

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS

EFECTO DEL pH EN LA GUSTOCIDAD DE ABULONES JUVENILES
Haliotis fulgens (Phillips, 1845)

TESIS

Que como requisito para
obtener el título de

OCEANÓLOGO

presenta:

LUIS ENRIQUE RIVERO

Ensenada, B.C., Agosto de 1995

EFFECTO DEL pH EN LA GUSTOCIDAD DE ABULONES JUVENILES


Haliotis fulgens (PHILLIPS, 1845).

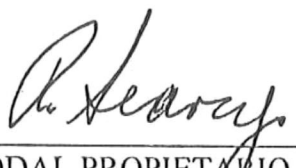
TESIS

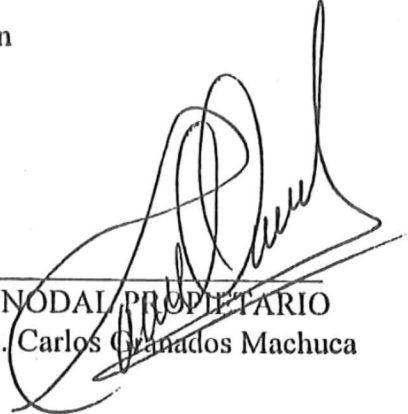
QUE PRESENTA:

LUIS ENRIQUE RIVERO

APROBADA POR:


PRESIDENTE DEL JURADO
Dra. María Teresa Viana Castrillón


SINODAL PROPIETARIO
M.C. Ricardo Searcy Bernal


SINODAL PROPIETARIO
Oc. Carlos Granados Machuca

RESUMEN

Se determinaron las preferencias específicas que tiene el abulón juvenil *Haliotis fulgens* hacia una dieta artificial elaborada con ensilaje de abulón a diferentes valores de pH (4, 5, 6, 7 y 8). El alimento consistente en "galletas" con diferentes pH's fue ofrecido a los abulones registrando el consumo después de 12 h. Se realizó una ANOVA de dos vías en la que se observó que no existieron diferencias significativas entre los 4 bloques de experimentación, ni tampoco existió interacción entre el pH y los bloques, encontrándose diferencias significativas solamente en el pH. El máximo consumo se obtuvo a pH 6 y 8 no existiendo diferencias significativas entre estos de acuerdo al análisis de Kruskal-Wallis, mientras que el menor consumo se presentó en el pH 5, seguido del 7. La correlación entre el consumo-pH fue de $r = 0.49$. Al analizar la textura y porcentaje de pérdida del alimento balanceado con respecto al consumo a diferentes pH's se obtuvo una correlación mayor ($r = 0.69$ y 0.74 respectivamente), por lo que se concluyó que el pH no fue el factor más importante en la gustocidad por el alimento.

DEDICATORIAS

A mi madre:

Gracias por todo el amor y apoyo que me has dado y sobre todo por ayudarme a realizar mi sueño.

Tito, Jesús y Carmen

Gracias por su cariño, apoyo y buen ejemplo.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Baja California, y al Instituto de investigaciones Oceanológicas por el material proporcionado y por las instalaciones existentes que permitieron que se llevara a cabo este trabajo.

A los maestros de la Facultad de Ciencias Marinas por la magnífica labor que realizan.

A mi directora de tesis: Dra. María Teresa Viana por el apoyo, el conocimiento y el tiempo que me ha brindado.

A mis sinodales: M.C. Ricardo Searcy Bernal y Oc. Carlos Granados Machuca por su crítica constructiva que ha permitido que este trabajo sea mejor.

A mis compañeros y colegas del IIO: Pepe, Judith, Pablo, Fernando, David, Roberto, Marco, Elda, Angélica, Charly y Ruth. Gracias por su amistad y apoyo.

A la generación de los Salmones y Totoploids por su compañerismo y amistad.

A Fernando, Chayo, Ray, Twist, Mamey, Ricardo y Jaime por la amistad que me han brindado durante mi estancia en Ensenada.

INDICE

	pag
I. INTRODUCCIÓN.	1
II. ANTECEDENTES.	5
III. OBJETIVOS.	7
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.	8
IV.1 Elaboración de la dieta.	8
IV.2 Fase experimental.	11
IV.3 Análisis estadístico.	15
V. RESULTADOS.	17
VI. DISCUSIÓN.	28
VII. CONCLUSIONES.	39
VIII. RECOMENDACIONES	40
IX. LITERATURA CITADA.	41
X. ANEXOS	47

LISTA DE FIGURAS

pag.

Figura 1. Análisis de consumo por bloques

19

LISTA DE TABLAS

	pag.
Tabla I. Ingredientes utilizados para la dieta experimental (base seca).	9
Tabla II. Análisis proximal de la dieta utilizada (dada en base seca)	10
Tabla III. Obtención de los diferentes pH's en el alimento.	10
Tabla IV. ANOVA de 2 vías.	18
Tabla V. ANOVA de dos vías. Diferencias significativas entre los diferentes pH's de acuerdo al método Student-Newman-Keuls. (P < 0.05).	18
Tabla VI. Porcentaje de pérdida por bloque de experimentación (n = 4)	21
Tabla VII. Registro de las temperaturas mínimas y máximas por bloques durante el experimento.	21
Tabla VIII. Valores promedio de consumo, porcentaje de pérdida y humedad del alimento a diferentes pH's obtenidos en el experimento. El error estándar se indica dentro del paréntesis	23

	pag.
Tabla IX.. Diferencias significativas entre los diferentes pH's de acuerdo al método de Student-Newman-Keuls . (P < 0.05).	23
Tabla X. Amortización del pH promedio en el alimento después de 12 horas de experimentación. El error estándar se indica entre paréntesis	25
Tabla XI. Textura a diferentes pH's expresada como Fuerza promedio (gr/cm ²) de penetración. El error estándar se indica dentro del paréntesis.	27
Tabla XII. Diferencias significativas entre las texturas a diferentes pH's de acuerdo al método Student-Newman-Keuls (P < 0.05).	27
Tabla XIII. Textura después de 3 horas en el agua de mar, expresado en fuerza promedio de penetración (gr / cm ²). El error estándar se indica dentro del paréntesis.	27

LISTA DE ANEXOS

	pag
ANEXO I. Análisis de una vía Kruskal-Wallis (Datos de consumo).	47
ANEXO II. Pruebas t-pareadas (amortización del pH)	47
ANEXO III. Análisis de una vía Kruskal-Wallis (Datos de textura).	47
ANEXO IV. Pruebas t pareadas (Textura antes y después de ser sumergidas en agua de mar).	48
ANEXO V. Regresiones lineales múltiples.	48
ANEXO VI. Correlaciones	49
ANEXO VII. Consumo por bloque de experimentación (n = 4).	49

I. INTRODUCCIÓN

Cuando se elabora una dieta artificial no solamente el aspecto nutricional es importante, sino que hay que considerar otros factores como lo son: la gustocidad, estabilidad del alimento, propiedades físicas y atracción. La importancia de estudiar el efecto de la gustocidad en dietas es para mejorar la ingestión y por ende, tener un mayor aprovechamiento del alimento lo cual se verá traducido en un incremento de talla por parte del organismo cultivado.

Es importante aclarar que a diferencia de la atracción, la gustocidad implica la aceptación misma del alimento, lo cual es traducido en su consumo (Cervantes-Trujano, 1993; Viana *et al.*, 1994).

