

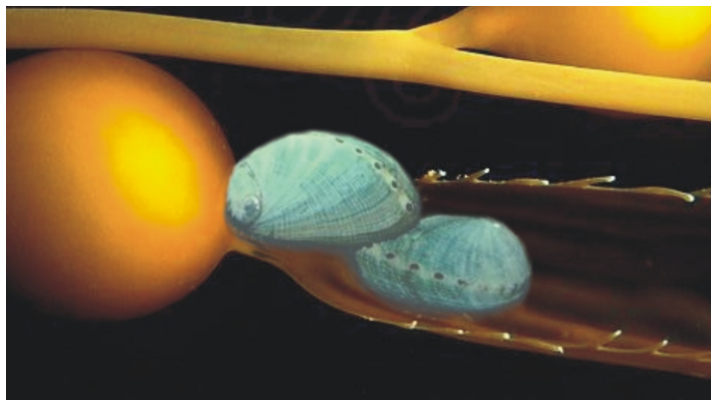


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA SUR

ÁREA INTERDISCIPLINARIA DE CIENCIAS DEL MAR
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA EN PESQUERÍAS

TESIS PROFESIONAL

“EFECTO DE DIFERENTES DIETAS NATURALES EN EL CRECIMIENTO
Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE JUVENILES DE ABULÓN AZUL
Haliotis fulgens PHILIPPI”



QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN ACUACULTURA
PRESENTA

CLAUDIA JEANNETTE PÉREZ ESTRADA

DIRECTORES DE TESIS

DRA. ELISA SERVIERE ZARAGOZA
DR. MARCO ANTONIO CADENA ROA



AREA INTERDISCIPLINARIA
DE CIENCIAS DEL MAR

Departamento de Ingeniería en
Pesquerías

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA SUR

Apartado Postal 19-B
Código Postal 23080
La Paz, B.C.S.

Teléfono. 12 3-88-00
Fax 12 3-88-19



Fecha: 1 - AGOSTO - 2006

Dr. ALFREDO FLORES IRIGOLLEN
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE
INGENIERÍA EN PESQUERÍAS
PRESENTE.

Los abajo firmantes comunicamos a Usted, que habiendo revisado el Trabajo de Tesis que realizó (ron) el (la) pasante (s) de Maestría:

C. PÉREZ ESTRADA Claudia Jeannette

Con el Título: **“EFECTO DE DIFERENTES DIETAS NATURALES EN EL CRECIMIENTO Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE JUVENILES DE ABULÓN AZUL *Haliotis fulgens* Phillippi”**

Otorgamos nuestro voto aprobatorio y consideramos que dicho Trabajo está listo para su defensa a fin de obtener el grado de Maestro en Ciencias en Acuicultura.

DR. MARCO ANTONIO CADENA ROA
NOMBRE COMPLETO

PRESIDENTE

FIRMA

DRA. ELISA SERVIERE ZARAGOZA
NOMBRE COMPLETO

SECRETARIO

FIRMA

DR. ROBERTO CIVERA CERECEDO
NOMBRE COMPLETO

VOCAL

FIRMA

M. EN C. MARÍA DEL CARMEN GÓMEZ DEL PRADO
NOMBRE COMPLETO

SUPLENTE

FIRMA

DR. HÉCTOR GERARDO NOLASCO SORIA
NOMBRE COMPLETO

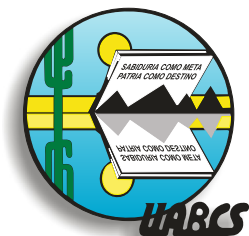
SUPLENTE

FIRMA

DRA. ELISA SERVIERE ZARAGOZA
NOMBRE COMPLETO

DIRECTOR

FIRMA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA SUR

ÁREA INTERDISCIPLINARIA DE CIENCIAS DEL MAR
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA EN PESQUERÍAS

TESIS PROFESIONAL

**“EFECTO DE DIFERENTES DIETAS NATURALES EN EL CRECIMIENTO
Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE JUVENILES DE ABULÓN AZUL
Haliotis fulgens PHILIPPI”**

COMISIÓN REVISORA

DRA. ELISA SERVIERE ZARAGOZA
DR. MARCO ANTONIO CADENA ROA
DR. ROBERTO CIVERA CERECEDO
M. EN C. MARÍA DEL CARMEN DEL PRADO ROSAS
DR. HÉCTOR NOLASCO SORIA

CO-DIRECTOR
CO-DIRECTOR
ASESOR
ASESOR
ASESOR

Hemos nacido para volar y tenemos la obligación de remontar una y otra vez el vuelo. Te lo digo yo, que me he derrumbado y estrellado muchas veces.

Y sin embargo, insisto. Cuando sientas que te derrumbas, que caes vertiginosamente entre astillas y huesos, entre llantos de arena y aguaceros de vidrio, da un par de aletas y arriba..... levanta nuevamente el vuelo.

Jesús Quintero

DEDICATORIA

A una más de las hojas que se cayeron en el otoño (Sra. Ofelia López Galarza †)

Porque permanece en mi corazón, en mis pensamientos y en mis acciones y porque que se que nos volveremos a encontrar.....solo es cuestión de tiempo.....quizás en alguna fiesta, quizás en algún bar....

A mi hermana Rosario Miranda Estrada (Chayin)

Por ser un ejemplo a seguir, por todo tu optimismo y alegría hasta en los momentos mas difíciles, por tu capacidad de superación y por querer seguir viva y echarle siempre todas las ganas a lo que haces, por ser parte de la energía que me mueve.....Te quiero.

A Elena, María Luisa y Paty

A lo largo de nuestras vidas ocurren innumerables sucesos continuos que nos van forjando, llenan parte de nuestro ser para seguir en este andar por la vida. Hay quienes tienen muchas oportunidades en su vida, como poder estudiar una carrera, ir a la universidad y sin darse cuenta son afortunados, toman esa oportunidad en sus manos y hacen grandes cosas, pero también los hay quienes toman esa oportunidad y... no hacen nada!..... Más que cumplir con lo requerido por la sociedad y fingir que se hace "algo" mientras el sistema que nos rige lo permite. Pero también están ustedes, quienes quizás tuvieron esas mismas oportunidades y que por diferentes circunstancias y sucesos en sus vidas tuvieron que ir por caminos inexorablemente diferentes a los que les hubiera gustado o querido, pero que a pesar de ello y de muchas circunstancias adversas en sus vidas, ustedes han llegado a hacer grandes cosas..... y a veces, han hecho mucho, muchísimo mas que algunos que pudieron tomar en ese instante, esa oportunidad.....con cariño por su empeño y lucha constante.

A esta tierra árida que sigue inundando mis venas y este azul profundo.....

AGRADECIMIENTOS

El agradecimiento sincero nace en el corazón.

Y mientras estoy aquí escribiendo estos agradecimientos y mientras pienso en ti Chayin, termino esta parte de la tesis donde el factor humano, lo emotivo, es importante...al menos para mi.

Bueno, creo que a estas alturas o edad de mi vida sigo exactamente igual y me refiero a que según "Yo" no soy convencional, como los que a fondo me conocen, lo saben, y creo eso será un aspecto difícil de cambiar. Porque intento día a día no perder mis ideales y mis convicciones básicas y como al despertar cada día... Agradezco primeramente a Dios permitir a mi alma en mi cuerpo amanecer y anochecer y seguir disfrutando de todas las manifestaciones de la vida, por duras que estas a veces sean y darme la fortaleza necesaria para no dejarme caer.

A pesar de la distancia que nos separa, mi familia sigue siendo parte del motor que me impulsa a seguir siempre hacia adelante, Gracias mamá por seguir conmigo a pesar tu cansancio, y gracias a mis hermanos y sobrinos los momentos compartidos, alegrías, tristezas, y el cariño que me han brindado.

Bueno y como siempre, agradezco a mis profesores el conocimiento que me transmitieron y haber aportado su semilla para mi formación académica y a la Universidad Autónoma de Baja California Sur por permitirme ser uno más de sus alumnos.

En el CIBNOR, S.C. es el lugar donde se me han brindado muchas oportunidades de crecer en muchos sentidos y en donde he encontrado apoyo y pocos pero buenos amigos, y agradezco todas las facilidades para la realización de este trabajo...

La vida es un círculo, da vueltas y vueltas a veces sin parar hasta que tenemos que vivir ciertas circunstancias o encontrarnos con las personas que tenemos o que debemos conocer, que formaran parte de nuestras vidas para aprender y crecer y así es, simple y sencillamente así es, por que a veces aunque sabemos lo que queremos podemos ir perdiendo el rumbo y salirnos de un camino establecido por nosotros mismos y a veces hay personas que nos ayudan a retomar nuevamente ese camino, que tienen paciencia, tolerancia y entusiasmo y en este sentido quiero agradecerle Dra. Elisa Serviere Zaragoza la oportunidad que me brindo para llevar a cabo este trabajo, su apoyo, ayuda, motivación y confianza para encaminarme y dirigirme nuevamente hacia ese camino, por decirme como hacer las cosas y dejarme que yo las hiciera a mi manera, Gracias!!!!.....así mismo Dra. Elisa, te agradezco tu amistad, tu disponibilidad para escucharme y darme siempre ánimo y ese cariño incondicional que desde que te conozco me has brindado.

Que puedo decir o expresar si aunque a veces no nos hablemos o no nos veamos existe ese cariño, esa amistad que ha superado muchas cosas, que siempre esta presente, que comparte la vida, nuestras vidas, gracias Dr. Marco Antonio Cadena Roa por su alegría, animo, entusiasmo y por el apoyo en esta y todas las fases de mi vida.

Hace 8 años recibí una llamada tuya Dr. Roberto Civera Cerecedo en la cual me ofreciste un trabajo y con el cual sin pensarlo, quizás, me abriste las puertas a una infinidad de oportunidades, y las palabras y el espacio

en este texto no alcanza para agradecerte y expresar el sentimiento y emoción que me embarga de lo importante que has sido en todo este tiempo. Gracias!!! ...por tu ayuda en todo momento, por dedicarme tiempo para el análisis y corrección de la información, que con solo un vistazo y debido a tu conocimiento y experiencia te diste cuenta que yo había hecho mal algunos cálculos, gracias por tus aportaciones y comentarios para mejorar el documento y por el estímulo que siempre me has dado para seguir adelante. Pero sobre todo por tu amistad y cariño. T.Q.M.

A veces hay cosas que no nos gustan o materias o temas que se nos hacen difíciles de comprender (en mi caso me refiero a la bioquímica), pero a veces hay personas tan apasionadas por eso que les gusta y que manejan tan fácilmente el tema y que lo explican con tanto entusiasmo que hacen que eso que no nos gusta sea mucho más fácil y entendible.....Gracias Dr. Héctor Nolasco Soria, por su asesoría, apoyo y comentarios para mejorar este trabajo.

Estoy infinitamente agradecida con la vida por poner personas en mi camino que me nutren, que me enseñan, que me hacen crecer, y que de alguna manera han estado ahí en un momento difícil y que con unas palabras me tomaron de la mano y me ayudaron a sentirme fuerte y no decaer ante la adversidad, muchas gracias M. en C. María del Carmen del Prado Rosas por su apoyo y plática en el aeropuerto, gracias por sus comentarios a mi trabajo, por su amistad, y palabras de aliento.

*Para poder realizar este trabajo se necesitaban los organismos juveniles de *H. fulgens*, mismos que fueron donados por el laboratorio de producción de semilla de la Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera Progreso, ubicada en La Bocana, Baja California Sur, Muchas Gracias!..*

Agradezco a las Sociedades Cooperativas de Producción Pesquera y personal del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de Ensenada, Baja California, la recolección de las macroalgas que se utilizaron como alimento.

En todos los logros que tenemos en nuestras vidas desde que nacemos hay personas involucradas en una mínima o mayor proporción que de alguna u otra forma nos apoyan, motivan y hacen mucho más fácil conseguir las metas planteadas. En este sentido, en este trabajo de equipo todas las personas involucradas fueron fundamentales para poder llevarlo a cabo.....y por ello quiero agradecer al personal del CIBNOR todo el apoyo, asesoría, profesionalismo, el estar disponibles las veces que los necesite, el estar dispuestos a colaborar conmigo y sobre todo por su paciencia....Gracias!: Alejandra Mazariegos y Hortencia Obregón (Laboratorio de Carcinología y Macroalgas), Teodoro Reynoso, Pablo Monsalvo (Laboratorio de Aclimatación y Mantenimiento de Organismos Acuáticos), Roberto Hernández (Laboratorio de Bioquímica fisiológica), Sonia Rocha, Dolores Rondero (Laboratorio de Análisis Químico Proximal), Tere Arteché (Laboratorio de Histología e Histoquímica), Gerardo García, (Gracias por el diseño de la portada de este documento), Diana Leticia Dorantes Salas (Gracias por la ayuda en la traducción del Resumen).

Quiero agradecer al Dr. Federico García Investigador del CICIMAR el haberme permitido hacer cortes histológicos en su laboratorio, su trato amable, cordialidad y disponibilidad.

Algunas veces un trámite tan fácil podemos hacerlo muy difícil, y esto es solo una cuestión de enfoque, de eficiencia, y agradezco a la vida haberte encontrado esa mañana en las oficinas del Departamento de

Ingeniería en Pesquerías Dr. Cesar Ruíz Verdugo por la facilidad y disponibilidad que tuviste para agilizar los trámites de mi examen. Así mismo agradezco al Dr. Alfredo Flores Irigollen su apoyo.

Quiero agradecerle Dr. Mario Martínez García, el apoyo que siempre me ha brindado para superarme, la confianza y el estar siempre dispuesto a escuchar mis inquietudes.

Elena Enríquez Silva y María Luisa de la Cruz.... Gracias por esas alas....(ya saben cuales!), por la confianza, la amistad y el cariño, por las interminables pláticas sobre nuestras vidas, sobre la vida misma, por las veces que hemos llorado juntas, por sus consejos y por el apoyo que me han brindado en todo momento, saben que son parte importante de mi vida.

Todos formamos parte del universo, porque de alguna forma estamos conectados por hilos de energía, algunos con mayor o menor intensidad, y que al final es esa energía la que nos une, yo en parte le llamo así y hay otras personas que le dan otro nombre (cariño, aprecio, amor...etc.), en ocasiones he sentido que he perdido esa conexión contigo Ricardo Rodríguez Estrella..... y cuando menos lo espero, me doy cuenta que esta ahí y que esa energía y conexión que nos une esta cada vez con mayor intensidad.....quiero agradecerte Ricardo, el estar aquí Hoy, tu motivación, cariño y confianza, tus comentarios para mejorar este trabajo, tu tolerancia, empeño y enseñarme que cada día puedo ser una mejor persona, Gracias por nuestras pláticas, por las diferencias, y por las risas, en fin por todo lo que me enseñas e inculcas, por compartir tus preocupaciones por la vida, por el ambiente, por la naturaleza, y por permitirme conocerte mas allá de lo que el mundo conoce de ti, por dejarme compartir mas allá de lo que el mundo conoce de mi.....pero sobre todo por insistir y enseñarme a luchar por lo que quiero, T.Q.M.

A veces he pensado que soy una planta... o que fui una planta, basta que el sol toque mi rostro para sentir que algo energiza mi cuerpo, mi vida, los instantes.... pero no es solo eso...hay otro sol que ilumina mis días, que toca mi corazón y me hace sentir viva....mi amigo, mi sol... Manuel Blanco (Burgos, España), gracias por todos los momentos de felicidad que he compartido contigo, te agradezco que compartas tu energía y alegría para que mi vida sea mejor y yo tenga esos pequeños e intensos momentos de felicidad, muchas gracias por todos tus consejos, tu apoyo y tus opiniones, por tu ingenio que me hace reír, reír y reír a pesar de mis estados de animo, por ser Tu, simplemente así como eres y gracias por simplemente estar al pendiente de todas mis inquietudes y preocupaciones, Gracias!! Gracias!! Y Gracias!!... Te quiero... Luna.

Durante la elaboración de esta tesis conocí a una persona que le dio un motivo diferente a este trabajo del que inicialmente tenía, y ese motivo fue que quise iniciar un proyecto de vida personal y este trabajo sería una parte fundamental que me permitiría irme a ese país (España) donde estaba la persona que me hizo sentir ese deseo..... quiero agradecerte Juan Rodríguez Villalba el haberme enseñado que el tener una pareja no es perder la individualidad o la libertad, si no compartir parte de cada uno como es, hacer hasta lo imposible de que aflore lo mejor que cada quien tiene, mirar juntos y trabajar en una misma dirección..... y aunque a pesar del tiempo, las circunstancias, los errores y la distancia al final cada quien siguió su camino, este lapso de tiempo es de los mejores y más felices que he tenido en mi vida..... te agradezco ese tiempo y todas las tardes que me acompañaste a través de la distancia mientras realizaba el ensayo experimental de este trabajo, Gracias por el amor, la motivación, consuelo y apoyo que en su momento me diste.

Mi familia por la distancia no siempre esta conmigo..... pero aquí hay personas, otras familias no biológicas que se preocupan por mí y que están aquí siempre, apoyándome y brindándome su cariño por lo cual quiero agradecer a la Familia Pérez-López, Barreno-Rocha, Félix-Rayas y Zúñiga-Pacheco el adoptarme como un miembro mas de sus familias.

Mario Araiza Bertin..... te agradezco tus comentarios para mejorar este trabajo, tus múltiples preguntas, pero sobre todo te agradezco que sin pensarlo haz hecho que me reencuentre conmigo misma, que me valore como persona, como mujer, por ese cariño incondicional que me has brindado, la confianza, el respeto, la amistad y todo lo que hemos compartido!!!..Muchas gracias!

Y hoy he aprendido que lo que verdaderamente cuenta en mi vida, no son las cosas que tengo o las pocas cosas que he logrado, si no las personas que tengo alrededor, que siempre están cerca de mí y por ello les doy las gracias por dejarme compartir parte de sus vidas: mi familia: (mamá, 9 hermanos 54 nietos 30 sobrinos nietos 2 tataranietos ufffff!!! Cuantos!!!) Paty Pérez, Ernesto, Omar, Adrián, Luis, Manuel Corral, Alfredo Díaz, Mary Paz, Galita, Sonia Rocha, Sr. Francisco Rocha †, chito, Sonia, Ana y Marcos, Claudia Marcela, Alfredo Felix, Ivan, Roy, Ariel, Celia Vázquez, Pedro Tsuchiya, Claudia Navarro, Maria Luisa, Elena, Magda, Mónica, Eva, Eliot, Sergio, Vero Vázquez, Silvia Alzaga, Refugio Castro, Laurita, Gerardo Hernández, Adriana Landa y el pequeño que viene en camino, Mario Araiza, Ingrid, Jaime Casas, Cuauhtemoc Alonso, Claudia Zúñiga, Sra. Graciela Pacheco, Laura Huacuja, Ricardo R.E., Elisa, Roberto Civera, Gaby Roldan, Marco Cadena, Neto G., Tere Arreche, Chayito, Ale, Verito, Miguel Angel, Erika Guerra, Oscar Guerra Z, Edgar Guerra, Meche, Mony Z., Carlitos Z., David Z., Héctor G., Alfredo Zayas, Sra. Oliva, Carmen del Monte, Stig, Guillermina Pérez, Isabel, Lupita Geraldo, Horacio Sánchez, Gerardo García, Erika Morales, Salomón y David.....etc. etc.....

Igual que la vez pasadaQuizás se me paso nombrar a muchas personas..... pero por favor! No se sientan olvidados!Sigo igual o más distraída que nunca!!!.....

Índice	<i>i</i>
Prefacio	<i>iii</i>
Resumen	<i>iv</i>
Listado de figuras	<i>viii</i>
Listado de tablas	<i>x</i>
1. Introducción	<i>1</i>
1.1 Diagnóstico y descripción de <i>Haliotis fulgens</i>	<i>4</i>
2. Antecedentes	<i>7</i>
3. Justificación	<i>13</i>
4. Hipótesis	<i>13</i>
5. Objetivos	<i>14</i>
• Objetivo general	<i>14</i>
• Objetivos particulares	<i>14</i>
6. Material y métodos	<i>15</i>
6.1. Ensayo experimental	<i>15</i>
6.1.1. Organismos experimentales	<i>15</i>
6.1.2. Sistema de cultivo	<i>15</i>
6.1.3. Dietas	<i>16</i>
6.1.4. Diseño experimental	<i>17</i>
6.1.4.1. Parámetros fisicoquímicos del agua	<i>18</i>
6.1.4.2. Crecimiento	<i>18</i>
6.1.4.3. Consumo	<i>20</i>
6.1.4.4. Determinación de peso seco	<i>21</i>
6.1.4.5. Estabilidad del alimento	<i>22</i>
6.2. Análisis químico de la glándula digestiva y músculo	<i>22</i>
6.2.1. Preparación de muestras	<i>22</i>
6.2.1.1. Glándula digestiva	<i>23</i>
6.2.1.2. Músculo	<i>23</i>
6.2.2. Determinaciones químicas	<i>23</i>
6.2.2.1. Proteínas	<i>23</i>
6.2.2.2. Carbohidratos	<i>24</i>
6.2.2.3. Lípidos	<i>25</i>
6.3. Análisis estadísticos	<i>25</i>
6.4. Análisis histoquímico de glándula digestiva	<i>26</i>
6.4.1. Aplicación de la técnica histológica	<i>26</i>
7. Resultados	<i>27</i>
7.1. Parámetros fisicoquímicos del agua	<i>27</i>
7.2. Análisis proximal de las macroalgas proporcionadas como alimento	<i>27</i>
7.3. Estabilidad en el agua de las dietas	<i>28</i>
7.4. Crecimiento de juveniles de abulón azul	<i>28</i>
7.5. Análisis químico de la glándula digestiva y músculo de los juveniles de abulón azul	<i>36</i>
7.6. Descripción histológica e histoquímica de carbohidratos en la glándula digestiva de juveniles de abulón azul	<i>38</i>
8. Discusión	<i>41</i>
9. Conclusiones	<i>51</i>
10. Recomendaciones	<i>52</i>

11. Literatura citada	53
12. Anexos	65
12.1. Anexo 1. Metodología de los análisis químicos proximales	65
12.2. Anexo 2. Información complementaria de la tabla 4	79
12.3. Anexo 3. Técnica histológica	80

PREFACIO

El presente trabajo se realizó de acuerdo a las especificaciones del Departamento de Servicios Escolares de la Universidad Autónoma de Baja California Sur y con las observaciones de los revisores. El trabajo experimental se llevó a cabo en las instalaciones del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. en la ciudad de La Paz, B.C.S., bajo la dirección de la Dra. Elisa Serviere Zaragoza y co-dirección del Dr. Marco Antonio Cadena Roa.

Para la realización de la presente tesis se contó con el apoyo financiero de los siguientes proyectos de Investigación:

SIMAC: 99-0107002.- Valoración de macroalgas con potencial de uso en acuicultura.

CIBNOR: ABM8.- Utilización de recursos algales como alimento: Caso abulón.

CONACYT: 41410-Q.- Composición y variación estacional de ácidos grasos y esteroides en macroalgas de la península de Baja California, México.

En el presente trabajo se evaluó el efecto de cinco dietas naturales en el crecimiento, sobrevivencia, composición química e histoquímica de la glándula digestiva y músculo de juveniles de abulón azul *Haliotis fulgens* Phillippi, durante 136 días en condiciones de laboratorio. Las macroalgas utilizadas como dieta fueron: *Ulva* sp., *Eisenia arborea*, *Macrocystis pyrifera*, *Egregia menziesii* y *Porphyra perforata*. Se utilizaron 510 organismos juveniles de abulón azul con una talla promedio de 31.67 ± 0.11 mm de longitud y un peso inicial promedio de 2.46 ± 0.02 g.

El mayor crecimiento en longitud y peso se obtuvo con los organismos alimentados con *M. pyrifera* y *E. menziesii*, los cuales presentaron altos valores de consumo y factor de conversión alimenticia. El consumo y el factor de conversión alimenticia de los organismos alimentados con *P. perforata* fueron bajos. Con esta especie se obtuvieron buenos resultados de crecimiento, similar al de los organismos alimentados con *M. pyrifera* y *E. menziesii*, lo cual podría significar que el alimento fue utilizado eficientemente, y de tal manera que con una cantidad menor al de las otras algas, el abulón podría tener un adecuado crecimiento. Los juveniles alimentados con *Ulva* sp. tuvieron a lo largo del ensayo la menor tasa de crecimiento (longitud y peso) con relación a las otras dietas, así como el menor consumo y el mayor factor de conversión alimenticia, indicando que el alimento no fue utilizado eficientemente.

Los juveniles presentaron tasas de crecimiento en longitud inferiores a las 20 $\mu\text{m}/\text{día}$, siendo muy heterogéneas; el promedio de crecimiento en longitud y peso durante todo el período del ensayo varió de 1.56 $\mu\text{m}/\text{día}$ y 0.39 mg/día para los juveniles alimentados con *Ulva* sp. a 18.08 $\mu\text{m}/\text{día}$ y 8.15 mg/día para los juveniles alimentados con *Macrocystis pyrifera*, respectivamente. La sobrevivencia en juveniles de abulón azul *H. fulgens* fue superior al 44%, y no presentaron diferencias significativas entre las distintas dietas usadas.

La composición química del tejido de los juveniles de abulón azul es afectada por las dietas proporcionadas. En lo que se refiere a la glándula digestiva, los valores de proteínas de los juveniles de abulón azul se encontraron por debajo del valor inicial, 184.31 mg/g, con todas las dietas. En lo que se refiere a carbohidratos, se encontró

para *Ulva* sp. la concentración más alta seguida de *P. perforata*; ambas macroalgas presentando diferencia significativa con el resto de las dietas. En cuanto a los lípidos, se observaron variaciones en las concentraciones de estos en la glándula digestiva con las diferentes dietas proporcionadas, encontrándose la mas alta concentración con *P. perforata* (23.30 mg/g) y la menor concentración en *Ulva* sp. (17.15 mg/g).

