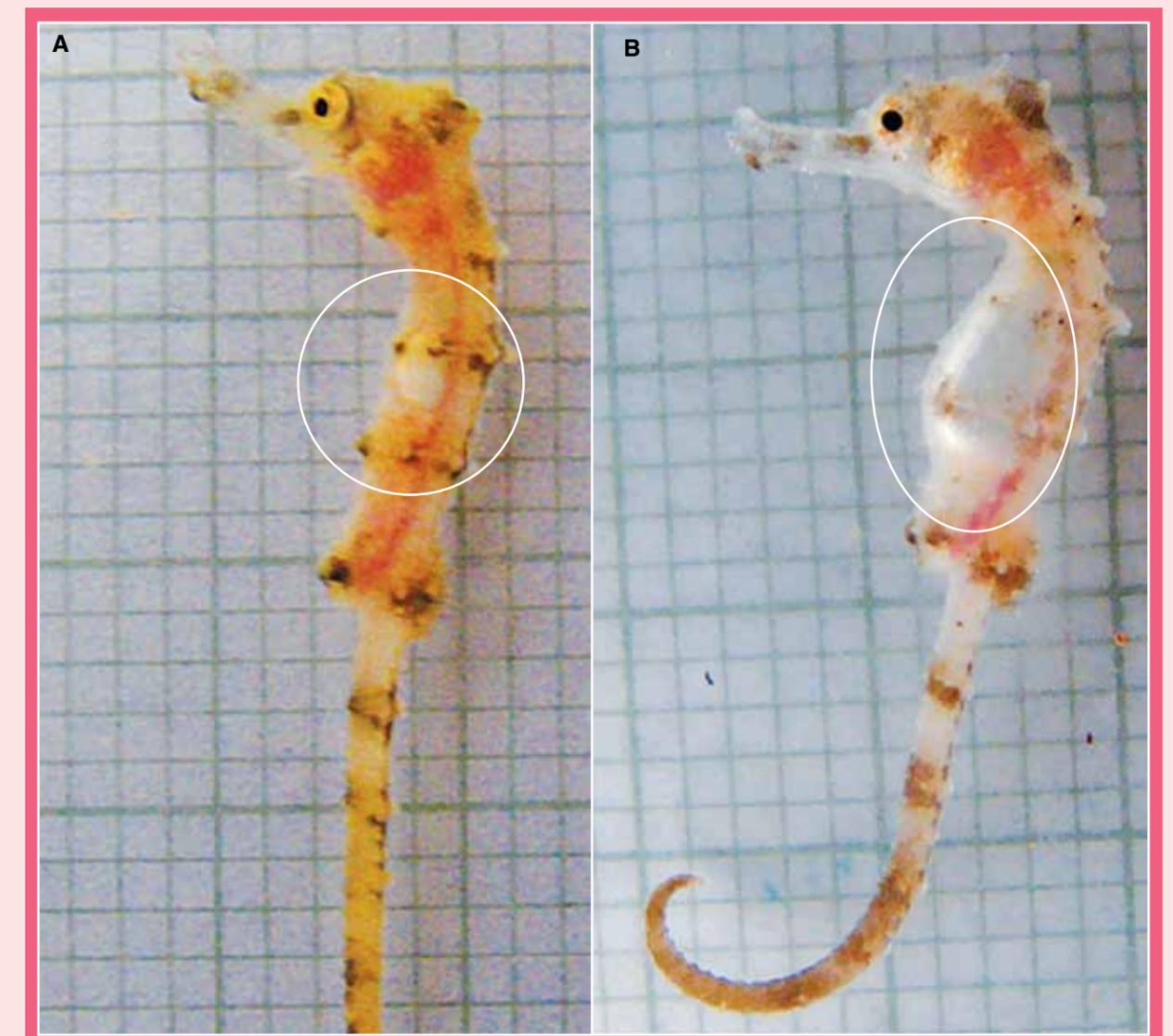


Figura 61. Enfermedad de la burbuja en crías de *H. reidi*. Caballito sano con vejiga natatoria normal (A) y con enfermedad de la burbuja (B).



Figura 62. Anémonas parasitando crías de *H. reidi* en el hocico (A), en el dorso (B), anémona adherida a las estructuras de sujeción (C) y detalle de la anémona (D).

5.5 Bioensayo de alimentación con alimento vivo enriquecido

Se adelantó una tesis de maestría con la cual se establecieron los requerimientos nutricionales de las crías de caballitos de mar y la forma en que se debe suministrar la dieta para lograr los mejores resultados (Sánchez-Cardozo, 2011).

Los enriquecedores fueron seleccionados de un amplio abanico de productos comerciales disponibles en el mercado, escogiendo cinco por el importante aporte como fuente de proteínas y/o lípidos al alimento vivo (Tabla 9), por su facilidad de disolución en licuadora y la efectividad del consumo de estas partículas por parte del alimento vivo y por la disponibilidad en el mercado.

Tabla 9. Composición nutricional de los productos seleccionados como enriquecedores de rotíferos y Artemias.

PRODUCTO	PRESENTACIÓN	NUTRIENTES					OTROS
		PROTEINA (%)	LÍPIDOS (%)	FIBRA (%)	HUMEDAD (%)	CENIZAS (%)	
AZOO 9 in 1®	Alimento peletizado para peces marinos	45,0	3,0	5,0	5,0	-	
SERA MARIN GVG MIX®	Alimento en hojuela para peces marinos	47,2	8,40	3,8	5,4	11,90	Vitaminas A, D3, E, B1, B2, C
PROTEIN SELCO PLUS®	Pasta de color verde oscuro para enriquecimiento de rotíferos	21,0	45,0	1,0	5,0	4,50	Fósforo, vitaminas A, D3, E y C y antioxidantes HUFA mín. 90 mg/g peso seco DHA/EPA 2,5%
EMULSIÓN DE SCOTT®	Líquido espeso de color amarilloso	-	100	-	-	-	Cada 5mL contiene aceite puro de hígado de bacalao Vitaminas A y D
<i>Isochrysis galbana</i>	Células vivas cultivadas en laboratorio en agua de mar	28,1a	22b	-	-	-	EPA 1% ^b DHA 12% ^b

a: Barbosa, 2005. b: Helm *et al.*, 2006

Para determinar el factor de alimentación, es decir, cantidad de alimento por millón de individuos que debe suministrarse a los cultivos, garantizando que todos los animales puedan comer, pero que la cantidad de alimento no dañe la calidad del agua, los rotíferos fueron enriquecidos por períodos cortos entre dos y siete días, siendo probados los enriquecedores individualmente y en combinaciones con diferentes porcentajes de alimentación por cada millón de rotíferos y las Artemias fueron enriquecidas por espacios de tiempo entre 4-14h, con los productos a diferentes concentraciones de alimentación, observándose para ambos la densidad de cultivo, tiempo de duración del cultivo a una densidad estable, calidad de los enriquecedores y limpieza del mismo, así como también basados en la información proporcionada por CENIACUA y otros investigadores (Gapasin *et al.*, 1998; Oie *et al.*, 1999; Tamaru *et al.*, 1999; Han y Sorgeloos, 2000; Smith *et al.*, 2002; Aragão *et al.*, 2004). Tanto los nauplios y metanauplios de Artemia como los rotíferos, fueron medidos con cámara Euromex 1300 y el programa Imagen Focus para poder determinar cuál era su tamaño antes y después del enriquecimiento.

Los rotíferos y las Artemias fueron alimentados con diferentes productos (Tabla 9), utilizando un factor de alimentación que vario entre 0,1 a 3g de enriquecedorX10⁶ rotíferos, y para las Artemias se evaluaron tres factores de alimentación 1, 0,6 y 0,3g de enriquecedorX10⁶ Artemias; en el caso de la microalga *I. galbana* se utilizó un factor de alimentación de 20.000 cél.mL⁻¹.

En un primer bioensayo los animales fueron alimentados los primeros 11 días con una combinación de rotíferos enriquecidos con Protein Selco Plus® (PSP) y nauplios recién eclosionados; posteriormente, se utilizaron cuatro productos comerciales por separado para enriquecer a las Artemias con las cuales las crías fueron alimentadas: 1) PSP, 2) Alimento para pescado peletizado Azoo® (AZ), 3) Emulsión de Scott® (ES) y 4) Microalga *Isochrysis galbana* (IG). El bioensayo tuvo una duración de 46 días.

Los caballitos que presentaron una mayor supervivencia al final del experimento fueron los alimentados con Artemia enriquecida con PSP con un porcentaje de supervivencia de 50,72%, seguido por Azoo (AZ) con 39,13%, Emulsión de Scott (ES) con 31,88% y finalmente IG con 23,91%; sin embargo, no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($F_{3,12} = 1,53$, $P > 0,05$). El mayor crecimiento tanto en peso como en talla se registró en las crías alimentadas con PSP, las cuales fueron significativamente más grandes que el resto de los tratamientos ($F_{3,12} = 9,63$, $P < 0,05$ en peso y $F_{3,12} = 5,12$, $P < 0,05$ en talla). La longitud estándar final de los caballitos estuvo entre los 3,62-4,40cm.

Para el segundo bioensayo se utilizaron cuatro dietas, la primera únicamente con PSP, para las otras tres se realizaron diferentes combinaciones de enriquecedores con alimento para pescado Sera Marin GVG mix® (GVG) en una proporción de 50/50 de la siguiente manera: 2) GVG+PSP, 3) GVG+ES y 4) GVG+IG. En este bioensayo los animales fueron evaluados únicamente desde el momento en que se empezó a enriquecer el alimento, los primeros 13 días de nacidos las crías fueron alimentadas con una dieta de rotíferos enriquecidos con PSP y nauplios recién eclosionados.

El tratamiento alimentado con PSP+GVG no presentó mortalidades después del día 44 y PSP después del día 50. El tratamiento que mostró mayor porcentaje de supervivencia fue PSP, seguido por PSP+GVG, GVG+IG y por último GVG+ES, sin presentarse diferencias significativas entre los tratamientos ($F_{3,72} = 3,45$, $P > 0,05$). Los caballitos del tratamiento PSP registraron el mayor crecimiento, los animales crecieron en talla entre 3,27–4,44cm.

En cuanto a los requerimientos nutricionales para este tipo de crías parece que la cantidad y calidad de lípidos suministrados son el factor con mayor efecto en el crecimiento. El enriquecedor PSP presentó los mejores resultados de

crecimiento y supervivencia para las crías de caballitos en ambos ensayos, pero de acuerdo con el r^2 arrojado por las regresiones realizadas entre talla y peso de los caballitos por tratamiento, se puede decir que tienen mejor rendimiento las crías alimentadas con PSP+GVG, puesto hay una mayor homogeneidad en su crecimiento.

5.6 Bioensayo para determinar la densidad de alimento vivo

Para determinar la densidad de alimento que favorece el crecimiento y la supervivencia de las crías de caballitos durante los primeros meses de vida se adelantó una tesis de pregrado (Montero-Ortega, 2011 en preparación).

El bioensayo se desarrolló para evaluar tres tratamientos: 1, 3 y 6 Artemia.mL⁻¹, con tres réplicas para cada uno, las cuales fueron mantenidas en iguales condiciones. Diariamente se registró la mortalidad en cada una de las incubadoras ajustando el volumen conforme al número de caballitos muertos encontrados manteniendo así la densidad constante en cada tratamiento.

Se utilizaron 346 crías recién nacidas de *Hippocampus reidi* obtenidas de los reproductores mantenidos en el LABBIP, de las cuales se repartieron 306 en nueve incubadoras de 12L a razón de 2,6 caballitos.mL⁻¹ y 40 crías para realizar medidas biométricas y determinar así la talla y el peso promedio inicial del lote. Las crías se alimentaron durante el primer mes con *Artemia franciscana* entre cuatro y siete veces al día, dependiendo de su etapa de crecimiento. Los primeros siete días se adicionó Spirulina en polvo 4 veces al día y Artemia recién eclosionada de 14h, del octavo día hasta el décimotercero fueron alimentados con nauplios de Artemia recién eclosionada de 18h, del día 14 hasta el 22 con Artemia enriquecida parcialmente, y del 34 en adelante con Artemia enriquecida de 48h.

Se realizaron cuatro muestreos: el inicial con las crías recién nacidas (40 individuos) y los días 13, 22 y 34 (seis individuos por incubadora); los individuos se tomaron al azar para registrar

talla y peso húmedo, las crías se anestesiaron con una solución de benzocaina preparada con agua de mar a una concentración de 1g L⁻¹, de esta solución se tomaron 10mL que se diluyeron en 50mL de agua de mar, se colocaron uno a uno los caballitos por un tiempo no mayor a un minuto. Una vez el animal estaba adormecido, se secó con la ayuda de una toalla de papel y se pesó en húmedo en una balanza analítica de 0,0001g de precisión, dentro de una caja de Petri con agua de mar.

Para la medición de la talla se tomó una fotografía de cada individuo sobre papel milimetrado, para ser medidas posteriormente en el programa ArcGIS 9.3. Luego de tomar la foto, se colocaban en un recipiente con agua de mar fresca para su recuperación en donde se agitan suavemente hasta que recuperan el sentido y finalmente se regresan a la incubadora respectiva. Es importante resaltar que este procedimiento debe hacerse en el menor tiempo posible para evitar la formación de burbujas en los animales y por consiguiente su muerte.

El resultado de este bioensayo evidencia que aunque no hay diferencias significativas entre los tratamientos si hay una variación importante en el incremento en los parámetros registrados de talla, peso y supervivencia, siendo estos dos últimos donde los resultados son más evidentes. En un poco más de un mes las crías pasaron de un peso promedio de 24 a 42mg en los tratamientos de 1 y 3 Artemias.mL⁻¹ y a 52 mg en el tratamiento con 6 Artemias.mL⁻¹ (Figura 63); en cuanto a la talla esta se incrementó de 1,1 a 2,9mm con 1 y 3 Artemias.mL⁻¹ y 3,2mm con 6 Artemias.mL⁻¹(Figura 64).

El tratamiento que presentó una mayor supervivencia de las crías al final del experimento fue de 6 Artemias.mL⁻¹ con un 37,3 %; aunque los tratamientos de 1 y 3 Artemias.mL⁻¹ se comportan de manera similar hasta el muestreo del día 34, en un muestreo realizado al día 45 si empieza a observarse que hay diferencias en peso talla y supervivencia.

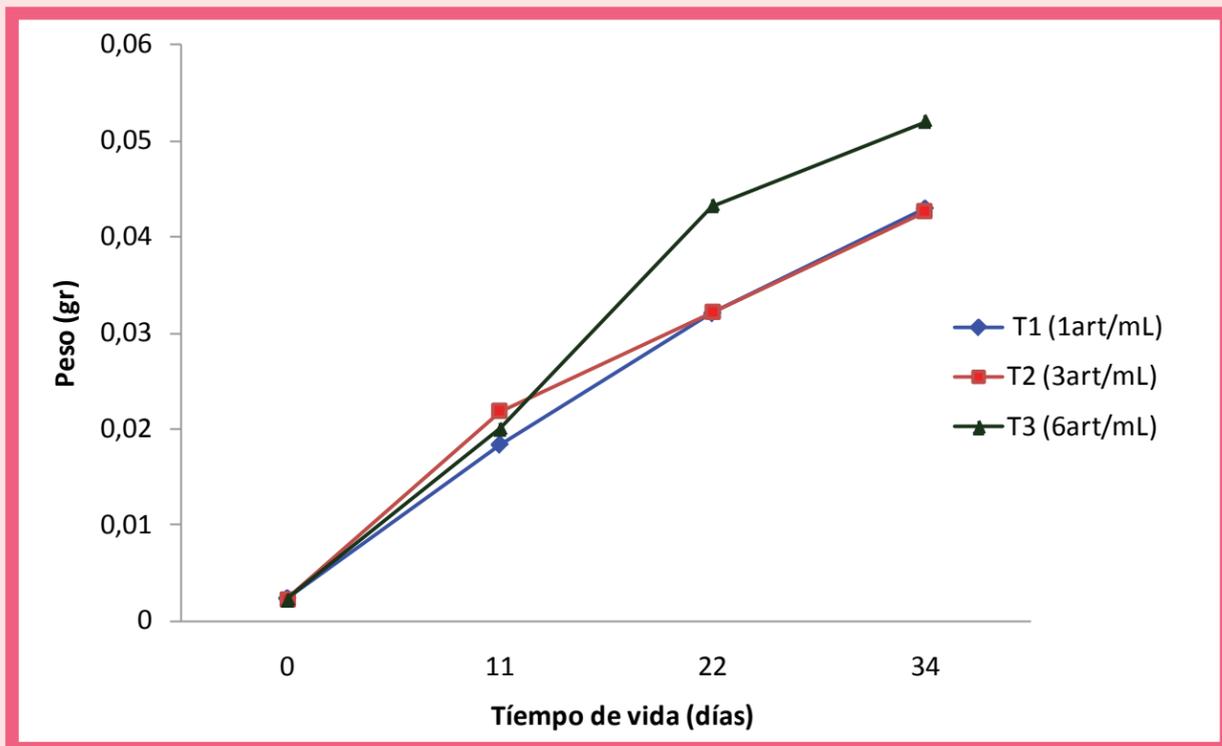


Figura 63. Crecimiento en peso de crías de caballito de mar *H. reidi* alimentadas con diferentes densidades de alimento.

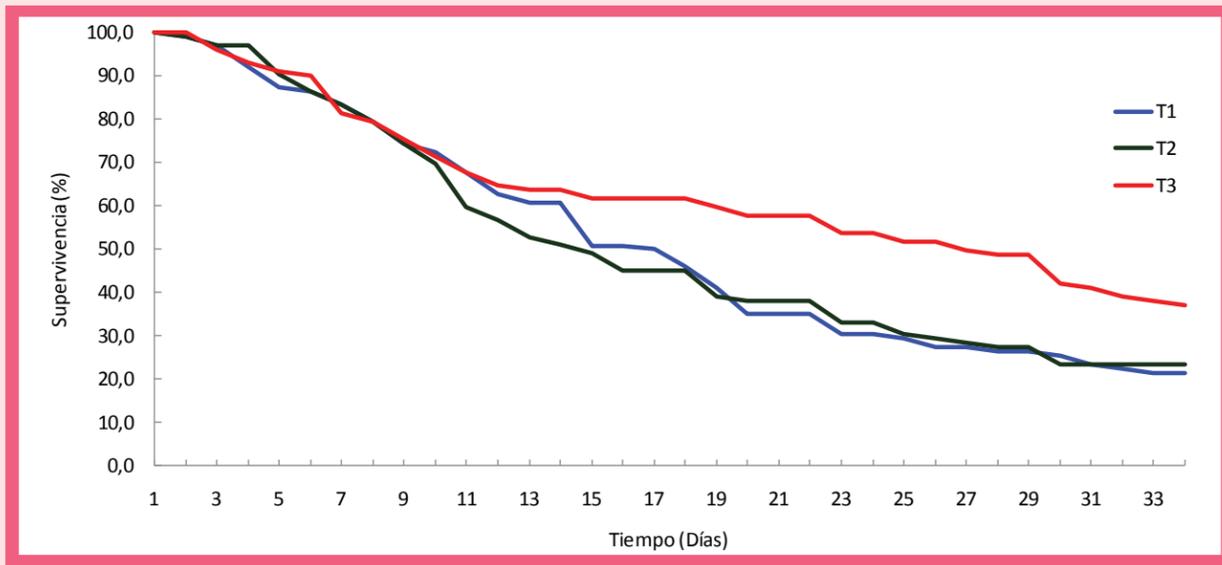


Figura 64. Supervivencia en crías de *H. reidi* alimentadas con diferentes densidades de alimento.

5.7 Mantenimiento de juveniles

Entre los seis y ocho meses de edad, se empieza a observar la diferenciación sexual de los caballitos, a partir de este momento se les considera juveniles. En esta etapa los organismos se alimentan de

manera similar a los adultos suministrando Artemia adulta y misidáceos congelados tres veces al día. En esta etapa se debe iniciar la separación en tanques por sexos para evitar cruces entre hermanos que propician la homocigosis genética.

Cuando los caballitos han alcanzado una talla de aproximadamente 6-7cm se procede a sexarlos, marcarlos y trasladarlos a tanques en donde sea más eficiente el mantenimiento y la alimentación.

La marcación permite la trazabilidad de los organismos ya que cada marca indica el lote de procedencia, utilizar este sistema en animales con menos de 6cm no es recomendable ya que les afecta el nado, la flotabilidad y la captura de alimento por ser pesadas e incómodas para su tamaño y habilidad. El proceso de marcación diseñado es muy económico y de fácil consecución, se utilizan pequeños cauchos de colores con chaquiras para diferenciar los lotes

y poder realizar seguimientos periódicos de su crecimiento y un monitoreo de la supervivencia de cada lote. Para su colocación el caucho es introducido por la cabeza del caballito y ajustado al cuello con la chaquira, el caucho no puede quedar tan apretado que sofoque al animal, ni tan flojo por que puede fácilmente perderlo (Ospina-Salazar *et al.*, 2011). Durante los primeros dos meses después de colocada la marcación (6-8 meses de edad) el caucho debe ser ajustado semanalmente, del tercero al séptimo mes cada 20 días y después de los ocho meses de edad cada mes. Durante los ajustes también se realiza una limpieza del caucho y se retiran las anémonas que se hayan podido adherir (Figura 65).

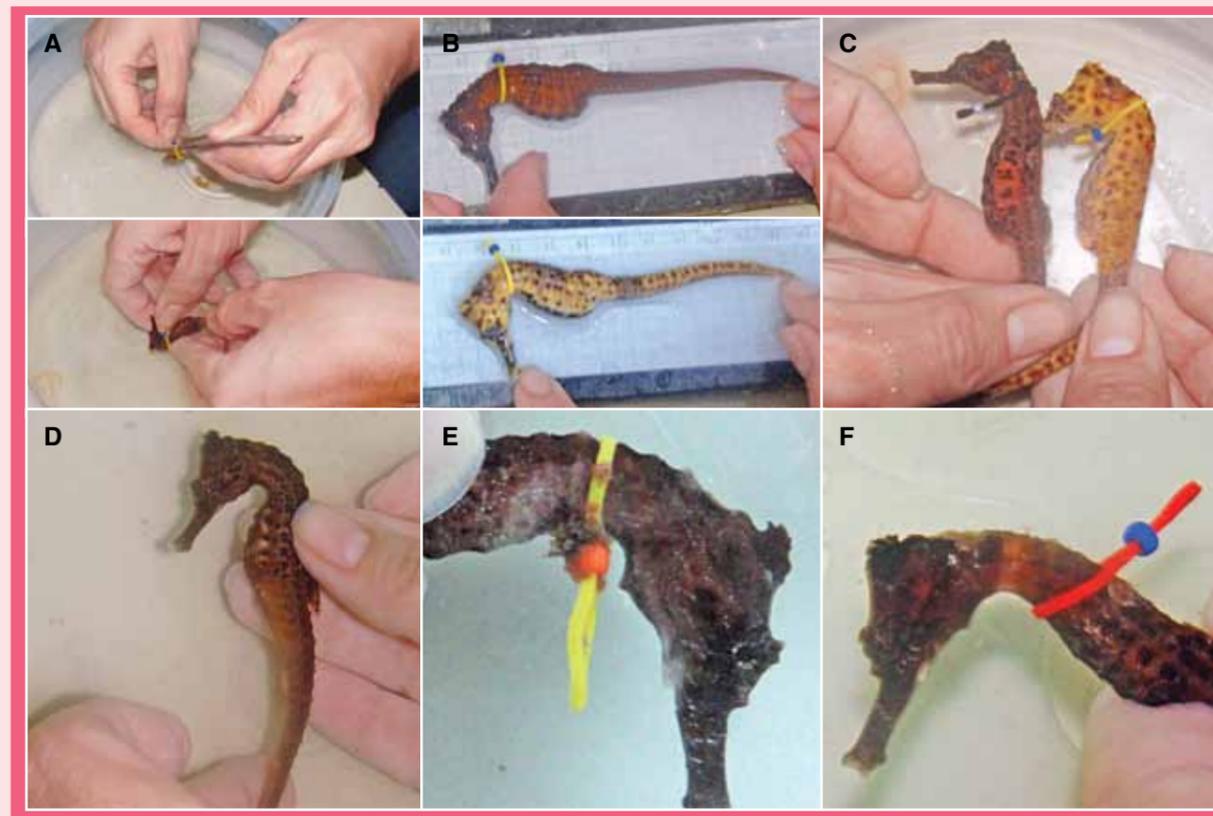


Figura 65. Marcación de juveniles. Marcaje (A), medición (B), sexaje hembra (C), macho (D), anémonas en el caucho (E) y juvenil con maltrato en el cuello debido a la marcación (F).