La dieta suministrada debe tener la apariencia correcta (tamaño, forma, color, textura, densidad y olor) para así despertar una respuesta alimenticia óptima (Tacón, 1989). Estos factores individuales dependen del hábito de alimentación que tiene el organismo, además, cuando estos poseen órganos quimiorreceptores se promueve una selección cuidadosa del alimento antes de la ingestión. Este es el caso del abulón, el cual posee un sentido muy agudo del olfato, de tal manera que en estudios de comportamiento

se ha demostrado que el osfradium juega un papel muy importante como un quimiorreceptor del olor (Harada y Kawasaki, 1981).

Según (¹ Shimada, comunicación personal) existen varias causas por las cuales los organismos seleccionan a un alimento y lo consumen en mayor cantidad que a otro. Entre los aspectos a tomarse en cuenta están los factores alimenticios (pH, sabor, textura, olor, humedad, digestibilidad), climáticos (temperatura, altitud, humedad) y fisiológicos (edad, sexo, raza, condición corporal).

El modo de alimentación de los abulones requiere de que el alimento sea plano, proporcionando así una máxima área de consumo. Después de haber tocado el alimento, el abulón lo cubre con la parte anterior del pie y comienza a comer a lo largo del borde, utilizando la rádula para raspar las partículas de alimento las cuales son ingeridas posteriormente (Hahn, 1989).

El ensilaje de productos pesqueros es una fuente barata de proteína que ha sido ampliamente utilizada como complemento en la elaboración de dietas para la Acuicultura (Hardy y Masumoto, 1983), presentando coeficientes de conversión alimenticia semejantes a los que se observa con harinas de pescado. El ensilaje de pescado es una manera de conservar el producto pesquero mediante la adición de ácidos (orgánicos e

¹ Dr.Armando Shimada. Director del Instituto de Mejoramiento Animal de la SARH. Ajuchitlán Qro.

inorgánicos), de tal manera que al disminuir el pH se impide la proliferación de microorganismos que descompongan el producto. Un inconveniente para su uso es el que requiera de ser neutralizado antes de la elaboración de las dietas por rechazo al alimento, lo cual resulta en el incremento del costo de las mismas (Raa y Gildberg, 1982).

En el Instituto de Investigaciones Oceanológicas se han venido desarrollando varios trabajos con el empleo de los subproductos pesqueros mediante la práctica del ensilaje. Esto, con el fin de abaratar el costo del alimento, además de utilizar un subproducto que aparte de no ser utilizado constituye un problema de contaminación en las áreas cercanas a las zonas de pesca y/o industrialización de dichos productos. De esta forma se han obtenido resultados muy satisfactorios con el empleo de ensilaje de víscera de abulón en la elaboración de dietas balanceadas para abulón (Viana *et al.* , en prensa; Guzmán, 1995).

Se sabe que el abulón es fuertemente atraído hacia una serie de compuestos, un ejemplo de estos son el DGD, PC y DGTG (Sakata e Ina, 1984; Harada y Kawasaki, 1981; Paul y Nevé, 1985; Harada, 1986; Tutschulte y Conell, 1988; Harada y Miyasaki, 1993) y que además presenta un cierto gusto hacia algunos ingredientes (Viana *et al.* , 1994). Sin embargo, no se sabe si el abulón, al igual que las especies terrestres rechace

el alimento cuando el ensilaje no es neutralizado, por lo tanto es necesario conocer su gustocidad a diferentes pH's.

Es poca la información disponible sobre este tema, sin embargo, estudios anteriores mostraron una diferencia en gustocidad por diferentes ensilajes preservados a diferentes pH's, por lo que no queda claro si el efecto se debió al pH o al tipo de subproducto utilizado (Viana *et al.* , 1994).

El pH normal del ensilaje es de 3.0, que al agregarle los ingredientes (Tabla I) de la dieta se obtiene un pH cercano a 4.0. Si se neutraliza el ensilaje previo a su mezcla con carbonato de calcio (2.5 %) y de sodio (2.5 %) se alcanza un pH de 6, lo cual trae repercusiones económicas (por costo y tiempo). Esto sin contar con el hecho de que alimentos elaborados a pH's ligeramente ácidos presenten ventajas de conservación, al aumentar la vida de anaquel al impedir el crecimiento de microorganismos.

II. ANTECEDENTES

Se ha dicho que existen ciertos factores que afectan a los abulones en la elección de las algas en la naturaleza, dentro de los que podemos mencionar a la presencia de metabolitos (polifenoles), la morfología algal (su dureza) y su valor nutritivo y energético (Shepherd y Steinberg, 1992; Simpson, 1995; McShane *et al.*, 1994; Fleming, en prensa).

Experimentos previos (Gorfine, 1991) indican que las cualidades físicas y de textura del alimento en *H. rubra* pueden ser un factor importante en el control del consumo del alimento. Los abulones carecen de dientes duros en la rádula, adaptados morfológicamente a consumir macroalgas con talo suave (Steneck y Watling, 1982). Gorfine (1991) observó que *H. rubra* consume más macroalgas frescas que alimento artificial, cuando este es de mayor dureza que el alga (*Jenneretia lobata*) no favoreciendo su consumo.

Shepherd y Cannon (1988) reportaron que las macroalgas de un alto valor nutricional pueden no gustarles por los compuestos polifenólicos que ellos contienen, encontrando que la razón de consumo de *H. laevigata* se correlaciona inversamente con la concentración fenólica algal. De esta manera *H. laevigata*, *H. rubra* y *H. roei* prefieren fuertemente a las algas rojas (Shepherd y Steinberg, 1992). Sin embargo, *H.*

roei consume pequeñas cantidades de algas ricas en fenoles y por lo tanto apoyan el argumento de que las especies del hemisferio austral que viven en áreas dominadas por algas cafés (ricas en fenoles) han desarrollado tolerancia a estas algas (Simpson, 1995). En cambio, las especies del hemisferio norte, y dos especies del sur, que habitan áreas donde pueden escoger los dos tipos de algas; fenólicas y no fenólicas, no presenten posiblemente estas adaptaciones (Shepherd y Steinberg, 1992).

En estudios realizados en otros animales como los cerdos y pollos se sabe que estos prefieren el alimento que está neutralizado (Raa y Gildberg, 1982). En el abulón, Viana *et al.* (1993) mencionan que el pH puede tener un efecto importante en la atracción y gustocidad del alimento artificial. Por dichas razones, el presente trabajo pretende realizar una prueba de gustocidad con alimento elaborado a diferentes pH's, estableciendo si el pH es determinante para la gustocidad del abulón *H. fulgens* o no lo es.

III. OBJETIVOS

Objetivo general:

Determinar las preferencias específicas que tienen los abulones (*H. fulgens*) hacia una dieta ya establecida, a diferentes valores de pH.

Objetivos particulares:

Determinar si el pH es un factor importante en la gustocidad por el alimento.

Indicar si es necesario neutralizar el alimento antes de elaborarlo para el abulón *H. fulgens*.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS.

IV.1 ELABORACIÓN DE LA DIETA.

Para elaborar el alimento artificial se utilizaron los mismos ingredientes a diferentes pH's (Tabla I) resultando en dietas con el mismo contenido proximal (Tabla II). Los ingredientes fueron mezclados hasta obtener una pasta homogénea, la cual fue extendida con un rodillo. Para estandarizar las "galletas" se utilizaron dos placas de acrílico con un grosor a 3 mm, y un molde de 2 cm de diámetro. Con la finalidad de ajustar el pH deseado (Tabla III), se utilizó ácido clorhídrico [4 M], hidróxido de sodio [4 M], carbonato de calcio y carbonato de sodio.