En el músculo del pie, los valores del análisis de proteínas fueron superiores al valor inicial, encontrándose los valores más altos en *E. menziensii* y *Ulva* sp. El pie no solamente es el mayor reservorio de energía, sino también es donde más se consume debido al movimiento y a las propiedades de adhesión del organismo. En cuanto a carbohidratos, los valores fueron relativamente más altos que en el inicial para aquellos organismos con los cuales se obtuvo un mejor crecimiento (*E. menziensii*, *M. pyrifera* y *P. perforata*), pero aún así nuestros resultados no reflejan que el músculo del pie funcione como reservorio de carbohidratos, como lo encontrado para otros haliótididos. Los valores de lípidos no presentaron diferencias entre las dietas usadas, variando entre 3.77 mg/g en organismos alimentados con *M. pyrifera* a 3.91 mg/g en organismos alimentados con *P. perforata*. A partir de estos resultados se sugiere a *Egregia menziensii* y *Porphyra perforata* como alimento de calidad nutricional alternativos a *Macrocystis pyrifera* para juveniles de abulón azul.

In this work, we assessed the effect of five natural diets in growth, survival, chemical and histochemical composition of the digestive gland and muscle of green abalone *Haliotis fulgens* Phillippi during 136 days in laboratory conditions. Macroalgae used as diet were: *Ulva* sp., *Eisenia arborea*, *Macrocystis pyrifera*, *Egregia menziesii*, and *Porphyra perforata*. We used 510 individuals of green abalone juveniles with an average size of 31.67 ± 0.11 mm in length and with an initial average weight of 2.46 ± 0.02 g.

The highest growth in length and weight was obtained with individuals fed with *M. pyrifera* and *E. menziesii*, which showed high values of consumption and feed conversion factor. Consumption and feed conversion factor of the individuals fed with *P. perforata* were low. With this last specie growth results similar to those of individuals fed with *M. pyrifera* and *E. menziesii* were obtained, which could mean that feed was used efficiently. Thus, with less amount used with other algae, abalone could have the adequate growth. During the assay period, the juveniles fed with *Ulva* sp. had a lower growth rate (in length and weight) in relation to the other diets, as well as less consumption and higher feed conversion factor, which show that feed was not used efficiently.

The juveniles showed growth rates in length lower than $20 \mu\text{m}/\text{day}$ that were very heterogeneous; average growth in length and weight during the total assay period varied from $1.56 \mu\text{m}/\text{day}$ and $0.39 \text{ mg}/\text{day}$ for juveniles fed with *Ulva* sp. to $18.08 \mu\text{m}/\text{day}$ and $8.15 \text{ mg}/\text{day}$ for juveniles fed with *Macrocystis pyrifera* respectively. Survival in *H. fulgens* green abalone juveniles was higher than 44%, which not showed differences between the different diets used.

The chemical composition of the tissue of green abalone juveniles is affected by the diets used. With respect to the digestive gland, protein values of green abalone juveniles were found below the initial value, $184.31 \text{ mg}/\text{g}$, with all diets. In relation to carbohydrates, the highest concentration was for *Ulva* sp. followed by *P. perforata*; both macroalgae showed significant differences with the rest of the diets. In lipids, we observed variations in lipid concentration in the digestive gland with the different diets

used; the highest concentration was for *P. perforata* (23.30 mg/g) and the lowest for *Ulva* sp. (17.15 mg/g).

In the foot muscle, the values of the protein analysis were higher than the initial value, the highest in *E. menziensis* and *Ulva* sp. The foot is not only the major energy reservoir but also where the highest consumption is found due to the movement and adhesion characteristics of the organism. With respect to carbohydrates, the values were relatively higher than the initial values for those organisms with which a better growth was obtained (*E. menziensis*, *M. pyrifera* and *P. perforata*), but still our results did not reflect that the foot muscle works as a carbohydrate reservoir, as found in other Haliotidae. Lipids did not show differences among diets, ranged between 3.77 mg/g for organisms fed with *M. pyrifera* to 3.91 mg/g for organisms fed with *P. perforata*.

From these results, *Egregia menziensis* and *Porphyra perforata* are recommended as nutritional quality feed, alternative to *Macrocystis pyrifera*, for green abalone juveniles.

Figura 1. Distribución de haliotidos que existen en la costa oeste de la Península de Baja California.....	5
Figura 2. Acuarios para el ensayo experimental con juveniles de abulón azul.....	16
Figura 3. Refugios utilizados en los acuarios para juveniles de abulón azul.....	16
Figura 4. Medición de longitud y peso de juveniles de abulón azul.....	18
Figura 5. Crecimiento en longitud (mm) de la concha de juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes.....	29
Figura 6. Crecimiento en peso (gr) de juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes.....	29
Figura 7. Tasa específica de crecimiento en longitud y peso de juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes.....	34
Figura 8. Sobrevivencia (%) de juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes.....	36
Figura 9. Microfotografía de la glándula digestiva de un organismo juvenil de abulón azul alimentado con <i>Porphyra perforata</i> : Descripción general de la glándula digestiva.....	39
Figura 10. Microfotografía de la glándula digestiva de un organismo juvenil de abulón azul alimentado con <i>Ulva</i> sp.....	39
Figura 11. Microfotografía de la glándula digestiva de un organismo juvenil de abulón azul alimentado con <i>Eisenia arborea</i>	39
Figura 12. Microfotografía de la glándula digestiva de un organismo juvenil de abulón azul alimentado con <i>Macrocystis pyrifera</i>	40

Figura 13. Microfotografía de la glándula digestiva de un organismo juvenil de abulón azul alimentado con *Egregia menziesii*40

Figura 14. Microfotografía de la glándula digestiva de un organismo juvenil de abulón azul alimentado con *Porphyra perforata*.....40

Tabla 1. Crecimiento de <i>H. discus hannai</i> y <i>H. tuberculata</i> alimentados con diferentes dietas.....	9
Tabla 2. Composición química de la glándula digestiva y músculo de <i>H. discus hannai</i> y <i>H. tuberculata</i> (g/100g) alimentados con diferentes dietas.....	9
Tabla 3. Especie y sitios de colecta de las macroalgas usadas como dietas.....	17
Tabla 4. Ración de alimento proporcionado por acuario a los juveniles de <i>Haliotis fulgens</i> durante las estimaciones de consumo.....	20
Tabla 5. Composición química proximal de las macroalgas utilizadas para alimentar a los juveniles de abulón azul.....	27
Tabla 6. Estabilidad en el agua de las macroalgas proporcionadas como alimento para los juveniles de abulón azul.....	28
Tabla 7. Crecimiento en longitud (mm) de la concha de juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes.....	30
Tabla 8. Crecimiento en peso (g) de juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes.....	31
Tabla 9. Tasa diaria de crecimiento en longitud ($\mu\text{m}/\text{día}$) de juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes.....	32
Tabla 10. Tasa diaria de crecimiento en peso ($\text{mg}/\text{día}$) de juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes.....	33
Tabla 11. Evaluación de consumo aparente ($\text{g}/\text{org}/\text{día}$) y factor de conversión alimenticia ($\text{org}/\text{día}$) de juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes.....	35

Tabla 12. Proteínas, carbohidratos y lípidos en la glándula digestiva (mg/g) de juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes.....37

Tabla 13. Proteínas, carbohidratos y lípidos en músculo (mg/g) de juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes.....38

*“No basta saber, se debe también aplicar. No es suficiente querer, se debe también hacer”
Johann Wolfgang Von Goethe*

En México, la pesquería de abulón es de trascendental relevancia para una gran porción de pobladores de la costa Occidental de la Península de Baja California, ya que constituye una de las actividades más importantes y antiguas del país que se desarrolla desde la frontera con Estados Unidos hasta Isla Margarita en Baja California Sur, México (Mateus, 1986; Cifuentes *et al.*, 1997; Ponce, 2003). Particularmente, durante los últimos años se ha visto una disminución importante de sus rendimientos comparados con las décadas de los sesentas y setentas (Ponce, 2003). En las estadísticas de la Secretaría de Desarrollo del Gobierno del Estado de Baja California, se consigna que la captura de abulón de 1990 a 1994, promedió 2,361 toneladas por año, registrándose tres puntos de referencia: en la década de los ochenta 2,500 toneladas; en los noventa 2,361 ton y hoy en día solamente 400 toneladas (Tapia, 2004). Las especies sujetas a explotación son: *Haliotis fulgens* Philippi 1845 (abulón azul), *H. corrugata* Wood 1828 (amarillo), *H. cracherodii* Leach 1817 (negro), *H. rufescens* Swainson 1822 (rojo), *H. sorenseni* Barthsch 1940 (chino). Las especies *H. fulgens* y *H. corrugata*, contribuyen aproximadamente con el 95-98 % de la captura total (Ramade *et al.*, 1998; Ponce, 2003). Su gran demanda a nivel internacional hace que sea un producto de alto valor comercial. Hasta 1996 ocupaba el cuarto lugar en generación de divisas; actualmente los valores de producción ascienden a aproximadamente 58 millones de pesos (CONAPESCA, 2003).

En la mayoría de los países donde existe esta pesquería comercial se ha presentado un declive de las capturas de abulón, lo cual ha llevado a generar infraestructura y tecnología para su cultivo. Por lo anterior, el cultivo de este molusco se ha convertido en una actividad necesaria para satisfacer los programas de repoblamiento para la recuperación de la especie en su medio natural así como para su engorda comercial (Maeda *et al.*, 1994). Los principales países que producen abulón cultivado son China, Taiwán y Japón. Varios países incluyendo Australia, Chile, Islandia, Irlanda, México, Nueva Zelanda, Sudáfrica, Tailandia y los Estados Unidos todavía están desarrollando industrias significativas de la acuicultura del abulón (Gordon y Cook, 2003).

Las diatomeas bentónicas son consideradas la fuente principal de nutrientes para las postlarvas y los juveniles pequeños. Después de estas etapas, los abulones consumen diversos tipos de macroalgas (McShane, 1992; Cifuentes *et al.*, 1997; Ponce, 2003). En Japón, China, Corea, Tailandia, Australia, Nueva Zelanda, Sudáfrica, Canadá, México y Estados Unidos se han evaluado y utilizado diferentes fuentes de alimento, desde macroalgas hasta dietas artificiales con la intención de encontrar un alimento de alto valor nutricional y con un costo accesible para la alimentación de juveniles de abulón en laboratorio (Wee *et al.*, 1992; Viana *et al.*, 1993; Britz, 1996a; Fleming *et al.*, 1996; Corazani e Illanes, 1998; Kawamura *et al.*, 1998; López *et al.*, 1998; Simpson y Cook, 1998). Dietas artificiales utilizando diferentes fuentes de proteína han sido evaluadas o desarrolladas en países con una historia en el cultivo de abulón (Britz 1996a, 1996b; Fleming *et al.*, 1996; Knauer *et al.*, 1996). En México, se han estado realizando estudios sobre la formulación de dietas artificiales a partir de diferentes fuentes de proteína, preferentemente de bajo costo y con ingredientes de disponibilidad local (Viana *et al.*, 1993, 1994, 1996; Rivero y Viana, 1996; Monje y Viana, 1998; Gomez *et al.*, 2003; Nava *et al.*, 2004), así como con diferente composición de ácidos grasos (Durazo *et al.*, 2003a, 2003b, 2004). También se ha evaluado el efecto de dietas formuladas en la fisiología energética de *H. fulgens* (Farias *et al.*, 2003). En relación a dietas naturales se tiene información sobre los componentes que forman parte de su dieta, así como de los procesos digestivos y digestibilidad de proteínas in vitro (García, 1998; Picos *et al.*, 2000; Serviere *et al.*, 1997, 1998, 2001, 2002a, 2002b, 2003; García *et al.*, 2003; Robles, 2003).

En Baja California, uno de los principales problemas a los que se han enfrentado en las granjas y laboratorios de producción de abulón, está relacionado con la alimentación adecuada en las primeras etapas de vida debido al desconocimiento de los requerimientos nutricionales y por lo tanto siendo esto un factor fundamental para el desarrollo de esta actividad. En los 11 laboratorios y la granja existente en la península de Baja California, utilizan macroalgas como alimento para abulón a partir de los 10 mm aproximadamente siendo el alimento primordial el alga café *Macrocystis pyrifera*. Otras especies, como *Egrecia menziesii*, *Pelagophycus porra*, *Gracilaria* spp. y *Porphyra* spp. son utilizadas ocasionalmente de acuerdo a su disponibilidad en medio natural. Estas

especies, han sido mencionadas como algunos de los principales componentes de las comunidades de abulón y posibles fuentes de alimento de estos organismos y de otros herbívoros asociados a dichas comunidades (Guzmán del Prío *et al.*, 1972, 1991). El suministro de especies alternativas a *M. pyrifera* como alimento para abulones se realiza principalmente cuando no se dispone de este recurso. Esto es, cuando las poblaciones de *M. pyrifera* se ven afectadas por la presencia de fenómenos climáticos como "El Niño" 1982-1983; 1997-1998, los cuales se caracterizan por la presencia de temperaturas elevadas del agua de mar, que junto con una baja disponibilidad de nutrientes, ocasionan la desaparición del recurso (Tissot, 1990; Culver y Richards, 1991; Arroyo, 1999; Ladah *et al.*, 1999; Ponce, 2003). El presente trabajo presenta información sobre el valor nutricional de otras especies alternativas de dietas naturales diferentes a *Macrocystis pyrifera*, a partir del efecto de éstas en el crecimiento y composición química de juveniles de *H. fulgens*. Esta información es útil y complementaria para el desarrollo de alimentos adecuados para el cultivo, ya que mientras no se disponga de dietas artificiales accesibles y de bajo costo, se seguirá dependiendo del abastecimiento de poblaciones naturales de macroalgas para la alimentación de estos organismos en cultivo a escala de laboratorio y comercial.

En su medio natural los bancos de abulón se encuentran asociados a los bosques de macroalgas, aunque en algunas regiones los abulones habitan en zonas de pastos marinos (Stevenson y Melville, 1999). Shepherd y Steinberg (1992) mencionan que las algas cafés son comúnmente consumidas por los abulones en distintas partes del mundo; excepto en Australia, donde las algas rojas son frecuentes como componentes de la flora local. En las costas del Pacífico de Norte América, las principales especies de macroalgas a las que se asocian los bancos de abulón son *Macrocystis pyrifera*, *Eisenia arborea*, *Laminaria farlowii*, *Pterygophora californica*, *Desmarestia lingulata*, *Cystoseira osmundacea*, *Sargassum muticum* y *Cryptopleura crispa* (Davis *et al.*, 1994). En Baja California, las especies características de los hábitats de los abulones son algunas rodófitas como *Bossiella orbigniana*, *Corrallina officinalis* var. *chilensis*; algas pardas como *Macrocystis pyrifera* y *Eisenia arborea*, así como el pasto marino *Phyllospadix torreyi* (Guzmán del Prío, 1972). En Baja California Sur, las especies que

por su frecuencia dominan los hábitats donde se encuentran los abulones son: las feofitas *Cystoseira osmundacea*, *Eisenia arborea*, *Sargassum sinicola*, *Spatoglossum howelli* y las rodófitas *Bossiella orbigniana*, *Corallina officinalis* var. *chilensis*, *C. vancouveriensis*, *Cryptopleura crispa*, *Gelidium robustum*, *Plocclamiun cartilagineum* y *Prionitis lanceolata*, y el pasto marino *Phyllospadix torreyi* (García, 1998; Serviere *et al.*, 2001).

1.1. DIAGNÓSTIC Y DESCRIPCIÓN DE *H. fulgens*

El abulón *Haliotis* spp. es un molusco gasterópodo marino de importancia comercial, herbívoro, de simetría bilateral primitiva cuyo cuerpo está protegido con una concha univalva. Vive adherido a las rocas del fondo marino, desde la zona entre mareas hasta profundidades de 50 metros, dependiendo de la especie (Cox, 1962). Se encuentra distribuido en los océanos Pacífico, Atlántico e Índico. Las mayores concentraciones de bancos de abulón se localizan en las costas de Australia y América Noroccidental (Ortiz y León, 1988) y las especies importantes desde el punto de vista económico se distribuyen en las aguas templadas de la costa de Japón, China, la costa del Pacífico de Estados Unidos y México, África del Sur, Nueva Zelanda y el sur de Australia (Cifuentes *et al.*, 1997).

A nivel mundial, se registran 130 especies y subespecies de abulón pertenecientes a un solo género *Haliotis* spp., pero solo alrededor de 25 son explotadas comercialmente. Las especies de abulones distribuidos en aguas mexicanas quedan comprendidos en el grupo de haliótidos de Norteamérica, conformado por ocho especies, de las cuales siete existen en la costa Oeste de la Península de Baja California e islas adyacentes, desde la frontera con Estados Unidos hasta la parte Sur de Isla Margarita: *Haliotis fulgens* Philippi 1845 (abulón azul), *H. corrugata* Wood 1828 (amarillo), *H. cracherodii* Leach 1817 (negro), *H. rufescens* Swainson 1822 (rojo), *H. sorenseni* Barthsch 1940 (chino), *H. assimilis* Stichel 1956 (rayado) y *H. kamtschatkana* Jonas 1845 (pinto) (Astudillo, 1993) (Figura 1).

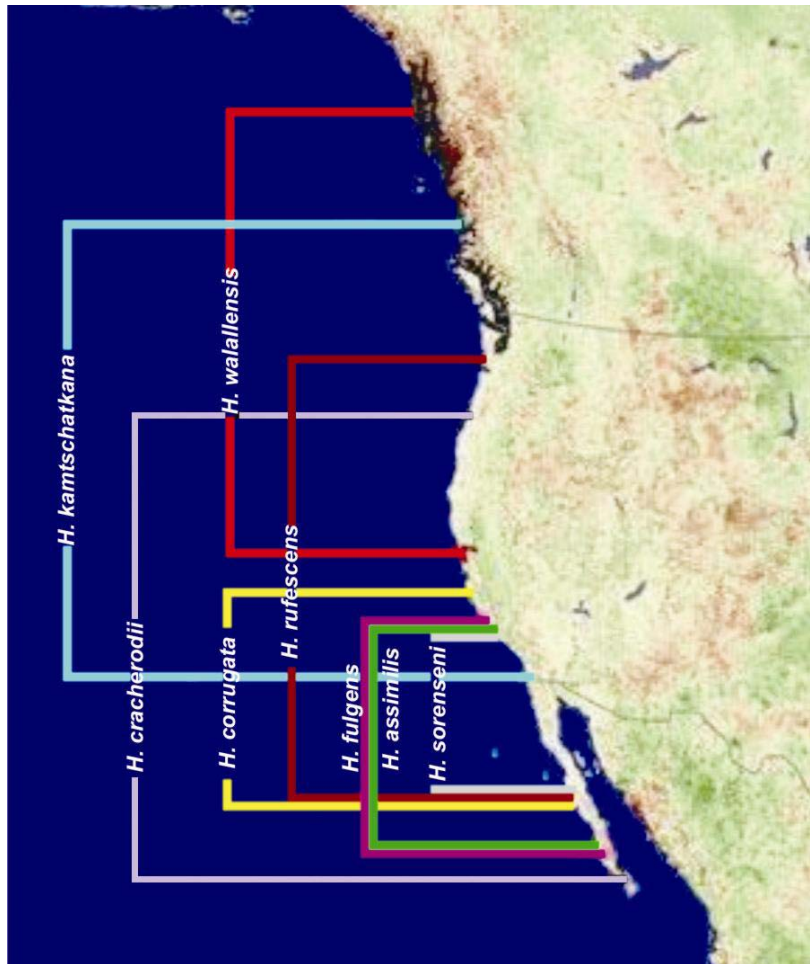


Figura 1. Distribución de haliotidos que existen en la costa Oeste de la Península de Baja California (Wikipedia, 2005).

De acuerdo a Cox (1962), taxonómicamente el abulón azul se considera dentro del:

Phyllum	Mollusca
Clase	Gasteropoda
Subclase	Prosobranchia
Orden	Archeogastropoda
Suborden	Zigobranchia
Superfamilia	Pleurotomaraceae
Familia	Haliotidae
Género	Haliotis
Especie	<i>Haliotis fulgens</i> (Philippi, 1845)

La cara externa de la concha es de forma oval o redonda, poco elevada y de color café obscuro. Presenta costillas espirales y surcos de grosor uniforme; con 5 a 7 orificios respiratorios abiertos. La cara interna es oval y su coloración varía desde el verde pálido al azul obscuro. Esta especie ocupa actualmente el primer sitio en los volúmenes de capturas, con alrededor del 80 % en el tamaño máximo que suele llegar hasta los 25 cm de longitud de concha. Su distribución geográfica comprende desde punta concepción, California, E.U.A. hasta el Sur de Isla Margarita, B.C.S. En México, se distribuye y explota desde Isla Coronado hasta la punta Sur de Isla Margarita, B.C.S (Robles, 1970; Muñoz, 1976; Ortiz y León, 1988). Las mayores concentraciones se encuentran desde Isla Cedros hasta Punta Abrejos, B.C.S. La distribución batimétrica del abulón azul es desde el piso medio litoral hasta los 24 m de profundidad, con una mayor abundancia entre los 1.5 y 9 m (Vega *et al.*, 1994).

Todo hombre, por naturaleza, desea saber
Aristóteles

La alimentación de los abulones en su medio depende de la disponibilidad y abundancia de las especies de algas, por lo que la flora asociada a bancos de abulón juega un papel importante en el ciclo de vida de estos y otros organismos como fuente de alimento, hábitat y refugio. Una vez que las larvas se fijan al fondo se alimentan de diatomeas bentónicas cambiando progresivamente a macroalgas vivas o en forma de detritus (Leighton, 2000).

La flora disponible en el medio tiene un gran efecto sobre la dieta de los abulones y ésta varía de un lugar a otro. Se ha observado que en las preferencias alimenticias de distintas especies de haliótidos en el mundo, influyen tanto la cantidad como la calidad del alimento algal (Leighton y Boolotian, 1963). La composición química de las macroalgas como fuente principal del alimento de abulones juveniles y adultos puede determinar su digestibilidad, palatabilidad y preferencia por parte del abulón (Santelices, 1986). Los constituyentes químicos de las macroalgas varían ampliamente con la diversidad de las algas, con la profundidad, con las diferentes estaciones del año, la exposición al oleaje, las corrientes, la concentración de nutrientes, temperatura y con la distribución geográfica (Haug y Jensen, 1954; Levring *et al.*, 1969). La composición porcentual de las algas bentónicas en base a peso seco comprende de 17% a 69 % de carbohidratos, 6 a 29% de proteínas, 0.1% a 5% de lípidos y una cantidad de cenizas que oscila entre 25% y 35%. Los carbohidratos son así los constituyentes más importantes. Los carbohidratos forman parte del material de almacenamiento de las macroalgas: siendo el almidón en las clorofitas (*Ulva sp.*), laminarina y manitol en las feofitas (*Eisenia arborea*, *Macrocystis pyrifera*, *Egregia menziesii*) y almidón floridiano en las rodófitas (*Porphyra perforata*); asimismo los carbohidratos también forman parte de la pared celular de éstas: siendo celulosa para las clorofitas, alginina y fucoidina para las algas pardas y el agar y la carragenina para las algas rojas (Santelices, 1986).

Se han realizado varios estudios sobre los componentes que forman la dieta de diversas especies de abulón basados en la identificación de los fragmentos de algas o en las características del recurso natural (materia prima) presentes en el contenido

estomacal de estos organismos, por ejemplo en postlarvas (Kawamura *et al.*, 1998); en juveniles y adultos de *Haliotis kamtschatkana* (Norman *et al.*, 1986); *H. corrugata* y *H. fulgens* (Tutschulte y Connel, 1988); *H. cracherodii* (Leighton y Boolootian, 1963); en *Haliotis iris* y *H. australis* (Poore, 1972); *H. rubra* (Foale y Day, 1992); *H. midae* (Barkai y Griffiths, 1986) y *H. asinina* (Sawatpeera *et al.*, 1998). En la Península de Baja California, Serviere y colaboradores (1998) realizaron un estudio sobre análisis de contenido estomacal de abulón azul encontrando que el alimento más común para estos organismos fue el pasto marino *Phyllospadix torreyi* y las macroalgas *Sargassum* sp., *Eisenia arborea*, *Cryptopleura crispera* y *Rhodomenia* sp. para la región de la Bocana, Bahía Asunción y las Barracas. Shepherd y Steinberg (1992) hicieron una revisión de la literatura disponible sobre dietas y preferencias alimenticias de abulón en el mundo y mencionan que aunque en ensayos experimentales los abulones muestran preferencias por las algas rojas, en su medio las algas café son comúnmente consumidas por abulones en distintas partes del mundo; excepto en Australia, donde las algas rojas son frecuentes como componentes de la flora local. Otros autores han hecho estudios para determinar dietas específicas y preferencias alimenticias de diferentes especies a partir de observaciones en campo y ensayos de laboratorio (Leighton y Boolootian, 1963; Guzmán del Prío, 1994).

Leighton y Boolootian (1963) probaron 10 especies de macroalgas como alimento para el abulón negro *Haliotis cracherodii* y encontraron que la preferencia alimenticia es hacia algas café como *Egregia laevigata* y muy poca preferencia para algas rojas.

Uki (1981) llevó a cabo dos experimentos en los cuales evaluó 30 macroalgas del orden laminariales como alimento para juveniles de *Haliotis discus hannai* Ino durante 30 días, encontrando mejor crecimiento con *Laminaria diabólica* y *L. japónica*. En 1986, Uki y colaboradores llevaron a cabo estudios relativos al valor alimenticio de 57 especies de macroalgas (38 feofitas, 25 rodofitas, 7 clorofitas) comúnmente encontradas en la Costa de Sarinku (costa Pacífico del Noroeste Honshu, Japón), para evaluar el efecto de éstas sobre el crecimiento de juveniles de abulón *Haliotis discus hannai*, bajo condiciones de laboratorio. Encontraron que el máximo incremento en longitud fue en los organismos alimentados con *Eisenia bicylis*.

Mercer y colaboradores (1993) realizaron un estudio para determinar el valor nutricional de 6 especies de algas (*Alaria esculenta*, *Laminaria digitata*, *L. saccharina*, *Ulva lactuca*, *Palmaria palmata*, *Chondrus crispus* y dos mezclas de las algas). Midieron la composición química de las macroalgas y establecieron una relación con la tasa de alimentación, crecimiento y composición química de juveniles de *Haliotis tuberculata* y *Haliotis discus hannai*, encontrando que el mejor crecimiento para *H. discus hannai* fue con *P. palmata*, cuya composición química en base a materia seca fue de: proteínas: $15.93 \pm 0.27 - 18.3 \pm 0.38$ %; lípidos: $2.0 \pm 0.33 - 3.7 \pm 0.28$ %; carbohidratos: $22.4 \pm 0.55 - 30.6 \pm 1.45$ % y para *H. tuberculata* el mejor crecimiento se dió con la mezcla de dietas (Tabla 1 y 2).

