



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA

DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS
MARINAS

Gracilaria pacifica FERTILIZADA COMO ALIMENTO PARA
ABULONES CULTIVADOS

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MAESTRA EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFÍA COSTERA
PRESENTA:
ANGÉLICA BEATRIZ ALARCÓN ARAGÓN.



ENSENADA, B.C. ENERO DE 2000.

Gracilaria pacifica FERTILIZADA COMO ALIMENTO
PARA ABULONES CULTIVADOS.

TESIS

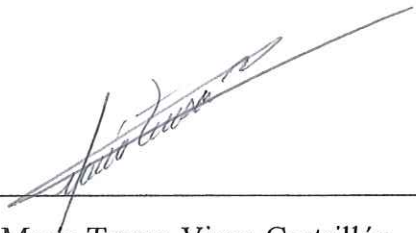
QUE PRESENTA :

ANGÉLICA BEATRIZ ALARCÓN ARAGÓN

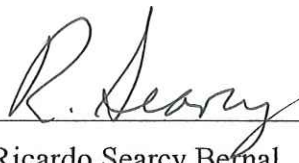
APROBADA POR:



Dr. José Antonio Zertuche González
Presidente del jurado



Dra. María Teresa Viana Castrillón
Sinodal propietario



Dr. Ricardo Searcy Bernal
Sinodal propietario

RESUMEN:

Debido al colapso de la pesquería del abulón, se han establecido recientemente granjas para su cultivo. En ellas, el alimento más utilizado son algas de mantos naturales cuya composición química, y por tanto, valor nutricional varía dependiendo de la disponibilidad de nutrimentos en el medio, localidad y época del año. Se sabe que las algas son capaces de incorporar nitrógeno del medio, principalmente en forma de proteínas y aminoácidos, incrementando con ello su valor nutricional. Así, la finalidad de este trabajo es estimular el enriquecimiento de proteína en *Gracilaria sp.* mediante fertilización y probarla como alimento para abulón.

Se llevaron a cabo ensayos para enriquecer el contenido de proteína del alga *Gracilaria pacifica*, lo cual se logró mediante su fertilización con nitrógeno y sombreado. Después se realizó un bioensayo con juveniles de abulón rojo (*Haliotis rufescens*), en el que el alga enriquecida fue ofrecida como dieta única y como parte de una dieta mixta (alga enriquecida más un alimento balanceado). Se ofrecieron además como dietas: el alga sin enriquecer, *Macrocystis pyrifera* (comúnmente utilizada en las granjas), diatomeas bentónicas y alimento balanceado solo.

Con las dietas naturales, el mejor crecimiento se observó con *Gracilaria pacifica* enriquecida, aunque comparado con el alimento balanceado el crecimiento fue bajo. Se observó un efecto positivo cuando se incluyó el alga enriquecida con el alimento balanceado, ya que con la dieta mixta se obtuvo el mayor crecimiento (aunque no significativo) de los abulones. Este efecto no puede atribuirse al enriquecimiento, ya que no se probó una dieta que incluyera el alimento balanceado y el alga no enriquecida.

CONTENIDO

página

1 INTRODUCCIÓN _____ 1

1.1 Objetivo _____ 5

2 METODOLOGÍA _____ 6

2.1 A.- Ensayos para enriquecer el contenido protéico del alga. _____ 6

2.1.1 Ensayo A1. _____ 10

2.1.2 Ensayo A2. _____ 10

2.1.3 Ensayo A3. _____ 11

2.2 B.- Alimentación de juveniles de abulón rojo (*Haliotis rufescens*). _____ 12

2.2.1 Ensayo B1 _____ 12

2.2.2 Ensayo B2. _____ 14

2.2.2.1 Enriquecimiento del alga. _____ 15

2.2.2.2 Contenido de proteína cruda del alimento. _____ 16

2.2.2.3 Incorporación de nitrógeno diario por las macroalgas usadas como alimento. _____ 16

2.3 Análisis estadístico _____ 17

3 RESULTADOS _____ 19

3.1 A.- Ensayos para enriquecer el contenido protéico del alga. _____ 19

3.1.1 Ensayo A1 _____ 19

3.1.2 Ensayo A2 _____ 22

3.1.3 Ensayo A3 _____ 22

3.1.4 Contenido inicial de proteína cruda y máximo enriquecimiento _____ 27

3.2 B.- Alimentación de juveniles de abulón rojo (*Haliotis rufescens*). _____ 28

3.2.1 Ensayo B1 _____ 28

3.2.2 Ensayo B2 _____ 28

3.2.2.1 Primera etapa: Día cero a 63. _____ 33

3.2.2.2 Segunda etapa: Día 63 a 173. _____ 38

3.2.2.3 Tercera etapa: Día 173 a 295. _____ 39

3.2.2.4 Contenido de proteína cruda del alimento: _____ 42

3.2.2.5 Incorporación diaria de nitrógeno por las macroalgas usadas como alimento _____ 42

3.2.2.6 Color de *Gracilaria pacifica* y de los abulones _____ 47

4 DISCUSIÓN _____ 48

4.1 Ensayos para enriquecer el alga: _____ 48

4.2 Alimentación de juveniles de abulón rojo (*Haliotis rufescens*). _____ 51

4.2.1	Ensayo B1:	51
4.2.2	Ensayo B2:	52

5 LITERATURA CITADA 57

LISTA DE TABLAS

	página
Tabla I.- Experimento A, condiciones experimentales de los tres ensayos para enriquecimiento protéico, realizados con <i>Gracilaria pacifica</i> . Error estándar entre paréntesis. _____	9
Tabla II.- Características de los dos ensayos de alimentación de juveniles de abulón rojo (<i>Haliotis rufescens</i>). _____	13
Tabla III.- Contenido de proteína cruda (%), en <i>Gracilaria pacifica</i> fertilizada con distintas fuentes de nitrógeno (ensayo A1).El error estándar está indicado entre paréntesis. _____	20
Tabla IV.- Contenido de proteína cruda (%), en <i>Gracilaria pacifica</i> expuesta a diferentes condiciones de luz y nutrientes (ensayo A2) El error estándar está indicado entre paréntesis. 100% luz = $514.95 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ (13.56), 35% luz = $182.72 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ (17.16). _____	23
Tabla V.- Contenido de proteína cruda (%), en <i>Gracilaria pacifica</i> expuesta a 14% de luz y una o dos fuentes de nitrógeno (ensayo A3). El error estándar está indicado entre paréntesis. 100% luz = $1785.71 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ (41.53), 14% luz = $245.85 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ (32.55). _____	25
Tabla VI.- Supervivencia (%) de abulón rojo alimentado con diferentes dietas, (ensayo B2), el error estándar está indicado entre paréntesis. _____	29
Tabla VII.- Tasas absolutas de crecimiento de abulón rojo, durante la primera etapa del ensayo B2. El error estándar se indica entre paréntesis. _____	35