Una vez marcados los animales se dividen en machos y hembras y se ubican en tanques similares a los de los reproductores en los cuales se pueden colocar 30 a 40 juveniles (Figura 66). La cantidad de animales se determina observando el comportamiento, en

ocasiones se ven incomodos y se agarran de los otros, este comportamiento en ocasiones impide una correcta alimentación porque los grandes arrastran a los más pequeños o se agarran del hocico y a veces les cuesta trabajo liberarse.

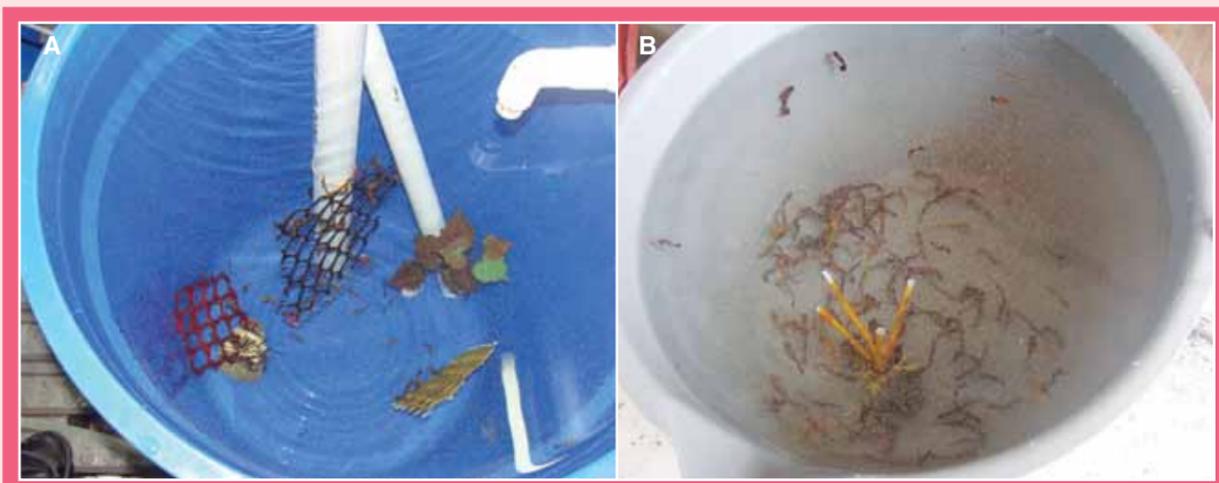


Figura 66. Traslado de juveniles. Juveniles de 5 meses (A) y juveniles de 8 meses (B).

En el laboratorio se cuenta con una base de datos en la cual se registra toda la información relacionada con los caballitos, especialmente la procedencia y los cruces que se realizan para obtener más animales. En el inventario del mes de julio del 2011 se contaba con 93 ejemplares juveniles nacidos en el laboratorio y dos lotes de 100 animales de menos de 1 mes. Algunos de estos juveniles ya

se han empezado a cruzar, inicialmente los partos son de pocos individuos y de tamaños por debajo de la talla mínima establecida como viable, pero a medida que crecen, la condición reproductiva va mejorando. La cría de mayor edad nacida en el LABBIP es del 3 de diciembre del 2009, actualmente hay 17 lotes de diferentes edades (Figura 67).



Figura 67. Diferentes lotes de caballitos de mar *H. reidi* mantenidos en el LABBIP.

5.8 Mantenimiento de juveniles en Langostinos del Llano Ltda.

Una vez realizada la transferencia de tecnología, instalados los sistemas de recirculación, filtración, aeración, desagüe y madurado el sistema, las metas principales son:

- Mantener la calidad de agua del sistema.
- Conocer la capacidad de carga.
- Mantener los caballitos en condiciones óptimas.
- Reducir los costos de producción.

5.8.1 Resultados obtenidos

Los organismos adultos se adaptaron rápidamente al sistema y la supervivencia fue del 100% durante nueve meses sin problemas de enfermedades. En cuanto a su comportamiento reproductivo, como se observa en la Tabla 10, durante cuatro meses de producción, utilizando 4 hembras y 4 machos, se lograron 24 partos, con una frecuencia de aproximadamente 15 días y con un promedio de 417 crías de caballitos de mar, para un total de 10.022 crías, también se observa que la hora de nacimiento más frecuente es en la mañana alrededor de las siete, con algunos eventos en la tarde.

Tabla 10. Reporte de nacimientos ocurridos en Langostinos del Llano Ltda, durante cuatro meses.

FECHA (NACIMIENTOS)	TANQUE	CANTIDAD	HORA DEL NACIMIENTO
25-mar	T1	152	15:00
06-abr	T1	473	09:30
23-abr	T1	471	07:00
07-may	T3	510	07:00
08-may	T1	615	07:00
22-may	T3	408	07:00
22-may	T1	506	15:00
02-jun	T2	405	07:30
06-jun	T1	545	07:00
06-jun	T3	522	07:00
16-jun	T2	214	06:00
19-jun	T1	661	07:00
20-jun	T3	525	06:30
29-jun	T4	207	03:00
01-jul	T2	290	07:45
03-jul	T1	202	07:00
04-jul	T3	530	07:00
04-jul	T1	578	07:00
14-jul	T2	199	07:00
17-jul	T1	383	07:30
18-jul	T2	356	07:30
19-jul	T3	729	07:30
28-jul	T4	305	07:00
29-jul	T2	236	10:00
TOTAL		10.022	

5.8.2 Mejoramiento del sistema de producción

Durante el primer ensayo se utilizaron los diseños de incubadoras de 20L con sistema de regadera y desagüe con espuma y media velada, para evaluar los resultados de acuerdo a las nuevas condiciones en el laboratorio de Langostinos del Llano Ltda (Figura 68A). Debido

a que se observó que la fuerza de succión en el filtro seguía siendo fuerte para las crías y el filtro permanecía limpio por muy poco tiempo, debido a la retención de partículas en el fondo, se decidió ubicar el desagüe un poco levantado del fondo con lo cual disminuyó la fuerza de succión, el sistema de filtración trabaja mejor y retiene más tiempo el alimento en la incubadora (Figura 68B).

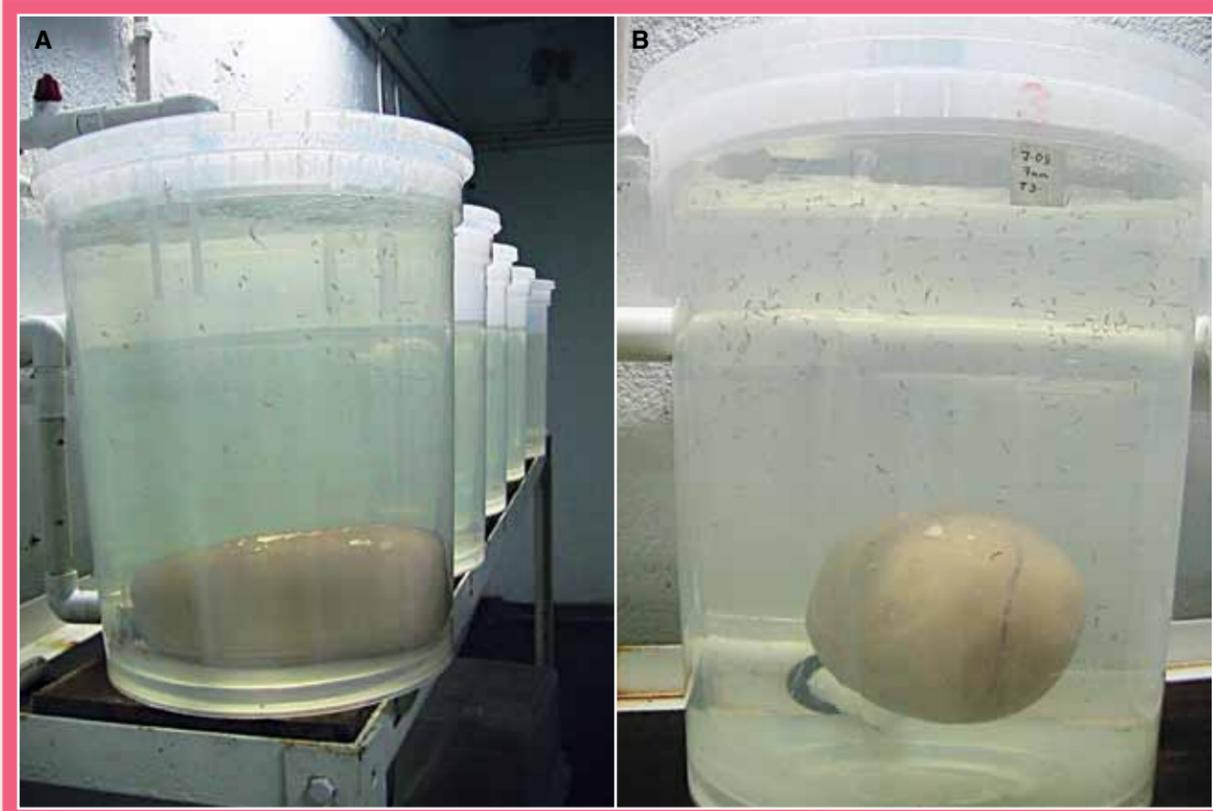


Figura 68. Incubadoras de 20L para el mantenimiento de crías. Diseño inicial (A) y modificación al sistema de desagüe (B).

Inicialmente los juveniles se mantenían en los sistemas de incubadoras hasta que fue evidente que ya estaban entrando en la etapa reproductiva, observando huevos en el fondo debido a la reducida altura de la columna de agua, como se había descrito anteriormente en el LABBIP (Figura 69).

También se presentaron nacimientos antes de término, donde se observaron larvas en diferentes estados de desarrollo (Figura 70).

La alimentación de las crías más grandes, los juveniles y los adultos se realiza con camarones de agua dulce en diferentes estadios de desarrollo como un sustituto de la Artemia. No se han observado reacciones adversas y sí se disminuyen los costos de mantenimiento y se facilita el manejo, ya que el cultivo de los camarones de agua dulce presenta menor dificultad que el de Artemia.



Figura 69. Huevos encontrados en el fondo de la incubadora donde se mantenían los juveniles.

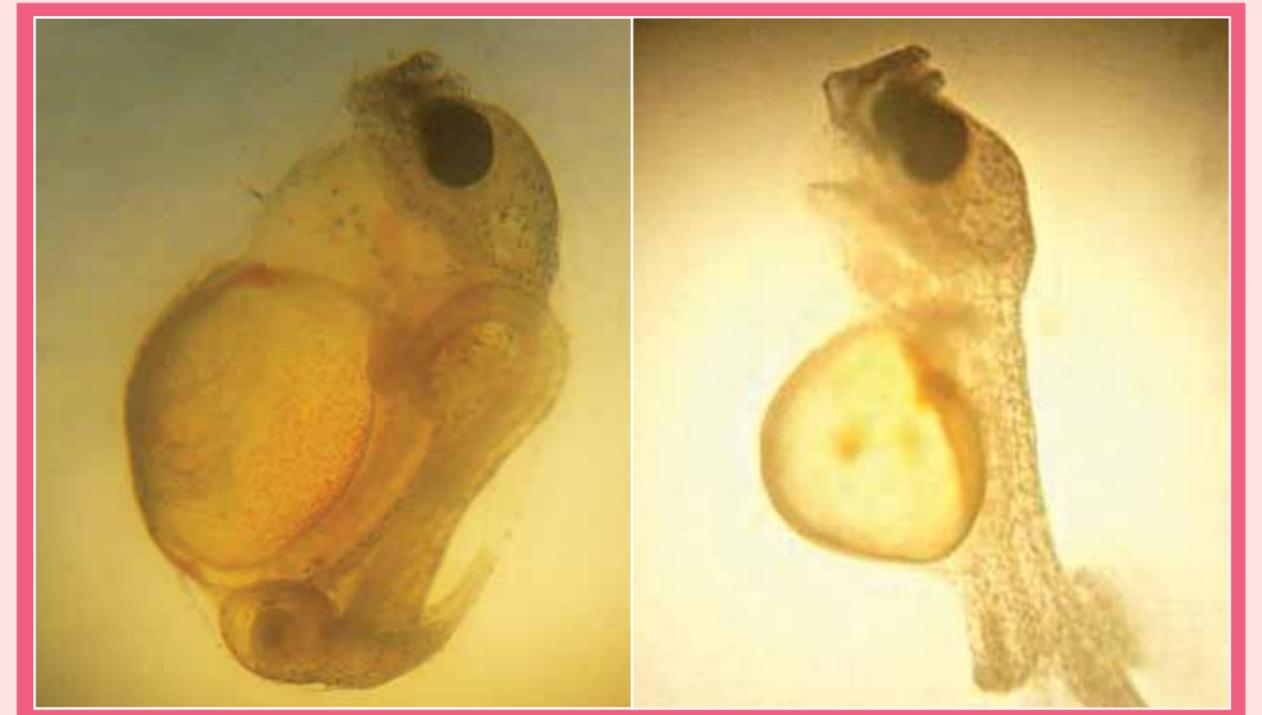


Figura 70. Larvas de caballitos de mar *H. reidi* en diferentes estadios de desarrollo.

5.8.3 Principales retos

Hay que adaptar un sistema para recuperar la Artemia que queda retenida en el sistema para enriquecerla nuevamente, ya que aunque queda retenida en el sistema y los animales la consumen, ya no tiene valor nutricional y si se trata de enriquecer en las incubadoras se deteriora la calidad del agua del sistema.

Ha sido difícil mantener estable la temperatura del agua en el sistema, debido a las condiciones ambientales externas que afectan la tubería de abastecimiento que se encuentra a la intemperie.

Otras dificultades:

- Dos abortos y dos partos prematuros (probablemente por estrés de los reproductores).
- “Desaparición” de los bebés durante la noche por depredación de una salamandra de cola negra.
- Falta mejorar el sistema de producción escalonada de la Artemia y el cambio de dieta de Artemia a las postlarvas de camarón de agua dulce con los requerimientos nutricionales adecuados.

5.9 Resumen de resultados de los ensayos con *Hippocampus reidi*

El sistema más exitoso para el levante de crías durante el primer mes y medio de vida, fue un diseño de recirculación constante basado en los sistemas pseudokreisel con volúmenes de 12L y una densidad de siembra que puede variar entre 1,91 y 3,8 ind.L⁻¹ ya que en ningún momento se presentaron mortalidades del 100% (Pérez, 2011). Se corrobora lo establecido por Martínez-Cárdenas y Purser (2007) donde el color del tanque no afecta el cultivo de las crías, más el movimiento del agua y del aire si son determinantes.

Las mejores supervivencias de las crías, se presentaron a temperaturas de 23 y 26°C, observando una relación inversamente proporcional entre la supervivencia y la temperatura, demostrando que las altas temperaturas influyen en la mortalidad de las crías (Melo, 2010). Lin *et al.* (2006) encontraron en juveniles de *H. kuda*, que temperaturas entre

26-28°C son óptimas para su cultivo, obteniendo dentro de este intervalo supervivencias mayores al 80% y al igual que en el presente estudio, se evidenció un aumento significativo de la mortalidad a 32°C; sin embargo las supervivencias presentadas fueron mucho mayores que en la investigación realizada en el LABBIP, inclusive a la mayor temperatura (45,88±4,88%). Generalmente, dentro del rango de temperaturas que pueden ser toleradas por el pez, los procesos vitales pueden ser acelerados en aguas cálidas y lentos en aguas frías, pero temperaturas extremas fuera de este rango, o cambios abruptos, son a menudo letales para los peces (Lagler *et al.*, 1977); de esta manera, se puede evidenciar la susceptibilidad de las crías a las variaciones en la temperatura, y aunque las dos especies no comparten el mismo intervalo, si presentan cambios drásticos en la supervivencia al experimentar aumentos de hasta tres grados por fuera del intervalo óptimo, es así como la mortalidad de *H. kuda* se incrementa un 50% a 32°C, mientras que en *H. reidi* es mucho mayor (98-100%) en 29 y 32°C respectivamente (Melo, 2010). La temperatura es uno de los principales parámetros que puede afectar el crecimiento y la supervivencia de los caballitos de mar (James y Woods, 2001; Wong y Benzie, 2003).

Para los peces, la densidad de alimento presente y la tasa de ingestión varían con la edad, siendo los estados larvarios los que requieren de una mayor concentración de alimento al tener menor capacidad de movimiento y consumir más energía en su captura, ya que las larvas consumen preferentemente alimento vivo. En general, en estos estadios primarios las crías no aceptan alimentos artificiales con facilidad, siendo uno de los factores que más dificulta la consolidación y éxito productivo de muchas tecnologías de cultivo (Bautista, 1991). En el caso de los caballitos se observó que las crías son más susceptibles a estos parámetros de alimentación puesto que son organismos que no presentan una reserva vitelina al nacer, por tanto deben cazar la presa desde el primer momento (Payne y Rippingale, 2000; Sheng *et al.*, 2006; Lin *et al.*, 2008; Hora y Joyeux, 2009). Bautista (1991) observó que durante el primer día a las crías se les dificulta la caza de nauplios de Artemias recién eclosionados, pero

a medida que transcurre el tiempo, el animal va desarrollando la capacidad para capturarlos, ya que es un movimiento que implica no solo el tamaño de partícula suministrado, sino la destreza que el caballito tenga para posicionar correctamente la boca y ensanchar o mover las mandíbulas. En los experimentos realizados en el laboratorio se ha observado que durante la primera semana las crías perseguían a la presa y en algunas ocasiones la atacaban para succionarla, pero si al segundo intento no podían capturarla desistían y buscaban otra presa, indicando que son peces muy selectivos en la alimentación; 15 minutos después de agregar las raciones de alimento se observaba el estómago de las crías de color naranja y abultado, de tal manera que se puede comprobar muy fácilmente que se estaban alimentando durante la fase planctónica. Así mismo cuando se les suministraban raciones de Artemias o rotíferos menores a 1 o 2 ind.mL⁻¹ no había una estimulación para que los caballitos tomen una posición de acecho (Sánchez-Cardozo, 2011).

Al analizar el crecimiento de las crías, se observa que a 26°C se obtienen los mejores pesos y tallas, seguido por los tratamientos a 29°C y finalmente a 23°C, donde los caballitos presentaron los menores valores en todos los índices de crecimiento evaluados. Lo anterior sugiere que aunque a 23°C se alcanza una mejor supervivencia, el estado de nutrición de los animales es mucho menor que los cultivados a 26°C, con una diferencia de casi 20mg, por lo que los caballitos cultivados a 23°C crecen a una tasa mucho menor que a una mayor temperatura, mientras que a 29°C aunque crecen más que a 23°C la supervivencia se ve severamente afectada. Resultados similares se han presentado en otras especies, por ejemplo Lin *et al.* (2008) encontró que los juveniles de *H. erectus* cultivados a 23°C obtuvieron los menores crecimientos, mientras que a 28°C presentaron los mayores. Lin *et al.* (2006 y 2008) obtuvieron un intervalo de temperatura óptima para el cultivo de *H. kuda* y *H. erectus* entre 28-29°C. Al igual que con la salinidad, la variabilidad de los pesos y las tallas se incrementa a medida que la temperatura aumenta (Melo, 2010).

Los nauplios de Artemia recién eclosionada son de aproximadamente 491µm de longitud y 161µm de ancho, mientras que los rotíferos tienen un tamaño entre 100-300µm. Las crías de *H. reidi* nacen con un diámetro de boca de aproximadamente 496µm, sólo las crías más grandes pueden alimentarse tanto de Artemias como de rotíferos, mientras que las más pequeñas están más limitadas ya que sólo pueden consumir rotíferos y pocos nauplios que tengan el tamaño adecuado (Sánchez-Cardoso, 2011). Payne y Rippingale (2000) encontraron que crías de *H. subelongatus* a los cinco días de edad ya seleccionaban en su alimentación copépodos de la talla más grande por encima de los nauplios de Artemia; el consumo máximo establecido fue de 214 copépodos.caballito.h⁻¹ Sheng *et al.* (2006) estableció que los juveniles menores a tres días de edad, preferían nauplios de copépodos (*Pseudodiaptomus annandalei*) y nauplios de Moina (*Moina mongolia*) de aproximadamente de 698µm, en vez de copepoditos, al parecer éstos eran demasiado grandes (1.012µm) para ser consumidos por caballitos muy pequeños (la apertura de su boca a los tres días fue de 527µm).

Sheng *et al.* (2006) evaluó el comportamiento de alimentación para los juveniles de *H. trimaculatus*, obteniendo como resultado que esta especie presenta picos de alimentación en los juveniles especialmente en horas de la tarde (1430–1830h), estableciendo que al parecer presentan un ritmo de alimentación afectado tanto por factores exógenos como endógenos, las crías fueron observadas alimentándose activamente mientras nadaban en las horas del día, pero flotaban en la superficie durante la noche. Para los estudios del LABBIP, las crías de *H. reidi* estuvieron sometidas a un fotoperiodo de 14h oscuridad y 10h luz, observando que se alimentaron durante todo el día con las raciones proporcionadas, pero que presentaban mayor consumo o actividad alimenticia durante la primera (07: 00 am) y última ración del día (06:00 pm) (Sánchez-Cardoso, 2011).