Tabla 1. Crecimiento de *H. discus hannai* y *H. tuberculata* alimentados con diferentes dietas.

	<i>H. discus hannai</i>	<i>H. tuberculata</i>
Dieta	<i>P. palmata</i>	*Mezcla
Tasa de alimentación	5-15 % peso	4-13 % peso
Crecimiento en longitud final	32.12 mm/año	34.25 mm/año
Crecimiento en peso final	14.53 g/año	26.6 g/año
Tasa diaria de crecimiento	50 mg/día	100 mg/día
Eficiencia de conversión alimenticia	8-15%	3-24%
Sobrevivencia	84-95%	84-95%

Información tomada de Mercer *et al.* (1993).

* La mezcla de macroalgas estaba compuesta por: *L. digitata*, *P. palmata*, *C. crispus* y *Ulva lactuca*

Tabla 2. Composición química del hepatopáncreas y músculo de *H. discus hannai* y *H. tuberculata* (g/100g) alimentados con diferentes dietas.

	<i>H. discus hannai</i>			<i>H. tuberculata</i>		
Dieta	<i>P. palmata</i>			*Dieta: Mezcla		
	Proteínas	Lípidos	Carbohidratos	Proteínas	Lípidos	Carbohidratos
Hepatopáncreas	10.28 ± 0.39	5.17 ± 0.28	1.74 ± 0.06	12.82 ± 0.19	4.49 ± 0.11	1.43 ± 0.01
Músculo	12.29 ± 0.23	1.10 ± 0.03	4.32 ± 0.42	14.03 ± 0.43	1.42 ± 0.13	5.33 ± 0.35

Información tomada de Mercer *et al.* (1993).

* La mezcla de macroalgas estaba compuesta por: *L. digitata*, *P. palmata*, *C. crispus* y *Ulva lactuca*.

En 1994, Mai y colaboradores evaluaron el valor proteico de 6 especies de algas (*Alaria esculenta*, *Laminaria digitata*, *L. saccharina*, *Ulva lactuca*, *Palmaria palmata*, *Chondrus crispus*) y dos mezclas de macroalgas en juveniles de *Haliotis tuberculata* y *Haliotis*

discus hannai encontrando que las dos especies de abulón tuvieron similar composición de aminoácidos, indicando con esto que sus requerimientos de aminoácidos son similares. En todas las algas evaluadas la arginina fue el aminoácido limitante y en algunos casos fue la metionina, histidina o treonina. En 1996, llevaron a cabo un estudio comparativo de nutrición evaluando el papel de los ácidos grasos poliinsaturados de 5 macroalgas (*Alaria esculenta*, *Laminaria digitata*, *L. saccharina*, *Palmaria palmata* y *Ulva lactuca*) sobre la tasa específica de crecimiento y su relación con los ácidos grasos en juveniles de *Haliotis tuberculata* y *Haliotis discus hannai* encontrando que los ácidos grasos poliinsaturados del grupo 20:5n-3 son importantes en la nutrición de ambas especies de abulón, los ácidos grasos poliinsaturados del grupo 18:3n-3 contribuyeron al rápido crecimiento de *H. tuberculata* y los del grupo 18:2n-6 junto con uno del n-3,6 de cadena larga contribuyeron al rápido crecimiento de *H. discus hannai*.

Corazani e Illanes (1998) evaluaron el crecimiento en juveniles de abulón *Haliotis discus hannai* alimentados con diferentes dietas; 3 dietas naturales (*Lessonia trabeculata*, *Macrocystis integrifolia* y *Ulva rigida*) y una dieta artificial durante 9 meses. Encontraron que el mejor crecimiento para *H. discus hannai* se dió con la dieta artificial y con *Ulva* sp. El mejor crecimiento para *Haliotis rufescens* se encontró con *Macrocystis integrifolia* y con la dieta artificial.

Serviere y colaboradores (2001) evaluaron 3 macroalgas diferentes (*Eisenia arborea*, *Gelidium robustum*, *Macrocystis pyrifera*), un pasto marino (*Phyllospadix torreyi*) y una dieta artificial como alimento para juveniles de abulón azul durante 106 días, encontrando que el mejor crecimiento se dió en los organismos alimentados con *Macrocystis pyrifera* 22.2 ± 0.33 (error estándar) mm y 1.0 ± 0.06 (e.e.) g con una tasa de crecimiento de 53 ± 2 (e.e.) μm de longitud y 6.7 ± 1.29 (e.e.) mg de peso, una tasa específica de crecimiento de 0.0108 g/día y un factor de eficiencia alimenticia del 63%. El porcentaje de sobrevivencia fue del 89 al 95% en las dietas naturales y 97% con la dieta artificial.

Nelson y colaboradores (2002) evaluaron el crecimiento y la composición lipídica del abulón azul *Haliotis fulgens* alimentado con 4 macroalgas (*Egrecia menziesii*, *Chondracanthus canaliculatus*, *Gigartina canaliculata* y *Ulva lobata*) y con una mezcla

de las tres macroalgas por un periodo de un año. Encontraron que el mejor crecimiento se obtuvo con *Egregia menziesii*, lo cual indica que esta macroalga tuvo el mejor efecto en el crecimiento del abulón azul; asimismo, concluyeron que el tejido del abulón en algunos casos refleja la composición de la dieta ya que encontraron que en el pie hay una acumulación y metabolismo de lípidos; el hepatopáncreas sirve para almacenar lípidos, aunque estos no son utilizados como fuente de energía principal sino como moléculas esenciales para el crecimiento y maduración gonádica. Robles (2003) evaluó el crecimiento de juveniles de abulón amarillo *H. corrugata* alimentados con 4 macroalgas diferentes (*Macrocystis pyrifera*, *Eisenia arborea*, *Egregia menziesii*, *Gracilaria* sp.) y un pasto marino (*Phyllospadix torreyi*) durante 138 días, encontrando que el mejor crecimiento se dió en los organismos alimentados con *E. menziesii*. El porcentaje de sobrevivencia varió del 60% al 88% dependiendo de la dieta.

En México, Serviere y colaboradores (2002b) realizaron un recorrido por las granjas y laboratorios de producción de abulón que operaban en ese momento en la Península de Baja California, para obtener información sobre las rutinas alimenticias que se siguen para la alimentación de los abulones en sus diferentes fases, especialmente lo relacionado con las especies de macroalgas que se han utilizado. Encontraron que las especies de macroalgas utilizadas en la dieta de los abulones juveniles incluían especies de las divisiones Chlorophyta, Phaeophyta y Rodophyta y un pasto marino *Phyllospadix torreyi*. De las especies de macroalgas, resalta el alga café *Macrocystis pyrifera* como dieta primordial, debido a que es el alga utilizada en mayor proporción, en las granjas y en los laboratorios, a excepción del laboratorio de la S.C.P.P. La Bocana, en donde en la localidad no se dispone de poblaciones naturales de dicha especie, y por ello utilizan el alga café *Eisenia arborea*. En las granjas también se han utilizado dietas artificiales con fines de experimentación.

Por lo que respecta a estudios histoquímicos, cabe mencionar que en la actualidad no se han realizado estudios en ninguna de las especies de abulón en el mundo, aunque sí se han hecho estudios en moluscos bivalvos (Galstoff, 1964; Donval, 1984; Beninger y Le Pennec, 1991; Morton, 1992). Los métodos de histoquímica tienen por objeto localizar sustancias químicas conocidas, en la célula y en los tejidos, dentro de su

agregado estructural siendo un método eficaz para aclarar problemas histofisiológicos, ya que con ella es posible caracterizar, sobre una base más amplia, cambios estructurales en el funcionamiento de los tejidos y células y confrontar esas observaciones con los resultados de los análisis químicos (Spannhof, 1966), por lo cual esta técnica fue utilizada en el presente estudio con la finalidad de ubicar la presencia de carbohidratos en la glándula digestiva y músculo de los juveniles de abulón azul.

3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

*“Las ideas no duran mucho. Hay que hacer algo con ellas”
Santiago Ramón y Cajal*

El abulón es un recurso importante en las exportaciones pesqueras mexicanas, contribuyendo a captación de divisas y generación de aproximadamente 20 mil empleos directos e indirectos en las cuatro zonas o regiones de captura en la península de Baja California (CONAPESCA, 2003). En las granjas y laboratorios, uno de los principales problemas está relacionado con poder satisfacer los requerimientos nutricionales por medio de la alimentación adecuada en las primeras etapas de vida, ya que es un factor fundamental para el desarrollo de esta actividad. Los juveniles consumen diversos tipos de macroalgas. En general, la especie más utilizada como alimento para abulón en las granjas y laboratorios de la Península de Baja California es el alga café *Macrocystis pyrifera*. El presente estudio tiene como finalidad evaluar especies de macroalgas alternativas a *Macrocystis pyrifera* como alimento de juveniles de abulón azul en condiciones de cultivo, a partir de parámetros de crecimiento y bioquímico-fisiológicos.

4. HIPÓTESIS

*El optimista encuentra una respuesta para cada problema. El pesimista ve un problema en cada respuesta.
Anónimo*

El abulón azul es capaz de utilizar eficientemente especies de macroalgas con composición química diferente de carbohidratos, lípidos y proteínas, por lo que la tasa promedio de crecimiento en talla y peso serán similares.

Nunca se alcanza la verdad total, ni nunca se está totalmente alejado de ella.
Aristóteles

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de cinco dietas naturales a base de macroalgas en el crecimiento y composición química de la glándula digestiva y el músculo de juveniles de abulón azul en condiciones de cultivo.

OBJETIVOS PARTICULARES

*Analizar la respuesta del crecimiento en longitud y peso de los juveniles de abulón azul alimentados con cinco dietas monoalgales: *Ulva* sp., *Eisenia arborea*, *Macrocystis pyrifera*, *Egregia menziesii* y *Porphyra perforata*.

*Determinar la composición de carbohidratos, lípidos y proteínas en la glándula digestiva y el músculo de juveniles de abulón azul alimentados con las 5 dietas monoalgales.

*Ubicar la presencia de carbohidratos por medio de la histoquímica en la glándula digestiva de juveniles de abulón azul alimentados con las 5 dietas monoalgales.

El éxito no se logra con cualidades especiales. Es sobre todo un trabajo de constancia, método, organización y equipo
J.P. Sergent

6.1. ENSAYO EXPERIMENTAL

Se realizó un ensayo de crecimiento de juveniles de abulón azul *Haliotis fulgens* en el laboratorio de Biomasa Marina del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR), en la ciudad de La Paz, Baja California Sur, México.

6.1.1. Organismos experimentales

Para el desarrollo del ensayo, 600 juveniles de abulón azul, *H. fulgens* fueron donados por el laboratorio de producción de semilla de la Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera Progreso, ubicada en La Bocana, Baja California Sur. Los organismos se transportaron al laboratorio del CIBNOR, S.C. en la ciudad de la Paz, B.C.S. en una hielera con ambiente húmedo utilizando capas de macroalga *Macrocystis pyrifera* y acomodados en refugios, manteniendo una temperatura interior de $10 \pm 1^\circ\text{C}$. En el laboratorio, los juveniles se colocaron en acuarios de fibra de vidrio y se mantuvieron por un período de dos meses a una temperatura de $19 \pm 1^\circ\text{C}$, con flujo continuo de agua de mar y aeración constante. Durante dicho período, los juveniles se alimentaron con el alga café re-hidratada *Macrocystis pyrifera*. Para el ensayo experimental se usaron 510 organismos con una longitud promedio de 31.67 ± 0.11 (e.e) mm y peso de 2.46 ± 0.02 (e.e) g y se distribuyeron aleatoriamente en 15 acuarios a razón de 34 organismos por acuario.

6.1.2. Sistema de cultivo

Se utilizaron 15 acuarios rectangulares de fibra de vidrio con base cóncava de 30 cm de ancho, 50 cm de largo y 35 cm de fondo y con una capacidad máxima de 16-L (Figura 2). En los acuarios se colocaron dos refugios, los cuales estaban formados por tubos de PVC de 18 cm de longitud, partidos por la mitad y con orificios en la parte superior (Figura 3). Los acuarios tenían flujo continuo de aire y de agua de mar filtrada a $10 \mu\text{m}$ (1 mL/min) y una temperatura de $20 \pm 1^\circ\text{C}$ aproximadamente, la cual se mantuvo por medio de un enfriador AREA (LAUDA Brinkmann Mod. RE120, 115 V, 60 Hz, 1.35 kW que regula temperaturas de $0-120^\circ\text{C}$) con una capacidad de 1 hp. Durante el ensayo,

cada tercer día se cambió el filtro de agua y una vez a la semana se cambiaban las piedras difusoras, y se limpiaban los goteros que proveían el flujo continuo de agua.



Figura.2. Acuarios para el ensayo experimental con juveniles de abulón azul.



Figura.3. Refugios utilizados en los acuarios para los juveniles de abulón azul.

6.1.3. Dietas

Las especies de macroalgas utilizadas como dieta fueron: *Ulva* sp. (Chlorophyta), *Eisenia arborea*, *Macrocystis pyrifera*, *Egregia menziesii* (Phaeophyta) y *Porphyra perforata* (Rhodophyta). Estas especies se seleccionaron con base a su uso como alimento para abulones en las granjas y laboratorios de la región. Cabe mencionar que *Macrocystis pyrifera* es la macroalga usada regularmente en las granjas y laboratorios de abulón por lo cual se consideró como la dieta control en el ensayo.

Las macroalgas fueron recolectadas con el apoyo de algunas Sociedades Cooperativas de Producción Pesquera y personal del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de Ensenada, Baja California. Las macroalgas se secaron al aire libre, y fueron almacenadas en cajas de cartón para su uso durante el ensayo (Tabla 3). Se realizó un análisis químico proximal (proteína cruda, ceniza, fibra cruda, extracto etéreo, extracto libre de nitrógeno) de las algas, al inicio del ensayo realizándose por triplicado de acuerdo a los métodos oficiales de la A.O.A.C. (1980) (Anexo 1).

Tabla 3. Especie y sitios de colecta de las macroalgas usadas como dietas.

ESPECIE	LUGAR DE RECOLECTA
<i>Ulva</i> sp.	Bocana, B.C.S.
<i>Eisenia arborea</i>	Punta Eugenia, B.C.S.
<i>Macrocystis pyrifera</i>	San Isidro, B.C.
<i>Egregia menziesii</i>	San Isidro, B.C.
<i>Porphyra perforata</i>	“Kennedy” 40-45 km. al sur de Ensenada, atrás de “La Bufadora”.

6.1.4. Diseño Experimental

Quinientos diez juveniles fueron marcados individualmente con etiquetas de plástico adheridas a la concha con pegamento y fueron distribuidos al azar en 15 acuarios (34 organismos por acuario). A cada acuario, se le asignó al azar una de las cinco dietas consideradas (3 réplicas por dieta, N= 15). El ensayo se realizó por un período de 136 días.

El alimento fue proporcionado cada 42 hrs por la tarde. Las macroalgas se rehidrataban en agua de mar por 5 minutos aproximadamente antes de ser suministradas *ad libitum* a los juveniles. Cada tercer día se realizó una rutina de limpieza de cada uno de los acuarios que consistía en quitar el alga no consumida y se tallaban las paredes de los acuarios con una fibra con la finalidad de eliminar las microalgas adheridas a estas. Los organismos muertos se removían diariamente, se registraban y se reemplazaban, con la finalidad de mantener la densidad inicial (34 organismos) en cada acuario. Los organismos de reemplazo no fueron considerados en las estimaciones de crecimiento y análisis químico.

6.1.4.1. Parámetros fisicoquímicos del agua

En cada uno de los acuarios se registró la temperatura, salinidad, oxígeno disuelto con un equipo multiparámetro marca YSI, modelo 85 con precisión de $\pm 0.5\%$ FS en conductividad, ± 0.1 UPS en salinidad, ± 0.1 °C temperatura y ± 0.3 mg/L para oxígeno disuelto y el pH, fue medido con un potenciómetro a prueba de agua marca HANNA, modelo HI9815. Estos parámetros se midieron cada semana durante el período del ensayo con la finalidad de asegurarnos de que estos no hubiesen tenido un efecto directo en los resultados de crecimiento.

6.1.4.2. Crecimiento

Se estimó el crecimiento de los organismos como el incremento en longitud de concha ($\mu\text{m}/\text{día}$) y peso ($\text{mg}/\text{día}$) a los 36, 78, 108 y 136 días. La longitud se midió con un vernier caliper y el peso con una balanza electrónica (0.001g) (Figura 4).



Figura.4. Medición de longitud y peso de juveniles de abulón azul.

Para realizar las biometrías se colocaron los refugios de PVC en cubetas que contenían sulfato de magnesio al 6% durante 15 minutos para adormecer a los abulones y facilitar el manejo de los mismos durante las mediciones (Zertuche, *Com. personal*). Una vez medidos y pesados se regresaban a una cubeta con agua de mar limpia, y posteriormente a su acuario correspondiente.

El incremento mensual y total en longitud y peso, la tasa diaria de crecimiento y la tasa específica de crecimiento (SGR por sus siglas en inglés) se calcularon utilizando las fórmulas descritas en Corazani e Illanes (1998):

*Incremento:

$$I_L = L_f - L_i$$

$$I_p = P_f - P_i$$

Donde I_L = Incremento en longitud (mm), L_f = Longitud final, L_i = Longitud inicial; I_p = Incremento en peso (g); P_f = Peso final y P_i = Peso inicial

*Tasa diaria de crecimiento:

$$TDC_L = \frac{L_f - L_i}{T} * 1000$$

$$TDC_p = \frac{P_f - P_i}{T} * 1000$$

Donde: TDC_L = Tasa diaria de crecimiento en longitud ($\mu\text{m}/\text{día}$), L_f = Longitud final, L_i = Longitud inicial, T = Tiempo (días); TDC_p = Tasa diaria de crecimiento en peso ($\text{mg}/\text{día}$), P_f = Peso final, P_i = Peso inicial.

*Tasa específica de crecimiento:

$$\text{SGR}_L (\%/día) = \frac{(\ln(L_f) - \ln(L_i))}{T} * 100$$

$$\text{SGR}_p (\%/día) = \frac{(\ln(P_f) - \ln(P_i))}{T} * 100$$

Donde: SGR_L = Tasa específica de crecimiento en longitud ($\%/día$), L_f = Longitud final, L_i = Longitud inicial, T = Tiempo (días); SGR_p = Tasa específica de crecimiento en peso ($\text{mg}/\text{día}$), P_f = Peso final, P_i = Peso inicial.

El porcentaje de sobrevivencia se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Sobrevivencia} = \frac{N_f}{N_i} * 100$$

Donde: N_f = Número de organismos vivos al final del experimento, N_i = Número de organismos iniciales.

6.1.4.3. Consumo de alimento

La determinación del consumo de cada dieta se realizó por triplicado para cada réplica de las dietas durante una semana (N = 3) en el tercer, cuarto y quinto mes del ensayo. Con base en observaciones hechas del alimento no consumido y recuperado en la rutina de limpieza, se definieron los gramos promedio a proporcionar de cada alimento para la determinación de consumo (Tabla 4).

Tabla 4. Ración de alimento proporcionado por acuario a los juveniles de *Haliotis fulgens* durante las estimaciones de consumo.

ESPECIE	PESO PROMEDIO DE MACROALGA SECA (g)	POLIMEROS ALIMENTARIOS*	
		Estructurales (Pared)	De reserva (Citoplasmáticos)
<i>Ulva</i> sp.	12	Celulosa	Almidón
<i>Eisenia arborea</i>	13	Acido algínico	Laminaran
<i>Macrocystis pyrifera</i>	16	Acido algínico	Laminaran
<i>Egregia menziesii</i>	17	Acido algínico	Laminaran
<i>Porphyra perforata</i>	11	Xylanos Agar	Almidón florideo

*Polisacáridos constituyentes de las macroalgas, información tomada de Lee (1989). Información complementaria sobre tipos de azúcares y enlaces de los polímeros alimentarios se presentan en el anexo 2.

De cada dieta (macroalga) se pesaron dos raciones, una para ser proporcionada al acuario correspondiente y la otra para la determinación del peso seco de la macroalga. La ración para alimentar a los juveniles se re-hidrató colocándola en cubetas con agua de mar durante 5 minutos antes de colocarla en los acuarios.

A las 42 horas, de cada uno de los acuarios se hizo un recambio total de agua de mar, recuperándose la macroalga no consumida por medio de un tamiz de 100 µm y se realizó la limpieza general del acuario. La macroalga recuperada se colocó en charolas de aluminio etiquetadas y se llevaron al laboratorio de Bromatología del CIBNOR, para la estimación de peso seco.

El consumo fue calculado en peso seco de acuerdo a Uki y Watanabe (1992):

C = Consumo:

$$C = (GS/100) - R$$

Donde: G = Peso del alimento proporcionado a los organismos por unidad experimental por día (g), S = factor para cada dieta (obtenido del experimento de estabilidad del alimento en el agua), R = es el alimento recuperado (g) después de que fueron alimentados los organismos.

El factor de conversión alimenticia (FCA) fué calculado de acuerdo a Britz (1996a):

$$FCA = \frac{F_C}{P}$$

Donde: FCA = Factor de conversión alimenticia (g), F_C = Gramos de alimento consumido (en base seca) por animal por día, P = Ganancia en peso por animal por día (g en peso húmedo).

6.1.4.4. Determinación de peso seco

Se procedió a determinar la humedad de la muestra inicial y de las macroalgas recuperadas. Las muestras se colocaron en crisoles previamente puestos a peso constante y se procedió a pesarlas en una balanza analítica de precisión ± 0.001 ; una vez pesadas las muestras se secaron en una estufa a 70°C durante 24 hrs. Una vez transcurrido el tiempo de secado se retiraban las cápsulas de la estufa y se dejaban enfriar en un desecador por 30 minutos, para posteriormente proceder a pesar la muestra en la balanza analítica y realizar los cálculos correspondientes.

Determinación de humedad (%):

$$\% H = \frac{Pm_i - Pm_f}{Pm_i} * 100$$

Donde: %H = porcentaje de humedad, Pm_i = Peso muestra inicial (g), Pm_f = Peso muestra final (g).

Determinación de peso seco del alimento:

$$\text{Determinación de peso seco} = (P_a - (P_a * P_b)) / 100$$

Donde: P_a = Macroalga proporcionada a los organismos (g), P_b = Porcentaje de humedad de la macroalga almacenada.

6.1.4.5. Estabilidad del alimento

Las estimaciones de la estabilidad del alimento en el agua se realizaron en cada réplica de cada dieta por triplicado (N=9) durante el tercer mes del ensayo. En cada acuario, sin organismos, se colocó una ración de la dieta correspondiente (similar a la distribuida durante el ensayo de consumo) y se dejó durante 42 hrs. Posteriormente, se siguió el mismo procedimiento descrito en el apartado de consumo para la recuperación y estimación del peso seco de cada ración.

Estabilidad del alimento en el agua:

$$\% \text{ de estabilidad del alimento} = \frac{A_r}{A_p} * 100$$

Donde: A_r = Alimento recuperado base seca (g), A_p = Alimento proporcionado base seca (g).

6.2. ANÁLISIS QUÍMICO DE GLÁNDULA DIGESTIVA Y MÚSCULO

6.2.1. Preparación de muestras

Se realizaron dos muestreos durante el ensayo de crecimiento; el primero en la fase inicial, tomando 5 organismos para los análisis químicos y el segundo muestreo al finalizar el ensayo de crecimiento, tomando al azar 5 organismos de cada acuario, para un total de 15 por dieta.

6.2.1.1. Glándula digestiva

Cada organismo fue disectado para extraer la glándula digestiva, la cual fue pesada y liofilizada para su almacenamiento. En el momento de realizar los análisis químicos se transfirieron 100 mg de la muestra liofilizada y pulverizada a un tubo de ensaye para rehidratarse con 1 mL de solución salina (Cloruro de sodio a 35 UPS) y fue homogenizada en un equipo POLYTRON (Brinkman Instruments, Wesbary, N.Y.). En este tejido homogeneizado se realizaron las determinaciones de proteínas, carbohidratos y lípidos totales según se indica en la sección 6.2.2.

6.2.1.2. Músculo

En cada organismo se realizó la disección para obtener el músculo del pie, el cual fue pesado y liofilizado para su almacenamiento. En el momento de realizar los análisis químicos se transfirieron 100 mg de la muestra liofilizada y pulverizada a un tubo de ensaye para rehidratarse con 1 mL de solución salina (Cloruro de sodio a 35 UPS) y fue homogenizada en un equipo POLYTRON (Brinkman Instruments, Wesbary, N.Y.). En este tejido homogeneizado se realizaron las determinaciones de proteínas, carbohidratos y lípidos totales según se indica en la sección 6.2.2.

6.2.2. Determinaciones químicas

6.2.2.1. Proteínas

Para la determinación de proteínas se utilizó el método de Bradford (1976), el cual se basa en la reacción de los grupos amino libres con el azul Cromassie en presencia de ácido fosfórico y metanol. El complejo formado por la proteína y el colorante provoca un desplazamiento en la absorción máxima del colorante desde 465 a 595 nm. La absorción es proporcional a la concentración de proteína (albúmina en suero bovino) de manera lineal desde 1 μ g a 140 μ g usando una solución reactiva comercial (Sigma).

Una alícuota de 10 μ L del homogeneizado de tejidos se pone a digerir en 90 μ L de NaOH 0.1N durante 120 minutos, posteriormente se toman 10 μ L del digerido, se pone en un tubo de vidrio limpio y se agrega un mililitro de reactivo de Bradford, se deja la reacción 5 minutos y se proceda a tomar las lecturas al espectrofotómetro (Spectronic Genesys II) a 595 nm.

Se elaboró una curva tipo con la solución estándar (Albúmina bovina), cuya concentración es de 5mg/mL, con las siguientes concentraciones: 5.0, 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125 y 0.15625 mg/mL. Como blanco se utilizó una solución salina isotónica (35 UPS). La concentración de proteínas se calcula:

$$\text{Conc. de Proteínas (mg/g)} = (\text{Abs.Sol.Prob.} \times \text{FD}) / (m \times \text{peso de la muestra})$$

Donde: FD = Factor de dilución y m = Es la pendiente en la curva tipo.