Tabla VIII.- Tasas absolutas de crecimiento de abulón rojo, durante la tercera etapa del ensayo B2. Se señala entre paréntesis, la dieta del día 0 a 184. El error estándar se indica entre paréntesis. _____ 40

Tabla IX.- Contenido de proteína cruda (%), en base seca, del alimento ofrecido a abulones rojos, así como de los remanentes recogidos en el ensayo B2. El error estándar se indica entre paréntesis. _____ 43

Tabla X.-Incorporación diaria de nitrógeno por las macroalgas usadas como alimento, en mg/día. El error estándar se indica entre paréntesis. _____ 45

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1.- Zona de colecta de <i>Gracilaria pacifica</i> . _____	7
Figura 2.- Contenido de proteína cruda en <i>Gracilaria pacifica</i> , expuesta a 100% de luz, fertilizada con 250 micromoles de N/l de dos fuentes distintas (ensayo A1). _	21
Figura 3.- Contenido de proteína cruda en <i>Gracilaria pacifica</i> fertilizada con 500 micromoles de N/l y 37% de luz (ensayo A2). _____	24
Figura 4.- Contenido de proteína cruda en <i>Gracilaria pacifica</i> con 13% de luz y fertilizada con una o dos fuentes de nitrógeno (ensayo A3). _____	26
Figura 5.- Supervivencia de abulón rojo alimentado con diferentes dietas (ensayo B2). _____	30
Figura 6.- Talla promedio de abulón rojo alimentado con diferentes dietas (ensayo B2). _____	31
Figura 7.- Peso promedio de abulón rojo alimentado con diferentes dietas (ensayo B2). _____	32
Figura 8.- Temperaturas promedio, mínimas y máximas, durante el ensayo B2. ____	34
Figura 9.- Tasas absolutas de crecimiento en longitud ($\mu\text{m}/\text{día}$) de abulón rojo alimentado con diferentes dietas (ensayo B2). _____	36
Figura 10.- Tasa absolutas de crecimiento en peso ($\text{mg}/\text{día}$) de abulón rojo alimentado con diferentes dietas (ensayo B2). _____	37
Figura 11.- Contenido de proteína cruda de las macroalgas y alimento balanceado, ofrecidos como alimento a abulón rojo (ensayo B2). _____	44

Figura 12.- Incorporación diaria de nitrógeno por las macroalgas de cada tratamiento
(ensayo B2). _____ 46

1 INTRODUCCIÓN

Con el descenso de las capturas de abulón, que alcanzaron 3500 toneladas de carne en la temporada de 1963-1964 y en 1984 bajaron hasta 400 ton., en Baja California (Guzmán del Proó, 1992; Ramade-Villanueva, *et al.*, 1998), se han establecido recientemente, granjas para el cultivo de estos organismos, (Salas-Garza y Searcy-Bernal, 1992), debido a que tienen un alto valor comercial. Dichas granjas demandan una gran cantidad de algas para alimentación del abulón, donde emplean casi exclusivamente *Macrocystis sp* (Ebert, 1992; Flores-Aguilar, 1994, citado por Pérez-Muñoz, 1995; McBride, 1998.), el alga más abundante "en la mayor parte de la costa occidental, del centro de California al centro de la península de Baja California, así como en las islas adyacentes" (Ebert, *op. cit.*).

El crecimiento adecuado del abulón depende, entre otros factores, del valor nutritivo del alimento proporcionado, en este caso, las algas. Sin embargo, las algas presentan variación en su composición química, y por tanto en su valor nutritivo. Algunos de los factores que influyen en la composición química de las algas son, la disponibilidad de nutrientes en el medio (Friedlander y Dawes, 1985; Peckol, *et al.*, 1994; Jones, *et al.*, 1996), la localidad de donde provienen y la época del año en que son cosechadas, (Laycock y Craigie, 1977; Bird, 1984; Indergaard y Knudsen, 1990; Rodríguez-Montesinos y Hernández-Carmona, 1991; Castro-González, *et al.*, 1994).

Uno de los factores a los que se ha relacionado el crecimiento del abulón es el consumo de proteína y/o nitrógeno, (Stuart y Brown; 1994; Fleming, 1995) por lo que el éxito de su cultivo dependerá del suministro constante de un alimento de buena calidad. Aunque se han desarrollado alimentos balanceados con buenos resultados, (Uki, 1985; Viana, *et al.*, 1993; Viana, *et al.*, 1996; Bautista- Teruel y Millamena, 1999), aún no existe un alimento comercial disponible. Además, aún falta trabajar más en adaptar los sistemas de cultivo, de tal manera que permitan un adecuado manejo del alimento balanceado (Viana, *com. pers.*)¹.

Resulta importante encontrar algas que sean una alternativa para abastecer las granjas de abulón, pues es posible obtenerlas a costos relativamente bajos y su uso presenta varias ventajas. Por ejemplo, resulta conveniente alimentar a los abulones con una dieta natural antes de ser cosechados para que tengan un sabor aceptable para el consumidor. Asimismo, las dietas influyen en el color de los organismos, debido a los pigmentos presentes en ellas (Bautista- Teruel y Millamena, 1999), en el medio natural, la concha presenta bandas de colores que reflejan la sucesión de especies de algas dominantes durante el año (Sakal, 1960; Leighton y Boolootian, 1963; y Koike, 1978, citados en Hahn, 1989). En el abulón rojo, el color de la concha varía del rojo ladrillo, a bandas acuamarinas y blancas, en función de la dieta algal. La ficoeritrina de las algas rojas, es la responsable del color rojo de la concha, mientras que las algas pardas

¹ María Teresa Viana Castrillón, Instituto de Investigaciones Oceanológicas, U.A.B. C.

y verdes producen los colores claros (Olsen 1968 y Leigton 1971, ambos citados en Hooker y Morse, 1985).