Entre los cero y cuatro días de nacidas, las crías presentaban un comportamiento de natación

constante, hacia el día 20, ya comienzan a sujetarse al sustrato y a mantenerse en el fondo de la incubadora observándose la estrategia de detección del alimento, en la cual las crías realizaban una detección visual en el sustrato o mientras nadaban y comenzaban a ramonear el fondo, manteniendo una orientación visual de ambos ojos dirigidos hacia la presa. Después del día 34 las crías presentan también la estrategia de “sentado y esperando”, en la cual el animal permanece quieto, con la cola envuelta alrededor de una estructura de fijación, esperando a que la presa pase cerca para capturarla, pero también se pudo observar como las crías se soltaban y perseguían la presa para capturarla, lo cual no observó Felicio *et al.* (2006) para la misma especie (Sánchez-Cardoso, 2011).

Las mejores supervivencias para crías de caballitos de mar en los ensayos de enriquecimiento se obtuvieron con Protein Selco Plus (PSP), para el primer bioensayo las mayores mortalidades se presentaron al cuarto día de nacidos, lo que puede estar relacionando directamente con el tamaño de la presa en la alimentación, ya que se observaron muchas crías a las cuales se les dificultaba capturar la presa. En el bioensayo dos la supervivencia esta reportada después del día 13 de nacidos hasta el día 55 por lo tanto no se reflejan las altas tasas de mortalidad que se presentan durante los primeros siete días siendo las pendientes de supervivencia mucho menos inclinadas. Si las larvas de los peces no son alimentadas durante los primeros días de vida con el alimento adecuado, utilizan rápidamente su reserva vitelina reduciendo su peso corporal y causando atrofia en el tracto digestivo, originando lo que se denomina como punto de no retorno, momento en el cual la larva aún cuando esté viva es muy débil para alimentarse (Diaz *et al.*, 1995; Sheng *et al.*, 2006). En el caso de los caballitos la situación es más crítica ya que los animales nacen sin reserva vitelina, es decir que las reservas energéticas que tienen deben ser mucho más limitadas, es probable que la causa de la alta mortalidad después del cuarto día sea debida al punto de no retorno,

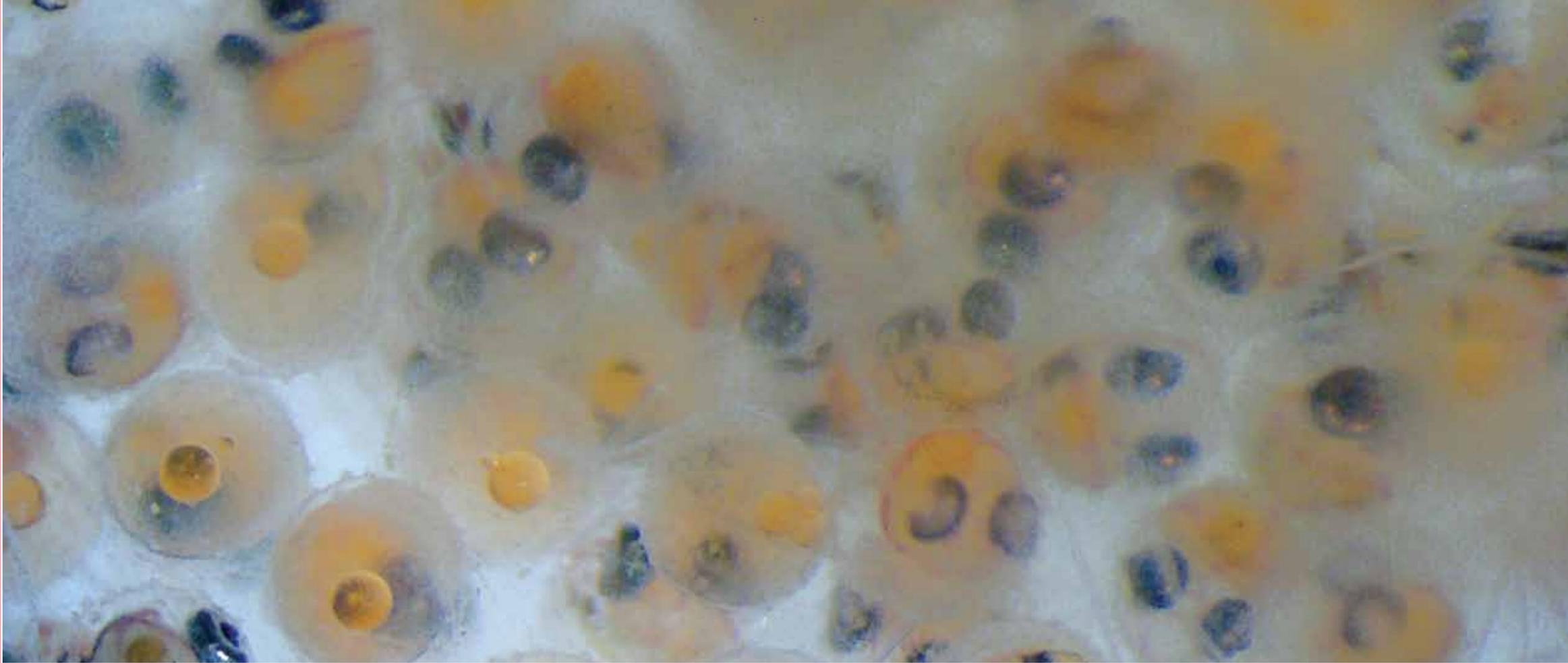
la cual alcanzó mortalidades de hasta el 60% en el primer bioensayo durante la primera semana de vida, por lo tanto se hace vital para la supervivencia de las crías la presencia de presas adecuadas durante sus primeras etapas de vida (Sánchez-Cardoso, 2011).

Los enriquecedores utilizados en las dietas evaluadas pretendían proporcionar los requerimientos energéticos necesarios para las crías de caballito de mar *H. reidi* durante sus primeras etapas, siendo esto reflejado en el crecimiento de los organismos en términos de talla y peso. Al evaluar el crecimiento de los organismos en el primer ensayo durante 46 días, se pudo determinar que las crías de caballitos de mar *H. reidi* crecen mejor con productos enriquecedores ricos en lípidos con un 45%, frente a la proteína de tan sólo 21%, así como una proporción de nutrientes adicionales como el fósforo, vitaminas A, D3, E y C, antioxidantes, HUFA mín. 90mg.g⁻¹ peso seco y DHA/EPA de 2,5%, características especiales que hacen exitoso un enriquecedor frente a los demás, lo que permite sugerir que en esta etapa de vida parecen ser más importantes los lípidos como fuente de energía que las proteínas. En el tema de los HUFA (ácidos grasos e senciales altamente insaturados), se podría estar reflejando la necesidad de los caballitos por fuentes grasas de la serie omega 3, este tipo de nutrientes desempeñan un papel decisivo para la flexibilidad y permeabilidad de las membranas plasmáticas, el funcionamiento normal de las mitocondrias y la actividad enzimática (ATPasa), ejerciendo funciones específicas para el sentido de visión de algunas especies de peces, formando parte de la estructura del *tapetum lucidum* y para la actividad de los nervios, además tienen gran importancia en el transporte de las demás grasas (Diaz *et al.*, 1995). La dieta enriquecida con emulsión de Scott (ES) que contenía sólo lípidos y algunas vitaminas, presentó los resultados más bajos en crecimiento, por tanto se destaca que, no solo es importante la cantidad de lípidos, sino también su calidad; se necesita un balance equilibrado de los nutrientes enriquecedores en el alimento vivo, ya que el índice de conversión del alimento

depende de su calidad, digestibilidad, frecuencia de alimentación, temperatura y contenido proteico. Generalmente, las grasas líquidas como la ES son más digeribles por los peces y el gasto metabólico es mayor en los peces carnívoros que en los herbívoros, por lo que requieren un mayor consumo de proteínas y al no haberlas suministrado en esta dieta se creó un desbalance en la síntesis (Bautista, 1991). La misma situación se observa en el bioensayo dos, donde el tratamiento que mostró los mejores resultados en términos de talla y peso fue con PSP, pero con un estrecho margen de diferencia comparado con el enriquecedor combinado de PSP+GVG, manteniéndose el

tratamiento que contenía ES como el de menor crecimiento, resultados similares se observan en Chang y Southgate (2001) quienes reportan que para *Hippocampus* sp. alcanzaron un máximo crecimiento de 20,2±0,3 mm en 30 días, cuando los juveniles fueron alimentados con enriquecedores que contenían altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados (HUFA) (Selco®; Inve, Belgium) en *Artemia* viva (Sánchez-Cardoso, 2011).

La densidad de alimento recomendada para el levante de las crías por lo menos durante los dos primeros meses de vida es de 6 art.mL⁻¹ (Montero-Ortega, 2011 en preparación).



1. Huevos fecundados de *Gramma loreto*
2. Larva de *Gramma loreto* de 4 días de nacida

6. GRAMMA LORETO

La producción y mantenimiento del loreto coliamarilla en laboratorio, requiere un amplio y cuidadoso manejo, debido a sus condiciones netamente tropicales (Mejía y Garzón, 2000). Se encuentra distribuido entre 1 y 40m de profundidad (Piecemo, 2008; Aquanovel, 2008a), tiene hábitos de alimentación carnívora (Fremman y Alevison, 1983; Pastor y Báez, 2002), no presentan dimorfismo sexual externo (Amador, 1982) y son organismos muy territorialistas (Fremman y Alevison, 1983) que por su carácter jerárquico se agrupan en pequeños grupos en un mismo lugar, el macho presenta cuidado parental de los huevos que son fecundados en nidos, estas características le confieren una serie de cualidades especiales que deben ser tenidas en cuenta para su cultivo a gran escala. A continuación se presentan los resultados obtenidos de todos los procesos que comprenden su manejo en cautiverio, la aclimatación, el mantenimiento, la alimentación e inicios de la reproducción.

6.1 Transporte

Debido al comportamiento conflictivo generado por la jerarquía que presentan los loreto al vivir en comunidad (Webster y Hixon, 2000, Webster, 2004), la mejor opción para el transporte de estos organismos es empacarlos cuidadosamente para evitar daños físicos o estrés por la manipulación de forma individual en bolsas con un $\frac{1}{4}$ de agua de mar a una temperatura de 25°C, salinidad de 34 y un pH de 8,1; luego se inyecta oxígeno dentro de la bolsa a un volumen aproximado de $\frac{1}{3}$ de su tamaño. Por último las bolsas se colocan dentro de una caja de icopor (poliestireno) de 25L (Figura 71), cuyas paredes internas y el fondo están recubiertas con una delgada lámina de espuma humedecida con agua a una temperatura de 24°C, con el propósito de generar un aislamiento térmico y mantener las condiciones internas de la nevera a la temperatura adecuada para los organismos, ya que esta influye en su metabolismo, pudiendo así reducir el gasto respiratorio a la vez que facilita la solubilidad del oxígeno en el agua, además 24h antes del transporte es recomendable no

alimentar los animales para evitar producción de metabolitos, producto de las heces (Bocek, 2000).

Una vez los peces lleguen al sitio de destino, lo primero que hay que hacer es abrir las bolsas y registrar las condiciones fisicoquímicas del agua de mar en la que se transportaban los organismos (temperatura, salinidad y pH) y verificar que no haya mucha diferencia con el agua del lugar (Tabla 11).

Comprobadas las variables, se iguala la temperatura lentamente dentro del sistema de cuarentena, en este caso se utilizó una canaleta rectangular de 2,5m de largo, 0,4m de ancho y una columna de agua de 0,4m, conteniendo accesorios en PVC (uniones, codos, etc) que sirven de refugio a los animales. Al introducir las bolsas dentro de la canaleta, se inicia un intercambio térmico muy lento a través de la bolsa, luego de 30 minutos y cada 20 minutos durante dos horas se coloca una pequeña cantidad de agua del sistema dentro de la bolsa, con el fin de equilibrar la salinidad, aumentar los niveles de oxígeno y el pH, variables que fueron monitoreadas hasta lograr el equilibrio. Una vez estabilizadas estas condiciones, los animales fueron liberados volteando las bolsas dentro de la canaleta (Figura 72). Posteriormente, se inicia el proceso de cuarentena en sí, manteniendo los organismos en acuarios o tanques aislados del sistema de recirculación, para evitar la entrada de posibles agentes patógenos al sistema (Bocek, 2000). Los organismos se alimentan tres veces al día con Artemia recién eclosionada y se realizan recambios diarios de agua del 20% del volumen, manteniendo las condiciones óptimas. Los animales son observados con regularidad para detectar eventualidades como agresiones o comportamientos anormales y reacciones durante la alimentación. Una vez finalizada la cuarentena, los peces se trasladan a acuarios de vidrio de 25L, colocando accesorios de PVC (Figura 72).

Tabla 11. Condiciones fisicoquímicas del agua de transporte de los peces y el agua del sistema de circulación del LABBIP.

Parámetro	Agua del sistema	Agua de las bolsas
Temperatura (°C)	26,6	25,2
Salinidad	34,4	36,7
pH	8,01	7,96



Figura 71. Transporte de organismos. Selección (A); empaque de forma individual (B); llenado con oxígeno (C); cierre de la bolsa (D) y ubicación de las bolsas dentro de la cava transportadora (E).



Figura 72. Proceso de aclimatación y cuarentena. Canaleta con guardias en PVC para la recepción de los peces (A); inicio del proceso de aclimatación para igualar temperatura (B); introducción de agua del sistema a la bolsa (C); observación de las condiciones del pez (D); liberación de los peces en la canaleta (E) y traslado de los peces a acuarios de vidrio de 25L (F).

6.2 Mantenimiento de adultos

Los loreto en su medio natural viven en cuevas, grietas o salientes (Webster, 2004; Picemo, 2008), debido a su comportamiento territorialista y agresivo, principalmente con organismos de la misma especie y del mismo sexo o tamaño (Freeman y Alevizon, 1983), y a su condición asustadiza (Webster, 2004), es necesario contar con sistemas de cultivo que simulen todas estas condiciones y que les permita desarrollar todos sus procesos naturales, durante su mantenimiento en el laboratorio.

El primer sistema utilizado para adaptarlos a las condiciones de cultivo fue una canaleta en fibra de vidrio de 300L, conectada al sistema de circulación de agua del laboratorio con un

desagüe tipo collar, en el cual se instalaron mangueras aireadoras que mantenían un movimiento en el agua simulando las corrientes naturales; el segundo sistema, usado consistió en acuarios de vidrio de 25L, los cuales estaban conectados al sistema de circulación y que tenían al igual que la canaleta un desagüe tipo collar y accesorios de PVC, pero dado que sólo se podían mantener máximo dos peces por acuario, lo cual dificultaba su manejo; se acondicionó por último un acuario de 900L con accesorios en PVC y ladrillos conectado al sistema de circulación, cuyo flujo de agua entra por el fondo y sale por la parte superior (Figura 73). Todos los días en la mañana se monitorearon las variables fisicoquímicas del agua: temperatura, pH, salinidad y oxígeno.



Figura 73. Sistemas para el mantenimiento de adultos y juveniles de *Gramma loreto*. Canaleta en fibra de vidrio de 300L (A); acuario en vidrio de 25L (B) y acuario de 900L (C).

Durante el mantenimiento de los peces, su alimentación se basó principalmente en *Artemia* recién eclosionada, la cual fue suministrada entre tres y cuatro raciones durante el día, dieta que estuvo alternada con el suministro de una ración de misidáceos vivos o congelados tres veces por semana, esto debido a que se quería mantener el hábito alimenticio que presentan estos organismos en el medio natural, que está constituido por pequeños crustáceos de vida libre (Freeman y Alevizon, 1983; Pastor y Báez, 2002).

El alimento se suministró en un área representativa de la canaleta y del acuario, para darle la posibilidad a los individuos más

pequeños de poder alimentarse, y así evitar lo que según autores como Webster y Hixon (2000) y Webster (2004) describen que ocurre en el medio natural donde la alimentación está ligada a un dominio jerárquico, en el cual los peces más grandes se alimentan primero y en mayor cantidad, lo que impide que muchas veces los juveniles puedan hacerlo, generando efectos negativos en estas comunidades. Al utilizar esta técnica de alimentación durante el cautiverio, se observó que todos los animales se alimentan al mismo tiempo y en las mismas proporciones. Otra alternativa probada teniendo en cuenta algunas recomendaciones realizadas por acuaristas, fue el suministro de alimento

peletizado (Aquanovel, 2008a), el cual se dió en forma alternada tres veces a la semana, siendo aceptado por los animales, aunque al principio tímidamente, al cabo de unos días lo hacían con avidez, subiendo hasta la superficie a capturar el alimento que se encontraba flotando. Los peletizados suministrados contenían una proporción de proteína entre 50 y 60% y de lípidos del 9 al 31% valores nutricionales que pueden ser comparados con los obtenidos en el medio natural, además contenía carotenos, ideales para el mantener la coloración.

Cualquier organismo que se mantenga en cautiverio se encuentra expuesto a infecciones biológicas o patológicas; sin embargo, los acuarios marinos estables y con varios meses de funcionamiento, no suelen presentar problemas de enfermedades en sus inquilinos. Aunque muchas especies de ectoparásitos suelen estar permanentemente presentes en los acuarios difícilmente suelen prosperar. Cuando esto se presenta es porque hay factores estresantes que debilitan las defensas de

los peces como el ingreso de nuevos organismos, sobrepoblación, condiciones inadecuadas de mantenimiento o mala alimentación por ejemplo.

Durante el tiempo en que se mantuvieron los ejemplares de *G. loreto* en el laboratorio, se observó la presencia de un ectoparásito común en peces marinos ornamentales denominado el ich marino o enfermedad de los puntos blancos (Pro, 2008), causada por un protozoo ciliado llamado *Cryptocarium irritans*, el cual afecta principalmente branquias, aletas y la piel del animal (Figura 74). Fue fácil determinar el organismo patógeno debido a su tamaño el cual es similar al de una cabeza de alfiler, también por la reacción de los animales, los cuales frotaban vigorosamente su cuerpo contra cualquier superficie disponible, como las guardidas construidas con ladrillos y accesorios de PVC, entre otros, clara señal de la infestación por el parásito. Esta infección está asociada particularmente a estrés, manipulación, cambio de la temperatura, altos niveles de nutrientes, pH y oxígeno (Pro, 2008).

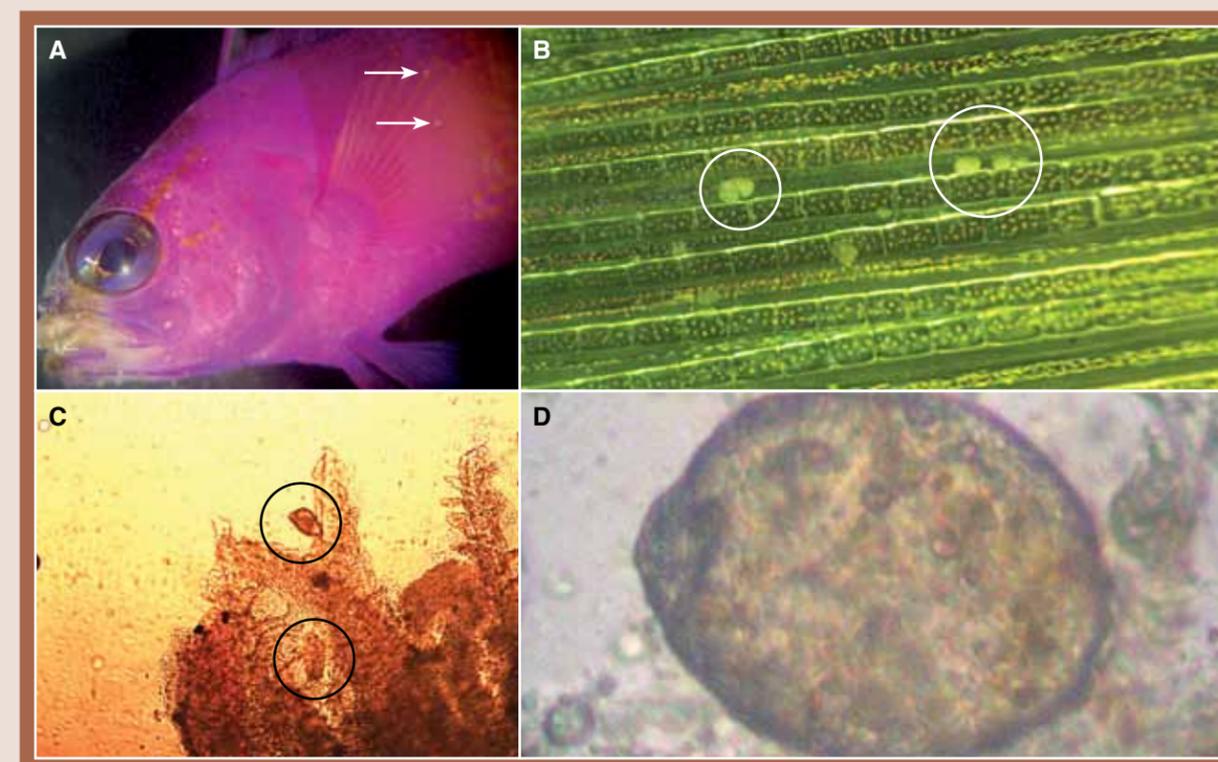


Figura 74. Presencia del ich marino en *Gramma loreto*. Pez infectado con ich marino (observese los puntos blancos, flechas) (A), ich marino en aleta caudal (círculos) (B); en branquias (círculos) (C) y ejemplar de ich (D).

La primera infección se presentó a principios del 2010 y además del comportamiento descrito anteriormente en los animales, presentaban falta de apetito ya que no se observaban que comieran, nado errático, problemas al respirar observándose un rápido y amplio movimiento del opérculo, además permanecían resguardados la mayor parte del tiempo en las guaridas, cuando normalmente estos animales se mantienen todo el tiempo nadando y finalmente la observación de puntos blancos que parecían gránulos de sal adheridos al cuerpo de los organismos.

El lote fue tratado con un medicamento natural a base de hierbas recomendado para infecciones del ich, que fue aplicado durante una semana según recomendaciones del fabricante; sin embargo este tratamiento no dió buenos resultados muriendo la mayoría de los animales. Un segundo episodio de infección causada por el mismo ectoparasito, se observó en unos meses después en 32 organismos que se mantenían en un acuario de 900L, al observar los signos ya mencionados, los animales fueron aislados inmediatamente, este brote se relacionó con un aumento en la temperatura y

estrés de los animales debido al confinamiento y a la presencia permanente del personal. La infección fue detectada a tiempo debido a que se reconoció el comportamiento observado en los peces infectados anteriormente, por lo que se aplicó un tratamiento con baños de agua dulce y baja salinidad sumergiendo individualmente los organismos en un recipiente con agua dulce por ocho minutos, luego en uno con salinidad de 16 por ocho minutos y finalmente en un acuario con salinidad 33. La siguiente etapa del tratamiento consistió en disminuir la salinidad de 33 a 16 paulatinamente en un lapso de cuatro días, paralelamente se aumentó la temperatura, incrementándola dos grados por día hasta 31°C; durante este tiempo se realizaron recambios diarios de agua del 20% del volumen total, a la misma salinidad y temperatura, estas condiciones se mantuvieron por dos semanas logrando controlar el brote. Si se observa que los organismos continúan con el típico comportamiento infeccioso, se deben realizar nuevamente baños de agua dulce y mantener la salinidad a 16 y 31°C de temperatura por 14 días, hasta cuando no se evidencien síntomas de la enfermedad (Ospina-Salazar *et al.*, 2011) (Figura 75).