Al alimento húmedo se le determinó el porcentaje de humedad por cada lote de 100 gr, donde cada lote correspondía a un pH determinado. Para ésto, 20 "galletas" se secaron a peso seco constante en un horno a 104° C durante 24 horas (Clausen, 1988). La diferencia entre el peso húmedo y el peso seco sirvió para obtener una estimación promedio del porcentaje de humedad. El alimento húmedo se almacenó a -25 °C hasta su utilización.

Tabla I. Ingredientes utilizados para la dieta experimental (base seca).

Ingredientes	Cantidad (gr)
Ensilaje ¹	20.0
Harina de maíz ²	15.0
Harina de soya ³	15.0
Almidón de arroz	10.0
Harina de macroalgas ⁴	10.0
Celulosa	10.0
Mezcla de minerales ⁵	5.00
Alginato de Sodio ⁶	4.00
Gelatina	4.00
Aceite de hígado de bacalao	3.00
Vitaminas ⁷	2.00
Gluten de trigo	1.32
Metionina	0.20
Stay C (Vitamina C)	0.20
BTH	0.10
Benzoato de Sodio	0.10
Colina	0.08

1. Vísceras de abulón procedentes de la Cooperativa Bahía Tortugas, BCS.

2. Maseca

3. Proporcionada por la Asociación Americana de la Soya

4. Proporcionada por el CRIP (Centro Regional de Investigaciones Pesqueras, México).

5. Según lo recomendado por Hahn (1989).

6. Kelgin MV, proporcionada por Kelco.

7. Según lo recomendado por Hahn (1989).

Tabla II. Análisis proximal de la dieta utilizada (dada en base seca).*

	(%)
Proteína cruda	36.5
Grasa cruda	7.60
Fibra cruda	0.10
Material mineral	15.6
ELN	40.2

* Analizada por el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias (Dra. Irma Tejada).

Tabla III. Obtención de los diferentes pH's en el alimento.

pH 4	Ensilaje + los ingredientes de la dieta (Tabla I)
pH 5	Ensilaje + los ingredientes de la dieta y 2.5 % de carbonato de sodio + 2.5 ml de HCl [4M] / 100gr.
pH 6	Ensilaje + 2.5 % de carbonato de calcio + 2.5 % de carbonato de sodio + los ingredientes de la dieta.
pH 7	Ensilaje + 2.5 % de carbonato de calcio + 2.5 % carbonato de sodio + los ingredientes de la dieta + 7 ml de NaOH [4 M] / 100 gr.
pH 8	Ensilaje + 2.5 % de carbonato de calcio + 2.5 % de carbonato de sodio + los ingredientes de la dieta + 13 ml de NaOH [4 M] / 100 gr.

NOTA: El 2.5 % agregado de cada carbonato, significa el porcentaje que se le tiene que agregar a la dieta de carbonatos con respecto al peso total del lote.

IV.2 FASE EXPERIMENTAL.

Se utilizaron para el experimento 40 abulones juveniles (*H. fulgens*) de 2.5 años de edad (6-8 cm); y (14.5 g , EE = 1.7) cultivados en el laboratorio de Acuicultura del Instituto de Investigaciones Oceanológicas, los cuales nunca fueron alimentados con macroalgas. Los abulones fueron mantenidos bajo condiciones óptimas de flujo (300 ml min⁻¹) y aireación constantes, alimentados con la dieta estándar (ensilaje neutralizado a pH 6) durante el tiempo que no se encontraban en experimentación, tanto antes de iniciar el experimento, como en los períodos de descanso. La temperatura mínima y máxima del agua de mar fue monitoreada durante el transcurso del experimento.

Se utilizó un diseño experimental de cuatro bloques. Cada bloque correspondió a 4 jornadas experimentales (4 días) con 10 abulones por jornada, (40 por bloque). Para cada bloque fueron utilizados aleatoriamente 40 abulones, los cuales fueron separados de diez en diez para cada jornada experimental desarrollada.

Entre cada bloque experimental se dejaron 9 días de descanso para los abulones de cada grupo. Esto, con la finalidad de evitar el acondicionamiento al experimento (aprendizaje), así como para amortizar el estrés por el manejo. Cada grupo de abulones

estuvo bajo un período de inanición (sin alimento) durante 3 días previos a ser sometidos a la experimentación para incrementar la respuesta al consumo (Harada, 1986).

En cada jornada experimental con duración de 12 horas (durante la noche), los 10 abulones fueron separados individualmente en cubetas de 20 litros con aireación constante y sin flujo de agua. El alimento fue proporcionado durante la noche para evitar el estrés de los organismos ya que poseen hábitos alimenticios nocturnos (Hahn, 1989).

El alimento se seleccionó aleatoriamente (una galleta de 5 gr de peso húmedo aproximadamente) a los diferentes pH's (4, 5 ,6, 7 y 8) probando todos los pH's por duplicado, para cada jornada experimental. El alimento fue ofrecido durante la noche a cada uno de los 10 abulones separados aleatoriamente en cubetas individuales de 20 l. Con el fin de calcular el consumo, la pérdida del alimento por estabilidad fue monitoreada utilizando controles para cada pH. De esta manera, otra cubeta con una galleta para cada pH, sin abulón fue mantenida bajo las mismas condiciones experimentales. De esta manera, cada jornada experimental consistió en 10 cubetas para cada pH por duplicado más 5 cubetas control, haciendo un total de 40 cubetas experimentales y 20 cubetas controles por bloque experimental.

a) Estimación de consumo:

Después de 12 horas, el alimento se retiró de las cubetas (experimentales y controles) para registrar el consumo a peso seco constante.

El consumo se estimó en base seca como la diferencia del peso seco constante, entre el alimento proporcionado y el recolectado menos la pérdida por estabilidad (controles), después de permanecer durante 12 horas en las cubetas experimentales:

$$F = (GS / 100) - R \quad (1)$$

donde:

G= Dieta proporcionada en gr.

S= Porcentaje de la dieta recuperada (obtenida de los controles sin abulones).

R= dieta remanente (en gr) después de que los abulones se alimentaron.

Todo calculado en peso seco, basado en lo recomendado por Uki y Watanabe (1992).

b) Amortización del pH.

Para evaluar el posible efecto de amortización del alimento en el agua de mar, se midió el pH de 4 “galletas” de cada pH por cubeta después de haber permanecido durante 12 horas en agua de mar bajo las mismas condiciones experimentales.

c) Pruebas de textura.

La textura se determinó mediante la estimación de fuerza de penetración con un penetrómetro (Correa, 1995²). Para esto, se elaboraron galletas a diferentes pH's de manera similar a las experimentales solo que el grosor de las mismas fue de 6 mm con el fin de ajustarse a las condiciones de manejo del penetrómetro. La fuerza promedio de penetración fue medida como la fuerza ejercida para penetrar 3.5 mm, reportando la textura como la fuerza promedio por cm^2 (g/cm^2) (McShane *et al.*, 1994). Para esto, 5 galletas de cada pH fueron utilizadas para medir la fuerza de penetración antes y después de haber permanecido 3 h en agua de mar.

²Felipe Correa. Penetrómetro fabricado en la Facultad de Ciencias Marinas para medir la fuerza de gel.

IV.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de los datos, se utilizaron 2 métodos diferentes. El primero consistió en un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías utilizando el promedio de los datos por duplicado de cada jornada experimental (16 datos de consumo). En este caso, se tuvo como factores a los bloques de experimentación y los diferentes pH's utilizados, contrastándolos con los datos de consumo. Posteriormente, al observar que no hubo diferencias significativas entre los bloques, se procedió a hacer un análisis de varianza de una vía (Kruskal-Wallis), considerando como réplicas los 32 datos obtenidos durante los 4 bloques para cada pH.