Algunos trabajos han encontrado mejores crecimientos de abulones alimentados con dietas de *Gracilaria* que con dietas de *Macrocystis*, (Tong, 1982, citado en Hahn, 1989; Tong, 1983 y Pickering, 1986 ambos citados en Tong y Moss, 1992; Stuart y Brown, 1994;), crecimientos que han sido asociados a mayores niveles de proteína en *Gracilaria* (Stuart y Brown, *op. cit.*; Upatham, *et al.*, 1998). Sin embargo, el uso de *Gracilaria*, como dieta para abulones, tomada directamente de mantos naturales, no siempre da mejores resultados (Simpson y Cook, 1998; Roberto Flores, com. pers.). Esto podría deberse, a la variación de la calidad nutricional de *Gracilaria*.

Una ventaja que presenta el uso de macroalgas vivas como alimento, es que pueden actuar a la vez como biofiltros, debido a su capacidad de remover nutrientes del medio. Diversos autores han documentado la utilización de especies de *Gracilaria* como biofiltro de manera directa, evaluando la calidad del agua (Enander y Hasselstorm, 1994; Sphigel y Neori, 1996; Troell *et al.*, 1997; Aguilar, 1997), o indirectamente evaluando la productividad de las algas y/o los niveles de ficoeritrina en los talos (Ambler *et al.*, 1988; Buschmann *et al.*, 1994).

Diversos estudios han reportado la posibilidad de incrementar el nivel de proteína en las algas mediante fertilizaciones con nitrógeno. Por ejemplo: en *Gigartina*

pectinata (Chavez-Valdéz, 1993), *Gracilaria tikvahiae*, (Bird *et al.*, 1982; Friedlander y Dawes, 1985), y *Gracilaria verrucosa*, (Bird, 1984), se han obtenido aumentos en el contenido de N en el tejido, principalmente como proteínas y aminoácidos, esta capacidad ha sido mayor en alga fertilizada con NH_4^+ que con NO_3^- . Se han probado fertilizantes agrícolas en cultivos de macroalgas con resultados similares a los grado reactivo (Chávez-Valdez, *op. cit.*, Zertuche-González, com. pers.)², con la ventaja de que los primeros son más económicos y de fácil manejo.

En las algas rojas se ha encontrado una relación entre los nutrimentos y el contenido de pigmentos, en particular la ficoeritrina. Se ha demostrado que al adicionar nitrógeno a cultivos de *Gracilaria* se incrementan el contenido de proteína, y de ficoeritrina (Bird *et al.*, 1982; Friedlander y Dawes, 1985; Ambler, *et al.*, 1988; Dawes y Koch, 1990; Jones *et al.*, 1996). Ya que las ficobilinas (*v. gr.* ficoeritrina), son cromoproteínas, (Harold y Kycia, 1978), al aumentar su concentración, incrementan la fracción protéica. La contribución de la ficoeritina en la fracción protéica, puede ser *ca.* 15-20% en talos con contenido de nitrógeno >2% (Bird, *et al.*, 1982).

Asimismo, se ha demostrado una relación inversa entre la irradiancia y la concentración de ficoeritrina (Lapointe y Duke, 1984; Friedlander *et al.*, 1991; Talarico, 1996). La ficoeritrina es una reserva importante de nitrógeno y está asociada al color de la algas. Los talos con color rojo oscuro presentan mayor contenido de

² José Antonio Zertuche-González, Instituto de Investigaciones Oceanológicas, U. A. B. C.

ficoeriterina, y de nitrógeno orgánico, que los talos claros o de color amarillo. (Lapointe, 1981; Bird, *et al.*, 1982; Dawes y Koch, 1990; Chávez-Valdez, 1993; Talarico, 1996).

En este trabajo se propone estimular el enriquecimiento de proteína en *Gracilaria pacifica* mediante fertilización y probarla como alimento para abulón rojo (*Haliotis rufescens*). Se eligió *Gracilaria pacifica* porque es una especie que tiene la ventaja de ser cultivable a gran escala (Santelices y Doty, 1984) y es común en Baja California, lo que la hace ideal para la región, donde actualmente se desarrolla el cultivo del abulón en México (Zertuche-González, 1993).

1.1 Objetivo

- Evaluar el enriquecimiento protéico de *G. pacifica* mediante fertilización artificial y comparar su valor nutricional para el abulón rojo (*Haliotis rufescens*), en cultivo, con otras dietas, en función del crecimiento de los organismos.

2 METODOLOGÍA

2.1 A.- Ensayos para enriquecer el contenido protéico del alga.

Se realizaron tres ensayos con variaciones de luz y nutrientes para establecer el protocolo de fertilización para enriquecimiento del alga.

El alga fue colectada en el Estero de Punta Banda, B. C. ($31^{\circ} 47' N$ y $116^{\circ} 37' W$) - fig. 1-, en diferentes fechas, para cada experimento, y transportada en cubetas a las instalaciones de estanques exteriores del Instituto de Investigaciones Oceanológicas, de la U. A. B. C. Al llegar, se lavó con agua de mar para remover lodo y materia orgánica, procedimiento que se realizó varios días hasta que el agua estuvo limpia. Debido a que no se tiene información del nivel de saturación de nitrógeno orgánico en el tejido de