Figura 75. Aplicación del tratamiento para eliminar el ich en *Gramma loreto*. Individuos infectados (A), animales en agua dulce (B y C) y acuario con agua a 16 de salinidad para tratamiento durante 14 días (D).

Al mismo tiempo que se mantenían los peces en recuperación, se realizó el lavado con agua dulce del acuario donde se observó la infección, para erradicar los posibles estadios de vida libre (tomontes y tomitas) que presenta *C. irritans* antes de infectar el pez (Pro, 2008). Pasado el período del tratamiento se regresa poco a poco a las condiciones normales de mantenimiento hasta llegar a la

salinidad de 33; finalmente se pasaron todos los animales al acuario que mantenía los niveles de temperatura y salinidad óptimos y que se encontraba conectado al sistema de circulación. Durante y después del tratamiento no se presentó mortalidad alguna, al igual que no se evidenció nuevamente un comportamiento infeccioso, demostrando que el tratamiento fue efectivo (Figura 76).



Figura 76. Aplicación del tratamiento de hipersalinidad. Acuario de 900L con las condiciones necesarias para la aplicación del tratamiento (A) y observación de los peces en buena condición después del tratamiento (B).

La reproducción en los *Gramma loreto* es un proceso que presenta un mayor grado de complejidad si se compara con otras especies de peces marinos, principalmente debido a la falta de dimorfismo sexual que dificulta la identificación de hembra o macho. La creación de un nido en sitios no expuestos y de fácil acceso, el cuidado parental a sus huevos en gestación, son características que permiten identificar que un pez es macho.

Para iniciar este proceso es necesaria la preparación de los acuarios, seleccionar e identificar las parejas reproductoras, las cuales se ubican por separado en los acuarios para reproducción. Se deben tener en cuenta algunos criterios de selección como son (Ospina-Salazar *et al.*, 2011):

- Seleccionar organismos mayores de 3,5cm considerados maduros sexualmente (Asoh y

Shapiro, 1997; Gutiérrez y Báez-Hidalgo, 2002).

- Las parejas pueden ser escogidas por tallas, asumiendo que los machos son más grandes que las hembras (Asoh, 1992).
- En el laboratorio se determinó que las hembras presentan un abdomen abultado de forma cóncava, en contraste con el de los machos que parece un poco convexo.
- Para verificar la heterosexualidad de las parejas y evitar que animales del mismo sexo se maten entre sí, los peces deben ser observados frecuentemente. Cuando la lucha es continua o si se presentan daños en aletas o boca, uno de ellos debe ser reemplazado (usualmente el más pequeño), hasta observar señales de cortejo, este proceso toma algún tiempo.

Los acuarios utilizados para el proceso de reproducción, debe tener ciertas características que induzcan al animal a realizar este proceso. Los

acuaristas recomiendan una pareja en un acuario de 200L; sin embargo en el LABBIP se logró la reproducción en acuarios de 25L, pero es mejor usar un volumen mayor y tomar en consideración lo siguiente (Ospina-Salazar *et al.*, 2011):

- Utilizar acuarios oscurecidos, solo con una pequeña ventana, con lo cual los organismos no ven su reflejo y están más tranquilos.
- Colocar 2cm de conchilla o cascajo en el fondo del acuario en el cual puedan “cavar” para formar su nido.
- Los acuarios deben tener tapa para evitar escapes.
- El sistema debe contar con un desagüe conectado a la circulación del laboratorio, una entrada de agua y una línea de aeración.
- Los reproductores prefieren guaridas estrechas a manera de cuevas, para lo cual

se agregan estructuras en PVC de no más de 1”, cerradas en un extremo, para que las usen como nido para la puesta de huevos.

Se pueden utilizar diferentes materiales para la construcción del nido, como: algas de los géneros *Dyctiota* y *Caulerpa*, además de materiales sintéticos como pequeños trozos de guata, fibras de hilo, y pequeños cortes de malla plástica, lograndose observar que todo el material proporcionado era utilizado por los peces. Es importante colocar los acuarios en un área donde el paso de personas sea mínimo, debido al carácter asustadizo de estos animales que les provoca estrés pudiendo afectar el proceso de reproducción, además la zona no debe tener mucha iluminación ya que prefieren sitios de poca luz para poder llevar a cabo este proceso (Asoh y Yoshikawa, 1996) (Figura 77).

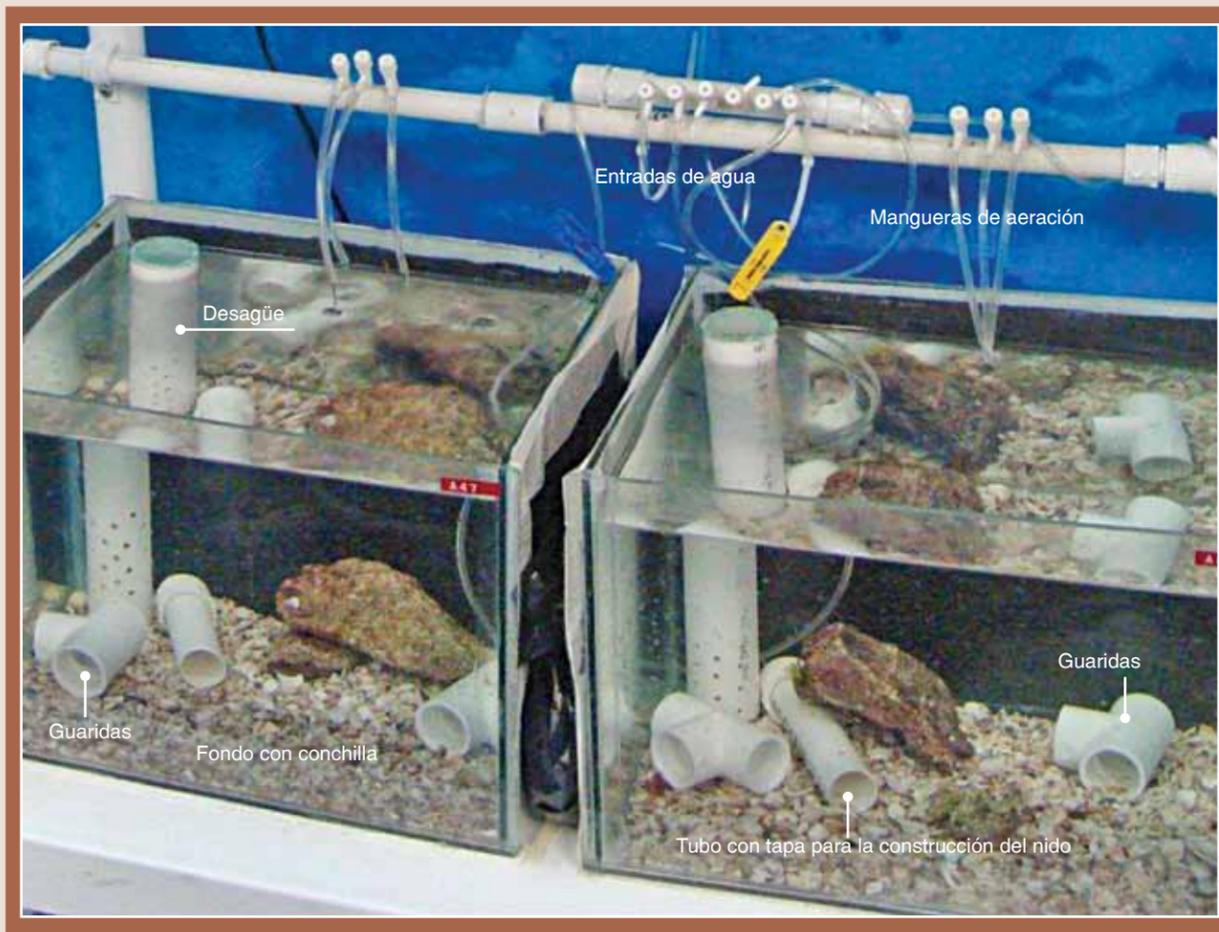


Figura 77. Adecuación de acuarios de 25L para reproducción de *Gramma loreto*.

La selección de reproductores requiere mucha observación y cuidado, ya que puede incurirse en un error al seleccionar dos organismos del mismo sexo. El primer paso fue seleccionar e identificar las parejas teniendo en cuenta lo propuesto por Amador (1982), donde describen que los machos de *G. loreto* tienen mayor tamaño que las hembras. Teniendo en cuenta esto, se seleccionaron tres peces con una talla entre los 48 y 53mm de longitud estándar (LS), considerandolos como “macho” y posteriormente tres “hembras” que tenían entre los 28 y 32mm de LS. Otros autores mencionan que a los 35mm los loreto alcanzan su madurez sexual (Asoh y Shapiro, 1997;

Gutierrez y Báez, 2002). Posteriormente, cada hembra se colocó con un macho, observando en algunos casos territorialismo, agresión y ataque del pez de mayor tamaño que imponía su dominio jerárquico (Webster y Hixon, 2000, Webster, 2004), restringiendo muchas veces al pez a no comer, e incluso ni nadar, ya que las persecuciones eran constantes, por lo que fueron reemplazados por individuos de menor tamaño, hasta lograr un comportamiento menos agresivo entre los individuos indicando la conformación de la pareja. Se presentaron muertes de algunos peces, muy seguramente porque se introdujeron en el acuario dos individuos del mismo sexo (Figura 78).



Figura 78. Selección e identificación de parejas de *Gramma loreto* para iniciar el proceso de reproducción.

Con la experiencia en el manejo de los peces, se pudo diferenciar que el abdomen del pez en su época reproductiva que va de enero a junio (Erdman, 1976; Amador, 1982), es un carácter distintivo para establecer el sexo. En los machos el abdomen es continuo presentando una forma cóncava, mientras en las hembras toma una forma redondeada y abultada (Figura 79). Para corroborar que las observaciones de la forma del abdomen podía ser indicativo del sexo de los animales, y también para describir la morfología de las gónadas, se realizaron disecciones de los organismos que iban muriendo en el laboratorio, previa observación y descripción de sus características externas. Se observó que el aparato reproductor masculino consta de un par

de testículos delgados semitransparentes que se encuentran a un costado de la vejiga natatoria y que se unen hasta el gonoducto; mientras que el femenino tenía un par de ovarios de gran tamaño y bastantes huevos. Posteriormente, se realizaron cortes histológicos, confirmando que las hembras exhibieron la gónada en desarrollo, con ovocitos en formación, la pared gonádica empieza a engrosarse, el lumen disminuye, comienza la aparición de vesículas de vitelo, también se registró atresia recientes y tardías. En los machos se encontraron las gónadas maduras con los túbulos totalmente llenos de espermatozoides, el tejido conjuntivo es escaso y no se observa la presencia de ninguna otra fase de desarrollo de células espermáticas (Figura 80).

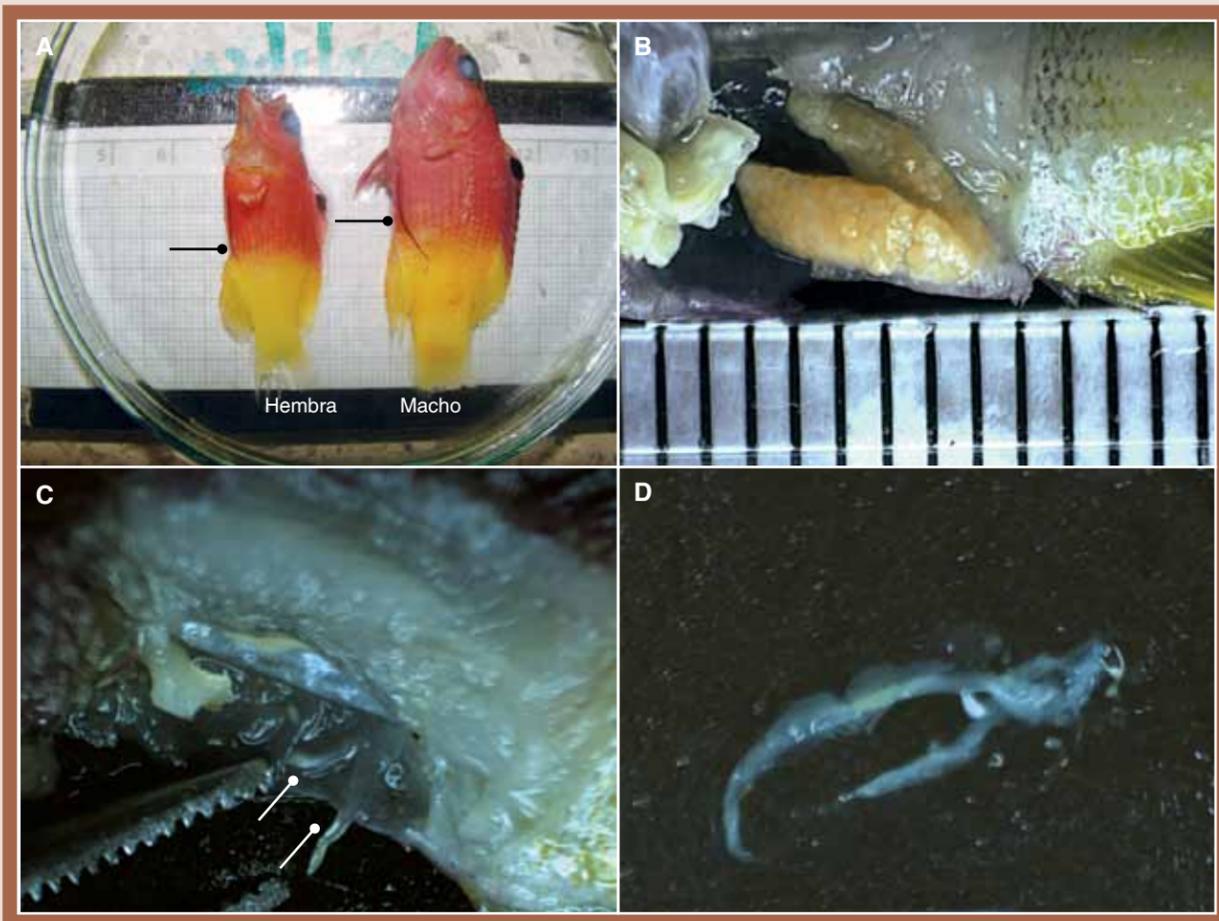


Figura 79. Carácter distintivo para establecer el sexo de los peces. Forma del abdomen para determinar el sexo (A); Gónada femenina (B); Gónada masculina (C y D).

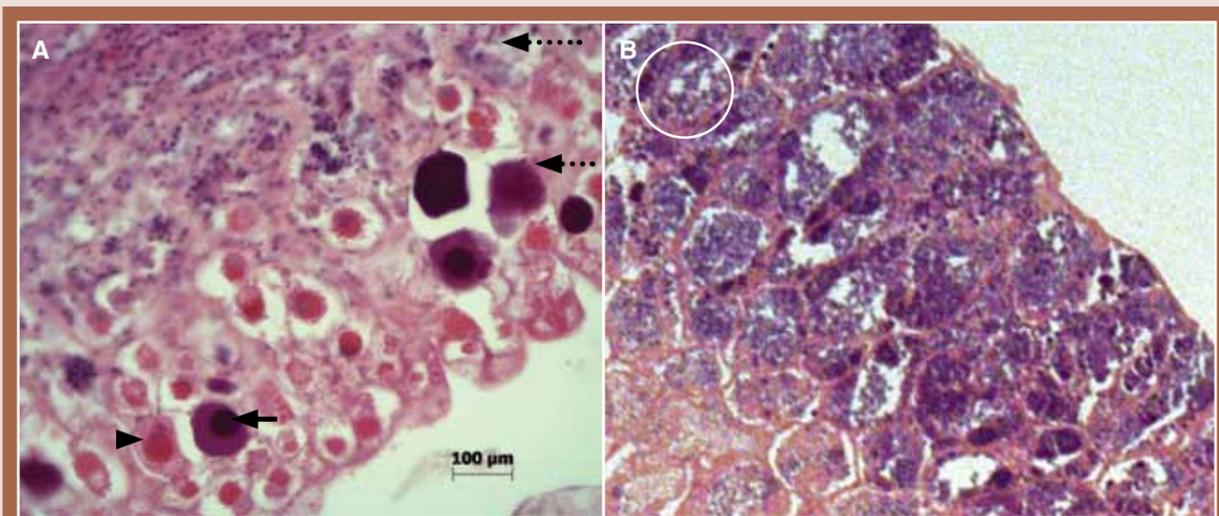


Figura 80. Secciones histológicas de gónadas de *G. loreto*. Hembra: ovogonias (punta de flecha), ovocitos (flecha) y ovocitos atresicos (flecha punteada) (A) y macho: túbulos seminíferos (circulo) conteniendo espermatozoides (B).

El cortejo inicia con insistencia del macho de estar cerca a la hembra y agresiones sin llegar a maltratarse, posteriormente, el macho construye el nido dentro del tubo de PVC de 1" tapado por un lado, donde el pez introduce pequeños fragmentos de guata e hilos sintéticos y los acomoda en el fondo durante dos días. Una vez construido el nido, el macho se mantiene la mayor parte del tiempo dentro del tubo, saliendo en ocasiones en busca de la hembra, la cual siempre se observó a un costado del acuario alejada del nido y tal vez en espera de alguna señal generada por el macho,

que frecuentemente entraba y salía del nido. A continuación el macho llega hasta donde se encuentra la hembra y empieza a dar vueltas alrededor de ella, propinándole pequeños empujones con la cabeza por un costado del cuerpo como "invitandola" a entrar al nido; la hembra accede e ingresa por primera vez al nido a depositar los huevos por un período de 40 segundos aproximadamente. Una vez sale la hembra el macho entra a fecundar los huevos, proceso que dura proximadamente un minuto, este comportamiento se repite durante 3-4 días (Figura 81).



Figura 81. Cortejo del *G. loreto*. Macho colectando algas (A), macho construyendo el nido (obsérvense las algas en el fondo del tubo) (B); hembra en espera de iniciar el cortejo (C), hembra colocando los huevos dentro del nido y macho a la espera para entrar a fecundar los huevos (D) macho cuidando y aireando los huevos (E) y huevos en el nido (F).

Finalizado este proceso, el macho pasa la mayor parte del tiempo en la entrada del nido protegiéndolo, limpiándolo y aireando la masa de huevos con movimientos de la aleta caudal; el macho solo sale del nido para alimentarse justo en el momento en que se le proporciona el alimento, o en persecución de la hembra si esta se acerca mucho al nido, todo este proceso fue observado en las últimas horas de la tarde. Según Asoh y Yoshikawa (1996) en el medio natural, la reproducción se lleva a cabo en horas de la madrugada, iniciando el cortejo de manera similar al comportamiento descrito anteriormente. Se debe tener en cuenta que si no se logra observar el cortejo entre los animales, es necesario revisar el nido a diario,

ya que este se puede presentar en horas de la mañana (Asoh y Yoshikawa, 1996). La revisión para determinar cuando se ha iniciado la puesta, debe hacerse de manera visual para no manipular los animales, evitando el estrés para que la puesta no se retrase.

Los huevos tienen un aproximadamente 1mm de diámetro y forman una gran masa que esta sujeta por los materiales con los que se construyó el nido (algas y/o guata). Es importante revisar los huevos y observar si fueron fecundados, esto se comprueba con la presencia de puntos negros que son los ojos de las larvas (Figura 82). Los huevos se dejan en el nido durante 8-10 días después de fecundados y al cabo de este tiempo se trasladan a la incubadora.

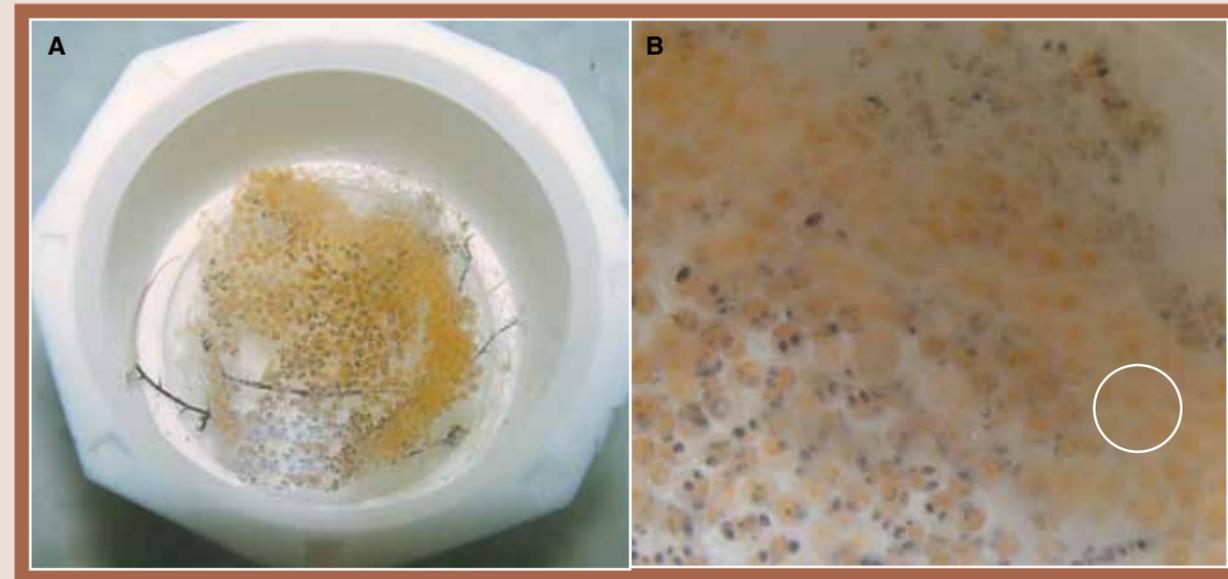


Figura 82. Huevos de *G. loreto* en el nido construido a partir de guata y algas (A) y observación de los huevos fecundados (vease los puntos negros: ojos de las larvas) y los no fecundados (esferas de color salmón: círculo) (B).

Durante todo el desarrollo embriológico, el macho cuida atentamente el nido permaneciendo en la entrada del tubo, evitando incluso que la hembra se acerque, para lo cual la persigue hasta alejarla. Asoh y Yoshikawa (1996) describen que cuando las larvas eclosionan, la gran mayoría son comidas por los mismos padres, demostrado así un comportamiento de canibalismo, lo que obliga a tener cuidado sobre todo durante los días previos, para lo cual se debe retirar el nido y colocarlo en sistemas que garanticen su protección.

Los peces fueron alimentados con alimento vivo (*Artemia* recién eclosionada y misidáceos vivos o congelados) dos veces por día y también alternando con alimentos comerciales en presentación hojuelas y pellet ricos en lípidos y proteínas.