6.2.2.2. Carbohidratos

Se utilizó un método basado en (Roe *et. al*, 1960) para medir carbohidratos. La muestra (glándula digestiva ó músculo) homogeneizada se utilizó directamente. Primero se tomaron 0.2 mL de homogeneizado de cada muestra y se mezclaron con 0.2 mL de Ácido Tricloro Acético (TCA) al 20% en tubos eppendorf de 0.65 mL, esto con la finalidad de precipitar proteínas que interfieren en la medición de carbohidratos. Los tubos se centrifugaron a 3600 rpm (1376 g) por 10 minutos a 4°C en una centrifuga refrigerada (Eppendor 5810 R). Se recupero el sobrenadante en tubos eppendorf de 0.65 mL.

Posteriormente se tomo 100 µL de sobrenadante, se colocó en un tubo de vidrio y se le agrego 1ml de solución de antrona 0.1% diluida en H₂SO₄ al 72%. Se calentó a baño maría a 90 °C durante 5 minutos y se enfrió en baño de hielo. Esto da un compuesto colorido, que es directamente proporcional a la concentración de carbohidratos presentes en la muestra. Se midió su absorbancia en un espectrofotómetro (Spectronic Genesys II) a 620 nm. Paralelamente se elaboró una curva tipo, a partir de una solución estándar de dextrosa de 2mg/mL, con las siguientes concentraciones: 1.0, 0.5, 0.25, 0.125, 0.065 y 0.325 mg/mL La cantidad de carbohidratos se calcula con la siguiente relación:

$$\text{Conc. de carbohidratos (mg/gr)} = (\text{Abs.sol.prob.} \times \text{FD}) / (m \times \text{Peso de la muestra})$$

Donde: FD = Factor de dilución y m = Es la pendiente en la curva tipo.

6.2.2.3. Lípidos

Para las determinaciones de lípidos totales en la glándula digestiva y músculo se utilizó el kit Diagnostica Merck (método No. 3321) basado en el método de la sulfafosfovainillina según Barnes y Balckstock (1973), con el cual los lípidos de la muestra reaccionaron con el reactivo fosfórico-vainillina, obteniéndose un producto color rosa, cuya concentración es directamente proporcional a la concentración de lípidos de la muestra. Se tomó una alícuota de 50 μL del homogeneizado y se colocó en un tubo de ensaye, se le agregaron 500 μL de ácido sulfúrico concentrado y se calentaron a baño María por 10 minutos a 90°C; pasado este tiempo se enfriaron en baño de hielo. Una vez fríos se tomaron 20 μL de cada tubo y se transfirieron a una microplaca (placa Elisa) de 96 pozos. Por último se les agregó a cada pozo 200 μL de solución reactiva de lípidos (fosfovainillina al 0.2% en ácido sulfúrico al 80%), se incubó a temperatura ambiente por 40 minutos y se leyó en un lector de microplacas (BioRad 550) a 540 nm. Junto con las muestras se corrió una curva de calibración con solución estándar de lípidos (Lin-Trol Sigma L2648), las concentraciones que se usaron fueron: 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, .3125, 0.15625 y solución salina (35 UPS) como blanco. La cantidad de lípidos se calcula con la siguiente relación:

$$\text{Conc. de lípidos (mg/gr)} = (\text{Abs.sol.prob.x FD}) / (m \times \text{Peso de la muestra})$$

Donde: FD = Factor de dilución y m = Es la pendiente en la curva tipo.

6.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Se revisaron los supuestos de normalidad (Kolmogorov-Survinov) y homogeneidad de varianza (Bartlett). Los datos de crecimiento, tasa diaria de crecimiento, tasa específica de crecimiento, consumo y los resultados de los análisis químicos en glándula digestiva y músculo fueron analizados mediante un análisis de varianza de una vía ANOVA seguido de un análisis de Tuckey para la comparación de medias, considerando la dieta (macroalgas) como variable independiente (Sokal y Rohlf, 1995). El nivel de

significancia considerado fue $p < 0.05$. Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete Statistica, Versión 5.0.

6.4. ANÁLISIS HISTOQUÍMICO DE LA GLÁNDULA DIGESTIVA

6.4.1. Aplicación de la técnica histológica

Durante el ensayo experimental, se realizaron dos muestreos para el análisis histoquímico: el primero en la fase inicial y el segundo al finalizar el ensayo de crecimiento. En el muestreo inicial se tomaron 5 organismos para el análisis (ya que todos los organismos estaban alimentados con la misma dieta: *Macrocistys pyrifera* (dieta control). En el muestreo final se tomaron 5 organismos de cada acuario (N= 15 por dieta). Se procedió a hacer la disección de la glándula digestiva de cada organismo, cada porción de glándula disectada (de aproximadamente 1 cm o menos), se colocó en un “cassette histológico” de plástico etiquetado para su fijación. Los “casetes” se colocaron en un frasco con el fijador Davidson por 18 a 24 h. (Howard, 1983). Una vez fijadas las muestras fueron procesadas mediante la técnica histológica convencional para tejidos animales descrita por Humason (1979), la cual consiste en la deshidratación, aclarado, inclusión en parafina, corte y tinción (Anexo 3). Para evidenciar los tejidos se utilizó la técnica de tinción general de Hematoxilina-Eosina y para la determinación de carbohidratos el método de Azul Alciano-Schiff (Spanhoff, 1966). Una vez teñidos los cortes se montaron con resina sintética dejándose secar para después limpiarlos. Posteriormente, se observaron las laminillas en un microscopio compuesto Olympus CH20 para hacer las descripciones correspondientes a la glándula digestiva. Se tomaron microfotografías representativas de las laminillas en un microscopio compuesto Olympus BX41 y con una cámara Hitachi KP-D50 color Digital.

Si buscas resultados distintos, no hagas siempre lo mismo
Albert Einstein

7.1. PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DEL AGUA

Los valores promedio de los diferentes parámetros físicoquímicos del agua registrados durante el experimento fueron: temperatura $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1.1$ (d.e.), salinidad $37.4\text{ UPS} \pm 0.5$ (d.e.), volumen de flujo de $16.2\text{ mL}/10\text{ seg} \pm 3.1$ (d.e.), oxígeno disuelto $7.0\text{ mg/L} \pm 0.1$ (d.e.) y pH 8 ± 0.1 (d.e.). No se presentaron diferencias significativas entre tratamientos durante el desarrollo del ensayo experimental ($P > 0.05$).

7.2. ANÁLISIS PROXIMAL DE LAS MACROALGAS PROPORCIONADAS COMO ALIMENTO

La composición proximal de las macroalgas utilizadas como alimento para los juveniles de abulón azul se presenta en la Tabla 5. El valor mas bajo de proteína cruda de las macroalgas proporcionadas fue encontrado en *Ulva* sp. (UL) 4.77 %, y el valor más alto lo presentó *Porphyra perforata* (PP) 16.87 %. Los valores de lípidos entre las dietas fueron similares para *Ulva* sp., *Eisenia arborea* (EA), *Macrocystis pyrifera* (MP) y *Egregia menziesii* (EM); el valor mas bajo se presentó en *Porphyra perforata* (PP) 1.45 %. Los valores de cenizas más altos lo presentaron MP, 42.10 % y UL, 36.53 % y el valor mas bajo se obtuvo en PP, 4.00 %. El contenido de fibra cruda varió desde 1.79 % para UL hasta 5.92 % para EM. Los porcentajes de extracto libre de nitrógeno fueron similares para UL, 53.41%; EA, 52.32 % y PP, 55.83% (Tabla 5).

Tabla 5.- Composición química proximal de las macroalgas utilizadas para alimentar a los juveniles de abulón azul.

	UL	EA	MP	EM	PP
Humedad (%)	15.75 ± 0.14	9.76 ± 0.09	8.98 ± 0.17	13.74 ± 0.36	13.21 ± 0.22
Proteína Cruda (%)	4.77 ± 0.80	12.02 ± 0.04	16.39 ± 0.16	11.89 ± 0.01	16.87 ± 0.41
Extracto etéreo (%)	3.50 ± 0.20	3.94 ± 0.02	3.63 ± 0.32	3.70 ± 0.31	1.45 ± 0.22
Cenizas (%)	36.53 ± 0.33	28.75 ± 0.34	42.10 ± 0.21	31.41 ± 0.48	24.00 ± 0.06
Fibra cruda (%)	1.79 ± 0.06	2.97 ± 0.27	2.96 ± 0.18	5.92 ± 0.01	1.85 ± 0.05
E.L.N. (%)	53.41	52.32	34.92	47.08	55.83

*Resultados expresados en base seca (excepto humedad), como valores promedio ± desviación estándar (3 réplicas por muestra). *Ulva* sp. = UL; *Eisenia arborea* = EA; *Macrocystis pyrifera* MP; *Egregia menziesii* = EM; *Porphyra perforata* = PP, E.L.N.: Extracto libre de nitrógeno.

7.3. ESTABILIDAD EN EL AGUA DE LAS DIETAS (macroalgas experimentales)

Los valores de estabilidad en el agua de los alimentos fueron expresados como porcentaje de materia seca, variando entre 58.85 % para MP hasta 79.24 % para EM. Se presentaron diferencias significativas entre MP y EM, y de éstas con las otras macroalgas ($P < 0.05$) (Tabla 6).

Tabla 6.- Estabilidad en el agua de las macroalgas proporcionadas como alimento para los juveniles de abulón azul.

Dieta	Valores de Estabilidad (%)
<i>Ulva</i> sp.	69.96 ± 1.6 ^b
<i>Eisenia arborea</i>	74.52 ± 4.5 ^b
<i>Macrocystis pyrifera</i>	58.85 ± 2.7 ^a
<i>Egregia menziesii</i>	79.24 ± 2.6 ^c
<i>Porphyra perforata</i>	74.43 ± 4.0 ^b

Valores promedio de tres réplicas ± desviación estándar. Valores con diferentes superíndices indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

7.4. CRECIMIENTO DE JUVENILES DE ABULÓN AZUL

El patrón de la curva de crecimiento tanto para longitud como para peso de los juveniles de abulón azul se caracterizó por presentar dos etapas. La primera etapa donde el crecimiento en longitud y peso fue similar entre todos los tratamientos hasta los 78 días y la segunda etapa después de los 78 días, donde se empieza a notar una separación en las curvas de crecimiento entre UL y EA con respecto a las de MP, EM, PP (Figuras 5 y 6). Sin embargo, a pesar de que se ve esa separación en la curva de crecimiento de longitud de la concha de UL y EA con respecto a las de MP, EM, PP, estadísticamente no se detectaron diferencias significativas durante el ensayo $P > 0.05$ (Tabla 7).

Los valores de crecimiento en longitud de la concha y peso de los juveniles alimentados con *Ulva* sp. fueron los mas bajos, alcanzando una longitud promedio 31.92 mm (Tabla 7) y un peso promedio de 2.57 g durante el ensayo. El crecimiento en peso fue significativamente inferior al de juveniles alimentados con MP, EM y PP (Tabla 8).

Al final del período del ensayo el mayor crecimiento en longitud de la concha con un promedio de 33.91 mm y peso de 3.64 g se observó en los juveniles alimentados con EM, seguidos por MP con longitud de 33.85 mm y peso 3.59 g y PP con longitud 33.72 mm y peso 3.50 g (Tablas 7 y 8).

Cabe mencionar que en observaciones realizadas durante el ensayo, la morfología de la concha fue diferente entre los juveniles alimentados con PP y EM, siendo la concha más aplanada y alargada, y el pie más delgado en los juveniles alimentados con PP, y para los organismos alimentados con EM la concha era más ovalada, convexa y el pie más gordo.

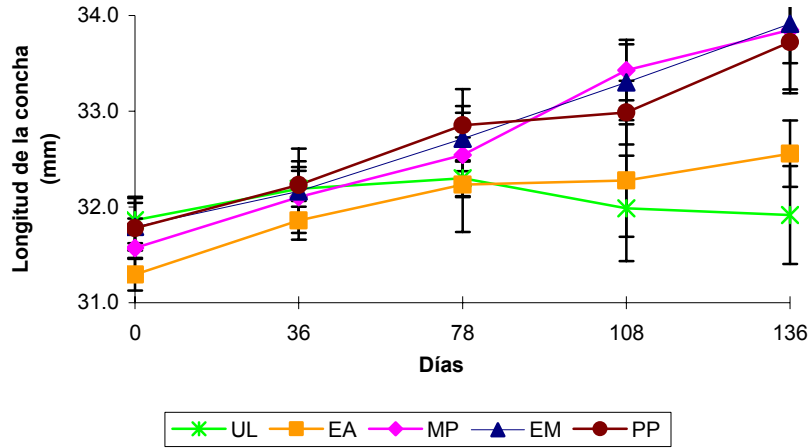


Figura 5.- Crecimiento en longitud (mm) de juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes. N = 3 (media \pm e.e.). *Ulva* sp. = UL; *Eisenia arborea* = EA; *Macrocystis pyrifera* = MP; *Egrecia menziesii* = EM y *Porphyra perforata* = PP.

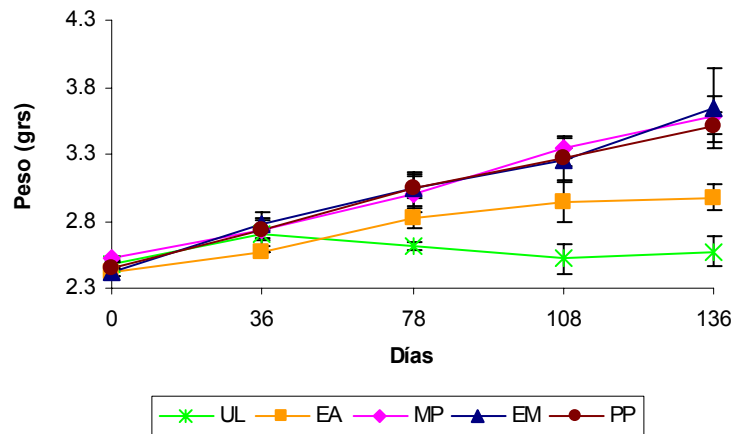


Figura 6.- Crecimiento en peso (g) de juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes. N = 3 (media \pm e.e.). *Ulva* sp. = UL; *Eisenia arborea* = EA; *Macrocystis pyrifera* = MP; *Egrecia menziesii* = EM y *Porphyra perforata* = PP.

Tabla 7.- Crecimiento en longitud (mm) de la concha de juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes. *Ulva* sp. = UL; *Eisenia arborea* = EA; *Macrocystis pyrifera* = MP; *Egregia menziesii* = EM y *Porphyra perforata* = PP.

Dieta	Días				
	0	36	78	108	136
UL ¹	31.39 ± 0.89	31.95 ± 0.95	31.93 ± 1.06	31.44 ± 1.77	31.29 ± 1.88
	32.20 ± 0.71	32.56 ± 0.72	32.45 ± 0.76	31.43 ± 0.76	31.53 ± 0.80
Promedio ²	32.00 ± 0.65	32.06 ± 0.65	32.52 ± 0.63	33.09 ± 0.80	32.93 ± 0.90
	31.86 ± 0.42	32.19 ± 0.33	32.30 ± 0.32	31.99 ± 0.96	31.92 ± 0.89
EA ¹	31.02 ± 0.94	31.50 ± 0.91	31.40 ± 0.90	31.62 ± 0.87	32.44 ± 0.93
	31.27 ± 0.90	32.20 ± 1.01	33.11 ± 1.12	33.45 ± 1.14	33.21 ± 1.10
Promedio ²	31.59 ± 0.74	31.88 ± 0.74	32.19 ± 0.83	31.76 ± 0.90	32.02 ± 1.10
	31.29 ± 0.29	31.86 ± 0.35	32.23 ± 0.96	32.28 ± 1.02	32.56 ± 0.60
MP ¹	32.16 ± 0.79	32.83 ± 0.82	33.31 ± 0.83	33.97 ± 0.90	34.47 ± 0.90
	31.44 ± 0.94	31.90 ± 0.98	32.54 ± 1.03	32.88 ± 1.17	33.27 ± 1.23
Promedio ²	31.11 ± 0.76	31.58 ± 0.73	31.78 ± 0.79	33.44 ± 0.96	33.81 ± 0.91
	31.57 ± 0.54	32.10 ± 0.65	32.54 ± 0.77	33.43 ± 0.55	33.85 ± 0.60
EM ¹	31.71 ± 0.91	32.17 ± 0.92	33.34 ± 0.98	34.06 ± 1.15	35.30 ± 1.10
	31.41 ± 0.74	31.72 ± 0.75	32.17 ± 0.74	32.73 ± 0.75	32.85 ± 0.75
Promedio ²	32.26 ± 0.56	32.60 ± 0.61	32.63 ± 0.64	33.12 ± 0.70	33.59 ± 0.74
	31.79 ± 0.43	32.16 ± 0.44	32.71 ± 0.59	33.30 ± 0.68	33.91 ± 1.26
PP ¹	32.35 ± 0.78	32.81 ± 0.76	33.09 ± 0.75	32.93 ± 0.70	33.62 ± 0.78
	31.72 ± 0.79	32.37 ± 0.73	33.36 ± 0.66	33.59 ± 0.65	34.63 ± 0.59
Promedio ²	31.27 ± 0.83	31.51 ± 0.83	32.11 ± 0.78	32.44 ± 0.77	32.92 ± 0.79
	31.78 ± 0.54	32.23 ± 0.66	32.85 ± 0.66	32.99 ± 0.58	33.72 ± 0.86

¹- Media (e.e.), N ≤ 34.

²- Valores promedio de las tres réplicas ± desviación estándar. Al final del ensayo no se detectaron diferencias significativas (P > 0.05).

Tabla 8.- Crecimiento en peso (g) de juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes. *Ulva* sp. = UL; *Eisenia arborea* = EA; *Macrocystis pyrifera* = MP; *Egregia menziesii* = EM y *Porphyra perforata* = PP.

Dieta	Días				
	0	36	78	108	136
UL ¹	2.46 ± 0.23	2.71 ± 0.25	2.67 ± 0.29	2.68 ± 0.49	2.74 ± 0.49
	2.52 ± 0.17	2.76 ± 0.19	2.60 ± 0.19	2.30 ± 0.15	2.35 ± 0.17
Promedio ²	2.46 ± 0.14	2.64 ± 0.16	2.58 ± 0.15	2.58 ± 0.18	2.63 ± 0.21
	2.48 ± 0.03	2.70 ± 0.06	2.62 ± 0.05	2.52 ± 0.20	2.57 ± 0.20 ^b
EA ¹	2.38 ± 0.21	2.56 ± 0.21	2.69 ± 0.22	2.70 ± 0.21	2.88 ± 0.23
	2.49 ± 0.27	2.58 ± 0.27	2.93 ± 0.31	3.24 ± 0.34	3.17 ± 0.34
Promedio ²	2.39 ± 0.18	2.57 ± 0.18	2.84 ± 0.25	2.90 ± 0.29	2.88 ± 0.35
	2.42 ± 0.06	2.57 ± 0.01	2.82 ± 0.12	2.95 ± 0.27	2.98 ± 0.17 ^{ab}
MP ¹	2.56 ± 0.18	2.93 ± 0.21	3.23 ± 0.25	3.49 ± 0.27	3.82 ± 0.30
	2.51 ± 0.27	2.78 ± 0.33	3.06 ± 0.43	3.32 ± 0.51	3.61 ± 0.62
Promedio ²	2.49 ± 0.27	2.50 ± 0.19	2.73 ± 0.27	3.23 ± 0.30	3.33 ± 0.30
	2.52 ± 0.04	2.74 ± 0.22	3.01 ± 0.25	3.35 ± 0.13	3.59 ± 0.25 ^a
EM ¹	2.43 ± 0.21	2.86 ± 0.25	3.29 ± 0.30	3.59 ± 0.38	4.23 ± 0.43
	2.37 ± 0.17	2.74 ± 0.21	2.95 ± 0.22	3.16 ± 0.23	3.39 ± 0.26
Promedio ²	2.47 ± 0.13	2.75 ± 0.14	2.89 ± 0.16	3.02 ± 0.21	3.30 ± 0.22
	2.42 ± 0.05	2.78 ± 0.07	3.04 ± 0.22	3.26 ± 0.30	3.64 ± 0.51 ^a
PP ¹	2.52 ± 0.19	2.83 ± 0.19	3.11 ± 0.21	3.27 ± 0.22	3.40 ± 0.27
	2.50 ± 0.17	2.79 ± 0.17	3.15 ± 0.17	3.40 ± 0.19	3.72 ± 0.18
Promedio ²	2.33 ± 0.16	2.59 ± 0.18	2.89 ± 0.19	3.16 ± 0.22	3.39 ± 0.24
	2.45 ± 0.10	2.74 ± 0.13	3.05 ± 0.14	3.28 ± 0.12	3.50 ± 0.19 ^a

¹- Media (e.e.), N ≤ 34.

²- Valores promedio de las tres réplicas ± desviación estándar. Valores promedio con diferentes superíndices indican diferencias significativas (P < 0.05).

La tasa diaria de crecimiento en longitud de la concha y peso fue heterogénea durante el ensayo (Tablas 9 y 10). Los juveniles alimentados con UL tuvieron durante todos los periodos la menor tasa de crecimiento tanto para longitud como para peso, teniendo como promedio durante el ensayo 1.56 $\mu\text{m}/\text{día}$ y siendo significativamente inferior al resto de las dietas (Tabla 9). Asimismo, presentó durante el segundo y tercer período una tasa diaria de crecimiento en peso de 0 mg/día y como promedio durante todo el ensayo tuvo la tasa de crecimiento en peso más baja 0.39 mg/día siendo significativamente inferior a MP, EM y PP (P < 0.05) (Tabla 10). La tasa diaria de crecimiento en longitud promedio de la concha de los juveniles varió de 6.51 $\mu\text{m}/\text{día}$ en

EA para el segundo período a 28.94 $\mu\text{m}/\text{día}$ en EM para el cuarto período, y la tasa diaria de crecimiento en peso promedio varió de 2.91 mg/día en EA para el primer período a 14.48 mg/día en EM para el cuarto período. La tasa de crecimiento en longitud más alta durante el período la tuvo MP, 18.08 $\mu\text{m}/\text{día}$ seguida de EM, 17.45 $\mu\text{m}/\text{día}$ y PP, 15.11 $\mu\text{m}/\text{día}$ (Tabla 9). La tasa diaria de crecimiento en peso más alta durante todo el período la presentó EM, 9.15 mg/día, seguida de MP, 8.15 mg/día y PP, 8.11 mg/día. Se encontraron diferencias significativas entre EA y EM ($P < 0.05$). Cabe mencionar que los valores de tasa diaria de crecimiento en peso más homogéneos durante el ensayo los presentó PP (Tabla 10).

Tabla 9.- Tasa diaria de crecimiento en longitud ($\mu\text{m}/\text{día}$) de los juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes. *Ulva* sp. = UL; *Eisenia arborea* = EA; *Macrocystis pyrifera* = MP; *Egrecia menziesii* = EM y *Porphyra perforata* = PP.

Dieta	Periodo				
	0-36	36-78	78-108	108-136	0-136
UL ¹	3.80 ± 1.65	0.40 ± 0.21	0.79 ± 0.68	4.60 ± 4.20	1.43 ± 0.84
	10.25 ± 6.11	1.02 ± 0.34	0.71 ± 0.71	0.00 ± 0.00	1.97 ± 1.08
Promedio ²	1.56 ± 0.54	1.10 ± 0.71	0.13 ± 0.13	0.42 ± 0.42	1.28 ± 0.44
	5.20 ± 4.51	0.84 ± 0.38	0.54 ± 0.36	1.67 ± 2.54	1.56 ± 0.36 ^b
EA ¹	4.85 ± 2.29	3.06 ± 0.96	7.30 ± 2.08	20.56 ± 14.58	7.91 ± 3.13
	22.77 ± 14.85	8.08 ± 2.85	6.24 ± 2.21	5.36 ± 2.11	12.59 ± 5.06
Promedio ²	4.48 ± 2.15	8.38 ± 2.05	15.24 ± 3.22	26.52 ± 5.09	15.50 ± 2.42
	10.70 ± 10.45	6.51 ± 2.99	9.59 ± 4.92	17.48 ± 10.91	12.00 ± 3.83 ^a
MP ¹	15.52 ± 5.77	11.96 ± 3.20	19.09 ± 3.74	17.84 ± 2.91	16.51 ± 2.50
	12.91 ± 4.31	18.08 ± 3.60	7.52 ± 2.37	13.90 ± 3.73	14.06 ± 2.37
Promedio ²	12.87 ± 4.25	12.29 ± 2.70	42.76 ± 19.79	27.52 ± 5.06	23.67 ± 4.71
	13.77 ± 1.52	14.11 ± 3.44	23.12 ± 17.96	19.75 ± 7.01	18.08 ± 4.99 ^a
EM ¹	10.43 ± 2.35	26.54 ± 9.28	23.71 ± 4.64	44.25 ± 13.71	27.24 ± 4.61
	9.95 ± 3.55	7.79 ± 1.98	15.38 ± 3.32	22.72 ± 3.99	12.51 ± 2.07
Promedio ²	12.57 ± 5.49	7.26 ± 2.15	2.86 ± 1.67	19.84 ± 5.06	12.60 ± 3.07
	10.98 ± 1.39	13.86 ± 10.98	13.98 ± 10.49	28.94 ± 13.34	17.45 ± 8.48 ^a
PP ¹	8.89 ± 2.62	12.70 ± 4.88	15.75 ± 4.07	32.07 ± 7.36	14.45 ± 3.33
	13.64 ± 4.73	15.67 ± 3.02	14.36 ± 2.93	28.15 ± 4.39	16.82 ± 2.58
Promedio ²	5.22 ± 1.20	14.47 ± 3.07	16.84 ± 3.28	22.99 ± 3.64	14.05 ± 2.24
	9.25 ± 4.22	14.28 ± 1.49	15.65 ± 1.24	27.74 ± 4.55	15.11 ± 1.55 ^a

¹- Media (e.e.), N ≤ 34.

²- Valores promedio de las tres réplicas ± desviación estándar. Valores promedio con diferentes superíndices indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Tabla 10.- Tasa diaria de crecimiento en peso (mg/día) de los juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes. *Ulva* sp. = UL; *Eisenia arborea* = EA; *Macrocystis pyrifera* = MP; *Egretta menziesii* = EM y *Porphyra perforata* = PP.