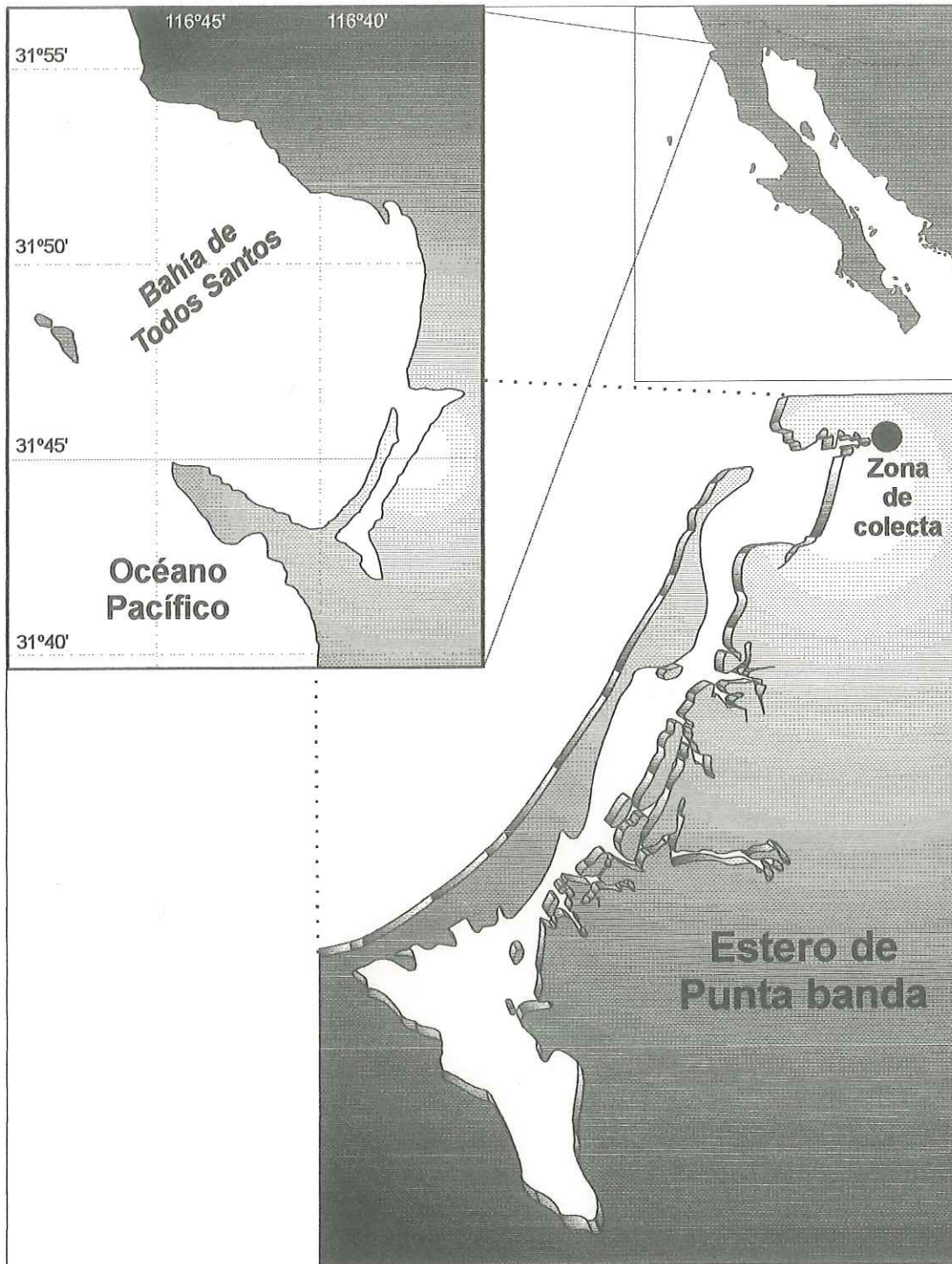


Figura 1.- Zona de colecta de *Gracilaria*

Gracilaria pacifica, el alga fue dejada por diferentes periodos de tiempo, en uno o varios tanques de aproximadamente 800 l de capacidad, con flujo cerrado y con aireación constante con el propósito de que consumiera las reservas y así poder observar el efecto de la fertilización.

Con el alga así manipulada se realizaron ensayos en un sistema de cultivo de ocho tanques exteriores de aproximadamente 100 l de capacidad, sin flujo de agua y con aireación constante. El agua fue renovada justo en el momento de iniciar cada ensayo. Todos los ensayos incluyeron dos tratamientos con tres repeticiones cada uno y un control con dos repeticiones, distribuidos al azar (tabla I). En todos los casos se utilizó una biomasa inicial de 1 000 g.

De las algas en tratamiento se tomaron muestras de aproximadamente 25 g para monitorear contenido de proteína cruda, a las 0, 3, 6, 24 y 48 hrs. Para el ensayo A1 se tomaron también muestras a las 125 hrs, mientras que para los ensayos A2 y A3 se tomaron muestras a las 72 hrs. En estos dos ensayos, se midió la luz con un irradiómetro 4 π , marca Biospherical Instruments Inc., modelo QSL-100. Las mediciones se realizaron al aire, colocando el sensor en el centro del tanque a dos centímetros de la superficie del agua y a ocho centímetros de la superficie de las mallas, que sirvieron para disminuir la luz.

Tabla I.- Experimento A, condiciones experimentales de los tres ensayos para enriquecimiento protéico, realizados con *Gracilaria pacifica* . Error estándar entre paréntesis.

	tratamiento	Irradiancia ($\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$)	% luz	Temp. ($^{\circ}\text{C}$)	Fuente de nitrógeno	Concentración de nitrógeno (μM)	Fuente de fósforo	Concentración de fósforo (μM)	n
Ensayo A1 29/IV/1997	a		100						2
	b				NaNO_3^*	250			3
	c				$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4^*$	250			3
Ensayo A2 22/XII/1997	a	514.95 (13.56)	100	19.98 (0.27)					2
	a	182.72 (17.16)	35						3
	c				$\text{KNO}_3^{\#}$	500	$\text{H}_3\text{PO}_4^{\#}$	50	3
Ensayo A3 2/VIII/1998	a	1785.71 (41.53)	100	24.48 (0.14)					2
	b	245.85 (32.55)	14		$\text{KNO}_3^{\#}$	500	$\text{H}_3\text{PO}_4^{\#}$	50	3
	c				$\text{NH}_4\text{NO}_3^{\#}$	500	$\text{H}_3\text{PO}_4^{\#}$	50	3

*Grado reactivo

#Grado agrícola

Se cuantificó proteína cruda en el tejido de las algas mediante el método Microkjeldahl (se usó el factor de conversión de nitrógeno a proteína de 6.25), siguiendo lo establecido por la A.O.A.C. (1990).

2.1.1 Ensayo A1.

Ensayo con algas expuestas a 100% de luz natural, utilizando dos diferentes fuentes de nitrógeno, NaNO_3 y $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ (tabla I). El alga fue colectada el 10 de abril de 1997 y el ensayo inició el 29 de abril. Con el propósito de disminuir las reservas de N en el tejido, la biomasa total de 9.2 kg fue dejada con la misma agua diez días antes del experimento.