6.3 Mantenimiento de larvas

Para la incubación de los huevos y colecta de larvas se utilizaron dos sistemas: 1) Abierto: se usó un acuario de 25L con los vidrios oscurecidos, porque las larvas recién nacidas prefieren la oscuridad, también se instaló una

incubadora elaborada con una botella plástica de 2L cortada en la base y colocada de manera invertida, en la tapa del envase se abre un hueco para conectar una manguera plástica de 1/8" que permita la entrada del agua, regulando el flujo con una llave. Hacia un costado, a nivel del agua se instala una manguera de 1/4" que se introduce unos 5cm por debajo del nivel del

acuario para que cuando las larvas eclosionen, pasen suavemente al acuario sin manipularlas. El acuario tiene aeración, un termostato y malla de 200µm en el tubo de salida para evitar la salida de las larvas y 2) Cerrado: tanque de almacenamiento de agua provisto de un termostato una bomba impulsora de agua para mantener un flujo constante (Figura 83).



Figura 83. Incubadora de botella invertida (tipo Woynarovich) totalmente forrada utilizada para el montaje de las incubadoras. Sistema abierto (A) y sistema cerrado (B). Las flechas indican el recorrido del agua.

Con el montaje listo y funcionando, se retiró el nido (tapón de PVC) con los huevos fecundados, se observaron de nuevo al microscopio para conocer el porcentaje final de huevos fecundados, si están vivos se observan claramente los latidos del corazón y la formación de la larva dentro del huevo. Es

importante anotar que al retirar los huevos, el macho inmediatamente empieza a preparar un nuevo nido (Figura 84). Posteriormente, los huevos fueron colocados dentro de la incubadora sobre un pequeño tamiz de 200µm y después de 4-6 días se observaron las primeras larvas.



Figura 84. Manejo y observación de la masa de huevos para finalizar el proceso de incubación. Extracción del nido (A), masa de huevos (B), huevos fecundados y no fecundados 10X (C) y formación de la larva (D).

La alimentación de las larvas requirió mucho cuidado, porque se debe suministrar un alimento adecuado al tamaño de la boca del animal que le proporcione los requerimientos nutricionales que estas necesitan. Al momento

de su nacimiento las larvas todavía conservan una pequeña porción del saco vitelino, el cual es absorbido a las pocas horas, por lo que fue necesario, debido a sus hábitos alimenticios, proporcionarles alimento vivo basado en una

dieta con microalgas (*Isochrysis galbana* y *Nannochloropsis* sp.) y el rotífero *Brachionus plicatilis* a una densidad de 5-10 rot. mL⁻¹. Las

larvas fueron alimentadas cuatro veces al día durante siete días que fue el tiempo que duraron vivas (Figura 85).



Figura 85. Obtención de larvas de *G. loreto*. Colocación del nido en la incubadora (A y B); manguera de 1/4" por donde pasan las larvas suavemente al tamiz de 200µm sin manipularlas (C) y larvas de dos días de nacidas (D).

En la actualidad se trabaja en un protocolo de alimentación en base a las recomendaciones descritas Witterich (2007) para lograr el levante de las larvas:

- Alimentar con rotíferos a una concentración de 10-15 rot.mL⁻¹.
- Después de los 10 días añadir a la dieta nauplios de *Artemia* recién eclosionados.
- A los 18 días proporcionar nauplios de *Artemia* enriquecida y suspender los rotíferos.
- Una vez tengan un mayor tamaño se puede empezar a alimentar las crías con dietas artificiales tipo hojuelas o peletizado, la cual se proporcionaría paulatinamente.

Es importante realizar un seguimiento de las larvas (Figura 86) después de su eclosión para conocer su estado de salud en cuanto a nado, consumo de alimento, además de realizar los siguientes procedimientos:

- Sifoneo diario del fondo de la incubadora donde se mantienen las larvas, para evitar acumulaciones de heces, residuos de alimento y material particulado, además se retiran las larvas muertas para evitar contaminación por ciliados, bacterias entre otros.
- Seguimiento diario de los parámetros fisicoquímicos (salinidad, temperatura, pH y oxígeno).

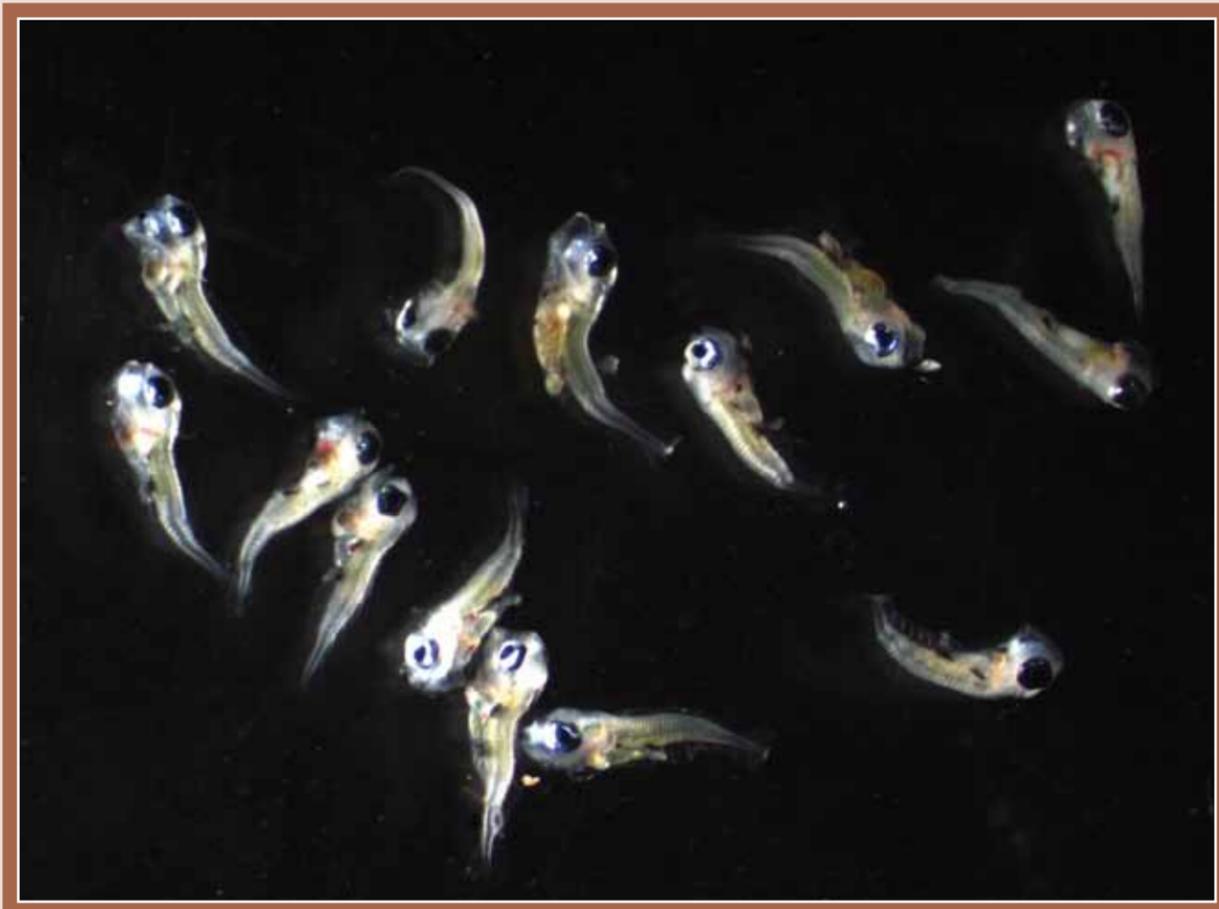


Figura 86. Larvas de *G. loreto* de dos días de nacidas.

Así mismo los huevos que permanecían en el nido se dejaron por un período de 3-5 días y fueron observados al estereoscopio registrando los huevos fertilizados no eclosionados, larvas vivas que aún estaban dentro del huevo pero

presentaban contaminación por hongos. En la Tabla 12 se presenta el número de puestas logradas en el LABBIP, larvas obtenidas, días de vida después de la eclosión y los parámetros fisicoquímicos.

Tabla 12. Puestas de *Gramma loreto* obtenidas en el LABBIP.

Puesta	Duración del nido en el acuario (días)	No. Larvas eclosionadas	Tiempo de supervivencia de las larvas (días)	Variables fisicoquímicas del agua de mar			
				Temperatura (°C)	Salinidad	pH	Oxígeno (mg.L ⁻¹)
1	8	17	5			8,4	
2	8	31	4	25-27	32-34	8,5	≥5
3	10	45	6			8,2	

6.4 Bioensayo de alimentación de *Gramma loreto*

Se realizó un bioensayo de alimentación con los loreto el cual consistió en evaluar el potencial protéico y lipídico de un alimento vivo (*Artemia* recién eclosionada) y seis alimentos comerciales, dos en presentación de hojuelas (Ocean Nutrition e Incros) y otros cuatro (Ocean Nutrition Formula two Marine pellet, Tetra color, Cyclop-eeze y Nutrafin max) peletizados, con esto además se buscaba evaluar qué presentación es más apetecida. Cada tratamiento contó con cuatro réplicas y

cada réplica con un organismo como unidad muestral, esto debido a su comportamiento territorialista que para efectos técnicos del ensayo hace imposible mantener más de uno por acuario, ya que la conducta agresiva y dominante influye en el comportamiento alimenticio.

Del lote total que se mantenían en cuarentena y en adaptación, se seleccionaron los individuos de menor tamaño tratando de mantener una talla homogénea entre los tratamientos, estos fueron separados en baldes (Figura 87).



Figura 87. Acuario principal donde se mantuvieron los animales antes de iniciar los bioensayos.

Posteriormente se registraron los pesos húmedos y las tallas con un ictiómetro. Previo a estos procedimientos los peces fueron anestesiados utilizando benzocaina a una concentración de 1g.L⁻¹, de los cuales 20mL fueron disueltos en 500mL de agua de mar, esto permitió muestrear a los peces de una forma más tranquila y con mayor precisión evitando lastimarlos y estresarlos. Los peces se monitorearon de forma individual, se colocaron inicialmente en anestesia por alrededor de 1 o 1,5 minutos, tiempo suficiente para que estos entraran en letargo, luego se midió la talla y el peso húmedo, posteriormente se colocaron en un recipiente con agua y aeración fuerte

para despertarlos rápidamente (Figura 88), y finalmente se ubicaron en sus respectivos acuarios (Figura 89).

Diariamente se realizaron monitoreos para registrar el comportamiento del pH, temperatura, salinidad y oxígeno disuelto con el fin de asegurar la calidad de agua de los sistemas y controlar las variaciones en los parámetros, también para retirar el material de desecho y el alimento sobrante en cada incubadora. La temperatura se mantuvo a 25,0±0,5°C, salinidad 34-35, pH 8,00-8,02 y amonio < 0,03mg.L⁻¹, con un fotoperiodo de 10h de luz y 14 de oscuridad, provisto por una lámpara de techo de 36W.



Figura 88. Muestreo. Preparación del material (A), anestesia (B), pesaje (C) y medición (D).



Figura 89. Traslado de organismos a los acuarios y monitoreo de las variables fisicoquímicas.

Las dietas se entregaron diariamente en cuatro raciones al día, dando 7,37mg por ración, con un tamaño de partícula entre 500 y 1.000 μ m obtenidas luego de un proceso

de pulverizado y tamizado, mientras que la Artemia fue suministrada en 50mL de agua a una concentración de 5 art.mL⁻¹. Cada 20 días se tomaron datos de longitud estándar (mm)

y peso (g) de cada individuo, así como los registros de mortalidad. Aprovechando que el animal era retirado del acuario se realizaba una limpieza a fondo para eliminar los desechos y restos de alimento no consumido.

Durante la fase de aclimatación fueron alimentados con abundante Artemia, la cual aceptaban y consumían vorazmente, tres veces al día (8:00, 12:00 y 16:00h). Se distribuyeron aleatoriamente las réplicas de cada tratamiento y se inició la alimentación de cada tanque de acuerdo con el tratamiento asignado, cuatro veces al día (7:30, 10:30, 13:30 y 14:30 horas). En el momento de la alimentación y durante una hora se suspendía la circulación del agua,

con el fin de permitir a los peces consumir la mayor cantidad de alimento suministrado, luego de este tiempo se reiniciaba la circulación.

Separación de los alimentos por tamaño de partícula:

- 250-499 μ m como primera alimentación.
- 500-1.000 μ m para cambiar el tamaño de partícula cuando se requiera.
- >1.000 μ m para cambiar el tamaño de partícula (Figura 90).
- El alimento a suministrar se envasó en pequeños frascos oscuros tipo rollo fotográfico, y se mantuvieron en la nevera para conservarlo en óptimas condiciones.



Figura 90. Separación por tamaño del alimento, para la alimentación de los loreto.

Diariamente se realizaban las siguientes actividades como parte del mantenimiento:

- Sifoneo diario con ayuda de una manguera, donde por gravedad se extraen todas las partículas de alimento no consumido, así como de heces fecales.
- Recambio diario de agua del 60%, de cada uno de los acuarios.
- Registro y control de temperatura entre 26 y 26,5°C con ayuda de termostatos que se ubicaron en el reservorio.
- Registro del peso de cada frasco de alimento luego de suministrada la última ración, obteniendo por diferencia, (peso inicial – final) la cantidad de alimento suministrado durante el día.

Luego de 80 días se determinó que los mejores crecimientos se dieron con la dieta Ocean Nutrition en hojuelas, los organismos crecieron

un 65% más de su peso inicial, seguido por el tratamiento de Artemia (28,82%). Para las dietas: Tetracolor, Cyclopp y Nutrafin los crecimientos estuvieron entre el 14-27%; los menores crecimientos se dieron con Ocean Nutrition en pellets e Incros (7-8%) (Figura 91).

El equilibrio que debe existir entre la cantidad de proteínas y lípidos suministrados es muy importante en las dietas para los peces, ya que un exceso de proteína genera un exceso de aminoácidos que obliga a incrementar los procesos de deaminación originando un mayor gasto energético, como se observa en la dieta con más alto porcentaje protéico (Cyclop), por el contrario un porcentaje bueno de proteína pero con poca disponibilidad de energía obliga a que la proteína no pueda ser utilizada para formación de tejido y crecimiento sino que debe tomar otros caminos metabólicos para suplir las necesidades energéticas del

pez que no alcanzan a suplirse con los lípidos suministrados (Torretera y Tacon, 1989). Se recomienda para el crecimiento óptimo de

juveniles de loreto dietas con porcentajes de proteína cercanos al 54% con un contenido de lípidos no mayor del 12%.

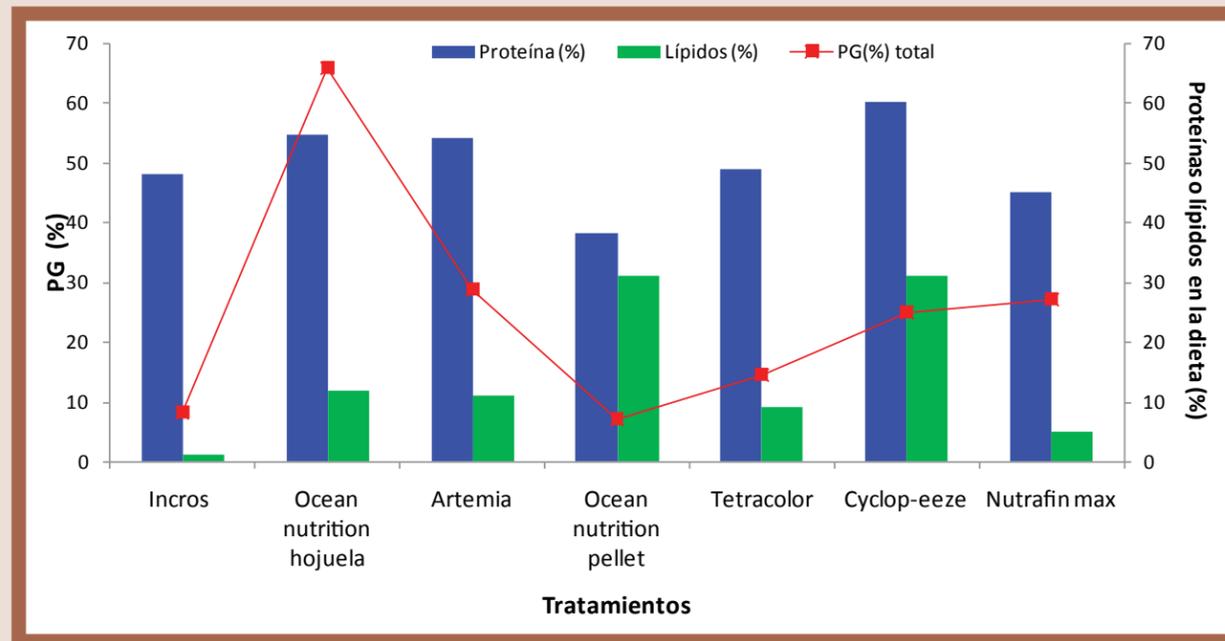


Figura 91. Peso ganado (PG) en juveniles de *G. loreto* alimentados con diferentes concentraciones de proteínas y lípidos de dietas comerciales.

6.5 Resumen de resultados de los bioensayo con *Gramma loreto*

En el proceso de reproducción se ha logrado encontrar un método para formar parejas disminuyendo el riesgo de muerte al introducir dos ejemplares del mismo sexo; también se establecieron los requerimientos para la construcción del nido y para que se logre el apareamiento; el cuello de botella en este momento es el levante de las larvas, proceso en el que se ha

avanzado, logrando mejorar el procedimiento pero que aún se necesitan realizar varios ajustes.

La alimentación del loreto se facilita, ya que esta especie consume alimento peletizado sin dificultad seleccionando el adecuado y se pueden suplir todos sus requerimientos nutricionales, los cuales incluyen porcentajes de proteína cercanos al 54% y de lípidos no mayores al 12%.



Acuario con agua de mar artificial para *Gramma loreto*
Foto: Archivo divulgación INVEMAR

7. ORGANISMOS ORNAMENTALES MARINOS: ¿POTENCIAL USO SOSTENIBLE DE LA BIODIVERSIDAD?

El término “ornamentales” es un término genérico que describe a aquellos organismos acuáticos mantenidos en un acuario con propósitos de ornato, incluyendo peces; invertebrados como corales, crustáceos, moluscos, equinodermos; así como roca viva.

Los arrecifes coralinos albergan recursos críticamente importantes que proveen un amplio rango de funciones directas e indirectas, usos y beneficios económicos. Los beneficios directos incluyen el uso local para la subsistencia, pesca comercial y artesanal, colección y venta de curiosidades, turismo de buceo y la colección y exportación de organismos marinos ornamentales (Baquero, 1999). La biodiversidad es considerada elemento clave en la política ambiental y de desarrollo económico del país, ya que es posible mejorar las condiciones de vida de la población con la comercialización de la diversidad de manera sustentable. Para que este proceso sea viable, económica y ecológicamente, es necesario ampliar el conocimiento sobre los organismos y desarrollar alternativas de cultivo (Melgarejo *et al.*, 2002).

Colombia es reconocida por la abundancia de recursos hídricos y por su diversidad biológica. Sin embargo, esta riqueza se encuentra amenazada por deterioro ambiental, sobreexplotación y prácticas productivas inapropiadas. Los peces marinos tropicales se encuentran entre los organismos más valorados en el comercio de animales ornamentales, pero la oferta, destinada a mercados externos, se basa en buena medida en la extracción directa del medio, proceso que afecta los ecosistemas y que no genera alternativas para la población humana. La razón por la que sólo algunas especies de peces marinos tropicales han sido reproducidas en cautiverio se debe en gran parte a la dificultad de proveerles condiciones similares a las del

ambiente en el cual habitan, desconociéndose hasta la fecha buena parte de la información clave sobre su biología y ecología.

Existe una alta demanda de peces ornamentales influenciada por productores europeos y asiáticos. Colombia aún no aprovecha la gran variedad de especies potencialmente comerciales, de ahí la necesidad de realizar proyectos que permitan conocer la biología y ecología de las especies, implementar técnicas de cultivo y realizar estudios socioeconómicos y de mercadeo de bienes y servicios ambientales de los recursos marinos del país.

De manejarse apropiadamente, la industria de acuarios puede conservarse a largo plazo y el uso sostenible de los arrecifes de coral ayuda en regiones donde otras opciones para generar ingresos son limitadas. Algunas técnicas de recolección tienen un impacto mínimo sobre el coral y la industria como tal tiene relativamente un bajo volumen pero de un valor muy alto.

El cultivo de los organismos ornamentales es una manera de reducir la presión en los ecosistemas de arrecifes coralinos, creada por un incremento en la demanda de aquellos. En años recientes, se ha incrementado el enfoque en el sistema de cultivo cerrado como alternativa para suplir los peces en demanda. A pesar de que en la actualidad prácticamente todos los peces son capturados en su ambiente, y los esfuerzos para desarrollar el cultivo en cautiverio ha sido limitado, hay una presión que se va incrementando paulatinamente para desarrollar procedimientos confiables y sostenibles de obtención de organismos (Wabnitz *et al.*, 2003). Lograr el cultivo de los peces marinos ornamentales persigue una gran causa conservacionista, ya que las prácticas de destructivas, la sobreextracción, la carencia de información científica para muchas

especies colectadas y la amenaza de extinción de las especies de mayor interés, han generado una gran preocupación sobre el comercio de organismos marinos de acuario.

Estudios realizados por el INVEMAR (2007), señalan que existe una venta establecida de peces ornamentales marinos, generalmente por encargo, que incluyen especies del Caribe, actividad que aún no se encuentra reglamentada. Los precios de venta para estas especies oscilan entre \$60.000 y \$100.000. Los proveedores nacionales son pescadores de Santa Marta y Cartagena. La extracción la realizan los pescadores nativos, algunos trabajan como intermediarios y la cadena continua a los comerciantes en Bogotá que argumentan que se venden de 10 a 50 peces marinos al mes, desde el extranjero también se hacen importaciones principalmente desde Miami. Las especies que más se comercializan son *Holocanthus ciliaris*, *Scorpaena* sp., *Gramma loreto*, *Acanthurus* sp., *Amphiprion* sp., *Holocanthus* spp., *Chaetodon ocellatus*, *Bodianus rufus* y *Balistes vetula*.

Encuantoalospecesornamentalescontinentales, esta actividad se viene desarrollando desde hace mas de tres décadas y se capturan en medio natural, debido a que, a diferencia de las naciones europeas, en Colombia no se ha dado la transición de individuos salvajes a líneas o variedades producidas en cautiverio, situación atribuida principalmente al desconocimiento a la biología básica de las especies y a que no ha desarrollado eficientemente sistemas productivos sostenibles que nos permitan competir con exclusividad y calidad de productos (Landines *et al.*, 2007).

En Colombia, esta actividad es de gran importancia para la economía colombiana, tanto así que es uno de los principales exportadores de Suramérica en esta materia. Según Mancera-Rodríguez y Álvarez-León (2008), las exportaciones realizadas durante el 2004 y el 2005 fueron de 26.587.740 y 29.512.391 unidades de ejemplares vivos que representaron un ingreso de divisas de USD \$7.271.800, y \$6.257.551 respectivamente (Figura 92).