Se hicieron pruebas de homogeneidad de varianzas y normalidad ($\alpha = 0.05$). Para aquellos datos que no demostraron tener una distribución normal (pruebas de gustocidad entre los 5 diferentes tipos de pH), se realizó un análisis de varianza de Kruskal-Wallis para observar las posibles diferencias entre tratamientos. Posteriormente se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Student-Newman-Keuls, para comparar las medias entre cada uno de los tratamientos con una $P < 0.05$.

Se obtuvieron correlaciones (Producto de Pearson) entre: el consumo y el pH, el consumo y el porcentaje de pérdida, el consumo y la textura, porcentaje de humedad y textura además de regresiones lineales múltiples.

Para los datos de textura a diferentes pH's se utilizó un análisis de varianza de Kruskal - Wallis. Se llevó acabo una prueba t pareada para comparar si existían diferencias entre la textura del alimento a diferentes pH's antes y después de ser sumergidos en agua de mar durante 3 horas. Se realizó una prueba t pareada con los datos de pH antes y después de haber estado durante 12 horas en el agua de mar para ver un posible efecto de amortización del pH.

El análisis se realizó utilizando el paquete estadístico de Sigma Stat versión 1.0 para Windows.

V. RESULTADOS

V.1 Resultados obtenidos mediante el análisis de ANOVA de 2 vías.

Los resultados del análisis de varianza de dos vías indicaron que no existieron diferencias significativas entre los 4 bloques experimentales ($P = 0.155$), ni tampoco existió interacción estadística significativa entre los bloques y el pH ($P = 0.305$). Sin embargo si existieron diferencias significativas entre los diferentes pH's ($P = 0.001$) (Tabla IV y V).

El pH 5 fue el menos consumido en los 4 bloques experimentales a diferencia del pH 8 que fue el más consumido en tres de los cuatro bloques teniendo solamente un consumo menor en el bloque II. En el último bloque se observaron los mayores consumos para el pH 4,5,7 y 8 (Figura 1).

Tabla IV. ANOVA de 2 vías

	GL	MS	F	P
Bloque	3	0.067	1.81	0.155
pH	4	0.215	5.78	0.001
Bloque x pH	12	0.045	1.20	0.305

Tabla V. ANOVA de dos vías. Diferencias significativas entre los diferentes pH's de acuerdo al método de Student-Newman-Keuls ($P < 0.05$).

	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
pH 4	-----	No	No	No	No
pH 5	No	-----	Si	No	Si
pH 6	No	Si	-----	No	No
pH 7	No	No	No	-----	Si
pH 8	No	Si	No	Si	-----

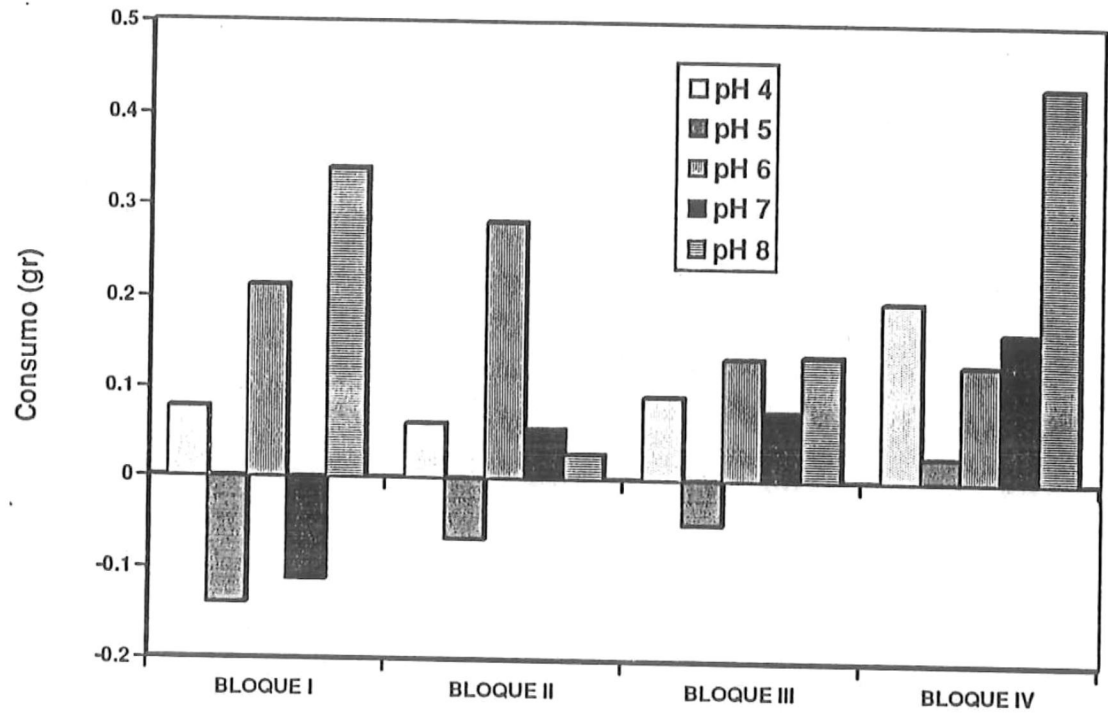


Figura 1. Análisis de consumo por bloques.

El pH 4, 6 y 7 mostraron su mayor porcentaje de pérdida en el bloque I, rebasando en el caso del pH 7 el 20 % de pérdida de materia seca. El pH 5 y 8 tuvieron su mayor porcentaje de pérdida en el bloque II (Tabla VI). El pH 5 perdió en los 4 bloques más de un 20 % de materia seca, con un 23.2 % de pérdida promedio de los 4 bloques. El alimento que presentó una mayor estabilidad fue el de pH 6, con 15.6 % de pérdida (Tabla VI). La correlación entre el consumo y el porcentaje de pérdida fue de $r=0.74$ ($P = 0.15$).

En los tres primeros bloques se encontró una temperatura promedio de 21°C como mínima y 22°C como máxima, en el cuarto bloque existió un incremento en la temperatura siendo de 23°C la mínima y 24°C la máxima (Tabla VII).

Tabla VI. Porcentaje de pérdida por bloque de experimentación (n=4).

Bloque	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
1	18.8	21.5	18.4	20.6	13.9
2	18.5	26.4	11.6	15.1	18.6
3	16.7	22.3	15.3	13.6	16.9
4	17.3	22.5	16.9	13.9	17.5
Media	17.8	23.2	15.6	15.8	16.7
Error Std.	0.33	0.62	1.07	0.97	0.96

Tabla VII. Registro de las temperaturas mínimas y máximas por bloques durante el experimento.

	BLOQUE I	BLOQUE II	BLOQUE III	BLOQUE IV
Mínima	21 ⁰ C	21 ⁰ C	21 ⁰ C	23 ⁰ C
Máxima	22 ⁰ C	22 ⁰ C	22 ⁰ C	24 ⁰ C

V.2 Resultados obtenidos mediante el análisis de 1 vía de Kruskal-Wallis.

Los resultados obtenidos a partir de un análisis de Kruskal-Wallis (Anexo I), demuestran que el alimento con mayor consumo fue el de pH 8 y 6 con un promedio de 0.236 y 0.191 g / diarios sin mostrar diferencias significativas entre ellos. El alimento menos consumido correspondió al pH 5 con una media de $-0.054 \text{ g} / 12 \text{ hrs}^{-1}$ (Tabla VIII). El consumo a los diferentes pH's se obtuvo de acuerdo el siguiente orden con significancias estadísticas:

$$\text{pH 8} = \text{pH 6} > \text{pH 4} > \text{pH 7} > \text{pH 5}$$

El porcentaje de humedad fue mayor para el alimento con pH 4 con un 50.5 %, y menor para el de pH 6 con un 48.3 % (Tabla VIII). El porcentaje de humedad mostró una correlación alta con la textura $r = 0.92$ ($P = 0.027$).