2.1.2 Ensayo A2.

Ensayo con alga sometida a fertilización y 65% de disminución de la luz -de $514.95 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (e. estd. 13.56) a $182.72 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (e. estd. 17.16).- La disminución de la luz se realizó colocando un bastidor con tres mallas de mosquitero negras sobre los tanques (tabla I). La colecta de alga fue realizada el 26 de noviembre de 1997, a la cual, se le hicieron tres cambios de agua los días 1, 9 y 19 de diciembre. La biomasa de 11.7 kg, no se fertilizó con el fin de que utilizara sus reservas de N. El 22 de diciembre se iniciaron los tratamientos. Aunque generalmente el fósforo no es considerado un nutrimento limitante en el medio marino, es importante para lograr la transferencia de energía a través del ATP en la preparación de moléculas para las rutas metabólicas

(Lobban y Harrison, 1994). En este ensayo se agregó ácido fosfórico para asegurar suficiente fósforo en el medio, ya que se fertilizó con el doble de nitrógeno que en el ensayo anterior y la biomasa utilizada es alta, por lo que podría ser limitante para lograr la incorporación de N en forma de nitrato, que requiere de un proceso enzimático (Hanisak, 1997, Falkowski, 1983).

2.1.3 Ensayo A3

Ensayo con alga sometida a 86% de disminución de la luz y fertilización con una (KNO_3) o con dos (NH_4NO_3) fuentes de nitrógeno. La disminución de la luz -de $1785.71 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (e. estd. 41.53) a $245.85 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (e. estd. 32.55)-, se llevó a cabo, cubriendo los tanques con plástico negro y colocando un bastidor con tres mallas de mosquitero negras sobre los tanques (tabla I). El alga fue colectada el 11 de marzo de 1998. Con el fin de dar mantenimiento al alga, se realizaron cambios de agua cada 7-14 días, y fue fertilizada en tres ocasiones, el 19 de abril (500 micromoles de nitrógeno /l y 50 micromoles de fósforo/l), 3 y 15 de julio (250 micromoles de nitrógeno /l y 25 micromoles de fósforo/l). El experimento inició el 2 de agosto, cuatro días antes el alga fue mantenida con la misma agua.

2.2 B.- Alimentación de juveniles de abulón rojo (*Haliotis rufescens*).

2.2.1 Ensayo B1

Abulones rojos (*Haliotis rufescens*) de 143 días de edad, y 5 a 7 mm de longitud, provenientes de la granja "Abulones Cultivados, S. de R. L. de C. V.", fueron mantenidos en aclimatación con flujo abierto (300 ml/min) y aireación por dos meses. Durante este periodo fueron alimentados con una dieta mixta de macroalgas, consistente en *Macrocystis pyrifera*, *Chondrus crispus*, *Gracilaria pacifica*, y *Ulva sp.* Después fueron distribuidos al azar en cubetas de cuatro litros de capacidad, 30 abulones por cubeta. Al iniciar el experimento, el 13 de mayo de 1998, cuando los organismos tenían 204 días de edad, medían 7.06 mm (± 0.65 desv. estd) y pesaban 48.5 mg. (± 12.49 desv. estd.). Se tuvieron seis tratamientos, con tres repeticiones cada uno, distribuidos al azar (tabla II).

El alimento fue ofrecido en exceso, donde el alga era renovada cada semana mientras que el alimento balanceado cada 12 hrs. Todos los días las cubetas eran sifoneadas y las paredes limpiadas. El flujo de agua fue ajustado a 65ml/min. Las cubetas eran rotadas una vez por semana.

Tabla II.- Características de los dos ensayos de alimentación de juveniles de abulón rojo (*Haliotis rufescens*).

	Ensayo B1 (inició 13/V/1998)	Ensayo B2 (inició 8/VIII/1998)
Tratamientos	I.-Gracilaria no fertilizada	
	II.- Gracilaria fertilizada	
	III.-Alimento balanceado	
	IV.-Alimento Balanceado + Gracilaria fertilizada	
	V.- Macrocystis pyrifera	
	VI.- Chondrus crispus	VI.- Diatomeas bentónicas
No. de organismos/cubeta	30	25
n	3	3
1a. colecta <i>Gracilaria</i> : 11/III/1998	Ofrecida todo el experimento	Ofrecida del inicio al día 184
2a. colecta <i>Gracilaria</i> : 3/II/1999		Ofrecida del día 184[*] al 242
3a. colecta <i>Gracilaria</i> : 11/III/1999		Ofrecida del día 242 al 295

* A partir del día 184, las dietas I, II y VI fueron cambiadas a la IV.

2.2.2 Ensayo B2.

Abulones rojos (*Haliotis rufescens*) de 318 días de edad, con 12.04 mm (± 1.25 desv. estd.) de talla y 211.24 mg (± 82.7 desv. estd) de peso, provenientes de la granja "Abulones Cultivados, S. de R. L. de C. V. ", fueron mantenidos en aclimatación con flujo abierto (300 ml/min) y aireación por tres semanas. Durante ese tiempo fueron alimentados con una dieta mixta de macroalgas consistente en *Macrocystis pyrifera*, *Chondrus crispus*, *Gracilaria pacifica*, *Ulva sp.* y *Porphyra sp.* Después fueron distribuidos al azar en cubetas de cuatro litros de capacidad, 25 abulones por cubeta, para lo cual fueron anestesiados con una solución de sulfato de magnesio al 6% w/v (White, *et al.*, 1996). Al inicio del experimento, el 8 de agosto de 1998, no hubo diferencias significativas de talla, 12.30 mm (e. estd. 0.13), ($F=2.6867$, $P=0.0746$, g.l.=5), ni peso, 219.93 mg (e. estd. 9.7), ($F=1.6855$, $P=0.2124$, g.l.=5) entre tratamientos. Cada cuatro semanas, los organismos previamente anestesiados, fueron pesados en una balanza electrónica digital marca Sartorius modelo BP 210 S (0.0001 g) y medidos con un vernier electrónico digital marca MAX-CAL Fowler & NSK (0.03 mm). Se tuvieron seis tratamientos, con tres repeticiones cada uno, distribuidos al azar (tabla II). Durante el experimento las temperaturas promedio mínimas estuvieron en el intervalo de 12.8 a 15.9 °C y las máximas de 14.3 a 17.8 °C.