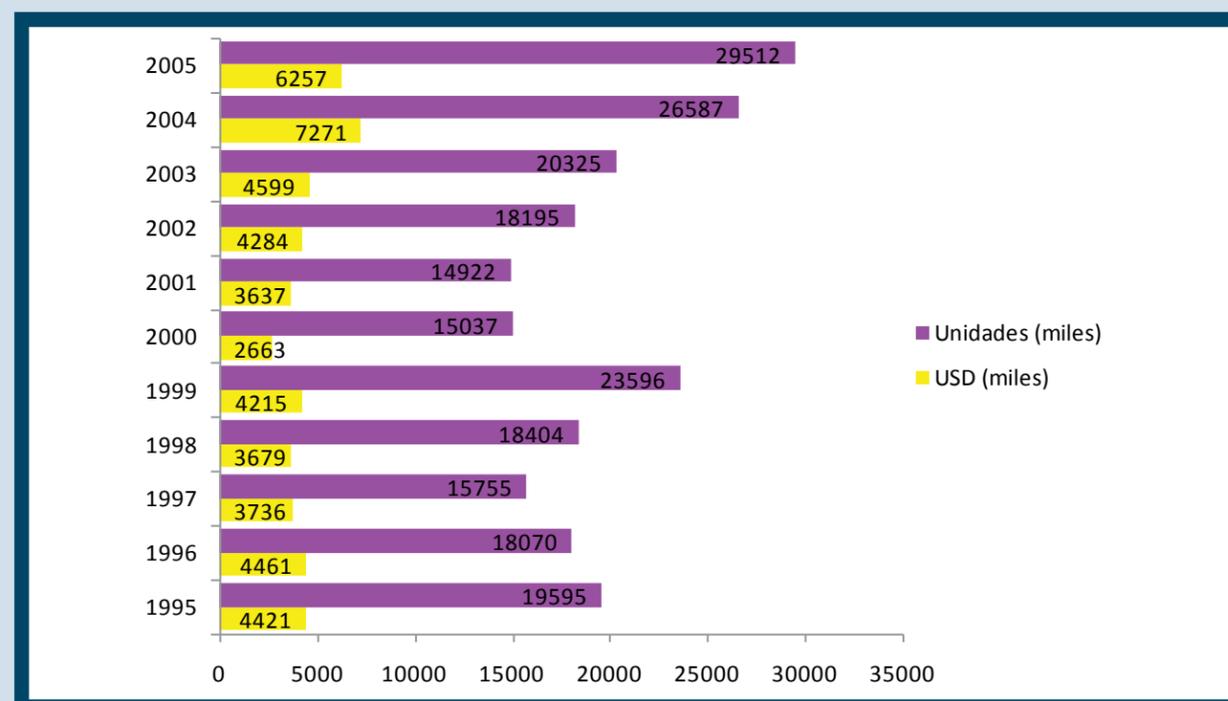


Figura 92. Volumen anual y valor (USD) de exportaciones de peces ornamentales continentales entre 1995-2005 (fuente INCODER, 2006).

La certificación de los peces ornamentales dulceacuícolas es más fácil que la de los peces marinos porque tienen métodos de extracción menos agresivos para el medio y se concentra en cómo mantener un bajo impacto ecológico de la pesca artesanal sobre las poblaciones de las especies. Por consiguiente, se hace necesario elaborar estrategias, planes para demostrar las cualidades de los peces y del ambiente en que se encuentran teniendo programas de conservación, sanitarios y de mercadeo para un uso racional de esta actividad. Ahora, la escasa investigación en la acuicultura de peces marinos ornamentales, es una de las razones por las que su reproducción en cautiverio ha estado limitada. Lo que adicionalmente se debe a la dificultad y alto costo de proveer condiciones ambientales similares al medio natural.

Dado el rápido crecimiento de la acuicultura a nivel mundial, algunos gobiernos están impulsando el sector de peces ornamentales, el cual incrementa el número de empleos y genera ingresos económicos en comunidades rurales y costeras (CCI y MADR, 2008). La escasa oferta de peces marinos ornamentales en establecimientos comerciales autorizados en Colombia, incentiva el uso de métodos inapropiados de pesca, como la extracción directa del medio natural para satisfacer la demanda. De ahí surge el interés por reproducirlos en cautiverio, no solo con el fin de impulsar los acuarios marinos, sino también para dedicar una parte ellos al repoblamiento. Como en el caso de *H. reidi*, especie que está incluida en el libro rojo de especies de peces marinos amenazados de Colombia, por lo que lograr su reproducción es también un aporte muy importante para su conservación (CITES, 2004).

En cuanto a experiencias similares, la Asociación "Hipocampus", la Universidad de Murcia y el Instituto Español de Oceanografía - IEO, se han trazado como objetivo mejorar el conocimiento de la biología del caballito de mar (*H. guttulatus*) en el entorno del Mar Menor. Estas instituciones se han dedicado a investigar las causas que han provocado el declive de la especie y a evaluar las posibilidades de la reproducción en cautividad para frenar la tendencia hacia la desaparición de las poblaciones de estas zonas (RIRM, 2010).

Un antecedente un poco diferente a nivel internacional está representado en los proyectos realizados por "Project Seahorse", una organización interdisciplinaria e internacional comprometida con la conservación y uso sostenible de los ecosistemas costeros marinos del mundo. Esta organización realiza investigaciones que incluyen desde iniciativas comunitarias hasta acuerdos internacionales en procura de la conservación marina. Por ejemplo, la organización desarrolló un proyecto llamado "Jaulas de engorde" en Filipinas, el cual está en ejecución con la Fundación Haribon y comunidades de pescadores. El proyecto involucra la introducción en jaulas de engorde de caballitos de mar procedentes de la pesca ilegal (corrales en el mar construidos por los mismos pescadores), con el objeto de que los juveniles no sean capturados por otras personas. Mientras tanto, el mantenimiento del pescador se hace por medio de un micro-crédito con Project Seahorse. Al finalizar el ciclo, cuando el caballito de mar ha alcanzado la talla comercial, el pescador está en capacidad de vender los caballitos por el doble del valor inicial y pagar el microcrédito. La ventaja de este método es que a mitad de ciclo se inicia la reproducción y se liberan las crías en el mar debido a que los juveniles pueden escapar a través de las redes y volver a poblar su hábitat natural (Kingdom of the Seahorse, 1997).

El mercado de acuariófilos marinos de los Estados Unidos incluye acuarios nacionales, públicos y privados. Estados Unidos importa un poco más de 57 millones de dólares en peces ornamentales marinos anualmente (Biocomercio, 2002). De acuerdo con Januzzi (1991), el 83% de los especímenes capturados en el estado de Florida son destinados para el mercado interno del país, de estos, el 35% son exportados a otros estados y 48% se comercia en Florida (Larkin, *et al.*, 2010).

La acuarofilia es el segundo hobby más popular en Estados Unidos, después de la fotografía. Los ornamentales importados por este país provienen principalmente del sureste de Asia, que aporta el 67%, 17% provienen de Sur América, 10% de América Central y el Caribe y 6% de Oceanía. Entre los principales proveedores de peces ornamentales de

los Estados Unidos en Latinoamérica se encuentran: Brasil, Perú, Colombia, Venezuela, Costa Rica, Paraguay, Guyana y algunas de las Antillas (Biocomercio sostenible, 2002). También existen otros importantes proveedores como: Filipinas, Indonesia, Tailandia, Singapur, Sri Lanka y Trinidad y Tobago. Filipinas reportó el valor más alto entre 1996-1999 con 2.366 como número promedio de desembarcos. Por su parte, Colombia aporta 6%, correspondiente a 941 desembarcos. Se observa que el volumen de peces ornamentales comercializado con Estados Unidos es significativo, razón por la cual exportar a este país se hace atractivo. Además resulta menos costoso que exportar a países del viejo continente (Biocomercio sostenible, 2002).

En Estados Unidos desde 1990, año en que se inició la recopilación de datos de licencias para la recolección de especies marinas, el número de colectores activos y comerciantes alcanzó 229 y 114 respectivamente. No obstante, después de 1995, estos números han ido disminuyendo, debido a una moratoria sobre la recolección de roca natural y arena en el estado y aguas federales de la Florida. La aplicación de esta moratoria ha limitado aún más la entrada en la industria. Según Larkin *et al.* (2010), se pueden destacar varias familias peces de ornamentales de gran importancia económica: Los peces angel (Pomacanthidae), peces loro (Scaridae, Labridae), peces damisela (Pomacentridae), pez mariposa (Stromatidae, Chaetodontidae, Kyphosidae), caballitos de mar (Syngnathidae), peces cirujano (Acanthuridae), peces tambor (Scianidae). Siendo el más importante, el grupo de los peces angel, con el 54% de los ingresos recolectados durante 1990-1998, seguido por el grupo de los peces loro con el 7,5%; los caballitos de mar se ubican en la posición número siete, aportando el 2,6% de los ingresos reportados en ese mismo periodo.

En Estados Unidos existen alrededor de 48 establecimientos (entre acuarios públicos, oceanarios y acuarios de zoológico), sin embargo la Florida abastece más de la mitad del mercado de peces ornamentales en ese país. En este estado existen aproximadamente

66 distribuidores licenciados que comercializan sus productos en el Sur de la Florida y en otros estados y más de 30 establecimientos entre acuarios y clubs de peces marinos ornamentales (Larkin *et al.*, 2010 e IFOCAS, 2010).

Aunque la mayor parte de los acuarios domésticos en Estados Unidos son de agua dulce (son más fáciles de mantener y menos costosos), en la actualidad los acuarios marinos son cada vez más populares. En Estados Unidos y en Europa, los precios son cada vez más asequibles, de modo que el sector se expande rápidamente. La proliferación de acuarios públicos es también una tendencia importante y sirve como vehículo para la promoción de este sector. Todo lo anterior podría indicar una tendencia al aumento en los demandantes de peces ornamentales marinos.

A nivel nacional existen empresas dedicadas a la captura reproducción, cría y levante de peces ornamentales de agua dulce. Los peces ornamentales exportados por Colombia por lo general provienen del medio natural, principalmente de las cuencas de los ríos Orinoco (88%) y Amazonas (10%). Los centros de acopio del Orinoco son Puerto Inírida y Villavicencio, mientras para los del Amazonas es Leticia. En este sector hay empresas que crían peces exóticos y en un mínimo porcentaje en peces nativos como el escalor (*Pterophyllum leopoldi.*) ó el disco salvaje (*Symphysodon cf. aequifasciatus aequifasciatus.*). Estos peces son los más apetecidos en el extranjero. En 2004 se exportaron más de 20 millones de peces ornamentales con un valor superior a 7 millones de dólares con destino a Norteamérica (38%), Europa (24%) y Asia (30%) (WWF e INCODER, 2006).

Con relación a *H. reidi*, las cifras obtenidas muestran que Sri Lanka re-exportó el mayor número de individuos vivos en 2004. El segundo lugar de exportación lo ocupa Brasil, seguido por Estados Unidos y República Dominicana. Los mayores importadores para el periodo 1995-2005 fueron Estados Unidos, Alemania, Italia, Países Bajos, Francia y Canadá (Arcos-Pulido, 2008).

En Brasil, por ejemplo, se reconoce la explotación de las especies *H. reidi* y *H. erectus* para abastecer el mercado de individuos a escala nacional e internacional. En el 2001 fueron registrados para exportación 240kg de individuos secos de *H. reidi* y/o *H. erectus* con destino a Hong Kong, equivalentes a USD \$10.769. Brasil también se consolida como uno de los mayores exportadores de individuos vivos a nivel mundial, siendo también el primer productor en Latinoamérica, exportando a Asia, Europa y 20 países de América Latina.

Como puede notarse por el número de países oferentes, este mercado guarda una estructura de competencia monopolística, pues existe una cantidad significativa de países exportadores (Brasil, Sri Lanka, este de Asia, República Dominicana, entre otros), sin que exista un control dominante por parte de ninguno en particular. En cuanto al perfil del consumidor, para ser acuarista no se debe tener un rango de edad específico, profesión o sexo; basta con tener un nivel de ingresos que permita cubrir todas las inversiones necesarias para imitar el hábitat marino propicio para la especie objetivo. Generalmente se trata de personas que disfrutan del paisaje marino, su flora y fauna acompañante, con una particular sensibilidad y

atracción hacia estos ecosistemas (arrecifes de coral, praderas fanerógamas, entre otras).

Adicionalmente, al mercado de ornamentales marinos se vinculan bienes complementarios como los acuarios, sales marinas, roca viva y vegetación para acuarios, entre otros. Todos estos en conjunto conforman un paisaje marino que enfrenta una demanda. Cabe mencionar que existen mercados como la venta de Artemias, rotíferos y guppies que sirven de alimento.

Si bien es cierto que Colombia es un gran proveedor de peces ornamentales dulceacuícolas (con exportaciones significativas a Estados Unidos y Europa) y goza de una buena imagen ante los países importadores (dada la calidad y características especiales de los productos, en especial de las especies nativas), el país no es un gran exportador de especies ornamentales marinas como si lo son países del sudeste de Asia y Brasil (que representa su competidor más cercano). Según una encuesta hecha por Project Seahorse (2005), las especies de caballito de mar más frecuentemente encontradas en acuarios públicos o privados y su precio en el mercado se presenta en la Tabla 13.

Tabla 13. Especies y precios de caballito de mar.

Especie	Precio USD \$	Características
<i>Hippocampus reidi</i>	79,95	Es la especie de caballito más colorido (negro, marrón, gris, amarillo, naranja y rojo). A menudo tienen puntos a lo largo de su cuerpo. Se considera la especie más difícil de criar.
<i>Hippocampus erectus</i>	64,95	Es un caballito de mar fuerte y resistente, también es colorido, tiene patrones de línea a lo largo de todo su cuerpo.
<i>Hippocampus kuda</i>	79,95	Es un caballito de mar liso, con algunas espinas en su parte baja; a menudo tiene manchas por todo el cuerpo, los colores se extienden típicamente de negro a amarillo pálido o amarillo anaranjado.
<i>Hippocampus abdominalis</i>	69,99	Tiene espinas prominentes y cirros en la cabeza. Los colores suelen variar de blanco a amarillo, anaranjado o marrón, con manchas oscuras en la cabeza y el tronco.

La experiencia más importante a nivel mundial sobre caballitos de mar la presenta *Project Seahorses* (2004), quienes han diseñado métodos de acuicultura para capacitar a pescadores y algunos otros métodos para capacitar a acuariófilos marinos, dando soluciones a algunos problemas encontrados en la crianza y mantenimiento en cautiverio de esta especie. Sus experiencias coinciden en afirmar que el mayor inconveniente de la cría en cautiverio de los caballitos de mar es su alimentación y levante; los caballitos recién nacidos solo comen alimento vivo, hasta el momento, la Artemia ha sido la opción más común entre todos los intentos de acuicultura debido a su disponibilidad y conveniencia. Los copépodos (organismos multicelulares abundantes e intensamente explotados por innumerables especies marinas) también han sido otra opción de alimentación; el inconveniente radica en que a pesar de su abundancia, no se ha desarrollado una técnica acuícola que genere alta densidad y que sea económicamente atractiva. Algunos investigadores y acuicultores han recurrido a la captura de copépodos silvestres para su uso en la cría de peces, sin embargo, esto puede introducir parásitos en el sistema.

Otra experiencia a nivel internacional la presenta Gonzales *et al.* (2004), en el laboratorio de cultivo del Departamento de Acuariología del Acuario Nacional de Cuba, donde se experimentó con varias parejas de *H. reidi*, estas fueron capturadas en áreas de manglares con aguas turbias y suelos arenofangosos del litoral costero de este país. En el acuario fueron colocados en peceras de circuito cerrado, de 200L con filtración biológica de fondo, ambientados con corales, zooantos, anémonas y el alga *Caulerpa sertularoides*. A los recién nacidos se les suministró durante los cinco primeros días la especie de copépodos *Oithoma nana* capturados del medio natural y naupilos de Artemia recién eclosionados; a partir del quinto día se les dejó de suministrar copépodos manteniéndolos con nauplios de Artemia recién eclosionados. Como resultado se obtuvo un crecimiento adecuado, los alevines quintuplicaron su talla inicial al mes de

nacidos; se observaron desoves durante todos los meses de año, sin preferencia por ninguna época. El número de crías varió entre 45 y 940 por macho, se obtuvieron puestas de 290 a 350 huevos, estos se caracterizaron por ser de color naranja, forma ovalada y de pera, se logro la reproducción de individuos criados en laboratorio.

ORA (Ocean and Reef Aquariums), muestra una experiencia en Florida, uno de los mayores criaderos de peces ornamentales de los Estados Unidos. Esta empresa suministra gran cantidad de peces a los oceanarios y acuarios públicos del país. ORA cría caballitos de mar de aguas templadas y algunas especies tropicales (*H. barbouri*, *H. breviceps*, *H. comes*, *H. zosterae*, *H. kuda*, *H. reidi*). Son alimentados con misidáceos congelados, de 4 a 5 gramos esto si se suministra alimento congelado desde que nacen, pues lo animales en estado salvaje requerirían alimento vivo.

7.1 Talleres de socialización

En los talleres realizados durante la ejecución de los proyectos se incluyeron varios ejercicios para hacer el análisis de Debilidades, Oportunidades, Fortalezas y Amenazas (DOFA) del negocio acuarista con el fin de conocer su funcionamiento y potencialidades. El análisis consta de dos partes: una situación interna, la cual contempla factores controlables (Debilidades y Fortalezas) y otra externa donde los factores no se pueden controlar (oportunidades, amenazas)

En este documento se incluyen tres análisis DOFA resultado de varias actividades: 1) Dos talleres realizados en Villavicencio con productores acuícolas y personal de entidades reguladoras, en donde el enfoque fue más hacia la parte mecánica del negocio (Tabla 14), 2) Dos talleres realizados en Bogotá con diferentes instituciones, el cual fue enfocado a los temas de normativas y expectativas (Tabla 15) y 3) Una actividad a nivel del grupo de investigación con miras a realizar una proyección para un potencial negocio de ornamentales marinos en Colombia (Tabla 16).

Tabla 14. Análisis DOFA producto de los talleres realizados en Villavicencio con el sector productivo.

DEBILIDADES	FORTALEZAS
Desconocimiento del manejo de acuarios marinos y de agua dulce.	Mercado para el producto.
Desconocimiento de los precios de producción.	Capital humano con experiencia.
Falta de educación ambiental.	Logística de comercialización.
Desconocimiento para la estandarización de la producción.	Mano de obra calificada.
Falta de paquetes tecnológicos completos que incluyan los costos de producción.	Centros educativos en acuicultura a nivel técnico, profesional y de posgrado.
Poca integración sector productivo-academia.	Regalías de investigación.
Baja cultura asociativa.	Biodiversidad continental y marina.
Pocos centros de investigación acuícola.	
Desconocimiento biológico de especies nativas y su producción en cautiverio.	
No hay acuicultura para el cultivo de ornamentales, sólo es una actividad extractiva.	
AMENAZAS	OPORTUNIDADES
Aspectos legales (legislación ambigua).	Manejo de agua en sistemas cerrados.
Legislación prohibitiva.	Existe un mercado.
Extracción.	Oferta de precios.
Producción de especies colombianas en el exterior.	Cadena producción ya establecida.
No hay suficiente apoyo del Estado para hacer investigación en ornamentales.	Experiencia en exportación de peces de consumo.
Falta de centros de investigación para presentar proyectos regionales.	Personal que se puede capacitar fácilmente.
Financiación: falta de mecanismos para obtener recursos para el desarrollo de esta industria.	Creación de la federación de productores y comercialización de ornamentales.
Falta de conocimiento del sector financiero (recursos para el tema acuícola).	

Tabla 15. Análisis DOFA producto de los talleres realizados en Bogotá con participación de diversas instituciones, productores y comercializadores.

DEBILIDADES	FORTALEZAS
Costos de producción desconocidos.	Personal especializado.
Desinterés en capacitarse.	Gran mercado a nivel mundial de especies nativas.
No existe una normatividad.	Instituciones con experiencia en el tema.
No hay productos especializados para manejo de especies nativas.	Desarrollo tecnológico del cultivo de alimento vivo por parte de las Instituciones.
Falta de organización y asociación.	Infraestructura en el Caribe y Pacífico, Acacias Meta y Villavicencio
Desinterés de las autoridades ambientales.	Existencia de paquetes tecnológicos en especies marinas.
Desconexión Regional-Nacional.	Diversificación del mercado de la acuariofilia para los insumos.
Falta de paquetes tecnológicos con especies nativas, priorizando las que presentan mayor demanda en el mercado internacional.	Contar con una rica biodiversidad.
Falta registrar las especies o las mejoras para producción.	
No hay valoración económica de la extracción.	
Falta legislación y claridad en los trámites.	
Falta inversión.	
Demoras en los tiempos de respuestas de las instituciones.	
Consolidación de la cadena productiva.	
Falta de integración investigación-sector productivo.	
Falta de apoyo del Estado.	

AMENAZAS

Destrucción de hábitats.
 Mercado negro de todas las especies de importancia comercial sean marinas o dulceacuícolas.
 No existen mecanismos de control de su cultivo para evitar la extracción del medio.
 Obtención de padrones del medio natural.
 Precacución al momento de iniciar actividades de repoblamiento.
 Falta continuidad en la investigación.

OPORTUNIDADES

Cambio de pensamiento de lo extractivo a lo productivo.
 Establecimiento de protocolos para comercialización.
 Agendas de investigación en temas relacionados con la acuicultura.
 Existencia de un nuevo departamento en el Ministerio de Ambiente relacionado con los temas marinos.
 Política integral de gestión.
 Experiencia en logística de ornamentales.
 12 especies colombianas con gran demanda en el mercado internacional.
 Incentivos de certificación de productos verdes.
 Valor agregado a los peces producidos en vez de capturados.
 Estrategias de conservación y restauración.
 Creación de industrias productivas para las regiones.
 Conocimiento tradicional de acuariófilos y pescadores.
 Diversificación del mercado.
 Planes de educación ambiental.
 Existencia del programa de biocomercio.

Tabla 16. Análisis DOFA investigadores

DEBILIDADES	FORTALEZAS
Inexperiencia en el manejo de especies de agua salada.	Experiencia en la exportación y comercialización de peces ornamentales continentales.
Difícil levante de <i>H. reidi</i> respecto a otras especies.	Recurso humano calificado, especializado y experimentado en labores investigativas y misionales.
Aún no se ha logrado levantar las larvas de <i>G loreto</i> .	Asociación con INVEMAR para el desarrollo de proyectos de investigación en ornamentales marinos.
Carencia de un sistema de gestión de calidad.	Establecimiento del sistema de levante de crías y mantenimiento de reproductores.
	Larga trayectoria en el mercado, buen posicionamiento en el mercado colombiano.
	Pertenencia a la red institucional del sector acuícola.
	Respaldo sectorial e institucional.
	No se requieren grandes extensiones de área, ni grandes volúmenes de agua para el proceso de producción.
	Producción amigable con el medio ambiente, pues no se producen grandes volúmenes de desechos.