Dieta	Periodo				
	0-36	36-78	78-108	108-136	0-136
UL ¹	4.03 ± 0.86	-1.42 ± 0.92	-1.54 ± 0.92	3.15 ± 5.33	1.39 ± 1.03
	6.94 ± 2.38	-3.66 ± 0.79	-2.34 ± 0.63	0.12 ± 1.16	-0.03 ± 0.29
	5.08 ± 0.98	-3.57 ± 0.75	-4.70 ± 0.74	1.45 ± 1.05	-0.20 ± 0.31
Promedio ²	5.35 ± 1.47	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	1.57 ± 1.52	0.39 ± 0.87 ^c
EA ¹	3.52 ± 0.43	4.38 ± 0.68	0.48 ± 0.80	4.80 ± 0.86	3.45 ± 0.36
	1.37 ± 0.88	5.09 ± 0.79	8.78 ± 1.00	1.14 ± 0.68	4.22 ± 0.49
	3.84 ± 0.84	5.45 ± 1.38	8.43 ± 1.51	3.83 ± 1.98	5.87 ± 1.08
Promedio ²	2.91 ± 1.34	4.97 ± 0.54	5.90 ± 4.69	3.26 ± 1.90	4.51 ± 1.24 ^{bc}
MP ¹	9.57 ± 1.15	6.37 ± 1.42	6.04 ± 1.14	11.88 ± 1.81	8.93 ± 0.89
	6.15 ± 1.00	6.08 ± 2.63	4.66 ± 1.25	10.24 ± 4.40	7.51 ± 1.99
	0.25 ± 5.37	6.08 ± 1.57	11.14 ± 2.20	8.58 ± 1.31	8.00 ± 1.03
Promedio ²	5.32 ± 4.71	6.18 ± 0.17	7.28 ± 3.41	10.23 ± 1.65	8.15 ± 0.72 ^{ab}
EM ¹	11.18 ± 1.38	7.97 ± 1.89	8.61 ± 1.73	23.06 ± 3.04	12.92 ± 1.65
	10.50 ± 1.16	4.18 ± 0.92	3.83 ± 1.23	12.72 ± 1.62	7.97 ± 0.65
	7.95 ± 1.05	4.25 ± 0.97	1.01 ± 2.19	7.67 ± 1.25	6.57 ± 0.60
Promedio ²	9.88 ± 1.70	5.47 ± 2.17	4.48 ± 3.84	14.48 ± 7.85	9.15 ± 3.34 ^a
PP ¹	7.85 ± 0.72	6.95 ± 1.06	10.54 ± 2.00	7.67 ± 3.26	7.92 ± 1.27
	7.25 ± 1.00	7.10 ± 0.85	9.05 ± 1.20	9.15 ± 1.39	8.12 ± 0.70
	6.95 ± 0.85	7.20 ± 1.02	9.93 ± 1.53	10.32 ± 1.21	8.29 ± 0.77
Promedio ²	7.35 ± 0.46	7.08 ± 0.13	9.84 ± 0.75	9.05 ± 1.33	8.11 ± 0.19 ^{ab}

¹- Media (e.e.), N ≤ 34.

²- Valores promedio de las tres réplicas ± desviación estándar. Valores promedio con diferentes superíndices indican diferencias significativas (P < 0.05).

El promedio de la tasa específica de crecimiento en longitud (TEC) en general fue similar en cuatro de las dietas, excepto para UL que presentó una tasa específica de crecimiento, en promedio durante el período del ensayo experimental, de 0 %/día y no mostró diferencias significativas con EA, pero sí mostró diferencia con MP, EM y PP (P < 0.05). MP y EM mostraron el mismo valor promedio de la tasa específica de crecimiento en longitud siendo de 0.06 %/día durante el ensayo (Figura 7). La tasa específica de crecimiento en peso promedio durante el ensayo experimental para UL fue de 0.02

%/día presentando diferencia inferior con el resto de las dietas ($P < 0.05$). El promedio más alto durante todo el ensayo experimental se obtuvo en EM, 0.31 %/día seguido de PP, 0.30 %/día y MP, 0.28 %/día (Figura 7). MP, EM y PP no mostraron diferencias significativas, y EA mostró diferencias con respecto a EM.

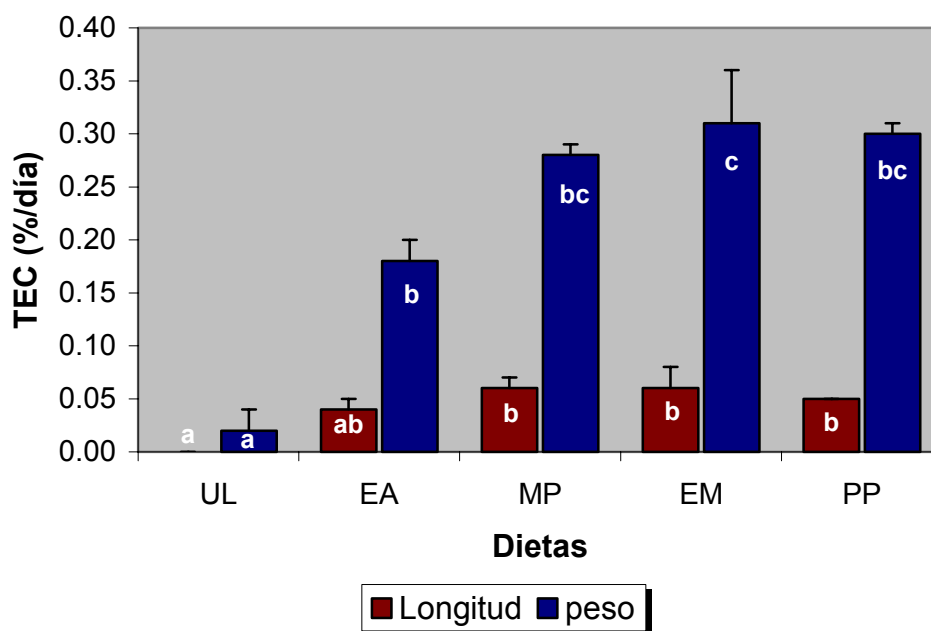


Figura 7.- Tasa específica de crecimiento en longitud y peso de juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes. $N = 3$ (media \pm e.e.) Valores con diferentes superíndices indican diferencias significativas ($P < 0.05$). *Ulva* sp. = UL; *Eisenia arborea* = EA; *Macrocystis pyrifera* = MP; *Egregia menziesii* = EM y *Porphyra perforata* = PP.

CONSUMO Y FACTOR DE CONVERSION ALIMENTICIA

En la evaluación de consumo aparente, los valores más bajos se obtuvieron en los organismos alimentados con UL 0.0477 g/org/día y PP 0.0416 g/org/día y no presentaron diferencia significativa entre ellos, pero si fueron significativamente inferiores comparados con los organismos alimentados con EA, MP y EM. El valor más alto de consumo lo presentó EA 0.1276 g/org/día y tuvo diferencia mayor con todas las dietas ($P < 0.05$). No se detectaron diferencias significativas entre MP y EM (Tabla 11). Los valores más altos del factor de conversión alimenticia se obtuvieron en los organismos alimentados con UL 32.09 y EA 31.84, no presentando diferencia

significativa entre ellas, pero sí presentando diferencia significativamente mayor con respecto a MP, EM y PP ($P < 0.05$). El valor más bajo de FCA se obtuvo en los organismos alimentados con PP 5.44, no presentando diferencia significativa con MP y EM, (Tabla 11).

Tabla 11.- Evaluación de consumo aparente (g/org/día) y factor de conversión alimenticia; FCA = (org/día), de los juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes. *Ulva* sp. = UL; *Eisenia arborea* = EA; *Macrocystis pyrifera* = MP; *Egrecia menziesii* = EM y *Porphyra perforata* = PP.

Dieta	Consumo g/org/día	FCA (org/día)
UL	0.0477 ± 0.0042 ^a	32.09 ± 10.63 ^b
EA	0.1276 ± 0.0014 ^c	31.84 ± 5.24 ^b
MP	0.1009 ± 0.0113 ^b	13.11 ± 2.19 ^a
EM	0.1036 ± 0.0074 ^b	12.77 ± 4.27 ^a
PP	0.0416 ± 0.0053 ^a	5.44 ± 0.89 ^a

Valores promedio de las tres mediciones hechas durante tres meses y tres réplicas ± desviación estándar. Valores con diferentes superíndices indican diferencias significativas entre las dietas ($P < 0.05$).

SOBREVIVENCIA

El porcentaje de sobrevivencia de juveniles alimentados con las 5 dietas varió entre el 44% y 69%, encontrándose la menor sobrevivencia en los juveniles alimentados con UL y la mayor sobrevivencia con MP, seguido de PP con el 68% y EA con el 65% (Figura 8). En el análisis estadístico no se presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$). En una de las réplicas de EM se tuvo un problema técnico, en el cual uno de los acuarios se quedó sin aireación por 24 horas, lo que originó una mortalidad masiva y por lo cual se decidió concluir con el ensayo experimental a los 136 días.

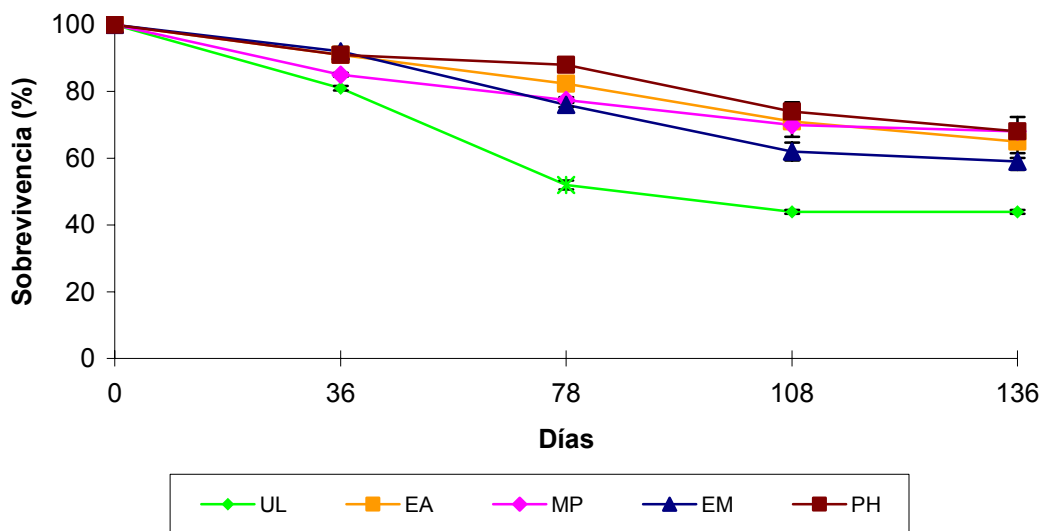


Figura 8.- Supervivencia (%) de juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes. N = 3 (media \pm d.e). *Ulva* sp. = UL; *Eisenia arborea* = EA; *Macrocystis pyrifera* = MP; *Egrecia menziesii* = EM y *Porphyra perforata* = PP.

7.5. ANÁLISIS QUÍMICOS DE LA GLÁNDULA DIGESTIVA Y MÚSCULO DE JUVENILES DE ABULÓN AZUL

a) Glándula digestiva

Los valores promedio finales de proteínas (mg/g) con todas las dietas se encontraron por debajo del valor inicial (Tabla 12). En promedio los valores de proteína variaron de 113.42 mg/g a 179.77 mg/g, siendo el valor más bajo para juveniles alimentados con UL y presentando diferencias significativas con el resto de las dietas; el valor más alto lo presentaron los juveniles alimentados con EM, 179.77 mg/g. En el análisis de carbohidratos se encontraron valores superiores al inicial: los valores más grandes fueron de 447.84 mg/g para los juveniles alimentados con UL y de 311.98 mg/g para los juveniles alimentados con PP, ambos presentando diferencias significativas con el resto de las dietas. Los valores más bajos de carbohidratos se obtuvieron en los organismos alimentados con EA, 99.51 mg/g y EM, 98.30 mg/g (Tabla 12).

Los valores de lípidos en la glándula digestiva de los juveniles alimentados UL, EA y MP fueron más bajos en relación al valor inicial (Tabla 12). Los juveniles alimentados con UL presentaron el valor más bajo de lípidos totales (17.15 mg/g); se detectaron

diferencias significativas con los juveniles alimentados con PP, que presentó el valor más alto (23.30 mg/g). En este último se detectaron diferencias significativas mayores también con los juveniles alimentados con UL, EA y MP.

Tabla.- 12.- Proteínas, carbohidratos y lípidos en la glándula digestiva (mg/g) de los juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes. *Ulva* sp.= UL, *Eisenia arborea* =UL, *Macrocystis pyrifera* = MP, *Egregia menziesii* = EM y *Porphyra perforata* = PP.

Días	Dieta	Proteínas (mg/g)	Carbohidratos (mg/g)	Lípidos (mg/g)
0	Inicial	184.31 ± 34.17	132.49 ± 15.91	19.99 ± 2.11
136	UL	113.42 ± 9.58 ^a	447.84 ± 35.34 ^a	17.15 ± 0.93 ^a
	EA	166.93 ± 9.13 ^b	99.51 ± 10.11 ^c	18.09 ± 1.08 ^a
	MP	169.20 ± 14.20 ^b	119.77 ± 19.63 ^c	18.21 ± 0.89 ^a
	EM	179.77 ± 9.90 ^b	98.30 ± 7.58 ^c	21.41 ± 1.20 ^{ab}
	PP	159.42 ± 9.37 ^b	311.98 ± 43.65 ^b	23.30 ± 1.62 ^b

Valores promedio de tres réplicas ± desviación estándar. Valores con diferentes superíndices indican diferencias significativas entre las dietas, (P < 0.05).

b) Músculo.

Los valores del análisis de proteínas fueron superiores al valor inicial, encontrándose los valores más altos en juveniles alimentados con EM, 122.59 mg/g y UL, 90.25 mg/g. Los juveniles alimentados con EM mostraron diferencias significativas mayores a los juveniles alimentados con EA, MP y PP. En cuanto a los carbohidratos, el valor más bajo se obtuvo en los juveniles alimentados con EA, 9.54 mg/g y el valor más alto con los juveniles alimentados con PP; no se detectaron diferencias significativas entre las dietas. Los valores presentados de los juveniles alimentados con UL y MP fueron similares al valor inicial 16.61 mg/g (Tabla 13). Los valores de lípidos fueron homogéneos en todas la dietas, excepto en los juveniles alimentados con UL que fue la que tuvo el valor más bajo de concentración de los mismos (2.80 mg/g); sin embargo no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos.

Tabla 13.- Proteínas, carbohidratos y lípidos en músculo (mg/g) de los juveniles de abulón azul alimentados con 5 macroalgas diferentes. *Ulva* sp.= UL, *Eisenia arborea* = EA, *Macrocystis pyrifera* = MP, *Egregia menziesii* = EM y *Porphyra perforata* =PP.

Días	Dieta	Proteínas (mg/g)	Carbohidratos (mg/g)	Lípidos (mg/g)
0	Inicial	63.97 ± 35.55	16.61 ± 7.89	3.27 ± 1.25
	UL	90.25 ± 46.28 ^{ab}	16.50 ± 3.63	2.80 ± 0.94
	EA	83.22 ± 43.44 ^b	9.54 ± 2.52	3.82 ± 0.72
136	MP	78.41 ± 21.12 ^b	16.75 ± 15.21	3.77 ± 1.10
	EM	122.59 ± 42.41 ^a	20.47 ± 15.85	3.87 ± 0.50
	PP	66.88 ± 29.21 ^b	23.16 ± 10.84	3.91 ± 1.57

Valores promedio de tres réplicas ± desviación estándar. Valores con diferentes superíndices indican diferencias significativas entre las dietas, (P< 0.05).

7.6. DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA E HISTOQUÍMICA DE CARBOHIDRATOS EN LA GLÁNDULA DIGESTIVA DE JUVENILES DE ABULÓN AZUL

En los cortes transversales realizados en la glándula digestiva de los juveniles de abulón azul alimentados con las diferentes dietas, se observó que se presenta un arreglo típico de los moluscos gasterópodos (Figura 9). La glándula digestiva se encuentra formada por una composición de túbulos ciegos arreglados en forma glandular acinosa en donde se observan los adenómeros que forman la parte ciega del túbulo (Figura 9). Las células epiteliales de los adenómeros se encontraron agrupadas en una forma redondeada con un haz de luz cuyo diámetro dependió de la fase de digestión en la que se encontraba el organismo al momento de la disección.

En el presente trabajo se observó una fase digestiva de absorción que a continuación se describe:

Fase de absorción.- Las células epiteliales de los adenómeros en esta fase se observaron de forma vacuolar, irregulares con núcleos ovalados basófilos centrales, las células descansaban sobre una membrana basal delgada acidófila y por lo regular no se observaba bien el haz de luz de los túbulos; esta fase digestiva se observó en todos los organismos alimentados con las 5 dietas proporcionadas a los juveniles de abulón azul (Figuras 10, 11, 12, 13 y 14). Por medio de la tinción de azul alcian PAS se evidenció la presencia de mucopolisacáridos ácidos en la glándula digestiva de los juveniles de abulón

azul alimentados con las diferentes dietas; la gran mayoría de las células contenían granulaciones citoplasmáticas (Figuras 10, 11, 12, 13 y 14).

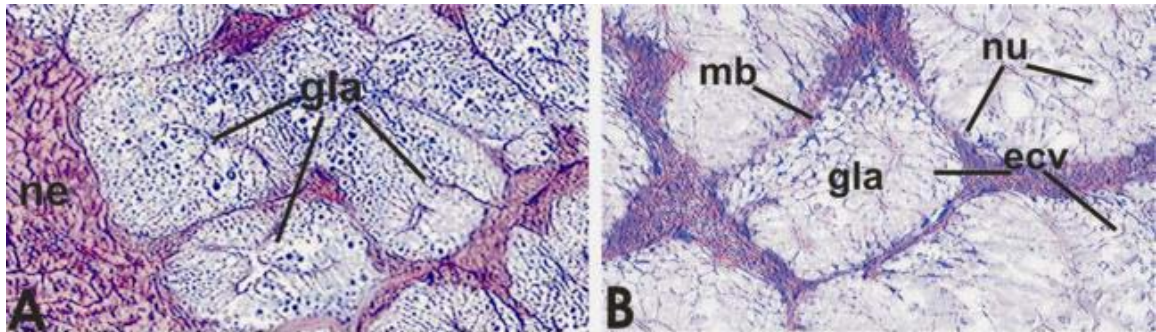


Figura 9.- Microfotografía de la glándula digestiva de un organismo juvenil de abulón azul alimentado con *Porphyra perforata*. Fase: absorción. Descripción general de la glándula digestiva. A) Ciegos que forman la glándula digestiva (gla), Nefridio (ne), tinción hematoxilina-eosina, 20 x. B) glándula digestiva (gla), epitelio cilíndrico en forma de vacuola (ecv), membrana basal (mb), núcleo (nu), tinción hematoxilina-eosina, 40 x.

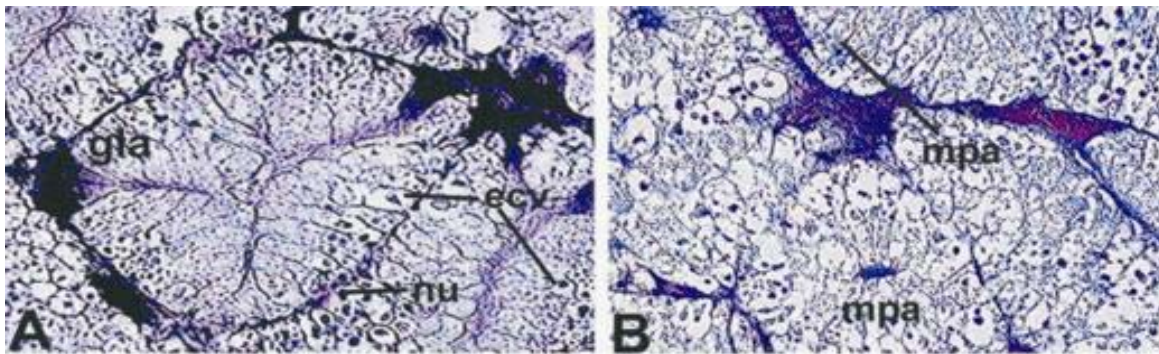


Figura 10.- Microfotografía de la glándula digestiva de un organismo juvenil de abulón azul alimentado con *Ulva* sp. Fase: absorción. A) Ciegos que forman la glándula digestiva (gla) células epiteliales de forma vacuolar (ecv), núcleos basófilos (nu), tinción hematoxilina-eosina, 40 x. B) Mucopolisacáridos ácidos (mpa), tinción azul alcian 40 x.

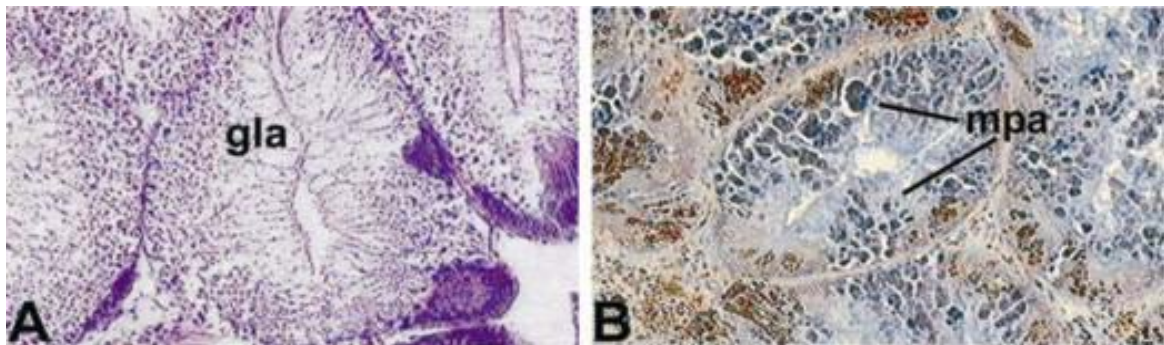


Figura 11.- Microfotografía de la glándula digestiva de un organismo juvenil de abulón azul alimentado con *Eisenia arborea*. Fase: absorción A) Ciegos que forman la glándula digestiva (gla), tinción hematoxilina-eosina, 40 x. B) Mucopolisacáridos ácidos (mpa), tinción azul alcian 40 x.

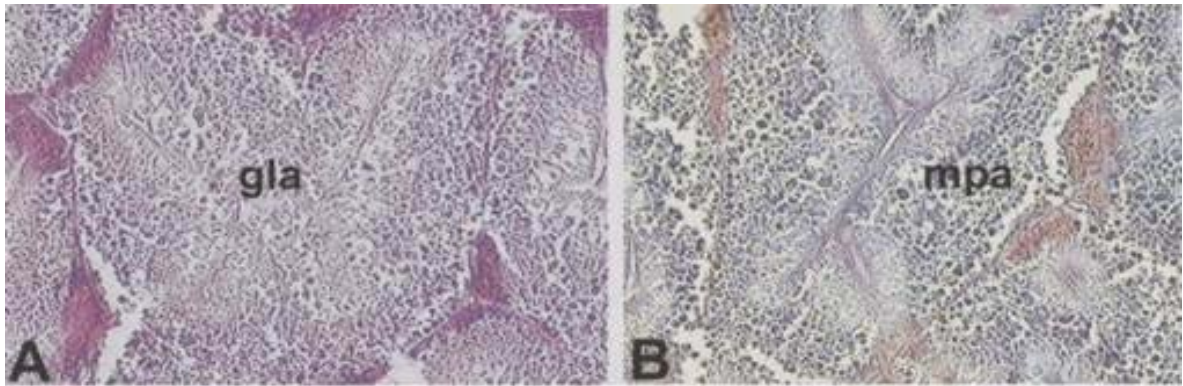


Figura 12.- Microfotografía de la glándula digestiva de un organismo juvenil de abulón azul alimentado con *Macrocytis pyrifera*. Fase: absorción. A) Ciegos que forman la glándula digestiva (gla), tinción hematoxilina-eosina 40 x. B) Mucopolisacáridos ácidos (mpa), tinción azul alcian 40 x.

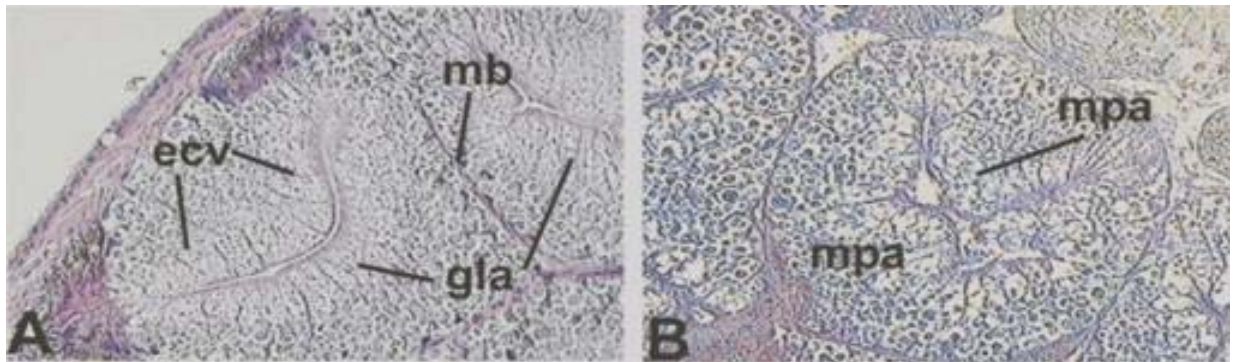


Figura 13.- Microfotografía de la glándula digestiva de un organismo juvenil de abulón azul alimentado con *Egregia menziesii*. Fase: absorción. A) Glándula digestiva (gla), epitelio cilíndrico en forma de vacuola (ecv), membrana basal (mb), tinción hematoxilina-eosina 40 x. B) Mucopolisacáridos ácidos (mpa), tinción azul alcian 40 x.