De acuerdo al análisis de varianza de Kruskal-Wallis ($H = 51.3$, 4 GL, $P < .0001$) se encontraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos, donde utilizando el método de comparaciones múltiples de Student-Newman-Keuls ($P < 0.05$) se encontró que los únicos grupos entre los cuales no hubo diferencias significativas de consumo fue entre el pH 6 y el pH 8 (Tabla IX), mientras que el resto presentó diferencias.

La correlación entre el consumo y el pH fue de $r = 0.489$ ($P = 0.40$).

Tabla VIII. Valores promedio de consumo, porcentaje de pérdida y humedad del alimento a diferentes pH's obtenidos en el experimento. El error estándar se indica dentro del paréntesis .

pH	Consumo promedio (g / 12 h ⁻¹)	Porcentaje de pérdida. (Inestabilidad)	Porcentaje de humedad.
4	0.108 (0.02)	17.80 (0.33)	50.53 (0.13)
5	-0.054 (0.03)	23.15 (0.62)	50.06 (0.56)
6	0.191 (0.04)	15.55 (1.07)	48.31 (0.21)
7	0.047 (0.04)	15.79 (0.97)	49.31 (0.36)
8	0.236 (0.06)	16.91 (0.96)	49.44 (0.52)
n	32	32	4

Tabla IX. Diferencias significativas entre los diferentes pH's de acuerdo al método de Student-Newman-Keuls (P < 0.05).

	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
pH 4	-----	Sí	Sí	Sí	Sí
pH 5	Sí	-----	Sí	Sí	Sí
pH 6	Sí	Sí	-----	Sí	No
pH 7	Sí	Sí	Sí	-----	Sí
pH 8	Sí	Sí	No	Sí	-----

En la prueba de amortización de los pH's después de 12 horas de experimentación se observaron variaciones entre algunos valores de pH de acuerdo a la prueba de t-student (Anexo II), donde después de estar 12 horas en el agua de mar el alimento con pH 6, 7 y 8 mostraron diferencias significativas (Tabla X), mientras que el 4 y 5 permanecieron constantes. De esta manera, el pH 6 cambió a 5.0; el 7 a 6.7 y el 8 a 7.1

Tabla X. Amortización del pH promedio en el alimento después de 12 horas de experimentación. El error estándar se indica entre paréntesis.

Antes	Después
4 (0.01)	3.9 (0.01)
5 (0.01)	5.2 (0.09)
6 (0.01)	5.0 (0.05)
7 (0.02)	6.7 (0.05)
8 (0.06)	7.1 (0.04)

Los resultados de textura del alimento húmedo, antes de sumergirse en el agua, indicaron que el valor máximo se encontró en el alimento con pH 6 y 8 (Tabla XI) no habiendo diferencias significativas entre ellos de acuerdo al análisis de varianza de Kruskal-Wallis (Anexo III) con valores de 529.3 y 491.6 gr/cm² respectivamente. El alimento a pH 7 fue similar significativamente al pH 5 ($P > 0.05$) con valores de 426.4 y 397.8 gr/cm² (Tabla XII). El alimento con pH 4 presentó la textura más suave con un valor de 360.0 gr/cm². Después de 3 horas de que el alimento se sumergió en el agua, los resultados de textura indican que el alimento balanceado a diferentes pH's se hizo más blando (Tabla XIII). Al realizar una prueba t student pareada (Anexo IV) se observó que existieron diferencias significativas entre la textura del alimento antes y después de ser sumergido en agua de mar durante 3 horas .

La correlación entre la textura (antes de sumergirse) y el consumo fue de $r = 0.682$ ($P = 0.204$). El alimento a los diferentes pH's que fue sumergido en el agua mar durante 3 horas mostró una correlación entre la textura y el consumo de $r = 0.161$ ($P = 0.796$).

Utilizando regresiones lineales múltiples (Anexo V) se obtuvieron correlaciones del pH y la textura contra el consumo de $r = 0.684$ ($P = 0.532$). La correlación del pH, textura y porcentaje de pérdida contra el consumo fue de $r = 0.812$ ($P = 0.699$).

Tabla XI. Textura a diferentes pH's expresada como Fuerza promedio (gr/cm²) de penetración. El error estándar se indica dentro del paréntesis.

pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
360.03(13.7)	397.80(10.3)	529.34(25.9)	426.39(19.1)	491.56(35.9)

Tabla XII. Diferencias significativas entre las texturas a diferentes pH's de acuerdo al método Studen-Newman-Keuls (P < 0.05).

	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
pH 4	-----	Si	Si	Si	Si
pH 5	Si	-----	Si	No	Si
pH 6	Si	Si	-----	Si	No
pH 7	Si	No	Si	-----	Si
pH 8	Si	Si	No	Si	-----

Tabla XIII. Textura después de 3 horas en el agua de mar, expresado en fuerza promedio de penetración (gr / cm²). El error estándar se indica dentro del paréntesis.

pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
54.94(5.6)	149.69(12.9)	155.31(14.7)	160.37(9.6)	127.71(8.1)

VI. DISCUSIÓN

No existieron diferencias significativas entre los cuatro bloques experimentales según la prueba de ANOVA de dos vías (Tabla IV), ni tampoco existió interacción entre el pH y los bloques. Esto es importante ya que el experimento fue realizado en 4 períodos de tiempo distinto con lo cual existía la posibilidad de que algún factor como lo es la calidad del agua y/o la temperatura afectaran el consumo en alguno de los bloques. El análisis de dos vías mostró que existen diferencias significativas entre los diferentes pH's, sin embargo al observar los valores promedio de consumo por pH y comparando gráficamente los consumos (figura 1), se pensó que posiblemente la prueba no era lo suficientemente sensible como para detectar todas las diferencias existentes (Tabla V) con tan pocas réplicas. Al asumir que no había diferencias significativas entre bloques y agrupar los 32 datos para cada pH en un análisis no paramétrico (Kruskal-Wallis) se lograron separar los grupos significativamente sin cambiar la tendencia de consumo a los diferentes pH's (Tabla IX).

El pH 8 fue el más consumido en 3 de los 4 bloques (Figura 1), sin embargo en el bloque II el consumo que registró el pH 8 fue uno de los más bajos, esto quizás se podría explicar observando que el porcentaje de pérdida promedio que tuvo en este bloque fue el más alto que presentó en todo el experimento (Tabla VI). Cuando el porcentaje de

pérdida es alto, registrándose en el grupo control, existe la posibilidad de enmascarar el resultado de consumo, a consecuencia de que este mismo sea mucho menor que el porcentaje de pérdida del alimento durante la experimentación (Viana *et al*, en prensa). En el caso del pH 7 ocurrió lo mismo, donde el consumo más bajo que tuvo fue en el bloque I que coincide con el porcentaje de pérdida más alto que tuvo por bloques (Figura 1).