AMENAZAS

En Colombia la legislación para el cultivo, distribución y venta de peces ornamentales marinos no es clara.
 Restricción legislativa internacional para la comercialización de caballitos de mar (CITES, 2002).
 Competidores experimentados como Brasil.
 El mercado doméstico respecto a los ornamentales marinos no está desarrollado.
 Aparición de un agente patógeno difícil de controlar o desconocido.
 Demanda muy sensible ante cambios en el precio, entonces se puede presentar sustitución por otros ornamentales marinos.

OPORTUNIDADES

El mercado nacional e internacional no está cubierto en su totalidad
 Pioneros en la exportación de ornamentales marinos.
 Insumos importados libres de aranceles.
 Se pueden usar las alianzas intersectoriales, para lograr preferencias arancelarias en los insumos.

7.2 Resumen de resultados

La comercialización de ornamentales es económicamente viable y atractiva. No obstante, se deben tener en cuenta las barreras que implica el hecho de no contar con una legislación clara respecto al comercio de los ornamentales marinos en Colombia y que también se ciñan a los parámetros ambientales, que ayuden a prevenir o mitigar los impactos ambientales en los ecosistemas y que participen apoyando programas de repoblamiento como parte de su objeto social.

Se evidencia la necesidad de la inclusión de los ornamentales marinos en el marco jurídico que rige la actividad comercial de peces ornamentales en Colombia. Mientras no exista claridad en esta legislación, cualquier intento por comercializar peces ornamentales marinos se enfrentará a un gran obstáculo institucional. Es preciso realizar la gestión necesaria para que la ley considere estos recursos marinos dentro de sus actividades comerciales vigentes.

Es importante tener en cuenta que gran parte de la acuicultura en Colombia se realiza en áreas rurales, esto se asocia principalmente a las grandes extensiones requeridas para la acuicultura de consumo humano (que es la más desarrollada en el país), los costos por el uso del agua en zonas rurales y el acceso a la mano de obra.

En este sentido, las metas y beneficios sociales que pueden generarse con el desarrollo de la actividad de cultivo y comercialización de ornamentales estarán ligados a poblaciones rurales y también al crecimiento económico del país. Dentro de las metas sociales que se pueden lograr son:

- Generar empleo en áreas rurales.
- Diversificar las fuentes de ingreso de familias en zonas rurales.
- Formar capital humano a través de la capacitación en buenas prácticas acuícolas.

Este proyecto también está enmarcado en el plan “Visión Colombia 2019”, iniciativa de la Presidencia de la República que propone metas de paz, justicia social, infraestructura, calidad de vida, productividad, competitividad, consolidación de la democracia, entre otras virtudes. Una de las metas de este plan es “promover el aprovechamiento de los recursos marinos”. Conscientes del potencial y nivel de explotación actual de los recursos marítimos, se propone aumentar la producción de camarón, tilapia y pesquería en general para 2019 (DNP, 2010). Es aquí donde se enmarca el estudio de caso, con miras a la explotación sostenible de los recursos pesqueros, la conservación y el repoblamiento.



Personal Línea Bioprospección Marina -INVMAR (Programa VAR)

8. BIBLIOGRAFÍA

- Acero P., A. y J. Garzón. 1985. Peces de las Islas del Rosario y San Bernardo (Colombia). I. Caracterización del área y lista de especies. *Actual. Biol.* 14 (54): 37-148.
- Acero, A., J. Garzón y F. Köster. 1984. Los peces óseos conocidos de los arrecifes del Caribe colombiano, incluyendo 31 nuevos registros y descripciones. *Caldasia*, 14 (66):37-84.
- Acero, A. L.M. Mejía y M. Santos-Acevedo. 2002. *Hippocampus reidi*, 81-83 pp. En: Mejía L.S. y A. Acero. (Eds). Libro rojo de peces marinos de Colombia. INVEMAR, Instituto de Ciencias Naturales – Universidad Nacional de Colombia, Ministerio de Medio Ambiente. La serie de Libros Rojo de Especies Amenazadas de Colombia. Bogotá, 174 p.
- Aguilar, P.A. y R. Appeldoorn. 2008. Spatian Distribution of Marine Fshes Along a Cross Sheef Gradient Containing a Continuum of Mangrove Seagrass-Coral Reefs of South Western Puerto Rico. *Estuarine Coastal and Shelf Science*. Vol. 76: 378-394.
- Alcaide, A., C. Gil-Sanz, E. Sanjuán, D. Esteve, C. Amaro y L. Silveira. 2001. *Vibrio harveyi* causes disease in seahorse, *Hippocampus* sp. *Journal of Fish Disease*, 24 (5): 311-313.
- Álvarez-Lajonchère, L. y O. Hernández-Molejón 2001. Producción de juveniles de peces estuarinos para un centro en América Latina y el Caribe: diseño, operación y tecnologías. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, L.A., U.S.A. 424 p.
- Amador, L.M. 1982. Reproductive biology of the fairy basslet, *Gramma loreto* Poey. Master thesis. Univ. of Puerto Rico, Mayagüez, 39 p.
- Aquanovel, 2008a. Atlas de Peces de Agua Salada. *Gramma loreto*. <http://www.aquanovel.com/gramma.htm>. Consultado 06/11/11.
- Aquanovel, 2008b. Atlas de enfermedades: Aclimatación de los peces y cuarentena. <http://www.aquanovel.com/cuarentena.htm>
- Aragão, C., L.E.C. Conceição, M.A. Dinis y F. Hans-Jørgen. 2004. Amino acid pools of rotifers and Artemia under different conditions: nutritional implications for fish larvae. *Aquaculture* 234: 429–445.
- Arcos-Pulido. M. 2008. Caballitos de mar (*Hippocampus* spp.) de Colombia: situación actual, instrumentos de gestión y acciones prioritarias de conservación. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, 119 p.
- Asoh, K. 1996. Reproductive behavior and mating system of the fairy basslet, *Gramma loreto*. *Copeia*, 4: 1037-1048.
- Asoh, K. 1992. Reproductive Biology of the Fairy Basslet, *Gramma loreto*. Master Thesis. University of Puerto Rico, Mayaguez. 56 p.
- Asoh, K. y D.Y. Shapiro. 1997. Bisexual juvenile gonad and gonochorism in the fairy basslet, *Gramma loreto*. *Copeia*, No. 1: 22-31.
- Asoh, K. y T. Yoshikawa. 1996. Nesting behavior, male parental care, and embryonic development in the fairy basslet, *Gramma loreto*. *Copeia*. No 1: 1-8.
- Azula, F., León, J. 2000. Aspectos del comportamiento reproductivo de *Hippocampus reidi* ensayos de dietas alimentarias para el levante de juveniles. Seminario de investigación (Proyectos I). Bogotá. Universidad Jorge Tadeo Lozano. 70 p.
- Baquero, J. 1999. Marine ornamental trade. Quality and sustainability for the Pacific region. South Pacific forum secretariat. Fiji. 73 p.
- Barbosa, W.A. 2005. Efecto de la calidad de la dieta sobre la fisiología energética de los bivalvos *Argopecten nucleus* y *Nodipecten nodosus* en condiciones de laboratorio. Trabajo de pregrado Biólogo. Universidad del Magdalena, Santa Marta, Colombia. 59 p.
- Barnabé, G. 1991. Acuicultura 1. Ediciones Omega, SA. Barcelona. 153 p.
- Bautista, P. C. 1991. Peces Marinos, tecnología de cultivo. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 148 p.
- Beaz-Paleo, J.D. 2007. Ingeniería de la acuicultura marina. Instalaciones en tierra. Publicaciones científicas y tecnológicas del Observatorio Español de acuicultura. Madrid, 205 p.
- Biocomercio sostenible, 2002. Información básica sobre el mercado mundial de peces ornamentales. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, Colombia. 13 p.
- Bocek, A. 2000. Manual: Acuicultura y aprovechamiento del agua para el desarrollo rural: Transporte de peces. International Center for Aquaculture and Aquatic Environments. Swingle Hall Auburn University. 1-22.
- Bohórquez, C.A. 1997. Estacionalidad y periodicidad reproductiva del caballito de mar hocico largo (*Hippocampus reidi*). En: IV Simposio Colombiano de Ictiología. Resúmenes de Conferencias y Exposiciones. Santa Marta, Colombia. 45-46.
- Bruckner, A.W., J.D. Fields y N. Daves (Org.). 2005. The Proceedings of the International Workshop on CITES Implementation for Seahorse Conservation and Trade. NOAA Technical Memorandum NMFS-OPR-35. 1 ed. Silver Spring, 173 p.
- Brusca, R. y G. Brusca. 2003. Invertebrates. Sinauer Associates Inc., Publishers. Massachusetts, U.S.A. 903 p.
- Burns, C., 2007. Guía de enfermedades y tratamientos para caballitos de mar. (<http://www.e-coralia.com>). Consultado 8/feb/2011.
- Cabrera, A. 2010. Reproducción y levante del caballito de mar. *Revista EXPEDITIO* 02. Mayo. Universidad Jorge Tadeo Lozano. ISSN: 2145-6836. 19 p.
- Carpenter, K.E. (ed.). 2002. The living marine resources of the Western Central Atlantic. Volume 2: Bony fishes part 1 (Acipenseridae to Grammatidae). FAO Species identification guide for fishery purposes and American Society of Ichthyol. and Herpetol. Special Publication No. 5. Rome, FAO. 601-1374.
- Carpio, V. y J. Cabello, 2008. Caballitos de mar en el Acuario marino: Club acuarios marinos. Foro en internet <http://www.acuarios-marinos.com/forums/showthread.php?14027-Caballitos-de-mar-en-el-acuario-marino-por-Victor-Carpio-y-Josep-Cabello>
- CCI - Corporación Colombia Internacional y Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, MADR. 2008. "Comportamiento de las Capturas de Peces Ornamentales años 2006-2007". Sistema de Información de Pesca y Acuicultura. Boletín mensual No. 23.
- CEINER. 1995. Reproducción y cría del caballito de mar (*Hippocampus reidi*) en el laboratorio. Boletín Informativo Centro de investigación de educación y recreación Oceanario Islas del Rosario. Cartagena. Colombia. No 4: 6 p.
- Cervigón, F. 1991. Los peces marinos de Venezuela. Vol I. Segunda edición. Fundación Científica Los Roques, Caracas, 425 p.
- Chamorro, A. y M. Planas. 2007. Diseño de acuarios para mantenimiento y reproducción en cautividad del caballito de mar *Hippocampus guttulatus* Cuvier 1829. 1541-1544p. XI Congreso Nacional de Acuicultura, 24-28 septiembre. Vigo, España.
- Chang, M. y S.E. Southgate. 2001. Effects of varying dietary fatty acid composition on growth and survival of seahorse, *Hippocampus* spp., juveniles. *Aquarium Sci. Conservation* 3: 205–214.
- CITES, 2006. Apéndice II. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Flora and Fauna. <http://www.cites.org>
- CITES, 2004. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. International Workshop on CITES Implementation for Seahorse Conservation and Trade Mazatlan (Mexico), February 2004, 3-5.
- CITES. 2002. Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres. Duodécima reunión de la conferencia de las partes Santiago (Chile), 3-15 de noviembre de 2002. CoP12. Doc. 43.
- Civera-Cerecedo, R., C.A. Álvarez-González y F.J. Moyano-López, 2004. Nutrición y alimentación de larvas de peces marinos. 8-94. En: Cruz, L.E., D. Ricque, M.G. Nieto, D. Villareal y M. Scholz. 2004. Memorias del VII Simp. Int. de nutrición acuícola. México.
- Claro, R. y K. Cantelar. 2003. Rapid assessment of coral communities of María la Gorda, Southeast Ensenada de Corrientes, Cuba (part 2: reeffishes). En J.C. Lang (ed.), Status of coral reefs in the Western Atlantic: Results of initial surveys, Atlantic and Gulf Rapid Reef Assessment (AGRRA) Program. *Atoll. Res. Bul.* 496. 278-293.
- Costa, C.A.L., D.A. Farias, M.I. Zapparoli, A.L. Vendel, R.T. Pereira y R.I. Lucena. 2008. Assessing diet composition of seahorses in the wild using a non destructive method: *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae) as a study-case. *Neotropical Ichthyology*, 6 (4): 637-644.
- Curtis, J.M.R. y A.C.J. Vincent. 2006. Life history of an unusual marine fish: survival, growth and movement patterns of *Hippocampus guttulatus* Curvier 1829. *Journal of Fish Biology*. 68: 707-733.
- Dayton, L. 1995. The killing reefs. *New Scientist*, 148 (2003): 14-15.
- Decreto 2256 de 1991. Diario Oficial No. 40.079, del 4 de octubre de 1991. Ministerio De Agricultura. Por el cual se reglamenta la Ley 13 de 1990. 36 p.

- Dias, T.L.P. y Rosa I.L. 2003. Habitat preferences of a seahorse species, *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae) in Brazil. *Aqua* vol. 6 (4): 165-176.
- Díaz G.F., L.M.P. Dorado, K.A. Eraso, C.E. Ortega, G.H. Rodríguez, J.M.P. Soler y A.G. Salazar. 1995. Fundamentos de nutrición y alimentación en acuicultura. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura INPA. Bogotá, Colombia. 342 p.
- Departamento Nacional de Planeación 2010. Plan Visión Colombia 2019. II Centenario. Propuesta para discusión. Presidencia de la República de Colombia.
- Erdman, D.S. 1976. Spawning patterns of fishes from the northeastern Caribbean Common Wealth of Puerto Rico. *Agric and Fish. Contr. Comm. Fish. Lab.*, 8: 1-36.
- FAO. 2004. Estado Mundial de la pesca y la acuicultura. Departamento de pesca de la FAO. Roma
- Felicio, A.K.C., I.L. Rosa, A. Souto y R.H.A. Freitas. 2006. Feeding behavior of the longsnout seahorse *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933. *Japan Ethological Society and Springer-Verlag Tokyo*. 24: 219-225
- Foster, S.J. y A.C.J. Vincent. 2004. Life history and ecology of seahorses: implications for conservation and management. *Journal of Fish Biology*. 65: 1-61.
- Freeman, S. y W. Alevizon. 1983. Aspects of territorial behavior and habitat distribution of the fairy basslet *G. loreto*. *Copeia*, 3: 829-832.
- Freret-Meurer, N.V. y J.V. Andreato. 2008. Field studies of a Brazilian seahorse population, *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933. *Brazilian Arch. Biol. Technol.* 51: 743-751.
- Gapasin, R.S.J., R. Bombeo, P. Lavens, P. Sorgeloos y H. Nelis. 1998. Enrichment of live food with essential fatty acids and vitamin C: effects on milkfish *Chanos chanos* larval performance. *Aquaculture*. 162: 269-286.
- Giacometti, M.A.C. y D. Loebmann. 2009. Size and number of newborn juveniles in wild *Hippocampus reidi* broods. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*. 4 (2): 154-157.
- Giraldo, J. y P. Polanía. 2005. Cría de Caballito de Mar *Hippocampus reidi* bajo tres sistemas controlados en el Acuario Mundo Marino (Santa Marta, Colombia). *Revista Científica U.D.C.A actualidad y divulgación científica*. 8 (2): 77-84.
- Gómez-León, J., E. Acosta, C. Castellanos. y M. Santos-Acevedo. 2010. Cultivo de Pectínidos en el Caribe Colombiano. Proyecto. Optimización de la producción de postlarvas de ostión *N. nodosus* y la conchuela *A. nucleus* en el Caribe Colombiano código 2105-09 -17982. Serie de Publicaciones Generales No. 40. Santa Marta, 160 p.
- González, H.E., M.C. Guevara, A. Alcalá y R. Selema. 2004. "Algunos aspectos biológicos sobre el Caballito de Mar Narizón (*Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933) en cautiverio". *Acuario Nacional (Cuba)*. CIVA. Internet: (<http://www.civa2004.org>), consultado 12/ene/2011.
- Gutiérrez, L. y M. Báez-Hidalgo. 2002. Reproducción y alimentación del loreto *G. loreto* Poey, 1868 (Pisces, Grammididae), en la costa norte de la Habana, Cuba. *Rev. Invest. Mar.* 23 (3): 195-201.
- Han, K., Geurden, I., Sorgeloos, P. 2000. Enrichment strategies for Artemia using emulsions providing different levels of n-3 highly unsaturated fatty acids. *Aquaculture*, 183: 335-347.
- Hoff, F. y T. Snell, 2004. *Plankton Culture Manual*. Florida Aqua farms, Inc, Florida. 183 p.
- Hora, M.S. y J.C. Joyeux. 2009. Closing the reproductive cycle: growth of the seahorse *Hippocampus reidi* (Teleostei, Syngnathidae) from birth to adulthood under experimental conditions. *Aquacul.*, 292: 37-41.
- Hora, M.S. y J.C. Joyeux. 2007. Cultivo de cavalo marinho, *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 (Teleostei: Syngnathidae). XII Congresso Latino-Americano de Ciências do Mar - XII COLACMAR Florianópolis, 15 a 19 de abril de 2007.
- Hoegh, G.O. y G.J. Smith. 1989. The effect of sudden changes in temperature, light, and salinity on the population density and export of zooxanthellae from the reef corals *Styophora postillata* Esper and *Seriatophora hystrix* Dana. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 129: 279-304.
- Hunter, J.R. 1981. Feeding ecology and predation of marine fish larvae. 34-77. En: Lasker, R. (Ed.). *Marine fish larvae: morphology, ecology and relation to fisheries*. U. of Washington press, Seattle, 131 p.
- Indiviglio, F. 2001. *Seahorses: Everything about history, care, nutrition, handling and behaviour*. 95 p. ISBN 0-7641-1837-4.
- IFOCAS. 2010. International Federation of Online Clubs and Aquatic Societies. Disponible en: www.ifocas.org. Consultado en noviembre 12 de 2010.
- INCODER, 2006. Informe de Gestión. Instituto Colombiano de Desarrollo Rural. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. http://www.incoder.gov.co/Archivos/Informe_de_gestion2006/
- INVEMAR. 2007. Evaluación del uso potencial de peces marinos para cultivos ornamentales como una alternativa económica para las comunidades costeras del Caribe colombiano. Informe técnico final. Santa Marta. 54 p.
- James, P. y C. Woods. 2001. Rearing seahorses: does temperature matter? *Aquaculture Update* 28: 9-10.
- Januzzi, C.L. 1991. "A Guide to Developing A Limited Entry Program for the Marine Life Fishing Industry." Research Paper, Marine Affairs Department, Rosenstiel School of Marine and Atmospheric Science, University of Miami, Miami, FL.
- Kingdom of the Seahorse 1997, Seahorse Crusader, Amanda Vincent, Disponible en: www.pbs.org/wgbh/nova/seahorse/vincent.html. Consultado el 9 de noviembre de 2010.
- Koldewey, H. 2005. *Syngnathid husbandry in public aquariums. 2005 manual*. Zoological society of London and Project seahorse. London, UK. 137 p.
- Koldewey, H.J., Heather y K.M. Martin-Smith. "A global review of seahorse". 2009. *Aquaculture* 302: 131-152.
- Lagler, K.F., J.E. Bardach y R.R. Miller. 1977. *Ichthyology*. 2° Edition. Jhon Wiley & Sons, 506 p.
- Landines, F.R. Urueña, J.C. Mora, L. Rodríguez, A.I. Sanabria, D.M. Herazo y J. Botero. 2007. Producción de peces ornamentales en Colombia. Editorial Produmedios. 236 p.
- Larkin S., Ch. Adams, R. Degner, D. Lee y J. Milon. 2010. "An Economic Profile of Florida's Life Industry. Technical paper No. 113, Sea Grant, NOAA and University of Florida.
- Lazard, J., P. Cacot, J. Slembrouck y M. Legendre. 2009. La pisciculture des Pangasiidae. *Cah. Agric.*, 18 (2-3): 164-173.
- Lavens, P. y P. Sorgeloos, 1996. Manual of the production and use of live food for aquaculture. FAO. Technical paper 361. Rome, Italy. 295 p.
- Lecompte, O. 2010. Acuario para la exhibición de medusas en Mundo Marino de Santa Marta. <http://www.boletin.utadeo.edu.co/index>.
- León, J. A. y Jáuregui, A. 2001. "Ensayos alimentarios en juveniles de *Hippocampus reidi* (Ginsburg, 1933) con fines de levante, mediante la implementación de dietas basadas en microalgas (Chaetoceros y Spirulina) y nauplios de Artemia, acuario mundo marino". IX Congreso Latinoamericano sobre ciencias del mar. San Andrés Islas. Internet: <http://www.alicmar.org/congresos/documentos/noveno/Recursos%20pesqueros,%20maricultura,%20biotecnologia%20y%20productos%20naturales/Maricultura/409.PDF>.
- Lin, Q., J.D. Lin y D. Zhang. 2008. Breeding and juvenile culture of the lined seahorse, *Hippocampus erectus* (Perry, 1810). *Aquaculture*. 277: 287-292.
- Lin, Q., J.Y. Lu y Y.L. Gao. 2006. The effect of temperature on gonad, embryonic development and survival rate of juvenile seahorses, *Hippocampus kuda* Bleeker. *Aquaculture*. 254: 701-713.
- Lourie, S.A., S.J. Foster, E.W.T. Cooper y A.C.J. Vincent. 2004 A guide to the identification of seahorses. Project Seahorse and TRAFFIC North America, Washington D.C.: University of British Columbia and World Wildlife Fund. 114 p. ISBN 0-89164-169-6
- Lourie, S.A., A.C.J. Vincent y H.J. Hall. 1999. *Seahorse: An Identification Guide to the World's Species and Their Conservation*. Londres: Project Seahorse. 214 p.
- Mancera-Rodríguez, N. J. y R. Álvarez-León. 2008. Comercio de peces ornamentales en Colombia *Acta biol. Colomb.* 13 (1): 23-52.
- Martin-Smith, K.M. y A.C.J. Vincent. 2005. Seahorse declines in the Derwent estuary, 1196 Tasmania, in the absence of fishing pressure. *Biol. Cons.* 123: 533-545.
- Martinez-Cardenas, L. y G.J. Purser, 2007. Effect of tank colour on Artemia ingestion, growth and survival in cultured early juvenile pot-bellied seahorses (*H. abdominalis*). *Aquacul.*, 264: 92-100.
- Masonjones, H. y S. Lewis. 1996. Courtship behavior in the dwarf seahorse, *Hippocampus zosterae*. *Copeia*, 3: 634-640.
- Mejía, L. y J. Garzón. 2000. Estructura de comunidades de peces arrecifales en cuatro atolones del archipiélago de San Andrés y Providencia (Caribe Sur Occidental). *Rev. Biol. Trop.* 48 (4): 883-896.
- Melgarejo, L.M., J. Sánchez, C. Reyes, F. Newmark y M. Santos-Acevedo. 2002. Plan nacional en bioprospección continental y marina (propuesta técnica) Serie de Documentos Especiales INVEMAR No. 11. Bogotá: Cargraphics, 122 p.
- Melo, A.F. 2010. Efecto de la temperatura y la salinidad en la supervivencia y crecimiento de crías de *Hippocampus reidi* en cautiverio. INVEMAR. 36 p.
- Montero-Ortega, 2011 en preparación. Efecto de la densidad de alimento vivo en el crecimiento y supervivencia de crías de caballito de mar *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 (Teleostei: Syngnathidae) en condiciones de cautiverio. Trabajo de grado de biología. Universidad de Sucre. 83 p.