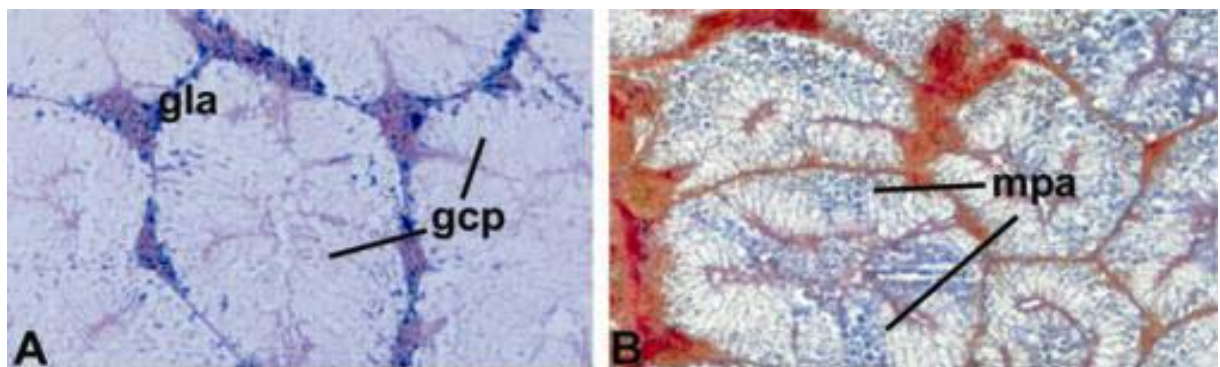


Figura 14.- Microfotografía de la glándula digestiva de un organismo juvenil de abulón azul alimentado con *Porphyra perforata*. Fase: absorción A) Ciegos que forman la glándula digestiva (gla), gránulos citoplasmáticos (gcp), tinción hematoxilina-eosina 10 x. B) Mucopolisacáridos ácidos (mpa), tinción azul alcian 10 x.

No entiendes realmente algo a menos que seas capaz de explicárselo a tu abuela
Albert Einstein

Los patrones de crecimiento observados en los juveniles de abulón azul *Haliotis fulgens* en el presente ensayo se atribuyen al efecto de las dietas, principalmente, debido a que al inicio del ensayo los juveniles no presentaron diferencias significativas en longitud de la concha y peso entre las distintas réplicas. Asimismo, las variables fisicoquímicas que podrían afectar su crecimiento durante el ensayo, como temperatura, salinidad y oxígeno del agua, no variaron significativamente entre las réplicas.

Los constituyentes químicos de las macroalgas varían de una especie a otra, por la profundidad, las estaciones del año, la exposición al oleaje, las corrientes, la concentración de nutrientes, la temperatura y distribución geográfica (Levring *et al.*, 1969; Haug y Jensen, 1954). La composición en proteínas, carbohidratos y lípidos de las macroalgas usadas para alimentar a los juveniles fue diferente entre las especies; sin embargo, sus perfiles químicos coinciden con los reportados para otras macroalgas consumidas por herbívoros marinos, esto es, 15 % de proteína, 3-5% de lípidos y 20-30% de carbohidratos (Santelices, 1986), excepto en *Ulva* sp., que presentó un valor bajo de proteínas (5%) y en referencia al contenido de lípidos *Porphyra perforata* presentó un contenido bajo de éstos (1.45 %).

Los carbohidratos representan el mayor porcentaje en la composición de las macroalgas, estos forman parte del material de almacenamiento siendo el almidón en las clorofitas, laminaria y manitol en las feófitas y floridoficina y almidón florideo en las rodófitas. Son importantes como constituyentes de la pared celular, por ejemplo, la celulosa de las clorofitas, la alginina y fucoidina de las feófitas, y la carragenina de las rodófitas. Las proteínas de las macroalgas contienen al menos 22 aminoácidos. El contenido de lípidos en las macroalgas es generalmente bajo. En algas rojas varía de 0.4 a 3.2 %, en algas café puede alcanzar hasta un 6.3% del peso del alga. Se han identificado alrededor de 15 ácidos grasos poliinsaturados y 5 esteroides en diferentes macroalgas (Santelices, 1986). Los carbohidratos, proteínas y lípidos, así como el resto de los constituyentes de los alimentos son los principales suministros de energía para los organismos (Guyton, 1983). Estas diferencias químicas en las macroalgas pueden influir en las preferencias y el aprovechamiento de los juveniles para su crecimiento, sin

embargo, Mai y colaboradores (1996) no encontraron relación entre la composición de macronutrientes o aminoácidos con el crecimiento, por lo que sugieren que las diferencias entre dietas sobre el desempeño de abulones se puede deber a micronutrientes (e.g. ácidos grasos esenciales) presentes en el alimento natural. En el presente trabajo se encontraron diferencias en cuanto a la composición proximal de las diferentes dietas utilizadas lo cual tuvo una relación con el consumo, crecimiento y sobrevivencia. El valor nutricional del alimento depende no solamente de su composición química, sino de otros factores como biodisponibilidad, palatabilidad, digestibilidad y absorción (Mercer *et al.*, 1993). Uki y Watanabe (1992) establecieron con dietas artificiales que los requerimientos nutricionales para el abulón *Haliotis* spp. son: 28% de proteína, 5% de lípidos y 8% de minerales.

En cuanto a crecimiento, se encontraron tallas y pesos similares entre los juveniles alimentados con las distintas dietas durante los primeros 78 días, lo cual puede ser relacionado con una baja eficiencia digestiva de los juveniles al inicio del ensayo y con un período de adaptación fisiológica a las dietas por parte de los organismos tal como lo reportado en el experimento realizado por Mercer y colaboradores (1993) con las especies *H. discus hannai* y *H. tuberculata*. Al final del ensayo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el incremento total de la longitud de la concha entre las dietas; sin embargo, se observó un mayor crecimiento en longitud en los juveniles alimentados con *Egregia menziesii*, seguidos de *Macrocystis pyrifera* y *Porphyra perforata*, coincidiendo en ser estas macroalgas las que presentaron la mayor cantidad de proteínas. El peso de los organismos alimentados con *Ulva* sp. y *E. arborea* fue menor en relación a las otras dietas. Esto puede deberse a que *Ulva* sp. presentó una baja concentración de proteínas (4.77%) en base seca. En cuanto a *E. arborea*, quizás pudieron afectar otros factores que se discutirán posteriormente ya que esta macroalga presento un buen porcentaje de proteína (12.02%) en base seca.

En el presente ensayo, los juveniles presentaron tasas de crecimiento promedio en longitud y peso inferiores a las 20 $\mu\text{m}/\text{día}$ y 10 $\text{mg}/\text{día}$ respectivamente, siendo estas muy heterogéneas entre las réplicas de una misma dieta, y entre dietas, teniéndose que el promedio durante todo el período del ensayo varió de 1.56 $\mu\text{m}/\text{día}$ y 0.39 $\text{mg}/\text{día}$ para

los juveniles alimentados con *Ulva* sp. a 18.08 $\mu\text{m}/\text{día}$ y 8.15 $\text{mg}/\text{día}$ para los juveniles alimentados con *Macrocystis pyrifera*. En estudios realizados con diferentes especies de abulón usando dietas naturales, las tasas de crecimiento han variado de 80 a 174 $\mu\text{m}/\text{día}$ para *Haliotis discus hannai* (Sakai, 1962; Uki, 1981; Uki *et al.*, 1986), de 15 a 53 $\mu\text{m}/\text{día}$ para *Haliotis midae* (Simpson y Cook, 1998), de 2 a 70 $\mu\text{m}/\text{día}$ en *H. asinia*. En estudios realizados con dietas artificiales se ha obtenido un crecimiento de 10 a 107 $\mu\text{m}/\text{día}$ para *Haliotis iris* (Preece *et al.*, 1999) y de 134.81 $\mu\text{m}/\text{día}$ y 3.205 $\mu\text{g}/\text{día}$ para *Haliotis tuberculata* (López *et al.*, 1998). En ensayos experimentales con *H. fulgens* se han reportado tasas de crecimiento entre 120 y 140 $\mu\text{m}/\text{día}$ alimentados con *Macrocystis pyrifera* fresca (Leighton y Peterson, 1998), de 46 $\mu\text{m}/\text{día}$ y 5.49 $\text{mg}/\text{día}$ y de 19 $\mu\text{m}/\text{día}$ y 1.52 $\text{mg}/\text{día}$ alimentados con *M. pyrifera* y *Eisenia arborea* rehidratada respectivamente (Serviere *et al.*, 2001); de 39 $\mu\text{m}/\text{día}$ y 16.0 $\text{mg}/\text{día}$ con *M. pyrifera* rehidratada (Ponce *et al.* 2004) y de 12 a 16 $\mu\text{m}/\text{día}$ alimentados con *M. pyrifera* fresca (Viana *et al.*, 1993; Viana *et al.*, 1996). Así mismo, se han observado crecimientos de 43 $\mu\text{m}/\text{día}$ a 21.49 $\mu\text{m}/\text{día}$ en organismos alimentados con *Egrecia* spp. para *H. fulgens* y *H. corrugata* con *E. menziesii* respectivamente (Nelson *et al.*, 2002; Robles, 2003) y para *Haliotis cracherodii* con *Egrecia laevigata* (Leighton y Boolootian, 1963). La diferencia en las tasas de crecimiento entre los juveniles alimentados con las mismas dietas en diferentes estudios puede estar relacionado con diferencias en la composición química de la macroalga usada en cada ensayo experimental, el tamaño de los organismos y el diseño experimental (Ponce *et al.*, 2004). Sin embargo, a pesar de que las tasas de crecimiento obtenidas en este ensayo fueron bajas en comparación con otros estudios realizados, en general, la información obtenida muestra el valor nutritivo de algunas como *E. menziesii* con la cual se obtuvieron buenos resultados tal como los encontrados por Leighton y Peterson (1998) y Nelson y colaboradores (2002) y *P. perforata* para ser utilizadas como alimento alternativo a *M. pyrifera* para juveniles de abulón azul.

Para que el alimento consumido por los organismos sea aprovechado requiere de una buena digestión y absorción, en las que una mínima parte sea desechada y la mayor proporción provea la energía para su crecimiento y sobrevivencia. Al respecto, el abulón posee un sistema de digestión eficiente para degradar carbohidratos del tipo de

diversas fibras y polímeros como celulosa, agar, alginato, carragenano y almidón, con la ayuda de enzimas y bacterias digestivas endógenas (Oshima, 1931; Nakada & Sweeny, 1967; Leighton, 1998; Mody & Chauhan, 1993, Viana, 2002).

En el presente ensayo el consumo y aprovechamiento de macroalgas por los juveniles fue diferente, afectando su crecimiento. Los juveniles alimentados con *Ulva* sp. tuvieron, durante todos los períodos, el menor crecimiento, tasa de crecimiento en longitud y peso respecto de las otras dietas, de igual forma se obtuvo el menor consumo pero el mayor factor de conversión alimenticia, significando esto último que el poco alimento y poco nutritivo que los juveniles consumían no estaba siendo eficientemente aprovechado para el crecimiento, debido principalmente a la baja cantidad de proteína que contenía esta macroalga. El mayor crecimiento de los juveniles alimentados con *Ulva* sp. fué en el período de los 0-36 días, durante el período de aclimatación, disminuyendo posteriormente. Leighton y Boolotian (1963) mencionan que en general hay una relación entre la capacidad de una especie de alga para promover ganancia de peso acelerado y el factor de conversión alimenticia del abulón. Para el caso de los organismos alimentados con *E. arborea*, estos presentaron valores altos de consumo y factor de conversión alimenticia, reflejándose esto en un lento crecimiento en comparación con *M. pyrifera*, *E. menziesii* y *P. perforata*.

Se ha reportado que *Eisenia bicyclis* puede contener metabolitos secundarios como los bromofenoles, que tienen actividad antiherbívora y antibacterial (Freile, 2001), es decir que bromofenoles producidos por la macroalga hacen que esta no sea consumida por los organismos. Debido a que *E. arborea* presentó una buena cantidad de proteína (12.02%), pero produjo un crecimiento deficiente en los organismos alimentados con esta macroalga, se podría sugerir que quizás *E. arborea* contenía algún tipo de metabolitos, y que por lo tanto, afectaron la fisiología digestiva de los organismos alimentados con esta macroalga, repercutiendo en el crecimiento.

M. pyrifera y *E. menziesii* presentaron también altos valores de consumo y factor de conversión alimenticia menor que *Ulva* spp y *E. arborea*, coincidiendo con los mejores resultados de crecimiento, tanto para longitud como para peso, es decir el alimento consumido fue eficientemente utilizado para el crecimiento. No obstante los valores de FCA no son tan altos en comparación con los encontrados por Serviere y colaboradores

(2001) para *H. fulgens* alimentado con *Phyllospadix torreyi* (30%) y *M. pyrifera* (63%). Mercer y colaboradores (1993) encontraron un decremento en la tasa de consumo proporcional al incremento en el crecimiento. En nuestro ensayo se encontró un decremento en las tasas alimentación de *E. menziesii* y *P. perforata*, pero no en *M. pyrifera*. El consumo y el factor de conversión alimenticia de los organismos alimentados con *P. perforata* fue bajo, y con esta macroalga se obtuvieron buenos resultados de crecimiento, lo cual significa que el alimento fue digerido y asimilado por los organismos, y que con una cantidad mínima de alimento el abulón puede tener un buen crecimiento. Probablemente se deba a que su composición química podría cubrir los requerimientos nutricionales de los juveniles de abulón azul más adecuadamente que otras macroalgas.

El incremento en peso está relacionado con la calidad y cantidad del alga consumida por los organismos (Leighton y Boolootian, 1963). Shepherd y Steinberg (1992) mencionan tres factores que pueden afectar la aceptabilidad del alimento algal en la naturaleza por los organismos, los cuales son: la presencia de metabolitos químicos, la morfología algal y el valor nutricional. Entre las especies de macroalgas utilizadas como dietas, *M. pyrifera*, *E. menziesii*, *P. perforata* y *Ulva* sp. tienen un talo suave y *Eisenia arborea* presenta un talo rígido, lo cual puede hacerla menos palatable a los organismos. Sin embargo, el consumo fue mayor en *E. arborea* indicando que para este estudio la dureza del talo aparentemente no influyó negativamente en su consumo, por lo que los resultados de crecimiento pueden estar más relacionados con el valor nutricional de la macroalga, o con la producción de metabolitos secundarios como se mencionó anteriormente, y por lo tanto, verse afectado el proceso digestivo en los juveniles de abulón azul y por ende el crecimiento.

Ulva presentó un valor nutritivo bajo, dado que los organismos alimentados con esta especie tuvieron un bajo consumo y alto factor de conversión alimenticia, teniéndose que a pesar de que comían la macroalga no se nutrían, lo que hizo que los juveniles disminuyeran de peso y no crecieran. Esta condición se vió reflejada en los cortes histológicos para la determinación de los carbohidratos en la glándula digestiva, en donde se observó que el tejido estaba en proceso de necrosis.

Se han descrito algunas preferencias de alimentación de los abulones por algas feofitas, debido a que son generalmente las más abundantes en su hábitat (Dawson *et al.*, 1960; Leighton y Boolotian, 1963; Hirose, 1974; Uki *et al.*, 1986; Mai *et al.*, 1995, Serviere *et al.*, 1998). Así mismo, en diferentes estudios realizados los organismos alimentados con feófitas han dado mejores resultados de crecimiento que los organismos alimentados con algas rojas (Leighton y Boolotian, 1963; Hirose, 1974; Uki *et al.*, 1986; Mai *et al.*, 1995). Leighton (1966) encontró que los organismos pastoreadores de aguas poco profundas revelaban preferencias muy fuertes por *Egregia* sp. En lo que respecta a *Macrocystis pyrifera*, ha mostrado tener un mejor valor alimenticio que otras especies disponibles en las costas de Baja California Sur como *Eisenia arborea*, *Gelidium robustum*, *Phyllospadix torreyi* y *Laminaria farlowii* para *H. fulgens* (Leighton, 1966; Serviere *et al.*, 2001; Ponce *et al.*, 2004), por lo cual esta especie fue utilizada como dieta control, además por considerarse el principal alimento de las especies de abulón que se distribuyen en la Península de Baja California (Leighton y Boolotian, 1963; Leighton, 1966). En la costas de las Islas del Sur de Nueva Zelanda se han determinado también buenos resultados de crecimiento con especies de abulón como *H. iris* y *H. australis* alimentados con algas rojas abundantes en la flora local (Poore, 1972). Ello coincide con los resultados de crecimiento que obtuvimos en el presente trabajo con los juveniles alimentados con *Porphyra perforata*.

Se ha mencionado que los abulones tienen una preferencia de alimentación media por *Ulva* (Sakai, 1962; Kikuchi *et al.*, 1967; Paul *et al.*, 1976; Koliike *et al.*, 1979; Uki *et al.*, 1986; Mercer *et al.*, 1993). Sin embargo, para otras especies como para *H. tuberculata* y *H. discus hannai* la especie de *Ulva lactuca* y *Ulva* sp., respectivamente, han dado buenos resultados de crecimiento, pero cabe mencionar que estas especies presentaban altos valores de proteína (13.10%) (Uki y Watanabe, 1992, Mercer *et al.*, 1993). Sin embargo, para el presente estudio los resultados obtenidos de crecimiento de los juveniles alimentados con *Ulva* sp. se pueden atribuir a la baja cantidad de proteína que esta alga presentó en el análisis bromatológico, así como al bajo consumo y por lo tanto al bajo consumo de proteína.

Se observó que en los organismos alimentados con *E. menziesii*, el pie se veía más gordo que la concha y en los organismos alimentados con *Porphyra perforata* el pie era

más delgado y con concha más alargada. Uki y colaboradores (1981) mencionan que algunas especies de algas hacen que la concha crezca más rápido que el cuerpo del organismo, mientras que otras macroalgas hacen lo contrario, tal y como se observó en nuestros organismos. Esto es relevante ya que en sistemas de cultivo para engorda de organismos uno de los aspectos mas importantes es el peso del pie, por lo anterior y con base a los resultados de crecimiento obtenidos, se considera que *E. menziesii* es un buen alimento para los juveniles de abulón azul. Sin embargo, los resultados que menos variación tuvieron entre ellos en todos los parámetros de crecimiento evaluados (tasas de crecimiento, FCA, consumo) de los juveniles de abulón azul se presentaron en los juveniles alimentados con *Porphyra perforata*, por lo cual esta macroalga también puede ser considerada como un alimento alternativo a *M. pyrifera* para juveniles de abulón azul, ya que también aunado a esto, dio buenos resultados de crecimiento y para cualquier sistema de producción es importante contar con alimento que cubra los requerimientos nutricios (Viana, 2002).

En cuanto a la sobrevivencia de los juveniles de *H. fulgens* varió entre el 44% y 69% en un periodo de 136 días. La menor sobrevivencia se obtuvo en los organismos alimentados con *Ulva* sp., pero como se mencionó anteriormente, y en base a todos los parámetros evaluados, se debió a la mala calidad nutricional de esta macroalga. Durante el ensayo se tuvo un error técnico en el cual se quedó un acuario sin aeración por 24 horas de los organismos alimentados con *E. menziesii*, lo que originó una mortalidad masiva, y por lo cual se decidió concluir con el ensayo experimental a los 136 días. Sin embargo, de haber continuado el experimento se podría haber esperado que con esta macroalga se hubiera obtenido una sobrevivencia mayor al 76%, como el obtenido con *M. pyrifera*. En un estudio realizado por Serviere y colaboradores (2001) durante 106 días con *H. fulgens* alimentado con diferentes dietas, se obtuvo una sobrevivencia superior a 90% con todas las dietas utilizadas.

La composición química del tejido de los juveniles de abulón azul es afectado por las dietas proporcionadas (Nelson *et al.*, 2002). Los valores de proteína en la glándula digestiva de los juveniles de abulón azul en este ensayo se encontraron por debajo del

valor inicial de (184.31 mg/g) en todas las dietas (Tabla 13), en contraste con lo encontrado por Ponce y colaboradores (2004) donde los niveles más altos de proteína en la glándula digestiva de juveniles de *H. fulgens* alimentados con *M. pyrifera* fueron de 107.2 mg/g, mayores que su valor inicial de 88.7 mg/g. Estas diferencias pueden estar relacionadas con los patrones de temperatura de cada uno, ya que en este ensayo se mantuvo la temperatura constante 20 ± 1.1 °C y en el de Ponce y colaboradores (2004) se simularon durante el ensayo los patrones de temperatura registrados durante un año normal (18 °C a 21 °C) y un año “Niño” (20 °C a 28 °C).

Por ser herbívoros, los abulones en principio, deberían poder degradar carbohidratos estructurales, ya que se han identificado en extractos de contenido estomacal, la presencia de enzimas digestivas con características para hidrolizar alginatos, celulosa y agar (Oshima, 1931; Nakada y Sweeny, 1967; Mody y Chauhan, 1993). En este sentido, se encontró la concentración más alta de carbohidratos en la glándula digestiva para *Ulva* sp. seguida por *P. perforata*, y ambas macroalgas presentando diferencias significativas con el resto de las dietas, que tuvieron un valor más bajo que el inicial (Tabla 13). Mercer y colaboradores (1993) mencionan que se considera que los niveles de polisacáridos en la glándula digestiva pueden presentarse a partir de dos fuentes, una como algas ingeridas que reflejan la etapa de la digestión y la segunda por la deposición debido a condiciones patológicas. Para el caso de *Ulva* sp., y debido a los resultados de crecimiento obtenidos, se puede asumir que los altos niveles presentados se deben a condiciones patológicas debido a la desnutrición y adelgazamiento que presentaban los organismos alimentados con esta macroalga; mientras que para el caso de *P. perforata*, y con base a los resultados de crecimiento, se asume que la alta concentración de carbohidratos en la glándula digestiva es debido a la etapa de digestión en la cual se encontraba el organismo al momento del muestreo para la determinación de los mismos.

En cuanto a los lípidos, se observaron altas concentraciones de éstos en la glándula digestiva con las dietas proporcionadas, a diferencia del músculo en donde las concentraciones de estos fueron bajas y no hubo grandes variaciones entre las diferentes dietas. En las dietas que dieron los mejores resultados de crecimiento se encontraron los niveles más altos de almacenamiento de lípidos en la glándula

digestiva, sirviendo de tal forma como reservorio de ellos tal como lo menciona Mercer y colaboradores (1993) para *Haliotis discus hannai* y Nelson y colaboradores (2002) y Ponce y colaboradores (2004) para *Haliotis fulgens*. Estos autores concluyeron que el tejido del abulón en algunos casos refleja la composición de la dieta y que hay una acumulación y metabolismo de lípidos y que aunque la glándula digestiva sirve para almacenar, estos lípidos no son utilizados como fuente de energía principal sino como moléculas esenciales para el crecimiento y maduración gonádica. En el músculo del pie, los valores de proteína fueron superiores al valor inicial, encontrándose los valores más altos en *E. menziensis* y *Ulva* sp. El pie no solamente es el mayor reservorio de energía, sino también es donde más se consume debido al movimiento y a las propiedades de adhesión del organismo. Los aminoácidos libres, especialmente la taurina, juega un papel importante en la producción de energía rápida para la adhesión del organismo, mientras que la energía para la locomoción proviene principalmente de los carbohidratos (Gade, 1988; Sato et al., 1991). En cuanto a los niveles de carbohidratos encontrados en el músculo, los valores fueron relativamente más altos que en el valor inicial para aquellos organismos con los cuales se obtuvo un mejor crecimiento (*E. menziensis*, *M. pyrifera* y *P. perforata*), pero aún así nuestros resultados no reflejan que el músculo del pie funcione como lugar de almacenamiento de carbohidratos tal como fue encontrado para *H. cracheroidii* (Weber, 1970) o *H. fulgens* (Ponce et al., 2004).

Por medio del análisis histológico de la glándula digestiva se observó que presenta un típico arreglo glandular de absorción como en los gasterópodos marinos (Morton, 1983). Paniagua y Nistal (1991) mencionan que los túbulos digestivos están formados por células arraigadas en acinos con diferentes números y tipos de células, determinando que cada acino o tubo es una glándula tubular ramificada compuesta, en donde el epitelio de revestimiento es cilíndrico simple y muestra cuatro tipos celulares: 1) Células delgadas, basófilas secretoras. 2) Células de calcio, que excretan sales cálcicas a la luz intestinal. 3) Células digestivas con numerosos lisosomas que contienen sustancias absorbidas en degradación. 4) Células excretoras con una gran vacuola conteniendo cuerpos densos que son excretados a la luz, proviniendo posiblemente de las células digestivas. En el caso de los juveniles de abulón azul con la técnica de tinción de

Hematoxilina-Eosina se pudieron diferenciar las células del tipo 4 debido a la fase de digestión en la cual se encontraban los organismos. Con la técnica de azul alcian PAS para la determinación de mucopolisacáridos ácidos, se pudieron observar las células vacuolares con granulaciones citoplasmáticas del tipo 4, comprobando así la presencia de mucopolisacáridos ácidos lo cual indica síntesis y secreción de mucus, coincidiendo con la alta concentración de carbohidratos encontrada en los análisis químicos (Johnston *et al.*, 1993).

La ciencia, a pesar de sus progresos increíbles, no puede ni podrá nunca explicarlo todo. Cada vez ganará nuevas zonas a lo que hoy parece inexplicable. Pero las rayas fronterizas del saber, por muy lejos que se eleven, tendrán siempre delante un infinito mundo de misterio.

Gregorio Marañón

- La hipótesis planteada en el presente trabajo se rechaza, ya que las tasas promedio de crecimiento en talla y peso entre juveniles de abulón azul no fueron similares al ser alimentados con macroalgas con diferente composición química, mostrando que el abulón no es capaz de asimilar diferentes especies de macroalgas con la misma eficiencia.
- Se puede considerar a *Egrecgia menziensis* y *Porphyra perforata* como alimento de calidad nutricional alternativo a *Macrocystis pyrifera* para el abulón azul, ya que con estas tres macroalgas se obtuvo un buen crecimiento y sobrevivencia, así como también presentaron los mas altos valores de proteínas.
- *Eisenia arborea* no se recomienda para utilizarse como alternativa de alimento para juveniles de abulón azul debido al bajo crecimiento que se obtuvo con esta macroalga.
- Los organismos de abulón azul alimentados con *Ulva* sp. no mostraron crecimiento, posiblemente debido a la baja composición proteica de ésta, por lo cual no se considera un alimento de calidad para juveniles de abulón azul.
- La sobrevivencia de los juveniles de abulón azul fue diferente entre las distintas dietas utilizadas, siendo superior al 50%, excepto con *Ulva* sp.
- La glándula digestiva sirve como reservorio de lípidos y carbohidratos, tal como se ha encontrado para otras especies de abulón.