El alimento balanceado utilizado, fue elaborado según una formulación desarrollada por la Dra. María Teresa Viana y colaboradores en el Intituto de

Investigaciones Oceanológicas de la U. A. B. C. En todos los tratamientos, el alimento fue ofrecido en exceso, excepto las diatomeas, que hasta el día 63, resultaban insuficientes. El alga era renovada aproximadamente cada semana y el alimento balanceado cada 12 hrs durante el primer mes, después el alimento balanceado fue renovado cada 18 hrs. Todos los días las cubetas eran sifoneadas y las paredes limpiadas cada semana y cada vez que era necesario. El flujo de agua fue ajustado a 65ml/min. Las cubetas eran rotadas una vez por semana. El día 184, las dietas *Gracilaria*, *Gracilaria* fertilizada y diatomeas fueron cambiadas a la dieta A. balanceado + *G. fert.* hasta el día 295, ya que el día 63 los abulones se enfermaron. Se calcularon las tasas absolutas de crecimiento (en $\mu\text{m}/\text{día}$ y $\text{mg}/\text{día}$) según Hopkins (1992).

2.2.2.1 Enriquecimiento del alga.

El tratamiento para enriquecer el alga se realizó durante tres a ocho días de la siguiente manera: Se utilizaron dos tanques de aproximadamente 100 l de capacidad, con una biomasa inicial de $\sim 500\text{g}$ cada uno. Un tanque se fertilizó ("*Gracilaria* fertilizada"), con 500 micromoles/l de N con nitrato de amonio y 50 micromoles de fósforo /l, (H_3PO_4), ambos grado agrícola, el tanque se cubrió con una bolsa negra y se tapó en la parte superior con un bastidor con tres mallas negras de plástico (para disminuir la luz aproximadamente 86 %). El otro tanque no fue fertilizado ni tapado, de este tanque provino el alga "*Gracilaria*" (no fertilizada). Se realizaron tres colectas a

lo largo del experimento, las fechas de colecta y periodos durante los cuales se ofrecieron estas algas se muestran en la tabla II.

2.2.2.2 Contenido de proteína cruda del alimento.

Aproximadamente cada semana, se tomaron muestras de macroalgas para cuantificar el contenido de proteína cruda, tanto de las que se ofrecieron como alimento como de los remanentes recogidos antes de renovarlas. Del alimento balanceado, se tomaron submuestras para el análisis ya que se usaron solamente dos lotes de alimento, uno hasta el día 28 y otro del día 29 al 295. El alimento balanceado fue secado en un horno y mantenido congelado en bolsas de plástico hasta el momento de su uso y análisis. Se cuantificó proteína cruda mediante el método Microkjeldahl (se usó el factor de conversión de nitrógeno a proteína de 6.25).

2.2.2.3 Incorporación de nitrógeno diario por las macroalgas usadas como alimento.

Con el método Microkjeldahl se cuantifica el contenido de proteína a partir de nitrógeno orgánico, mediante un factor de conversión. De esta manera, se obtuvieron los datos de contenido de nitrógeno orgánico tanto en las algas suministradas como alimento como en los remanentes recogidos. Esto resulta relevante, ya que por un lado, se puede saber si el contenido de proteína en el alga se incrementó (incrementando asimismo su valor nutritivo), durante su permanencia en las cubetas con los abulones a los que sirvió de alimento, y por otro lado se puede inferir si el alga funcionó como

biofiltro, ya que el nitrógeno incorporado es tomado del medio. En este caso, se calculó la incorporación de nitrógeno en el tejido de las algas, mediante la diferencia entre su contenido al ser suministradas como alimento y el contenido en los remanentes, en relación al número de días que permanecieron en las cubetas y a la biomasa inicial suministrada.

2.3 Análisis estadístico

Los datos de contenido de proteína cruda de los experimentos de fertilización fueron analizados mediante ANOVA de una vía, seguido de la prueba de comparación múltiple LSD (least significant difference). También se compararon las muestras del campo y antes de fertilizar, y contra los tratamientos a cada intervalo de tiempo.

Los datos de peso y talla inicial de los abulones fueron analizados mediante ANOVA de una vía. Se procedió de la misma manera con los datos de tasas de crecimiento absoluto de los abulones en $\mu\text{m}/\text{d}$ y en mg/d de la primera etapa, (hasta el día 56), con las tasas de crecimiento absoluto de la tercera etapa, (días 202 a 295) y con los datos de sobrevivencia. Después se aplicó una prueba de comparación múltiple LSD. La homocedasticidad fue comprobada mediante la prueba de Bartlett. En todas

las pruebas se consideró significativa $P < 0.05$. Los análisis se realizaron con el programa Statistica 4.2 (1993).

3 RESULTADOS

3.1 A.- Ensayos para enriquecer el contenido protéico del alga.

3.1.1 Ensayo A1

No se observó incremento significativo en el contenido de proteína en el tejido de *Gracilaria pacifica*, expuesta a 100% de luz, a pesar de ser fertilizada. Hubo un incremento en el contenido de proteína cruda de ~ 7 % , (de 11.8 a 12.7%), en el tratamiento fertilizado con amonio, a las tres horas en comparación con el tiempo cero (tabla III, fig. 2), sin embargo, éste no fue significativo ($F= 1.7407$, $P=0.2110$). No hubo diferencias en el contenido de N orgánico y proteína cruda entre los tratamientos. Aunque, se observó la tendencia del control a disminuir el contenido de proteína después de las 24 hrs, mientras que en los tratamientos fertilizados se conservó de las 24 a 48 hrs, respecto a su contenido inicial. Se obtuvo incremento de biomasa en todos los tanques de aproximadamente 3.02%/día.

Tabla III.- Contenido de proteína cruda (%), en *Gracilaria pacifica* fertilizada con distintas fuentes de nitrógeno (ensayo A1). El error estándar está indicado entre paréntesis.