Aunque los consumos entre los distintos pH's no mostraron diferencias significativas con respecto a sus recíprocos entre los otros bloques, como para pensar que alguno de ellos se comportó de una manera distinta, si se pueden observar ciertas tendencias. Por ejemplo, en el último bloque se observan los mayores consumos por parte del pH 4, 5, 7 y 8, resultados que quizás se debieron a que hubo un aumento en la temperatura en el último bloque (Tabla VII). Se sabe que el incremento en la temperatura trae como consecuencia un aumento en el consumo, probablemente debido a un aumento en el metabolismo de los organismos (Simpson, 1995). Otra causa pudiera deberse a un aprendizaje del alimento (al que no están acostumbrados), resultando en un mayor consumo, a diferencia del pH 6 al que ya estaban acostumbrados, y por ende, sin resultar en un incremento en el consumo. Si esto último es cierto significa que existió un aprendizaje por parte de los abulones, mismo que asumimos que no existiría al dar 9 días de descanso según la metodología descrita en Harada (1986). El aprendizaje traería

como consecuencia un enmascaramiento de los resultados, implicando que solo los resultados del primer bloque eran los correctos. Sin embargo hay que hacer mención de que el orden de las preferencias fue similar en todos los bloques y que no hubo diferencias significativas, por lo que hay que descartar esta posibilidad, o al menos decir que este factor no resultó en un efecto significativo. Con esto se recomienda que en experimentos futuros se tome más en cuenta la posible influencia del aprendizaje.

Los mayores consumos promedio se obtuvieron en el alimento a pH 8 (0.236 gr/día) y el pH 6 (0.191 gr/día) (Tabla VIII), que representa un consumo en base seca del 1.32 y 1.63 % con respecto a su peso corporal, mientras que en el pH 4 y 7 se obtuvo un consumo del 0.74 y 0.32 % del peso corporal respectivamente, a diferencia del pH 5 donde no se observó consumo. Hahn (1989) reporta que el porcentaje del consumo de alimento balanceado (en base seca) con respecto al peso corporal en el abulón está en un intervalo entre el 2 % y el 7 % , lo cual sugiere que los consumos reportados en este experimento son bajos. Sin embargo, existen otros autores que reportan porcentajes menores. Simpson (1995) reportó consumos diarios (base seca) en porcentaje de peso corporal de juveniles *H. midae* de 0.61 a 3.36 %, mientras que Monje-Ariza (1994) obtuvo valores de 1.35 % y 1.62 % en *H. fulgens*. Gorfine (1991) obtuvo consumos en juveniles *H. rubra* con 3 dietas artificiales de 2.2, 1.7 y 1.5 %. De esta manera puede

asegurarse que los consumos obtenidos en este trabajo se encuentran dentro de un margen reportado.

Cabe mencionar que en este experimento, aparte del consumo individual, se calculó el porcentaje de consumo en base al peso corporal promedio de todos los abulones, que de haberse realizado en forma individual probablemente nos hubiera llevado a una mayor precisión en los resultados.

La causa por la que el alimento a pH 5 no fuera consumido se debió probablemente a un conjunto de factores sin involucrar necesariamente el pH, aunque Cervantes-Trujano (1993) hace la observación de que el pH es un factor importante a considerar en las preferencias de atracción y gustocidad del abulón. Se sabe que el pH en otras especies tiene influencia en la gustocidad (Raa y Gildberg, 1982). En el presente trabajo la correlación entre consumo y pH fue baja ($r = 0.489$, $P = 0.40$), donde el pH 7 y el 5 no se comportaron como se esperaba. Esto puede deberse a otros factores asociados al pH, como al porcentaje de pérdida y textura según lo indican los resultados mostrados.

Los porcentajes de pérdida más altos se presentaron en los pH's ácidos (4 y 5) los cuales fueron del 17.8 % y 23.2 % respectivamente, esto se puede explicar tomando en

cuenta el comportamiento de los dos ligantes utilizados en esta dieta. A pH's ácidos, un alto porcentaje de la gelatina se encuentra en forma soluble, impidiendo una gelificación completa (Sikorsky *et al.*, 1984) a diferencia del alginato que no es soluble a bajos valores de pH (McHugh, 1993).

El menor porcentaje de pérdida se obtuvo con el alimento a pH 6 (15.6 %), esto quizás por contener el menor porcentaje de humedad, ya que para obtener este pH no se requirió agregar HCl ni NaOH. Gorfine (1991) menciona que si el contenido de agua en el alimento balanceado aumenta por arriba del 50 %, la posibilidad de formar un alimento cohesivo disminuye. En el alimento a pH 4 y 5, el porcentaje de humedad fue del 50.5 % y 50.1 % respectivamente.

Para que un alimento balanceado se considere que presenta una buena estabilidad, debe tener un porcentaje de pérdida menor al 10 %, considerando la pérdida de nutrientes esenciales y costos de producción. En este experimento si bien no se logró la estabilidad deseada a ningún pH, puede decirse que los resultados mostrados son mejores a experiencias anteriores (Monje-Ariza, 1994).

El alimento a pH 6 y 8 tuvo la textura más dura entre el rango de pH's probados en este experimento (529.34 y 491.56 g/cm² respectivamente). La textura se evaluó en

base a la fuerza promedio de un valor fijo de penetración, no existiendo diferencias significativas entre la textura del alimento a pH 6 y 8 ($P < 0.05$), además de encontrar que fueron los dos más consumidos durante el experimento (0.191 y 0.236 gr/día, respectivamente). El alimento a pH 5 y 7 tampoco mostró diferencias significativas en textura (Tabla XII) correspondiendo a los alimentos menos consumidos en el experimento. Varios autores han demostrado que la textura es un factor importante a tomar en cuenta en la alimentación para abulones (McShane *et al.*, 1994; Gorfine, 1991; Shepherd y Steinberg, 1992). McShane *et al.* (1994) encontraron que el factor más importante tanto en el consumo de macroalgas como de alimento balanceado en las preferencias alimenticias de *H. rubra*, es la dureza. Estos investigadores probaron 7 macroalgas diferentes, donde los abulones prefirieron a *Jennerettia lobata*, la menos dura de todas (1070 g / cm², EE= 60.0). En este trabajo, al probar el alimento en forma de “galletas”, las de mayor dureza (pH 6 y 8) fueron las más consumidas. Sin embargo, al observar los valores promedio de fuerza de penetración de las dietas a pH 6 y 8 (529.3 y 491.6 g / cm²) nos damos cuenta que son mucho menores comparativamente a lo reportado por McShane *et al.* (1994). Con esto pudiera pensarse que en los abulones se ejerce un efecto contrario hacia los valores de mayor suavidad, es decir, existe un menor consumo a mayor suavidad después de rebasar un cierto límite como “ideal”, así, el alimento a pH 4, 5 y 7 tuvieron texturas más blandas (Tabla XI) con un menor consumo en comparación al pH 6 y 8. Esto, probablemente se deba a que en su medio natural los

abulones no encuentran este tipo de texturas suaves en su alimento , ó quizás, porque la rádula no esté adaptada para raspar sobre superficies demasiado blandas.