*“Lo que un hombre es capaz de imaginar, otros serán capaces de realizar”
John Fitzgerald Kennedy*

- Realizar ensayos experimentales con duración mayor a 6 meses con *Egregia menziensii* y *Porphyra perforata*, alternando su uso y en dietas mixtas.
- Llevar a cabo análisis químicos de diferentes partes del talo de las macroalgas *Egregia menziensii* y *Macrocystis pyrifera*, ya que se observó una preferencia de ramoneo de los areocistos por los juveniles de abulón azul y en base a los resultados llevar a cabo ensayos experimentales.
- Realizar estudios para conocer la capacidad enzimática digestiva de polisacáridos que tiene el abulón azul, debido a que estos componentes químicos son los mayores constituyentes de su alimento natural, y representan la principal fuente de energía metabólica (ATP) (Tacon, 1989).
- Realizar estudios histoenzimáticos simultáneos con ensayos experimentales de alimentación de abulón azul con la finalidad de identificar el sitio de la síntesis y determinación y secreción de enzimas digestivas encargadas de la digestión, absorción y excreción de los organismos, para comprender mejor su fisiología digestiva.
- Determinar los requerimientos nutricionales del abulón, con la finalidad de diseñar alimentos más eficientes.
- Llevar a cabo estudios de la flora microbiana y la posible participación en el proceso digestivo de los juveniles de abulón azul.
- Para futuros experimentos aumentar el numero de replicas de una mismas dieta.

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1980. Official methods of analysis. 13th edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C. 1108 pp.
- Arroyo, O. E. 1999. Efectos de los fenómenos "El Niño" y "La Niña" en el cultivo de abulón en la Isla de Todos Santos. Artículo de la gaceta electrónica del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada.
- Astudillo G., J. M. 1993. Aspectos reproductivos del abulón azul en tres zonas: La Bocana, San Juanico y la Poza, B.C.S. México en un ciclo anual. Tesis de Licenciatura. U.A.B.C.S. México. 71 pp.
- Barkai, R. y C.L. Griffiths. 1986. Diet of the south African abalone *Haliotis midae*. S. Afr. Journal Marine Science. 4:37-44.
- Barnes, H. y J. Blackstock. 1973. Estimation of lipids in marine animals and tissues: detailed investigation of the sulphophosphovanillin method to total lipids. Journal Experimental Marine Biology and Ecology. 12:103-118.
- Beninger, P.G. y M. Le Penec. 1991. Functional anatomy of scallops. En: Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture. Shumway, S.E. (ed.) Elsevier Holanda. 177-191 pp.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantation of micrograms quantities of proteing utilizing the principle of protein-die binding. Anales Biochemistry. 72:248-253.
- Britz, P.J. 1996a. Effect of dietary protein level on growth performance of south African abalone, *Haliotis midae*, fed fish meal-based semi-purified diets. Aquaculture. 140: 55-61.
- Britz, P.J. 1996b. The suitability of selected protein sources for inclusion in formulated diets for the south African abalone, *Haliotis midae*. Aquaculture. 140:63-73.
- Cifuentes, L. J. L., M. P. T. García y M. F. Mondragón.1997. El océano y sus recursos XI. Acuicultura. Fondo de Cultura Económica, SA. DE C. V. 160 pp.
- CONAPESCA. Anuario Estadístico de Pesca 2003. México, D.F. 135 pp.
-

-
- Corazani, D. y J. E. Illanes. 1998. Growth of juvenile abalone, *Haliotis discus hannai* Ino 1953 and *Haliotis rufescens* Swainson 1822, fed with different diets. Journal of Shellfish Research. 17:663-66.
- Cox, K. W. 1962. California abalones, family Haliotidae. Calif. Dept. Fish and Game. Fish Bulletin. 118(1):130.
- Culver, C. S. and J. B. Richards. 1991. Black abalone mortality. Summary of a workshop. Sea Grant Ext. Prog. Rep. No. T-CSGCP-024. 31pp.
- Davis, G. E., D. V. Richards, P. L. Haaker and D. O. Parker. 1994. Abalone population declines and fishery management in southern California. En: Shepherd, S .A., M. J. Tegner y S. A. Guzmán del Prío (Eds.). Abalone of the world, biology, fisheries and culture. Proceedings of the 1st International Symposium on Abalone. Fishing News Books. 237-249 pp.
- Dawson, E. Y., M. Neushul and R. D. Wildman. 1960. Seaweeds associated with kelp beds along southern California and northwestern Mexico. Pacific Nature. 1:3-61.
- Donval, A. H. 1984. Etude ultrastructurale et histoenzymologique de l'appareil digestif chez le juvénile de *Ruditapes philippinarum* (Adams et Reeve). Francia. Tesis de Doctorado. 112p.
- Durazo, B. E., J. F. Toro V., C. Vásquez P. y M. T. Viana. 2003a. Effect of the seaweed *Macrocystis pyrifera* and a formulated diet on growth and fatty acid composition in the green abalone, *Haliotis fulgens*, under commercial culture conditions. Ciencias Marinas. 29(4):645-654.
- Durazo, B. E., L. R. D'Abramo, J. F. Toro V., C. Vásquez P. and M. T. Viana. 2003b. Effect of triacylglycerols in formulated diets on growth and fatty acid composition in tissue of green abalone (*Haliotis fulgens*). Aquaculture. 224(1):257-270.
-

-
- Durazo, B. E., M. T. Viana, L. R. D'Abramo y J. F. Toro V. 2004. Effects of starvation and dietary lipid on the lipid and fatty acid composition of muscle tissue of juvenile green abalone (*Haliotis fulgens*). *Aquaculture*. 238:329-341.
- Farias, A., Z. García E. y M. T. Viana. 2003. Physiological energetic of the green abalone, *Haliotis fulgens*, fed a balanced diet. *Journal Experimental Marine Biology and Ecology*. 289(2):263-276.
- Fleming, A. E., R. J. Van Barnevel y P. W. Hone. 1996. The development of artificial diets for abalone: A review and future directions. *Aquaculture*. 140:5-53.
- Foale, S. y R. Day. 1992. Recognizability of algae ingested by abalone. *Aust. Journal Marine Freshwater Research*. 43:1331-1338.
- Freile, P. Y. 2001. Algas en la biotica. *Avance y Perspectiva*. 20:283-292.
- Gade, G. 1988. Energy metabolism during anoxia and recovery in shell adductor and foot muscle of the gastropod mollusk *Haliotis lamellose*: formation of the novel anaerobic end product tauropine. *Biology Bulletin*. 175:122-131.
- Galstoff, P. S. 1964. The American oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. *Fishery Bulletin of the Fish and Wildlife Service*. 64:480.
- García, C. F. L., M. A. Navarrete D. T. y E. Serviere Z. 2003. Digestive enzymes in juvenile green abalone, *Haliotis fulgens*, fed natural food. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*. 134(1):143-150.
- García, H. V. 1998. Distribución de macroalgas asociadas a bancos de abulón en Baja California Sur, México. México. Tesis Profesional. U.A.B.C.S. 129 pp.
- Gómez M. L., Z. García E., L. R. D'Abramo, A. Shimada, C. Vásquez P. y M. T. Viana. 2003. Effect of dietary protein: energy ratio on intake, growth and metabolism of juvenile green abalone *Haliotis fulgens*. *Aquaculture*. 220(1):769-780.
-

-
- Gordon H. R. y Cook, P. A. 2003. World abalone supply, markets and pricing: historical, current and future perspectives. 5th International Abalone Symposium, Qingdao, China.
- Guyton, A.C. 1983. Fisiología humana. Ed. Interamericana. México. 490 pp.
- Guzmán del Prío, S. A., S. De la Campa y J. Pineda. 1972. Flora macroscópica asociada a los bancos de abulón (*Haliotis* spp.) en algunas áreas de la costa occidental de Baja California. Memorias IV Congreso Nacional de Oceanografía. 257-263 pp.
- Guzmán del Prío, S. A., P. S. R. Mille, G. R. Guadarrá, G. S. de la Campa, L. J. Carrillo, C. A. Pereira, P. J. Belmar, A. M.J. Parra y G. A. C. Luque. 1991. La comunidad bentónica de los bancos de abulón (*Haliotis* spp. Mollusca: gastropoda) en Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. Anales Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Méx. 36:27-59.
- Guzmán del Prío, S. A. 1994. A review of the biology of abalone and its fishery in Mexico. En: Shepherd, S. A., M. J. Tegner y S. A. Guzmán del Prío (Eds.). Abalone of the world, biology, fisheries and culture. Proceedings of the 1st International Symposium on Abalone. Fishing News Books. 341-360 pp.
- Haug, A. y A. Jensen. 1954. Seasonal variations on the chemical composition of *Alaria esculenta*, *Laminaria saccharina*, *Laminaria hyperborea* and *Laminaria digitata* from northern Norway. Reports of the Norwegian Institute of Seaweed Research No. 4 pp.
- Hirose, T. 1974. On the growth of the abalone, *Haliotis discus hannai* Ino, specially concerned with the food consumption in nature. Bull. Tohoku Reg. Fisheries Research Lab. 33:87-94.
- Howard, W. D. 1983. Histological techniques for marine bivalve mollusks. NOAA. Technical memorandum. NMFS-F/NEC-25. Massachusetts. U.S.A. 97 pp.
- Humason, G. L. 1979. Animal tissue techniques. 4th edition. W.H. Freeman and Company. San Francisco California, U.S.A. 111-129 pp.

-
- Johnston, D. J., C. G. Alexander y D. Yellowlees. 1993. Histology, histochemistry and enzyme biochemistry of the digestive glands in the tropical surf barnacle *Tetraclita squamosa*. *Journal Marine Biology*. 73:1-14 pp.
- Kawamura, T., R. D. Roberts y H. Takami. 1998. A review of the feeding and growth of postlarval abalone. *Journal of Shellfish Research*. 17(3):615-625.
- Kikuchi, S., Y. Sakurai, M. Sasaki, y T. Ito. 1967. Food value of certain marine algae for the growth of the young abalone, *H. discus hannai*. *Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab.* 27:93-100.
- Knauer, J., P.J. Britz y T. Hecht. 1996. Comparative growth performance and digestive enzyme activity of juvenile south African abalone, *Haliotis midae*, fed on diatoms and a practical diet. *Aquaculture*. 140:75-85.
- Kolike, Y., Flassch y J. Mazurier. 1979. Biological and ecological studies on the propagation of the ormer *Haliotis tuberculata* Linnaeus. II. Influence of food and density on the growth of juveniles. *La Mer*. 17:43-45.
- Ladah L., J. A. Zertuche G. y G. Hernández C. 1999. Rapid recovery of giant kelp forest (*Macrocystis pyrifera*, Pheophyceae) at their southern limit in Baja California, during El Niño 1997-1998". *Journal of Phycology*. 35(6):1106-1112.
- Lee, R. E. 1989. *Phycology*. Cambridge University Press. USA. Second Edition. 645 pp.
- Leighton, D. y R. A. Boolootian. 1963. Diet and growth in the black abalone, *Haliotis cracherodii*. *Ecology*. 44(2):227-238.
- Leighton, D.L. 1966. Studies of food preference in algivorous invertebrates of southern California Kelp Beds. *Pacific Science*. 20:104-113.
- Leighton, D. L. y D. L. Peterson. 1998. The superiority of *Egregia* as a food in cultivation of the green abalone (*Haliotis fulgens*). *World Aquaculture Society and the National Shellfisheries*. 331 p.
-

-
- Leighton, D. L. 2000. The biology and culture of the California abalones. Dorrance Publishing Co., Pittsburgh, PA. 215 pp.
- Levring T, H. Hoppe y O. J. Schmid. 1969. Marine algae, a survey of research and utilization. Hamburg: Cram, de Gruyter and Co. 421pp.
- López, L. M., P. A. Tyler y M. T. Viana. 1998. The effect of temperature and artificial diets on growth rates of juvenile *Haliotis tuberculata* (Linnaeus, 1758). Journal of Shellfish Research. 17:657-662.
- Maeda M., A., F. Magallón B., C. Rodríguez J., A. Pérez S., H. Castro L. y M.R. Ramade V. 1994. Desarrollo científico y tecnológico del cultivo del abulón. Convenio SEPESCA-CINOR. Dirección General de Acuicultura, Secretaria de Pesca. 77 p.
- Mai, K., J. P. Mercer y J. Donlon. 1994. Comparative studies on the nutrition of two species of abalone, *Haliotis tuberculata* L. and *Haliotis discus hannai* Ino. II. Aminoacid composition of abalone and six species of macroalgae with an assessment of their nutritional value. Aquaculture. 128:115-130.
- Mai, K., J. P. Mercer y J. Donlon. 1996. Comparative studies on the nutrition of two species of abalone, *Haliotis tuberculata* L. and *Haliotis discus hannai* Ino. V. The role of polyunsaturated fatty acids of macroalgae in abalone nutrition. Aquaculture. 139:77-89.
- Mateus, H. 1986. Los abulones de México. Secretaría de Pesca. México. 38pp.
- McShane, P. E. 1992. Early life history of abalone: a review. En: S. A. Shepherd, M. J. Tegner y S. A. Guzmán del Prío (Eds.). Abalone of the world, biology, fisheries and culture. Proceedings of the 1st International Symposium on Abalone. Fishing News Books. 120-138 pp.
- Mercer, J. P., K. S. Mai y J. Donlon. 1993. Comparative studies on the nutrition of two species of abalone, *Haliotis tuberculata* Linnaeus and *Haliotis discus hannai* Ino.I. Effects of algal diet on growth and biochemical composition. Invertebrate Reproduction Development. 23:75-88.
-

-
- Mody, K. y V.D . Chauhan. 1993. Alginase from marine bacterium. *Botánica Marina*. 36:477-480.
- Monje, H. y M. T. Viana. 1998. The effect of cellulose on the growth and cellulolytic activity of abalone *Haliotis fulgens* when used an ingredient in formulated artificial diets. *Journal of Shellfish Research*. 17:667-671.
- Morton, B. 1983. Feeding in digestion in Gasteropoda En: Saleuddin, A. S. M. y K.M. Wilbur (Eds). *The Mollusca (Physiology, Part 2)*. Academic Press, USA. 325-329 pp.
- Morton, B. 1992. The evolution and success of the heteromyarian form in the myliitidae. En: Gosling, E. (Ed.). *The mussel mytilus: ecology, physiology, genetics and aquaculture*. Elsevier Holanda. 27-36 pp.
- Muñoz, L. T. 1976. Clave artificial. Diagnósis de las especies de híbridos de *Haliotis* spp. (Mollusca: gasteropoda) en Baja California, México Memorias del primer simposio nacional de recursos pesqueros masivos de México. Vol. Esp.Abulon/Langosta. 2:81-130.
- Nakada, I. H. y P. C. Sweeny. 1967. Alginic acid degradation by eliminases from abalone hepatopáncreas. *Journal Biology Chem*. 212:845-851.
- Nava G. R., C. Vasquez P. y M. T. Viana. 2004. Replacing kelp meal (*Macrocystis pyrifera*) with a winery by-product in a balanced diet for green abalone (*Haliotis fulgens*). *Ciencias Marinas*. 30(1b):227-234.
- Nelson M. M., D .L. Leighton, C. F. Phleger y P. D. Nichols. 2002. Comparation of growth and lipid composition in the green abalone *Haliotis fulgens*, provided specific macroalgal diets. *Comparative Biochemistry and Physsiology Part B*. 131:695-712.
- Norman, B. K., D. Burns, C. A. Cooke y A. Austin.1986. A simple technique for detection of feeding in newly metamorphosed abalone. *Aquaculture*. 51:313-317.
- Ortíz, Q. M. y G. León C. 1988. Recursos pesqueros de México y sus perspectivas, recurso abulón *Haliotis* spp. Los recursos pesqueros del país. SEPESCA, México INP. 11-55pp.
-

-
- Oshima, K. 1931. Digestive enzymes appeared in abalone viscera. J. Agric. Chem. 7:328-331.
- Paniagua, R. y M. Nistal. 1991. Introducción a la anatomía animal comparada. Manual Labor Universitaria. España. 437 pp.
- Paul, A. J., Paul, A. M., Hood, D. W. y Neve, R. A. 1976. Observations on food preferences, daily ration requirements and growth of *Haliotis kamtschatkana* Jonas in captivity. Veliger. 19:303-309.
- Picos, G., C., F. García C. y E. Serviere Z. 2000. Digestive proteases in juvenile Mexican green abalone, *Haliotis fulgens*. Aquaculture. 181:157-170.
- Ponce, D. G. 2003. Estudio de la cadena productiva del abulón. CONAPESCA-CIBNOR. México. 169p.
- Ponce, D. G., E. Serviere Z., I. S. Racotta, T. Reynoso G., A. Mazariegos V., P. Monsalvo S. y D. Lluch B. 2004. Growth and tissue biochemical composition of *Haliotis fulgens* at elevated temperatures in Baja California under two dried brown algal diets. Journal of Shellfish Research. 23(4):1051-1057.
- Poore, G. C. B. 1972. Ecology of New Zealand Abalones, *Haliotis* species (Mollusca: Gastropoda). N.Z. Journal of Marine and Freshwater Research. 6:11-22.
- Preece, M. A. y P. V. Mladenov. 1999. Growth and mortality of the New Zealand abalone *Haliotis iris* Martín 1784 cultured offshore structures and fed artificial diets. Aquaculture Research. 30:865-877.
- Ramade, V., M., D. B. Lluch C., S. E. Lluch C., S. Hernández V., A. Espinoza M. S y A. Vega. 1998. An evaluation of the annual quota mechanism as a management tool in the Mexican abalone fishery. Journal of Shellfish Research. 17:847-851.
- Rivero, L. E. y M. T. Viana. 1996. Effect of pH, water stability and toughness of artificial diets on the palability for juvenile abalone *Haliotis fulgens*. Aquaculture. 144:353- 362.
-

-
- Robles, H. C. R. 2003. Crecimiento de juveniles de abulón amarillo *Haliotis corrugata* (Wood, 1828) alimentados con cinco especies de macrofitas. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur, México. 50 p.
- Robles, P. J. M. 1970. Contribución al conocimiento de la biología pesquera del abulón en Baja California. Tesis Profesional. Univ. Aut. de Baja California. México.
- Roe, J. H., J. M. Bailey, R. R. Gray. y J. N. Robinson. 1961. Complete removal of glycogen from tissues by extraction with cold trichloroacetic acid Solution. The Journal of Biological Chemistry. 236(5):1244-1246.
- Sakai, S. 1962. Ecological studies on the abalone, *Haliotis discus hannai* Ino. I. Experimental studies on the food habit. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 28:766-779.
- Santelices, B. 1986. Uso y funciones ecológicas de las algas marinas bentónicas. Monografías Biológicas. Santiago, Chile. 4:308 pp.
- Sato, M., M. Takeuchi, N. Kano, E. Nagahisa e Y. Sato. 1991. Characterization and physiological role of tauroxine dehydrogenase and lactate dehydrogenase from muscle of abalone *Haliotis discus hannai*. Tohoku J. Arg.Resc. 41:83-95.
- Sawatpeera, S., E. S. Upatham, M. Kruatrachue, V. Ingsrisawang, Singhagraiwan, Y. P. Chitramvong y K. Parkpoomkamol. 1998. Determination of gut contents of thai abalone *Haliotis asinina* Linnaeus. Journal of Shellfish Research. 17:765-769.
- Serviere, Z., E., M. A. Navarrete d. T. y F. L. García C. 1997. Protein hydrolyzing enzymes in the digestive systems of the adult mexican blue abalone, *Haliotis fulgens* (Gastropod). Aquaculture. 157:323-332.
- Serviere, Z. E., D. Gómez y G. Ponce. 1998. The natural diet of the green abalone (*Haliotis fulgens* Philippi) in the southern part of its range, Baja California Sur, Mexico, assessed by an analysis of gut contents. Journal of Shellfish Research. 17:77- 782.
-

-
- Serviere, Z. E., A. Mazariegos V., G. Ponce D. y S. Montes M. 2001. Growth of juvenile abalone, *Haliotis fulgens* Philippi, fed different diets. *Journal of Shellfish Research*. 20(2):689-693.
- Serviere, Z. E., D. Gómez L., y G. Ponce D. 2002a. Gross chemical composition of three common macroalgae and a sea grass on the Pacific coast of Baja California, Mexico. *Hidrobiológica*. 12(2): 113-118.
- Serviere, Z. E., T. Reynoso G., G. Ponce D., A. Mazariegos, P. Monsalvo, C. Pérez, R. Robles y S. Guzmán del Prío. 2002b. Evaluación de macroalgas utilizadas como alimento en granjas de abulón en la Península de Baja California. Informe Final. Proyecto SIMAC99010700.
- Serviere, Z. E., V. C. García H. y D. A. Sequeiros B. 2003. Diversity and distribution of macroalgae associated with abalone (*Haliotis spp.*) habitats in Baja California Sur, Mexico. *Bulletin of Marine Science*. 72(3):725-739.
- Shepherd, S. A. and P. D. Steinberg. 1992. Food preferences of three Australian abalone species with a review of the algal food of abalone. En: Sheperd, S. A., M. J. Tegner y S.A. Guzmán del Prío (Eds.). *Abalone of the World: Biology, Fisheries and Culture*. 169-181 pp.
- Simpson, B. J. A. y P. A. Cook. 1998. Rotation diets: A method of improving growth of cultured abalone using natural algal diets. *Journal of Shellfish Research*. 17(3):635- 640.
- Sokal, R. R. y J. F. Rohlf. 1995. *Biometry. The principles and practice of statistics in biological research*. W.H. Freeman and Company, New York. 887 p.
- Spannhof L. 1966. *Histoquímica practica*. Ed, ACRIBIA. España.195 p.
- Stevenson, J. y A. Melville. 1999. Settlement and recruitment of the abalone *Haliotis cyclobates* Peron, 1816. *Mar. Fresh. Res.* 50:229-234.
-

-
- Tacon A. 1989. Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación. Programa cooperativo Gubernamental. GCP/RLA/102/ITA Proyecto Aquila II. Documento de campo No. 4 FAO-Italia. 592 pp.
- Tapia, L. A. 2004. Escasos abulones. *El Vigía*. 22:06:45 p.
- Tissot, B. N. 1990. El Niño responsible for decline of black abalone off southern California. *Hawaii Shell News*. 38(6):3-4.
- Tutschulte, T. y J. Conell. 1988. Feeding behavior and algal food of three species of abalone (*Haliotis*) in southern California. *Marine Ecology Progress Series*. 49:57-64.
- Uki, N. 1981. Food value of marine algae of order Laminariales for growth of abalone, *Haliotis discus hannai*. *Bull. Tohoku Reg. Fidh. Res. Lasb*. 42:19-27.
- Uki, N., M. Sugiera y T. Watanabe. 1986. Dietary value of seaweeds occurring on the Pacific Coast of Tohoku for growth of abalone *Haliotis discus hannai*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. 52(2):257-26.
- Uki, N. y Watanabe, T. 1992. Review of the nutritional requirements of abalone (*Haliotis* spp.) and development of more efficient diets. En: Shepherd, S. A., Tegner, M. J. Guzmán-del Proo, S. A. (Eds.), *Abalone of the World: Biology, Fisheries and Culture*. Fishing News Books, Oxford, 504-517 pp.
- Van Handel, E. 1965. Estimation of glycogen in small amounts of tissue. *Anal Biochem*. 11:256-265.
- Vega, V. A., G. León C. y M. Muciño D. 1994. Programa de investigación y desarrollo científico para el cultivo del abulón Volumen II. Secretaría de Pesca Convenio sepesca/CIB. México. 118 pp.
- Viana, M. T., L. M. López y A. Salas. 1993. Diet development for juvenile abalone *Haliotis fulgens*. Evaluation of two artificial diets and macroalgae. *Aquaculture*. 117:149-156.
-

-
- Viana, A. M. T., M. Cervantes T. y R. Solana-S. 1994. Attraction and palatability activities in juvenile abalone (*Haliotis fulgens*): nine ingredients used in artificial diets. *Aquaculture* 127:19-28.
- Viana, A. M. T., L. M. López, Z. García E. y E. Méndez. 1996. The use of silage made from fish and abalone viscera as an ingredient in abalone feed. *Aquaculture*. 140:87- 98.
- Viana, A. M. T., 2002. Avances en la nutrición, fisiología digestiva y metabolismo del abulón. En: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México. 592 pp.
- Weber, H. H. 1970. Changes in metabolite composition during the reproductive cycle of the abalone *Haliotis cracheroidii* (Gastropoda:Prosobranchiata). *Physiol. Zool.* 43:213-231.
- Wee, K. L., G. B. Maguire y S. M. Hindrum. 1992. Methodology for digestibility studies with abalone. I. Preliminary studies on the feeding and defecatory behaviour of blacklip abalone, *Haliotis rubra*, fed natural and artificial diets. En: Aller, G.L. y Dall, W. (Eds). *Proc. Aquaculture Nutrition Workshop Salamander Bay*. NSW Fisheries, Brackish Water Fish Vulture Research Station, Salamander Bay, Australia. 192-196.
- Wikipedia. 2005. "Haliotis." *Answers.com* GuruNet Corp. 29 Aug. 2005. <http://www.answers.com/topic/haliotis-1>

12.1. ANEXO 1. METODOLOGÍA DE LOS ANÁLISIS QUÍMICOS PROXIMALES

1.-DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA CRUDA

Algunos métodos fundamentan la determinación de proteínas en productos alimenticios en el hecho de que la proteína, en su mayor parte contiene nitrógeno, de tal manera que la determinación de nitrógeno total es muchas veces un estimado del contenido total de proteína (en la que se incluyen polipéptidos y aminoácidos). Por estos métodos se determina el nitrógeno total tanto orgánico (nitrógeno amino y amido) como nitrógeno no proteico (urea, quitina, etc.). Un ejemplo de estos métodos es el propuesto por Kjeldahl, el cual se basa en la completa conversión de todas las formas de nitrógeno a una sal inorgánica de amonio; de tal manera que el punto final del análisis involucra la determinación de este producto. Es el método más común y por lo tanto permite comparar fácilmente resultados con otros laboratorios.

El principio sobre el cual se basa esta determinación es en la consideración de que la mayoría de las proteínas tienen una cantidad aproximada del 16% de nitrógeno, y a partir de este porcentaje se puede obtener el factor "6.25", y al multiplicar dicho factor por la cantidad de nitrógeno obtenido nos indica el contenido de proteína de la muestra analizada.

$$\text{Factor} = \frac{100 \text{ g proteína}}{16 \text{ g de nitrógeno}} = 6.25$$

$$\% \text{ N}_2 \times \text{factor} = \% \text{ proteína cruda.}$$

1.1-Método Microkjeldahl-Tecator (Manual del usuario Tecator).