Montolio, M. y E. González. 2008. Caballitos de mar. Acuario Nacional de Cuba. Serie Conozcamos el mar, No. 9. 28 p.

Morales, C.J. 1982. Acuicultura marina animal. Tesis doctoral. Massachusetts Institute of Technology. 670 p.

Muller-Feuga, A. 2000. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. J. Appl. Phycol. 12: 527-534.

Murugan, A., S. Dhanya, R.A. Sreepada, S. Rajagopal. y T. Balasubramanian. 2009. Breeding and mass-scale rearing of three spotted seahorse, *Hippocampus trimaculatus* Leach under captive conditions. Aquaculture. 290: 87-96.

Oie, G., P. Makridis, R.K. Inge y Y.Olsen. 1997. Protein and carbon utilization of rotifers (*Brachionus plicatilis*) in first feeding of turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.). Aquaculture. 153: 103-122.

Olivotto, I., M.A. Avella, G. Sampaolosi, C.C. Piccinetti., P. Navarro Ruiz y O. Carnevali. 2008. Breeding and rearing the longsnout seahorse *H. reidi*: Rearing and feeding studies. Aquaculture, 283: 92-96.

Ortega, A. 1991. Zooplancton: su cultivo. Alva a Coruña Impresores. Xunta de Galicia, España. 30p.

Ortega-Salas, A.A. y H. Reyes-Bustamante. 2006. Fecundity, survival and growth of the seahorse *Hippocampus ingens* (Pisces: Syngnathidae) under semi- controlled conditions. Revista de Biología Tropical, Universidad de Costa Rica, 54 (4): 1099-1102.

Ospina-Salazar, G.H., M. Santos-Acevedo, J. López-Navarro, D.I. Gómez-López, J.E. Álvarez-Barrera y J. Gómez-León. 2011. Reproducción y mantenimiento de peces marinos ornamentales. Serie de Publicaciones Generales No. 46. Santa Marta, 100 p. ISBN: 978-958-8448-37-4

Paniagua, M., Buckle, J., Granados L.F., Loya y C., Daniel H. 1989. Manual de metodologías y alternativas para el cultivo de microalgas. Informe OC-89-01, CICESE, Ensenada Nuevo México, México. 67 p.

Panné-Huidobro, S. 2010. Organismos Acuáticos Ornamentales: Su importación y exportación en el 2009. Dirección de Acuicultura. Subsecretaría de Pesca y Acuicultura – MAGyP. 15p. http://www.minagri.gob.ar/SAGPyA/pesca/acuicultura/06_Noticias/_archivos/100628_Organismos%20Acu%E1ticos%20Ornamentales%20%20%28Su%20importaci%F3n%29.pdf

Pastor, L. y M. Báez-Hidalgo, 2002. Reproducción y alimentación del loreto *Gramma loreto* Poey, 1868 (Pisces, Grammididae) en la Costa Norte de la Habana Cuba. Rev. Inv. Mar. 23 (3): 195-201.

Payne, M.F. y R.J. Rippingale. 2000. Rearing West Australian seahorse, *Hippocampus subelongatus*, juveniles on copepod nauplii and enriched Artemia. Aquaculture 188: 353-361.

Pérez, H. 2011. Evaluación de sistemas de acuarios y densidad óptima de siembra para el levante de crías de caballitos de mar *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 durante el primer mes de vida. Universidad del Magdalena. Programa de Biología. 76 p.

Petracini, R. 2001. Base de datos de Latinoamérica y el mundo de Acuarios Públicos, Oceanarios y Acuarios de Zoológicos. Disponible en: www.elacuaria.com. Consultado el 2 de noviembre de 2010.

Petracini, R. 2010. Enfermedades de los peces: Como diagnosticar una enfermedad. Internet: (<http://www.elacuaria.com/secciones/enfermedades.htm>), consultado 7/feb/2011.

Piecemo, 2008. Programa de investigaciones en Ecología y Especies marinas de ornato. <http://www.piecemo.org/lineas/otras/grammaloreto.htm>. Consultado el 05/05/ 2011.

Pilson, M.E.Q. 1998. An Introduction to the Chemistry of the Sea. Prentice-Hall, Inc. Upper Saddle River, NJ. 431 p.

Planas, M., A. Chamorro, P. Quintas y Q. Quintas. 2008. Establishment and maintenance of threatened long-snouted seahorse, *Hippocampus guttulatus*, broodstock in captivity. Aquaculture. 283: 19-28

Planas, M., J. Pintado, P. Quintana, A. Blanco y S. Valladares. 2006. Biología del "caballito de mar". Proyecto *Hippocampus*. Instituto de investigaciones marinas (CSIC). Vigo, España.

Pro, S. 2008. Marine ich *Cryptocarium irritans*, a discussion of this parasite and the treatment options available, Part I. Reefkeeping online magazine. Internet: (<http://reefkeeping.com/translations/spanish/2003-08/sp/index.php>), consultado 01/28/2011.

Prieto-Acosta, L.R. 2001. Uso de filtros biológicos en larvicultura de camarón *Penaeus vannamei*. Trabajo de grado Escuela Superior Politécnica. Guayaquil, 80 p.

PROJECT SEAHORSE, 2004. Base de datos Exportaciones e Importaciones de Seahorses en el Mundo. Consultado 17 de noviembre de 2010. Disponible en: <http://www.hippocampusinfo.org/PartiesCountries/Thailand/Trade/tabid/100/Default.aspx>

RIRM - Red Iberoamericana de Reservas Marinas, RIRM, 2010. Programa y Proyecto de Recupeacion de Poblaciones de Caballito de Mar en la Region de Murcia. Resumen del Boletín de Noticias. Disponible en <http://www.natureduca.com>. Consultado en noviembre 4 de 2010.

Reglamento de Pesca de Puerto Rico. 2004. Departamento de Recursos Naturales y Ambientales. San Juan, Puerto Rico. Núm. Reglamento: 6768. Fecha Radicación: 11 de febrero de 2004. 36 p.

Reyes-Bustamante, H. y A.A. Ortega-Salas. 1999. Cultivo del caballito de mar, *Hippocampus ingens* (Pisces: Syngnathidae) (Girard, 1859) en condiciones artificiales. Rev. Biol. Trop. 47: 1045-1049.

Rodrigues, N.R.A. 2000. Aspectos morfológicos do trato digestório do cavalo-marinho *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 (Percomorpha, Gasterosteiformes, Syngnathidae). Trabalho para a obtenção de Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas. Santos, Brazil. 14 p.

Rollefsen, G. 1939. Artificial rearing of fry of seawater fish. Preliminary communication. Rapp. Proc.-Verb. Reun. Cons. Perm. Int. Explor. Mer., 109-133.

Sánchez-Cardozo, L.M. 2011. Evaluación del efecto del alimento vivo enriquecido en el crecimiento y supervivencia de crías de caballito de mar *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 (Teleostei: Syngnathidae) en condiciones de cutiverio. Universidad del Magdalena. Programa de Maestría en Acuicultura y Ecología Acuática Tropical. 96 p.

Scaratt, A.M. 1995. Techniques for rising lined seahorses (*Hippocampus erectus*). Aquarium Frontiers 3, 24-29.

Seahorse Source. 2010. *H. reidi*. Disponible en <http://www.seahorsesource.com/reidi.html>. Consultado el 3 de noviembre de 2010.

Seale, A. 1933. The brine shrimp (*Artemia*) as a satisfactory live food for fishes. Trans. Amer. Fish. Soc., 63: 129-130.

Shepherd, J. y N. Bromage 1988. Intensive fish farming, first publishing. Billing and Sons Ltd., Worcester, 404 p.

Sheng, J.Q., Q. Lin, Q.K. Chen, Y.L. Gao, L. Shen y J.Y. Lu. 2006. Effects of food, temperature and light intensity on the feeding behavior of three spot juveniles *Hippocampus trimaculatus* Leach. Aquaculture 256: 596-607.

Shimek, R. 2008. The toxicity of some freshly mixed artificial sea water; a Bad beginning for a reef aquarium. <http://reefkeeping.com/translations/spanish/2003-03/rs/feature/index.php>

Silveira, R.B. 2000. Comportamento reprodutivo e desenvolvimento inicial de *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 em laboratório. Biociências, 8 (1): 115-122.

Simoes F., F. Ribeiro y D.A. Jones. 2003 Feeding early larval stages of fire shrimp *Lysmata debelius* (Caridea: Hippolytidae). Aquaculture International 10, 349-360.

Smith, G.G. A.J. Ritar, C.F. Phleger, M.M. Nelson, B. Mooney, D.D. Nichols y P.R. Hart. 2002. Changes in gut content and composition of juvenile *Artemia* after oil enrichment and during starvation. Aquaculture, 208: 137-158.

Sobolewski, A. 1997. Breeding the fat bellied seahorse. Austasia Aquaculture, 11 (4): 71-72.

Sorgeloos, P., P. Lavesn, P. Lé, W. Tackaert y D. Versichele, 1986. Manual para el cultivo y uso de *Artemia* en acuicultura. FAO. Doc. Campo No.10. <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB474S/AB474S00.htm>. Consultado: 6/ene/11.

Storero, L.P. y R.L.A. González. 2009. Prey selectivity and trophic behavior of the Patagonian Seahorse, *Hippocampus patagonicus*, in captivity. J. World Aquacul. Society 40 (3): 394-401 p.

Tamaru, C., H. Ako, R. Paguirigan y L. Pang. 1999. Enrichment of *Artemia* for use in freshwater ornamental fish production. Center for Tropical and Subtropical Aquaculture Publication Number 133. Internet: http://www.ctsa.org/upload/publication/CTSA_13363167285931_3490600.pdf.

Timmons, M.B., J.M. Ebeling, F.W. Wheaton, S.T. Summerfelt, y B. Vinci. 2002. Sistemas de recirculación para la acuicultura. Fundación Chile, Santiago, 748 p.

Torrentera, L. y A. Tacon. 1989. La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura, una diagnosis. FAO, Proyecto GCP/RLA/075/ITA. Project reports No. 12, 90 p.

Tucker, J.W. 1998. Marine fish culture. Kluwer Academic Publishers, Boston. USA. 750 p.

Underwood, D. 2010. A scalable method of raising *Hippocampus erectus*. Internet (<http://www.seahorse.org/library/articles/library/library.shtml>).

Van Hauwaert, A., C. Nijs, T. De Wolf y P. Candreva. 2007. Progresos en larvicultura de peces marinos en nutrición, sanidad y técnicas de producción. 1101-1104. En: Cerviño, A., A. Guerra y C. Pérez. (Eds). Nutrición Animal. XI Cong. Nal. Acuicul. Vigo, España. 1570 p.

Velasco, L.A., S. Carrera y J. Barros. 2008. Producción de microalgas como alimento para pectínidos. 31-63. En: Velasco, L.A. (Ed.). Biología y cultivo de los pectínidos de interés comercial de Colombia. Editorial Unimagdalena. Santa Marta. 258 p.

- Villamizar, N. 2001. Aspectos preliminares sobre la etología general y reproductiva del caballito de mar *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 bajo condiciones de cautiverio en el Acuario Mundo Marino Universidad Jorge Tadeo Lozano - UJTL. Tesis Biol. Mar., UJTL. Santa Marta. 79 p.
- Villamizar, N. y J.G. Domínguez. 1999. Aspectos preliminares sobre el comportamiento del caballito de mar *Hippocampus reidi* bajo condiciones de cautiverio. Seminario de Investigación. Universidad Jorge Tadeo Lozano. 35 p.
- Villegas Figueroa, P. 2007. Sistemas de recirculación de aguas y su rol en la acuicultura sustentable. Tesis de maestría. Iquique, Chile, 116 p.
- Vincent, A.C.J. 1996. The international trade in seahorses. Traffic International, Cambridge. 163 p.
- Vincent, A.C.J. 1995. Exploitation of seahorses and pipefishes. Naga, the ICLARM quarterly newsletter, 18 (1): 18-19.
- Vincent, A., Sadler, L. 1995. Faithful pair bonds in wild seahorses, *Hippocampus whitei*. Animal behavior, 50: 1557-1569.
- Wabnitz, C., Taylor, M., Green, E y Razak, T. 2003. From Ocean to Aquarium. UNEP-WCMC, Cambridge, UK. http://www.unepwcmc.org/resources/publications/UNEPWCMC_bio_series/17.htm. 2/02/10.
- Webster, M. 2004. Density Dependence via Intercohort Competition in a Corral-Reef fish. Ecology. 85 (4): 986-994.
- Webster, M. 2003. Temporal Density Dependence and Population Regulation in a Marine Fish. Ecology. 84 (3): 623-628.
- Webster, M. y A. Hixon, 2000. Mechanisms and Individual Consequences of Intraspecific Competition in a Coral Reef Fish. Marine Ecology Progress Series 196: 187-194.
- Wittenrich, M. 2007. The complete illustrated breeder's guide to marine aquarium fishes: Mating, spawning and rearing methods for over 90 species. T.F.H. Publications. New Jersey. 304 p.
- Wong, J.M. y J.A.H. Benzie. 2003. The effects of temperature, Artemia enrichment, stocking density and light on the growth of juvenile seahorses, *Hippocampus whitei* (Bleeker, 1855), from Australia. Aquaculture. 228: 107-121.
- Woods, C.M.C. 2000. Preliminary observation on breeding and rearing the seahorse *Hippocampus abdominalis* (Teleostei: Sygnathidae) in captivity. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research, 34: 475-485.
- Woods, C.M.C. 2003. Effects of varying Artemia enrichment on growth and survival of juvenile seahorses, *Hippocampus abdominalis*. Aquaculture. 220: 537-548.
- Wooten, W. 2004. A guide to the most common seahorse diseases and medical conditions. Internet: (<http://www.seahorse.org/library/articles/diseaseguide.shtml>), consultado 8/febrero/2011.
- WWF Colombia, INCODER, Traffic-America del Sur. 2006. Aspectos Socioeconómicos y de Manejo Sostenible de Peces Ornamentales de Agua Dulce en el Norte de Sudamérica. Retos y Perspectivas. Memorias del Taller Internacional. Santa Fe de Bogotá.
- Yamamura, O. y T. Inada. 2001. Importance of micronekton as food of demersal fish assemblages. Bull. Mar. Sci., 68 (1): 13-25.
- Zuluaga-Arévalo, J.A. 2010. Influencia de frecuencia de nacimientos, morfometría y disponibilidad de alimento en reproductores sobre la viabilidad en juveniles de *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 bajo condiciones controladas (Acuario Mundo Marino, Santa Marta, Colombia, 2009-2010). Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. Programa de Biología Marina. Santa Marta, 90 p.

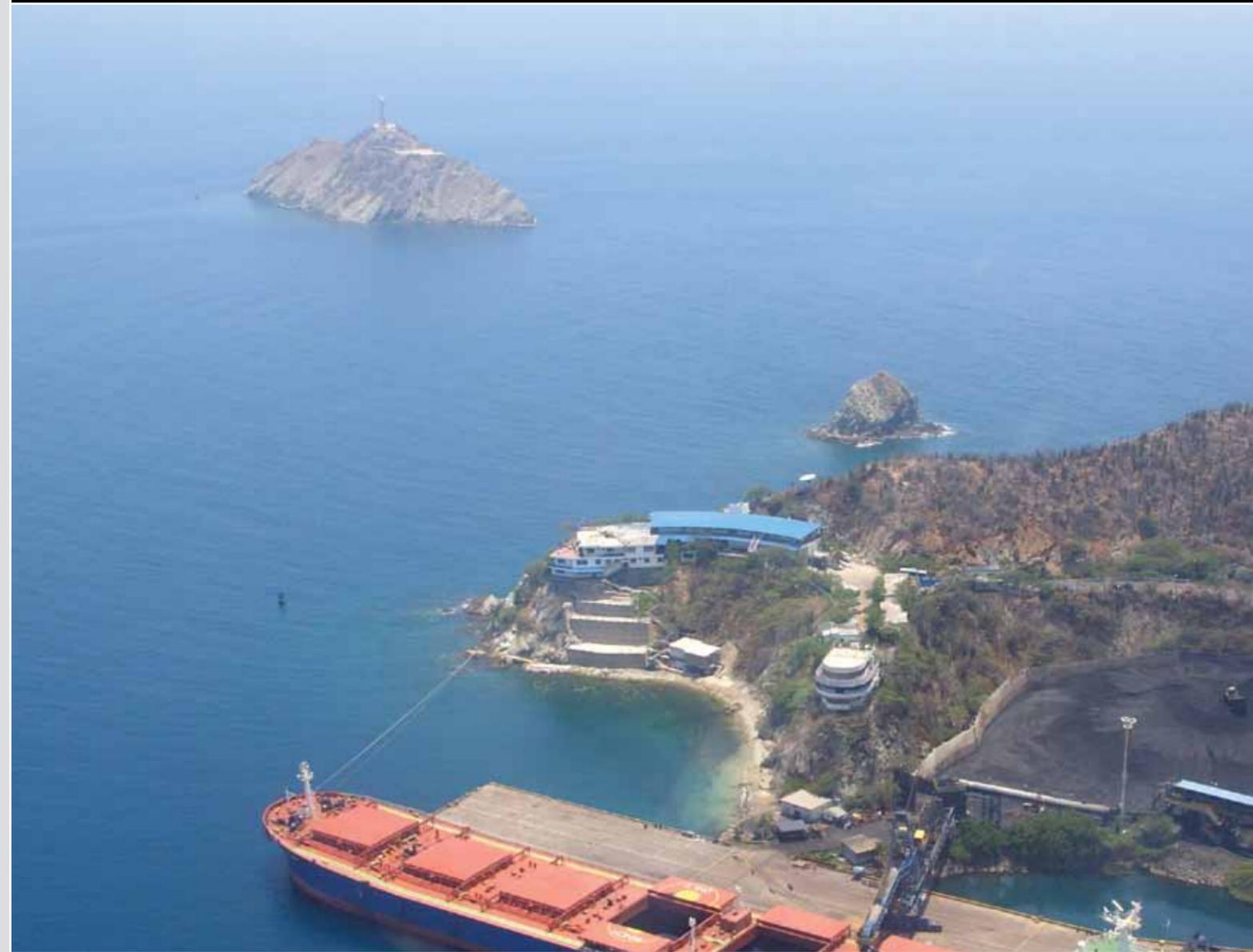


Foto aérea de las Sede Principal del Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives De Andrés" INVEMAR

Serie de Documentos Generales de INVEMAR

1. Programa Nacional de Investigación en Biodiversidad Marina y Costera PNIBM, 2000.
2. Referencias bibliográficas publicadas e inéditas de la Ciénaga Grande de Santa Marta I y II, 1996.
3. Política nacional ambiental para el desarrollo sostenible de los espacios oceánicos y las zonas costeras e insulares de Colombia, 2001.
4. Ojo con Gorgona. Parque Nacional Natural, 2001.
5. Libro rojo de peces marinos de Colombia, 2002.
6. Libro rojo de invertebrados marinos de Colombia, 2002.
7. Las aguas de mi Ciénaga Grande, 2002.
8. Informe del Estado de los Recursos Marinos y Costeros en Colombia, 2001.
9. Guía práctica para el cultivo de bivalvos; madreperla, ostra alada, concha de nacar y ostiones, 2003.
10. Aproximación al estado actual de la bioprospección en Colombia, 2003.
11. Plan Nacional de Bioprospección, 2003.
12. Conceptos y guía metodológica para el Manejo Integrado de zonas costeras en Colombia, Manual 1: Preparación, caracterización y diagnóstico, 2003.
13. Manual de técnicas analíticas para la determinación de parámetros fisicoquímicos y contaminantes marinos: aguas, sedimentos y organismos, 2003.
14. Una visión de pesca multiespecífica en el Pacífico colombiano, 2003.
15. Amenazas naturales y antrópicas, 2003.
16. Atlas de paisajes costeros de Colombia, 2003.
17. Atlas de la calidad de las aguas marinas y costeras de Colombia, 2004.
18. Manual del sistema de información pesquera del INVEMAR, 2005.
19. Cartilla bacterias marina nativas, 2006.
20. Política Nacional del océano y los espacios Costeros PNOEC, 2007.
21. Manual metodológico sobre el monitoreo de los manglares del Valle del Cauca y su fauna asociada, 2007.
22. Lineamientos y estrategias de manejo de la Unidad Ambiental Costera (UAC) del Darién, 2008.
23. Plan de Manejo Integrado de la Zona Costera - UAC Llanura Aluvial del Sur, Pacífico colombiano, 2008.
24. Cartilla lineamientos y estrategias para el manejo integrado de la UAC del Darién, Caribe colombiano, 2008.
25. Cartilla etapas para un cultivo de bivalvos marinos (pectínidos y ostras) en sistema suspendido en el Caribe colombiano, 2009.
26. Programa Nacional de investigación para la prevención, mitigación, y control de la erosión costera en Colombia – PNIEC, 2009.
27. Modelo de uso ecoturístico de la bahía de Neguanje Parque Nacional Natural Tayrona, 2009.
28. Criadero de postlarvas de pectínidos de interés comercial en el Caribe Colombiano, 2009.
29. Viabilidad de una Red de Áreas marinas Protegidas en el Caribe colombiano, 2009.
30. Ordenamiento Ambiental de los manglares del Archipiélago San Andrés, Providencia y Santa Catalina, Caribe colombiano, 2009.
31. Ordenamiento ambiental de los manglares en La Guajira, 2009.
32. Ordenamiento ambiental de los manglares del municipio de Timbiquí, Cauca (Pacífico colombiano), 2009.

33. Ordenamiento ambiental de los manglares del Municipio de Guapi, Cauca, 2009.
34. Ordenamiento ambiental de los manglares del Municipio de López de Micay, Cauca, 2009.
35. Avances en el manejo Integrado de Zonas Costeras en el departamento del Cauca, 2009.
36. Ordenamiento Ambiental de los Manglares de la Alta, Media y Baja Guajira, 2009.
37. Aprendiendo a conocer y cuidar el agua en la zona costera del Cauca, 2009.
38. Guía de bienes y servicios del Old Point Regional Mangrove Park, 2009.
39. Aves del estuario del río Sinú, 2010.
40. Cultivo de pectínidos en el Caribe colombiano, 2010.
41. Planificación ecorregional para la conservación in situ de la biodiversidad marina y costera en el Caribe y Pacífico continental colombiano – Informe Técnico, 2010.
42. Guía para el reconocimiento de corales escleractinios juveniles en el Caribe, 2010.
43. Viabilidad socioeconómica del establecimiento de un AMP: la capacidad adaptativa de la comunidad de Nuquí (Chocó), 2010.
44. Guía metodológica para el manejo integrado de zonas costeras en Colombia. Manual 2: Desarrollo etapas I y I, 2010.
45. Pianguando: estrategias para el manejo de la piangua, 2010.
46. Avances en la reproducción y mantenimiento de peces marinos ornamentales, 2011.