Fuente de N	Campo 10/IV/97	0 hrs 29/IV/97	3 hrs	6 hrs	24 hrs	48 hrs	125 hrs	Crecimiento %día ⁻¹
Sin fert.	13.23 (0.87)	11.80 (0.83)	10.44 (0.07)	11.42 (0.06)	10.57 (1.25)	8.50 (2.25)	9.46 (0.32)	3.02 (0.13)
NaNO ₃			11.50 (0.56)	10.74 (0.19)	11.46 (0.13)	11.30 (0.39)	11.06 (0.21)	
(NH ₄) ₂ SO ₄			12.67 (0.39)	10.84 (0.69)	11.88 (0.19)	12.23 (0.61)	11.07 (0.59)	
F			5.3947	0.4933	1.5095	3.2467	3.7215	
P			0.0564	0.6375	0.3070	0.1248	0.1023	

g.l.=2

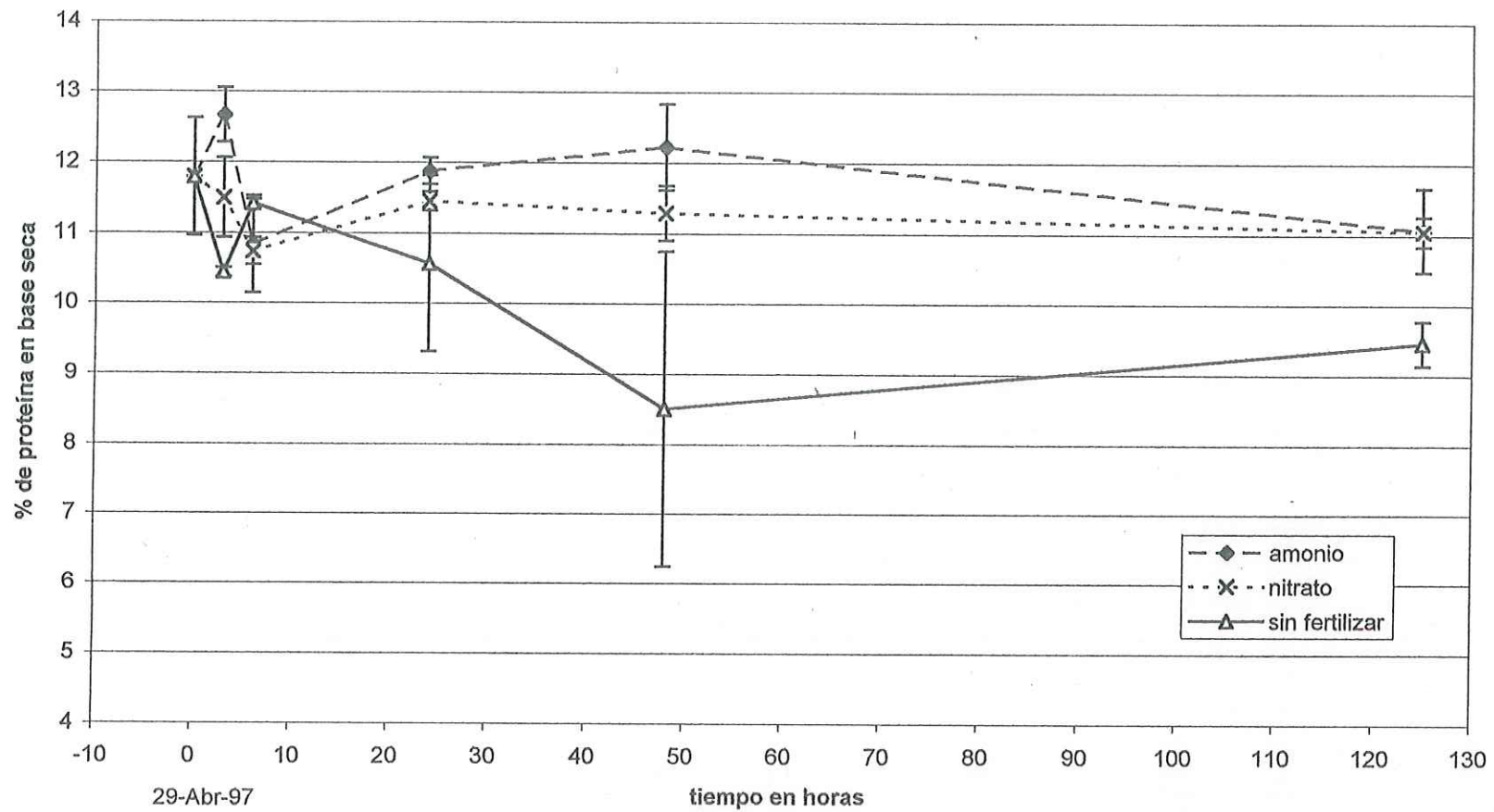


Figura 2.- Contenido de proteína cruda en *Gracilaria pacifica*, expuesta a 100% de luz, fertilizada con 250 micromoles de N/l de dos fuentes distintas (ensayo A1). Las barras representan el error estándar.

3.1.2 Ensayo A2

En este experimento, se obtuvo el mayor enriquecimiento (7.7%) en proteína cruda, (de 18.9 a 20.35%), a las 73 horas con el alga fertilizada y sombreada (fig. 3, tabla IV). Este incremento fue significativo respecto a los otros dos tratamientos y al tiempo cero ($F= 80.6116$, $P=0.0003$, $P=0.0000$ y $F= 16.5806$, $P=0.0050$, respectivamente). El mayor enriquecimiento en este tratamiento (37% luz y NO_3^-), se presentó de las 48 a las 73 hrs. El contenido de proteína cruda aumentó 3.5 %, (de 18.9 a 19.56 %) en el tratamiento con sombra a las 6 hrs, aunque en este momento fue diferente con respecto al control ($F= 6.42$, $P=0.0158$), no fue diferente con respecto al tiempo cero ($F= 1.9323$, $P=0.1696$). A las 73 horas el alga con sombra sin fertilizar disminuyó en 4.4 %, y el control en 11.7%. En cuanto al color, las plantas de los tres tratamientos fueron rojas a las 72 horas, sin embargo se notó un gradiente de coloración, siendo las más oscuras las del tratamiento fertilizado y las más claras las del control.

3.1.3 Ensayo A3

En este experimento se logró enriquecer el alga desde las tres horas, tanto en el tratamiento fertilizado con nitrato de amonio, como con el fertilizado sólo con nitrato como fuente de nitrógeno. Además, con el nitrato de amonio se logró enriquecer más rápidamente que sólo con nitrato (fig. 4, tabla V). Los incrementos de proteína cruda de

Tabla IV.- Contenido de proteína cruda (%), en *Gracilaria pacifica* expuesta a diferentes condiciones de luz y nutrientes (ensayo A2) El error estándar está indicado entre paréntesis. 100% luz = 514.95 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ (13.56), 35% luz = 182.72 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ (17.16).