Materiales y reactivos:

Sistema de Digestión Tecator ^R (Mod. DS12, serie 959)	Sulfato ferroso amoniacal hexahidratado
Destilador automático Tecator ^R (Mod. 1030, serie 13363)	Catalizador (Kjeltabs K ₂ SO ₄ y CuSO ₄)

Baño de agua refrigerado (Sistema de enfriamiento)	Ácido sulfúrico concentrado
Papel encerado para pesar (VWR)	Ácido bórico 1 %
Balanza analítica	Rojo de metilo
Tubos de digestión Tecator	Verde de bromocresol
Pipeta de repetición Eppendorf	Agua destilada
Punta para pipeta Eppendorf de 50 ml	Hidróxido de sodio 40%
Vaso de precipitado 100 ml	Ácido clorhídrico 0.05 N
Bomba de vacío	Metanol
Campana de extracción de humos	Algodón

Procedimiento:

a) Digestión

1. Prender el sistema de digestión TECATOR^R (Mod. DS12, serie 959), el destilador automático TECATOR^R (Mod. 1030, serie 13363) y el sistema de enfriamiento del destilador.
2. Pesar de 0.05 g a 0.1 g de muestra y colocarla en los tubos de digestión Kjeldahl, secos y limpios.
3. Pesar aprox. 0.1 g de sulfato ferroso amoniacal, cuyo contenido de nitrógeno es conocido, para usarlo como estándar y colocarlo en otro tubo de digestión. Colocarlo en un tubo independiente.

Nota: Los tubos a utilizar deberán estar previamente enjuagados con agua destilada y puestos a secar en la estufa, de no haber sucedido así, se recomienda hacerlo.

4. Adicionar a cada uno de los tubos 1.6 g de catalizador (Special Kjeltabs C 3-5).
 5. Añadir 3 mL de ácido sulfúrico concentrado a cada uno de los tubos.
 6. Una vez que el digestor alcanzó los 400°C aprox., meter los 12 tubos con muestra a
-

digerir colocando la tapa de succión sobre la boca de los tubos y prender la bomba de succión.

NOTA: Mantener el flujo máximo de succión por 5 min. Una vez transcurrido este tiempo ajustar la intensidad de succión de manera tal que la nube de condensación del ácido permanezca o se mantenga más o menos a 3/4 de la altura del tubo.

7. Una vez que la muestra se torna verde cristalina indicará que la digestión ha terminado.

NOTA: El tiempo en que esto suceda dependerá de la cantidad de proteína que contenga la muestra, por lo que se recomienda estar al pendiente, ya que un exceso en el tiempo de digestión puede ocasionar pérdida de nitrógeno.

8. Retirar los tubos del digestor y dejar enfriar las muestras con la tapa de succión aún puesta.

9. Una vez que las muestras se han enfriado a temperatura ambiente, agregarles 10 mL de agua destilada y colocar la tapa de succión sobre el baño de agua tibia o caliente y una succión máxima, esto con el fin de lavar el sistema de succión. Una vez hecho lo anterior, se apaga la bomba de succión.

b) Destilación

1. Verificar que todos los recipientes periféricos del destilador automático Tecator^R (Mod. 1030, serie 13363) contengan sus respectivas soluciones (agua destilada, solución receptora, álcali y ácido para titulación) en cantidad suficiente. En caso de detectar algún faltante, preparar el reactivo.

2. En la posición **HELP** lavar el sistema por medio de la inyección de vapor siguiendo los siguientes pasos:

a) Colocar un tubo de digestión con aprox. 10 mL de agua destilada en la posición de destilación con la puerta de seguridad cerrada y con el aparato en la posición **HELP**. Poner el switch de **STEAM** en la posición de encendido (**STEAM**) por 5 minutos aproximadamente. Una vez pasado este tiempo, volver el switch a la posición **OFF**, y entonces retirar el tubo para cambiar el agua. Repetir esta operación hasta que el agua del tubo de destilación sea clara.

b) Verificar que la bureta de titulación no contenga burbujas, en caso de contenerlas, sacarlas operando la bureta con el switch **TITRANT** (lo cual se logrará desalojando aprox. 1/8 del volumen de la bureta y volviéndola a llenar).

Nota: Cuando la puerta de seguridad se encuentra arriba, la dirección de inyección o succión de la bureta esta dirigida hacia el recipiente contenedor de HCl; cuando la puerta esta cerrada entonces se dirige hacia el vaso (cristal) de recepción.

c) Siguiendo en la posición **HELP** inyectar solución receptora repetidas veces hasta que ésta presente un color rojo-vino.

3. Una vez verificado todo lo anterior, colocar el aparato en la posición **AUTO** para de esta manera empezar con la destilación.

4. Destilar en primer lugar un blanco (10 mL de agua destilada), y en caso de que la lectura sea muy alta (mayor a 0.05) correr otros blancos hasta que esta lectura disminuya y se mantenga constante.

Nota: Debido a que el contenido en nitrógeno en el agua destilada dependerá de su origen, se recomienda obtener un valor medio del mismo para tomarlo como valor de referencia del blanco.

5. Continuar con el estándar (sulfato ferroso amoniacal) y después con las muestras problema.

6. Una vez que se han finalizado las determinaciones, apagar el aparato y lavarlo según el manual del destilador.

Nota: Una vez lavado el aparato, llenar con agua destilada el recipiente receptor de titulación. Ante cualquier duda consulte al encargado del laboratorio.

Cálculos:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(V_1 - V_0) \times 0.05 \times 0.014 \times 100}{\text{gr. muestra}}$$

donde:

V_1 = Mililitros de HCl gastados en la titulación de la muestra

V_0 = Mililitros de HCl gastados en la titulación del blanco

N = Normalidad del HCl

g = Peso de la muestra en gramos

0.014 = Miliequivalentes del HCl

$$\% \text{ Proteína cruda} = (\% N) \times \text{Factor } 6.25 \text{ (generalmente)}$$

2.-DETERMINACIÓN DE CENIZAS

Se denomina ceniza al residuo fijo, seco que queda después de calentar una muestra biológica a 550°C en mufla. La fracción de ceniza representa el material mineral contenido en el material biológico. Durante la incineración se eliminan, por combustión, todas las sustancias orgánicas contenidas en el alimento, y al final queda un material de coloración gris o blanca, dependiendo de la naturaleza de la muestra.

Incineración en mufla

Materiales y reactivos:

Cápsula o crisol de porcelana	Sílica-gel
Balanza analítica	Etanol
Mechero Bunsen ó Parrilla de calentamiento	Glicerol
Estufa Thermolyne serie 9000	
Desecador	
Baño María	
Campana de extracción de humos	

Procedimiento:

1. Pesar 5 g de muestra sólida (puede utilizarse el material residual de la determinación de humedad) y colocarla en una cápsula de porcelana previamente puesta a peso constante a 500°C.
2. Carbonizar gradualmente la muestra sobre llama de mechero Bunsen o parrilla de calentamiento, hasta obtener una masa carbonizada.
3. Incinerar en mufla a 550-570°C (Para quemar completamente al carbón) durante 24 hr.
4. Retirar la cápsula, colocarla durante 30 minutos en la estufa a 100°C y luego enfriar en un desecador durante 30 minutos.
5. Pesar.

Cálculos:

$$\text{Cenizas} = \frac{\text{Peso crisol con cenizas} - \text{Peso crisol vacío}}{\text{Peso muestra}} \times 100$$

3.-DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA

Varias técnicas químicas están disponibles para la estimación de carbohidratos en alimentos vegetales y animales. El método más comúnmente empleado divide a los carbohidratos en dos fracciones, fibra cruda y extracto libre de nitrógeno (ELN). La fibra cruda es el residuo orgánico insoluble, remanente después de extraer un material libre de grasa con ácido y álcali diluidos, bajo condiciones controladas. La fibra cruda es generalmente considerada como el componente carbohidrato no digerible de un determinado ingrediente o dieta. Entre los alimentos de origen vegetal, la fibra cruda se compone principalmente de varias porciones de celulosa, hemicelulosa y lignina (esta última no es un carbohidrato, sino un compuesto aromático complejo), mientras que en productos animales, la fibra cruda se compone de varias proporciones de glucanos, mananos y aminoazúcares.

Hidrólisis sucesiva

Materiales y reactivos:

Sistema de extracción para fibra	Ac. sulfúrico al 1.25%
FIBERTEC M6	Octanol
Crisoles de vidrio 30 mL.	Agua destilada
Bomba de vacío	Hidróxido de sodio 1.25%
Placa de calentamiento	Vaso de precipitado 600 mL.
Bomba manual para lavados	Alcohol etílico
Estufa Thermolyne Serie 9000	
Mufla	

Procedimiento:

1. Pesar 2 g de muestra, previamente desengrasada, en el crisol de extracción. Se puede utilizar lo que queda después de desengrasar la muestra en el Soxhlet.
2. Colocar con cuidado los crisoles en el equipo FIBERTEC bajar la palanca para embonar los crisoles con el refrigerante y colocar cada una de las palancas individuales en **CLOSED**

3. Calentar a ebullición el H_2SO_4 al 1.25 % (0.255 N) y agregarle con ayuda del embudo 150 mL a cada crisol y 5 gotas de octanol (antiespumante).

4. Prender el equipo y colocar la perilla de control de temperatura en **6**. Verificar que este conectada la bomba de recirculación de agua. Cuando este hirviendo se baja la perilla de control de temperatura a **4** y dejar hervir por 30 minutos.

5. Bajar la temperatura a cero (0) conectar la bomba de vacío y colocar la primera palanca en **Filtrado**. Inmediatamente iniciar el filtrado con el primer crisol y así continuar con el siguiente hasta completar los 6 crisoles.

6. Enjuagar ahí mismo con agua destilada caliente, hacer 3 lavados con 50 mL de agua cada lavado, con la bomba manual se toman los 50 mL y se adicionan en cada crisol, se conecta la bomba de vacío y se filtra. Este paso se repite 3 veces hasta completar los lavados.

7. Calentar a ebullición el NaOH 1.25 % (0.255 N) y agregarle, con ayuda del embudo, 150 mL a cada crisol y 5 gotas de octanol (antiespumante). Se repite lo señalado en los pasos 4, 5 y 6.

8. Posteriormente a los lavados con agua destilada hirviendo, se hace un lavado con 50 mL. de alcohol, se conecta la bomba de vacío y se filtra.

9. Se apaga el equipo las palancas se regresan a **REST**. Se coloca la base de crisoles y se levanta la palanca para separar los crisoles del equipo.

10. Se ponen los crisoles a secar en la estufa a 130°C por 2 horas.

11. Se dejan enfriar 20 minutos en el desecador, y se pesan los crisoles.

12. Se ponen los crisoles en la mufla a 520°C por 30 min.

13. Se pasan los crisoles a la estufa a 130° C por 20 min.

14. Se dejan enfriar 20 minutos en el desecador, y se pesan los crisoles.

Cálculos:

$$\% \text{ Fibra Cruda} = \frac{(Pcs - Pcc)}{m} \times 100$$

% Fibra cruda = a

Pcs = Peso en gramos del crisol a 130°C

Pcc = Peso en gramos del crisol más cenizas

M = Peso en gramos de la muestra

Nota: **Para conocer el valor real del % de fibra cruda en la muestra es necesario conocer:**

% lípidos de la muestra

% humedad de la muestra,

Se suman estos valores, se hace una diferencia a 100, y este se toma como valor "B" para hacer la corrección mediante una ecuación comúnmente llamada regla de 3.

A ----- 100

x ----- B

x= valor corregido de fibra cruda

4.-DETERMINACIÓN DE LÍPIDOS (extracto etéreo)

Los lípidos, también conocidos como "grasas". Son un grupo muy grande de compuestos orgánicos que tienen la característica, entre otras, de ser muy solubles en solventes no polares, tales como éter, benceno, cloroformo, acetona, hexano, etc., e insolubles en agua.

No hay reacción química específica alguna para todo el grupo de los lípidos, por lo que la forma más común de determinarlos consiste en extraerlos cuantitativamente del material en que se encuentran, y precisamente como vehículo extractor se emplea a solventes no polares.

El contenido de lípidos en los ingredientes alimenticios es usualmente determinado por extracción con solventes como éter de petróleo (AOAC, 1980; MAFF, 1981). Otros solventes que también han sido usados en la extracción de lípidos incluyen cloroformo:metanol (Bligh y Dyer, 1959; Folch et al., 1957).

4.1 Método de SOXHLET Avanti

Este método consiste en un aparato de reflujo, el cual consta de refrigerante, además de un depósito (dentro del cual se coloca la muestra dentro de un dedal de celulosa), y de vasos de aluminio donde se recolectan los lípidos extraídos. El sistema está montado sobre una parrilla de calentamiento, lo que permite que el solvente en el vaso se evapore, mismo que se condensa al pasar por el refrigerante y cae sobre la muestra en el depósito, y una vez que el nivel del éter llega a su punto máximo el depósito se vacía hacia el vaso, con lo que inicia otro ciclo de extracción, mismo que se repite hasta el final del tiempo determinado. La eficiencia de este método depende del pretratamiento de la muestra y la selección del disolvente.

Materiales y reactivos:

Balanza analítica

Eter de petróleo

Pinzas

Papel filtro Whatman No. 1 (Cat. No.

1001 110)

Desecador Nalgene

Estufa Thermolyne

Cartucho de celulosa Whatman (Cat. No. 2800258)

Campana extracción de humos

Placas de cristalización

Aparato SOXTEC Avanti

Procedimiento:

1. Antes de iniciar primeramente se abre la llave del agua.
2. Se enciende el panel de control e inmediatamente el programador (el equipo dará una lectura que corresponde al último programa que se utilizó, si se desea cambiar el programa oprimimos la tecla (+) o (-) según se requiera.
3. Seleccionamos nuestro programa.
4. Previamente se tienen a peso constante los vasos de aluminio que se requieren para la determinación.
5. Manejando el cartucho con pinzas, se pesa la muestra utilizando balanza analítica. Tomas cada cartucho y lo colocas en la gradilla, colocándolos manualmente en el aparato.
6. Se suben dentro del aparato oprimiendo la tecla de flechas.
7. Utilizando pinzas o guantes se colocan los vasos de aluminio con 80 ml. de éter de petróleo.
8. Se oprime la tecla de temperatura y cuando se iguala la temperatura de la parrilla con la del programa elegido, se oprime la tecla de inicio.
9. En este momento se inicia el programa que tiene una duración de 70 min. Que se dividen en 15 minutos de inmersión, 40 minutos de goteo del solvente, 10 de recuperación del solvente, y 5 minutos de presecado.

10. En este momento que termina el programa la pantalla del master control vuelve a inicio.

11. Se oprime la tecla de flechas para subir los cartuchos.

12. Se retiran los vasos del equipo y se colocan en la campana durante 5 /10 minutos (con la finalidad de que se evapore el solvente remanente).

13. Se oprime la tecla de flechas para bajar los cartuchos y se colocan en la gradilla para ponerlos a secar a 103° C / 1 hr.

14. Se toman con pinzas cada uno de los vasos y se ponen en la estufa a 103 °C / 2 hrs. Utilizando pinzas se sacan los vasos de la estufa y se colocan en el desecador 30 minutos para que enfríen.

15. Se pesan.

16. Por diferencia de peso y aplicando la fórmula encontramos el porcentaje de lípidos que tiene la muestra.

Nota: Esto en caso de que esta misma muestra se utilice también para determinar fibra cruda, en caso de no ser así, se puede trabajar hasta con 0.5 g de muestra.

Cálculos:

Extracto etéreo = $\frac{\text{Peso del vaso} + \text{lípidos extraídos} - \text{Peso del vaso vacío}}{\text{gr. de muestra}} \times 100$

gr. de muestra

5.-EXTRACTO LIBRE DE NITRÓGENO

El extracto libre de nitrógeno (E.L.N.) es una medida indirecta de los carbohidratos "solubles" o "digeribles" presentes en el alimento. Se obtiene mediante la sumatoria de los valores porcentuales determinados para la humedad, proteína cruda, lípidos (extracto etéreo), fibra cruda y ceniza, y substrayendo el total de 100. Es necesario hacer notar que la inclusión o no en esta sumatoria del porcentaje de humedad, dependerá de como se quiere expresar el resultado, esto es, si se quiere expresar el ELN en base seca no se tomará en cuenta a la humedad, y los porcentajes de proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda y cenizas, deberán estar también expresados en base seca.

En alimentos basados en vegetales, esta fracción se compone principalmente de azúcares libres, almidón y otros carbohidratos digeribles.

Cálculos:

$$\text{E.L.N.} = 100 - (\% \text{ Proteína} + \% \text{ Extracto etéreo} + \% \text{ Fibra cruda} + \% \text{ Cenizas})$$

6.-DETERMINACIÓN DE HUMEDAD.

Todos los alimentos, incluyendo los deshidratados, contienen cierta cantidad de agua, de ahí la importancia de determinar con precisión en qué cantidad se encuentra presente, ya que el agua es un factor determinante en la inhibición o propagación de las diferentes reacciones químicas, enzimáticas o microbiológicas que pueden aumentar o reducir el valor nutritivo y la calidad de los alimentos (Badui, 1986).

Para determinar humedad se utilizo el método de perdida de peso, que es el más usado.

Método de pérdida de peso

Materiales y reactivos:

Cápsula o crisol de porcelana

Sílica-gel

Balanza analítica

Estufa Thermolyne Serie 9000

Desecador Nalgene
Campana de extracción de humos
Pinzas para crisol

Procedimiento:

1. Se pesó con exactitud 2 gr de muestra en una cápsula ó crisol de porcelana, previamente puesta a peso constante, extendiendo la muestra en una capa lo más fina posible sobre la base de la cápsula ó crisol.
2. Se colocó la cápsula y su contenido en una estufa a 70°C y se desecó durante 24 hrs.
3. Se retiró la cápsula de la estufa y se dejó enfriar en un desecador durante 30 minutos.
4. Se pesó la muestra seca en una balanza analítica.
5. Se colocó la cápsula en la estufa por 1 hora aprox. a 70°C y se desecó por 30 minutos.
6. se pesó, y repitió el paso anterior hasta obtener un peso constante.

Cálculos:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Peso crisol + muestra húmeda} - \text{Peso crisol + muestra seca}}{\text{Peso muestra húmeda}} \times 100$$

12.2. ANEXO 2. INFORMACION COMPLEMENTARIA DE LA TABLA 4

Información complementaria de la Tabla 4 sobre tipos de azúcares y enlaces de los polímeros alimentarios, de las macroalgas utilizadas para alimentar a los juveniles de *H. fulgens* (Dawes, 1998).

ESPECIE	POLIMEROS ALIMENTARIOS					
	Estructurales (Pared)	Tipo de azúcar	Tipo de enlace	De reserva (Citoplasmáticos)	Tipo de azúcar	Tipo de enlace
<i>Ulva</i> sp.	Celulosa	Glucosa	(1 β →4)	Almidón	Amilosa	α -D-glucopiranososa, enlaces (1 α →4)
					Amilopectina	α -D-glucopiranososa. Uniones (1 α →4) y uniones (1 α →6).
<i>Eisenia arborea</i>	Acido algínico	ácido β -D-manurónico (M) y ácido α -L-gulurónico (G).	Secuencias MM , MG , enlaces glucosídicos β (1-4); bloques GG , GM , enlaces glucosídicos α (1-4).	Laminaran	Glucano	β (1→3) y enlaces de cadena lateral β (1→6)
<i>Macrocystis pyrifera</i>	Acido algínico	ácido β -D-manurónico (M) y ácido α -L-gulurónico (G).	Secuencias MM , MG , enlaces glucosídicos β (1-4); bloques GG , GM , enlaces glucosídicos α (1-4).	Laminaran	Glucano	β (1→3) y enlaces de cadena lateral β (1→6)
<i>Egregia menziesii</i>	Acido algínico	ácido β -D-manurónico (M) y ácido α -L-gulurónico (G).	Secuencias MM , MG , enlaces glucosídicos β (1-4); bloques GG , GM , enlaces glucosídicos α (1-4).	Laminaran	Glucano	β (1→3) y enlaces de cadena lateral β (1→6)
<i>Porphyra perforata</i>	Agar	Galactosa	Enlaces ,1,3 y β 1,4 D-galactosa y 3,6 anhidro-L-galactosa	Almidón florideo	Glucano Insoluble	α (1→4) cadenas laterales β (1→6)
	Xylanos	D-xilosa	β -D-xilopiranosas mediante enlaces (1 β →4)			

12.3. ANEXO 3. TÉCNICA HISTOLÓGICA (Humason, 1979)

Antes de iniciar la deshidratación con alcohol etílico los organismos deben ser enjuagados con agua corriente durante 45 min.

A.-- Deshidratación

Alcohol 50 %	45 min.
Alcohol 60 %	45 min.
Alcohol 70 %	45 min.
Alcohol 80 %	45 min.
Alcohol 90 %	45 min.
Alcohol 90 %	45 min.
Alcohol 100 %	45 min.
Alcohol 100 %	45 min.

B.-Aclarado

Alcohol-Xilol	30 min.
Xilol	15 min.
Xilol-parafina	45 min.

C.- Inclusión en parafina de 57° C de fusión

parafina I	45 min.
parafina II	45 min.
parafina III	45 min.

D.- Los fragmentos de tejido se colocan en cubos de parafina 54-58° C

A los cubos de parafina conteniendo la glándula digestiva se le realizaron cortes histológicos en un micrótopo de rotación Reichert-Jung 2040 con un grosor de 5 a 7 micrómetros, estos cortes se colocaron en un baño María con gelatina a una temperatura de 54°C, colocándolos posteriormente en los porta objetos cuidando de

que no quedaran burbujas sobre el tejido. Se obtuvieron 4 porta objetos con muestra de la glándula digestiva y aproximadamente de 2 a 3 cortes por porta objeto.

2.-TÉCNICAS DE TINCIÓN

Para evidenciar los tejidos se utilizó la técnica de tinción general de Hematoxilina-Eosina y para la determinación de mucopolisacáridos ácidos el método de Azul Alciano-Schiff para carbohidratos (Ortíz, H. 1996).

2.1.- TINCIÓN HEMATOXILINA-EOSINA (Humason, 1979).

Este es un método de tinción general con coloraciones ácido-básicas, por lo que los componentes ácidos tienen una afinidad con la Eosina y se tiñen de rosa a rojo, los componentes básicos se tiñen de azul a morado.

1.- Desparafinación de los cortes de uso.

Xilol I	5 min.
Xilol II	5 min.
Xilol III	5 min.

2.- Aclarado

Carbol/xilol/Creosota (CXC)	3 min.
-----------------------------	--------

3.- Hidratación

Alcohol 96 %	2 min.
Alcohol 96 %	2 min.
Alcohol 70 %	2 min.
Alcohol 70 %	2 min.
Lavado en agua destilada	5 min.

4.-Tinción

Hematoxilina de Harris	1.5 min.
Agua destilada	5 min.
Alcohol ácido durante 30 segundos para quitar el exceso de colorante	
Agua-amoniacal durante 30 segundos para virar el color	
Lavado en agua	5 min.
Eosina	1-2 min.

5.- Deshidratación

Alcohol 96 %	2 min.
Alcohol 96 %	2 min.
Alcohol 100 %	2 min.
Alcohol 100 %	2 min.

6.- Aclaramiento

Xilol I final	5 min.
Xilol II final	5 min.
Xilol III final	5 min.

Montar con resina sintética

2.2.- TÉCNICA DE TINCIÓN AZUL ALCIANO- SCHIFF (Ortíz, 1996).

Este método de tinción es específico para carbohidratos, los mucopolisacáridos ácidos se tiñen de color azul, los mucopolisacáridos neutros se tiñen de color magenta y las mucinas epiteliales se tiñen de púrpura a azul oscuro.

1.- Desparafinar

Xilol I	5 min.
Xilol II	5 min.
Xilol III	5 min.

2.- Teñir con azul alciano durante 3 min.

-
- 3.- Lavar en agua destilada durante 3 min.
 - 4.- Acido periódico por 15 min.
 - 5.- Lavar en agua corriente por 5 minutos y enjuagar con agua destilada
 - 6.- Colocar en el reactivo de Schiff 45 minutos- 2 h. en el refrigerador
 - 7.- Enjuagar en agua sulfurosa 3 cambios de 3 min.
 - 8.- Lavar con agua corriente durante 5 min.
 - 9.- Teñir con hematoxilina férrica de Weigert por 5 min.
 - 10.- Enjuagar en agua destilada 2 min.
 - 11.- Acido pícrico 1 min.
 - 12.- Alcohol del 96% 2 cambios de 2 min.
 - 13.- Alcohol absoluto 2 cambios de 2 min.
 - 14.-Xilol 2 cambios de 5 min.
 - 15.- Montar en resina.

Una vez teñidos los cortes se montaran con resina sintética o en gelatina glicerinada dejándose secar para después limpiarlos y facilitar la observación en un microscopio compuesto.

Las laminillas se analizaron al microscopio para hacer las descripciones.

Posteriormente se tomaron las microfotografías necesarias para la representación de la composición histoquímica observada.

BIBLIOGRAFÍA.

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1980. Official methods of analysis, 13th edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., 1108 p.
 - Análisis fisicoquímico de alimentos. Curso Teórico-Práctico. Programa Universitario de Alimentos. UNAM. 1 al 3 Julio, 1992.
-

-
- Badui, D.S. 1986. Química de los alimentos. Editorial Alambra Mexicana, S.A. Primera impresión 1981. 430 p.
 - Dawes, C.J. 1998. Marine Botany. Second Edition. John Wiley and Sons Publ. New York. 480 pp.
 - Tacon A. 1989. Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación. Programa cooperativo Gubernamental. GCP/RLA/102/ITA Proyecto Aquila II. Documento de campo No. 4 FAO-Italia.
 - Tejada H. Irma, H. Merino, 1971. Composición química de rocas fosfóricas de México y su utilización como fuente de minerales en Nutrición Animal. Téc. Pec. Méx. 15-16:21.
 - Tejada H. Irma, 1985. Manual de Laboratorio para Análisis de Ingredientes Utilizados en la Alimentación Animal. Patronato de Apoyo a la Investigación y Experimentación Pecuaria en México, A.C.