En el caso del pH 4, el de la textura más suave y uno de los porcentajes de pérdida más altos tuvo un consumo bajo, aunque ligeramente mayor que el pH 5 y 7 sin encontrar diferencias significativas ($P < 0.05$) en la ANOVA de dos vías. Una posible explicación es que el pH 4 fue el único alimento al que no se le agregaron carbonatos, NaOH [4M] ni tampoco HCl [4M] por lo tanto se cree que el sabor y olor del alimento fue distinto, razón por la cual posiblemente se estimuló un cierto consumo que debe de considerarse como mediano, es decir no rechazaron el alimento pero tampoco existió una gran gustocidad por el. Este comportamiento se verifica en el análisis de varianza de dos vías en el que no muestra diferencias significativas ni con los pH's de alto consumo (pH 8 y 6) ni tampoco con los pH's de bajo consumo (pH 5 y 7) observándose un comportamiento regular. En el caso del análisis de Kuskal-Wallis si existen diferencias significativas con el resto de los pH's por haber usado más replicas, sin embargo, aún considerando las medianas de los consumos para esta prueba, se observó que el pH 4 seguía teniendo un comportamiento intermedio entre el grupo de pH 6 y 8 que fueron los más consumidos y el pH 5 y 7. El consumo en el alimento a pH 4, 7 y 5 fue bajo (0.74 a 0%), por lo que pudiera decirse que la mayor tendencia es a consumir alimento a las texturas más duras y con menor porcentaje de pérdida, resultando irrelevante hacia las

texturas suaves y porcentajes de pérdida altos mostrados por un consumo por debajo al establecido como óptimo para un crecimiento esperado.

Entre el consumo y la textura se obtuvo una de correlación de ($r = 0.682$, $P = 0.2$), mientras que la correlación entre el pH y el consumo fue de 0.489 , con lo cual se observa que la textura ejerce una mayor influencia en la preferencia del alimento. No obstante, este factor por si mismo, no explica la variabilidad total del consumo, por lo que se pensó en un efecto combinado entre la textura y pH (variables independientes) con respecto al consumo (variable dependiente). De esta manera, la regresión lineal múltiple mostró una correlación de 0.684 ($P = 0.53$), indicando que el valor de correlación (r) varió muy poco con respecto a la “ r ” entre la textura y consumo, de 0.682 . Esto muestra, que al asociar el factor de pH no aumenta la fuerza de correlación, indicando una vez más que el factor de textura fue más determinante que el pH. Una correlación de 0.684 indica que existen otros factores asociados a la preferencia, o bien, que algunos de los tratamientos no se comportan homogéneamente. Se sabe que el porcentaje de pérdida del alimento es un factor que pudiera estar asociado a la textura y/o preferencia de los organismos. De esta manera se trató de asociar este factor con el consumo, obteniendo una $r = 0.743$ ($P = 0.15$), y al asociarla con los otros factores (pH y textura), teniendo de esta manera tres variables independientes contra el consumo, el coeficiente de correlación aumentó a $r = 0.812$, $P = 0.70$). Si pudiera darse un orden de importancia de

los factores asociados al consumo de acuerdo al grado de correlación, podría decirse que en orden de importancia las variables serían : porcentaje de pérdida, textura y pH para determinar de alguna manera la gustocidad hacia el alimento artificial.

La prueba de textura que se utilizó para las correlaciones corresponde al alimento en base húmeda (Tabla XI) antes de ponerlo en el agua. Textura que probablemente cambie después de proporcionar el alimento a los abulones. En la prueba de textura del alimento después de permanecer 3 horas en el agua se observó que todas las “galletas” a diferentes pH's se hicieron aún más blandas (Tabla XIII), resultados que mostraron diferencias significativas con la textura inicial del alimento. El alimento más blando siguió siendo el de pH 4 con una fuerza de penetración promedio de (54.9 gr / cm²), textura que puede explicarse por la deficiencia de una gelificación correcta de los ligantes a un pH ácido (McHugh, 1993). La disminución general de las texturas se debió probablemente a una mayor hidratación del alimento ya que se obtuvo una fuerza de asociación entre la textura inicial y el porcentaje de humedad de ($r = 0.919$, $P = 0.03$), considerado como alto.

Al registrar la textura del alimento a diferentes pH's después de 3 horas de estar en el agua de mar se obtuvo una correlación muy baja entre el consumo y la textura ($r = 0.16$, $P = 0.80$). Por ésto, no se puede considerar como un factor importante en la

estimación del consumo para este experimento, confirmando lo encontrado por Gorfine (1991), quien establece que el alimento artificial se hace blando una vez sumergido en el agua de mar lo que provoca que se desintegre si es sujeto a un estrés mecánico muy grande dando resultados muy heterogéneos. Razón por la cual no se recomienda el realizar pruebas de textura posterior a la inmersión.

Al introducir el alimento a diferentes pH's en el agua de mar, se pensó que podría existir un efecto de amortización enmascarando los resultados de gustocidad a los diferentes pH. Sin embargo, al medir el pH de los alimentos después de estar sumergidos en el agua durante 12 horas se encontraron pocas variaciones. En el pH 4 y 5 no hubo diferencias significativas entre el valor antes y después del experimento, resultados que hay que tomar con cautela ya que la potencia de prueba fue bajo ($\beta = 0.18$ y 0.26 respectivamente) no pudiendo distinguir diferencias significativas.(Searcy-Bernal,1994). En los pH's 7 y 8 si se observaron diferencias significativas ($P = 0.006$ y $P = 0.0002$ respectivamente) habiendo una leve disminución en el pH (Tabla X). La dieta a pH 6 fue la que presentó la variación más significativa ($P = 0.0002$) siendo el pH final de 5.0.

Los alimentos artificiales con pH 6 y 8 disminuyeron a 5.0 y 7.1 en la prueba de amortización, respectivamente, siendo los alimentos más consumidos durante el experimento. Sin embargo, los alimentos a pH 5 y 7 fueron los menos consumidos en la

fase experimental. Si la variación ocurre dentro del tiempo que el abulón se alimenta, podríamos decir una vez más que el pH no es el factor más importante en determinar la gustocidad por el alimento.

VII. CONCLUSIONES

El porcentaje de pérdida y la textura fueron factores que tuvieron una mayor influencia en el consumo del alimento en comparación al pH.

Los alimentos balanceados a pH 6 y 8 fueron los más consumidos, siendo también los que presentaron texturas más duras y porcentajes de pérdida bajos.

VIII. RECOMENDACIONES

Se recomienda mejorar la textura del alimento para tener una consistencia más dura con un menor porcentaje de pérdida, es decir, si hubiera una mejor estabilidad y textura no habría la necesidad de neutralizar el alimento disminuyendo los costos de elaboración.

Se recomienda llevar un registro individual del peso del abulón con respecto al peso de la "galleta" para lograr obtener un consumo individual proporcional al peso y así obtener mayor precisión en los resultados.

IX. LITERATURA CITADA

- Cervantes-Trujano, M. (1993). Estudio de atracción y gastocidad en juveniles de abulón *H. fulgens* con nueve ingredientes utilizados para la elaboración de dietas artificiales. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada B.C., 44 pp.
- Clausen, E. (1988). Kurshefte i Biokjemi for Fiskerifagstudenter. Norges Fiskerihøyskole. Tromsø, Norge. 45 pp.
- Fleming, A.E. Growth, intake, feed conversion efficiency and chemosensory preference of the Australian abalone *Haliotis rubra*. University of Melbourne. Victoria, Australia. En prensa.
- Gorfine, H. (1991). New food for abalone. *Austacia Aquaculture*, 5 (11) : 40.
- Guzman, J.M. (1995). Comparación de 2 alimentos balanceados experimentales y otro comercial en juveniles de abulón *Haliotis fulgens* (Phillips, 1845) utilizando diferentes fuentes de proteína. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada B.C., 57 pp.

- Hahn, O.K. (1989). Handbook of culture of abalone and other marine gastropods C.R.C. press. Florida. USA 348 pp.
- Harada, K. (1986). Feeding Attraction Activities of Nucleic Acid-Related Compounds for Abalone, Oriental Weatherfish and Yellowtail. **Bulletin of the Japanese of Scientific Fisheries** 52 (11), 1961-1968.
- Harada, K. y Kawasaki, Y. (1981). The Attractive effect of seaweeds based on the Behavioral Responses of Young Herbivorous Abalone *H. discus*. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries** 48 (5), 617-621.
- Harada, K. y Miyasaki, T. (1993). Attraction Activities of Fruit Extracts for the Oriental Weatherfish *Misgurnus anguillicaudatus*. **Nippon Suisan Gakkaishi**. 59 (10), 1757-1762.
- Hardy, R.W. y Masumoto, T. (1983). Specifications for Marine By-products for Aquaculture. In: D.M. Akimaya; R.K.H. Tan (Editors). Proceedings of the aquaculture feed processing and nutrition workshop. Soybean Association. Republic of Singapore.

- McShane, P.E.; Gorfine, H.K; Knuckey, I.A. (1994) Factors influencing food selection in the abalone *H. rubra* (Mollusca: Gastrópoda). **Journal of experimental marine biology and ecology**. 176 (1994) 27-37.
- McHugh, D.J. (1987). Production, Properties and uses of alginates. En: Production and utilization of products from commercial seaweeds (editors). Department of Chemistry, University College. Campbell, Australia. 59-115 pp.
- Monje-Ariza, H. (1994). El alginato de sodio como nutrimento o aglutinante en dietas para juveniles de abulón *H. fulgens* (Phillips, 1845). Tesis de licenciatura, F.C.M., Ensenada, B.C., 44 pp.
- Paul, J. y Nevé, A. (1985). Observations on food preferences, Daily Ration requirements and Growth of *H. kamtschatkana* **Jonas in captivity**. Vol. 19; No. 3.
- Raa, J. y Gildberg, A., (1982). Fish Silage: A review. En: **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 116: 343-419

- Sakata, K. e Ina. (1984). Digalactosyldiaclycerols and Phosphatidycholines from a Brown Alga as effective Phagostimulants for a Young Abalone. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**. 51 (4), 659-665.
- Searcy-Bernal, R. (1994). Statistical power and aquacultural research. **Aquaculture** .127 : 371-388.
- Shepherd, S.A. y Cannon, J. (1988). Studies on southern Australian abalone (genus *H.*) X. Food and feeding of juveniles. **J. Malac. Soc. Aust.**, Vol. 9, pp. 21-26.
- Shepherd, S.A. y Steinberg, P.D. (1992). Food preferences of three Australian abalone species with a review of the algal food of abalone. **En: Abalone of the world.** (Shepherd,S.A; Tegner, M.J. y Guzmán del Prío, S. A. ed.) Biology, Fisheries and Culture. Fióhing New Books 13:169-181
- Shimada, A. (1995). Comunicación personal.Instituto de Mejoramiento Animal de la SARH. Ajuchitlán, Queretaro.

Sikorsky, Z.E.; Scott, D.N. y Buisson, D.H. (1984). The role of collagen in the quality and processing of fish. *En: CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 20 (4):301-343.

Simpson, B.J. (1995). An investigation into the use of algae as a major component of artificial feeds for juvenile *H. midae*. 52-68.

Steneck, R.S. y Watling, L. (1982). Feeding capabilities and limitation of herbivorous molluscs : A functional group approach. *Marine Biology*, Vol. 68, pp. 219-230.

Tacon, A.G.J.(1989). Nutrición y alimento de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO-ITALIA). Brasilia, Brasil. 572 pp.

Tutschulte, C. y Conell, J. (1988). Feeding behavior and algal food of three species of abalones in southern California. Department of biological Sciences, **University of California**. Vol 49: 57-64.

- Uki, N. y Watanabe, T., (1992). Review of the nutritional requirements of abalone (*H. spp.*) and development of more efficient artificial diets. **En: Abalone of the World.**(Shepherd, S.A; Tegner,M.J. y Guzmán del Prío,S.A.). *Biology, Fisheries and culture. Fishing New Books*, 38:504-517
- Viana, M.T.; López, L.M. y Salas A., (1993). Diet development for juvenil abalone *H. fulgens*: Evaluation of two artificial diets and macroalgae. *Aquaculture*. 117: 149-156
- Viana, M.T. ; Trujano, M. y Solana-Sansores, R. (1994) Palatability and attraction activities in juveniles of abalone *H. fulgens*. Nine ingredients used in artificial diets. *Aquaculture*, 127:19-28.
- Viana, M.T.; Lopez, L.M.; García-Esquivel, Z. y Méndez, E. The use of silage from fish and abalone as an ingredient for abalone feed. *Aquaculture*, en prensa.

X. ANEXOS

ANEXO I

Análisis de una vía Kruskal-Wallis (Datos de consumo).

N = 32	H = 51.3	GL = 4	P = < 0.0001
--------	----------	--------	--------------

ANEXO II

Pruebas t-pareadas (amortización del pH)

pH 4	N = 4	t = - 1.96	3 GL	P = 0.176	$\beta = 0.176$
pH 5	N = 4	t = 2.12	3 GL	P = 0.124	$\beta = 0.258$
pH 6	N = 4	t = -23.1	3 GL	P = 0.0002	$\beta = 1.00$
pH 7	N = 4	t = -6.87	3 GL	P = 0.0063	$\beta = 0.999$
pH 8	N = 4	t = -21.6	3 GL	P = .0002	$\beta = 1.00$

ANEXO III

Análisis de una vía Kruskal-Wallis (Datos de textura).

N = 5	H = 16.1	GL = 4	P = 0.0029
-------	----------	--------	------------

ANEXO IV

Pruebas t pareadas (Textura antes y después de ser sumergidas en agua de mar).

pH 4	N = 5	t = 26.4	4 G.L	P =< 0.0001	$\beta = 1.00$
pH 5	N = 5	t = 26.2	4 G.L	P =< 0.0001	$\beta = 1.00$
pH 6	N = 5	t = 26.9	4 G.L	P =< 0.0001	$\beta = 1.00$
pH 7	N = 5	t = 11.5	4 G.L	P = 0.0003	$\beta = 1.00$
pH 8	N = 5	t = 26.4	4 G.L	P =< 0.0001	$\beta = 1.00$

ANEXO V

Regresiones lineales múltiples.

1) Consumo vs textura, pH, porcentaje de pérdida.

N= 5	r= 0.812	Rsqr = 0.659	F = 0.644	P = 0.6987	$\beta = 0.360$
------	----------	--------------	-----------	------------	-----------------

2) Consumo vs textura, pH.

N = 5	r = 0.684	Rsqr = 0.468	F = 0.879	P = 0.5323	$\beta = 0.219$
-------	-----------	--------------	-----------	------------	-----------------

ANEXO VI

Correlaciones.

consumo vs % perdida	$r = 0.743$	$Rsqr = 0.552$	$P = 0.150$
consumo vs pH	$r = 0.489$	$Rsqr = 0.240$	$P = 0.403$
consumo vs textura	$r = 0.682$	$Rsqr = 0.466$	$P = 0.204$
consumo vs textura (3 hr)	$r = 0.160$	$Rsqr = 0.025$	$P = 0.800$
consumo vs % humedad	$r = 0.919$	$Rsqr = 0.844$	$P = 0.030$

ANEXO VII

Consumo por bloque de experimentación (n=4).

Bloque	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
1	0.078	-0.138	0.213	-0.112	0.340
2	0.060	-0.067	0.282	0.055	0.027
3	0.093	-0.049	0.136	0.077	0.140
4	0.199	0.027	0.131	0.166	0.434
Media	0.108	-0.054	0.191	0.047	0.236
Error Std.	0.02	0.03	0.04	0.04	0.06