Tratamiento	Campo 26/XI/97	0 hrs 22/XII/97	3:20 hrs	6:37 hrs	25:04 hrs	48:55 hrs	73:23 hrs	crecimiento %día ⁻¹
100% luz	19.62 (0.32)	18.9 (0.29)	18.45 (0.59)	18.61 ^b (0.22)	18.10 (0.24)	16.99 ^b (0.64)	16.69 ^c (0.38)	0.73 (0.17)
35% luz			18.46 (0.23)	19.56 ^a (0.22)	18.80 (0.21)	18.03 ^b (0.24)	18.07 ^b (0.16)	0.78 (0.3)
35% luz + KNO ₃			19.01 (0.12)	19.17 ^{a,b} (0.07)	19.26 (0.48)	19.34 ^a (0.17)	20.35 ^a (0.12)	0.44 (0.22)
F			1.2834	6.4212	2.3178	12.659	80.612	
P			0.3549	0.0415	0.1939	0.0110	0.0001	

g.l.=2

Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos (P<0.05).

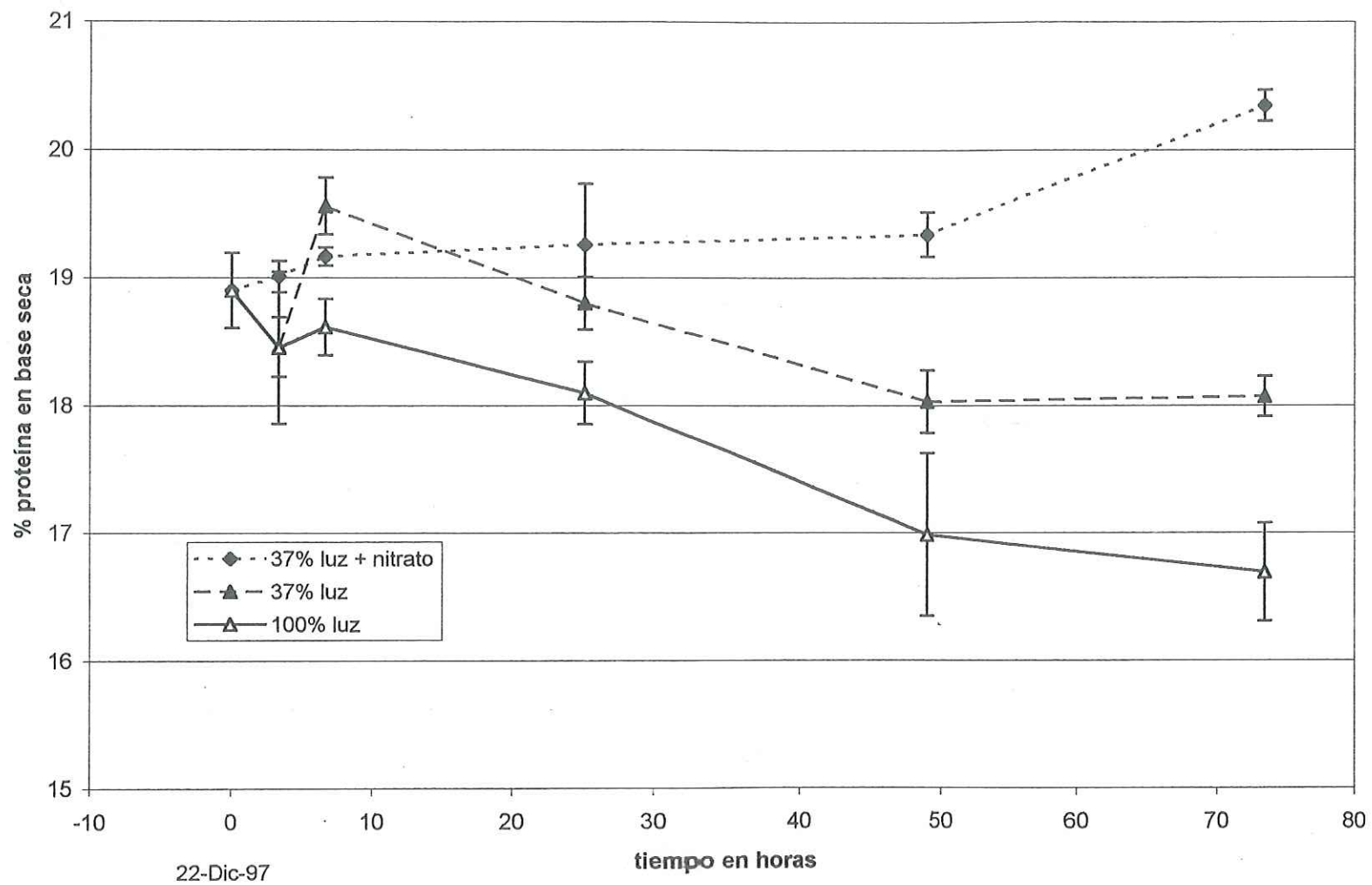


Figura 3.- Contenido de proteína cruda en *Gracilaria pacifica* fertilizada con 500 micromoles de N/ l y 37% de luz (ensayo A2). Las barras representan el error estándar.

Tabla V.- Contenido de proteína cruda (%), en *Gracilaria pacifica* expuesta a 14% de luz y una o dos fuentes de nitrógeno (ensayo A3). El error estándar está indicado entre paréntesis. 100% luz = $1785.71 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ (41.53), 14% luz = $245.85 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ (32.55).

	campo 11/III/98	0 hrs 2/VIII/98	3 hrs	6 hrs	24 hrs	48 hrs	72 hrs	crecimiento %día ⁻¹
Control*	17.18 (1.54)	7.16 ^a (0.33)	7.22 ^c (0.08)	6.89 ^o (0.06)	6.84 ^b (0.22)	6.79 ^b (0.20)	6.48 ^b (0.07)	0.68 (0.68)
KNO ₃ ⁻		7.13 ^a (0.18)	8.40 ^b (0.04)	8.02 ^b (0.34)	10.74 ^a (0.21)	10.01 ^a (0.44)	9.88 ^a (0.10)	-0.00 (0.21)
NH ₄ NO ₃		6.89 ^a (0.12)	9.33 ^a (0.29)	9.44 ^a (0.6)	10.92 ^a (0.27)	10.47 ^a (0.16)	10.57 ^a (0.38)	-0.49 (0.24)
F		0.6477	24.7657	27.7658	73.9983	31.8000	58.6412	
P		0.5622	0.0025	0.0019	0.0002	0.0014	0.0003	

*Control = 100% luz, sin fertilizar.

g.l.=2

Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos (P<0.05).

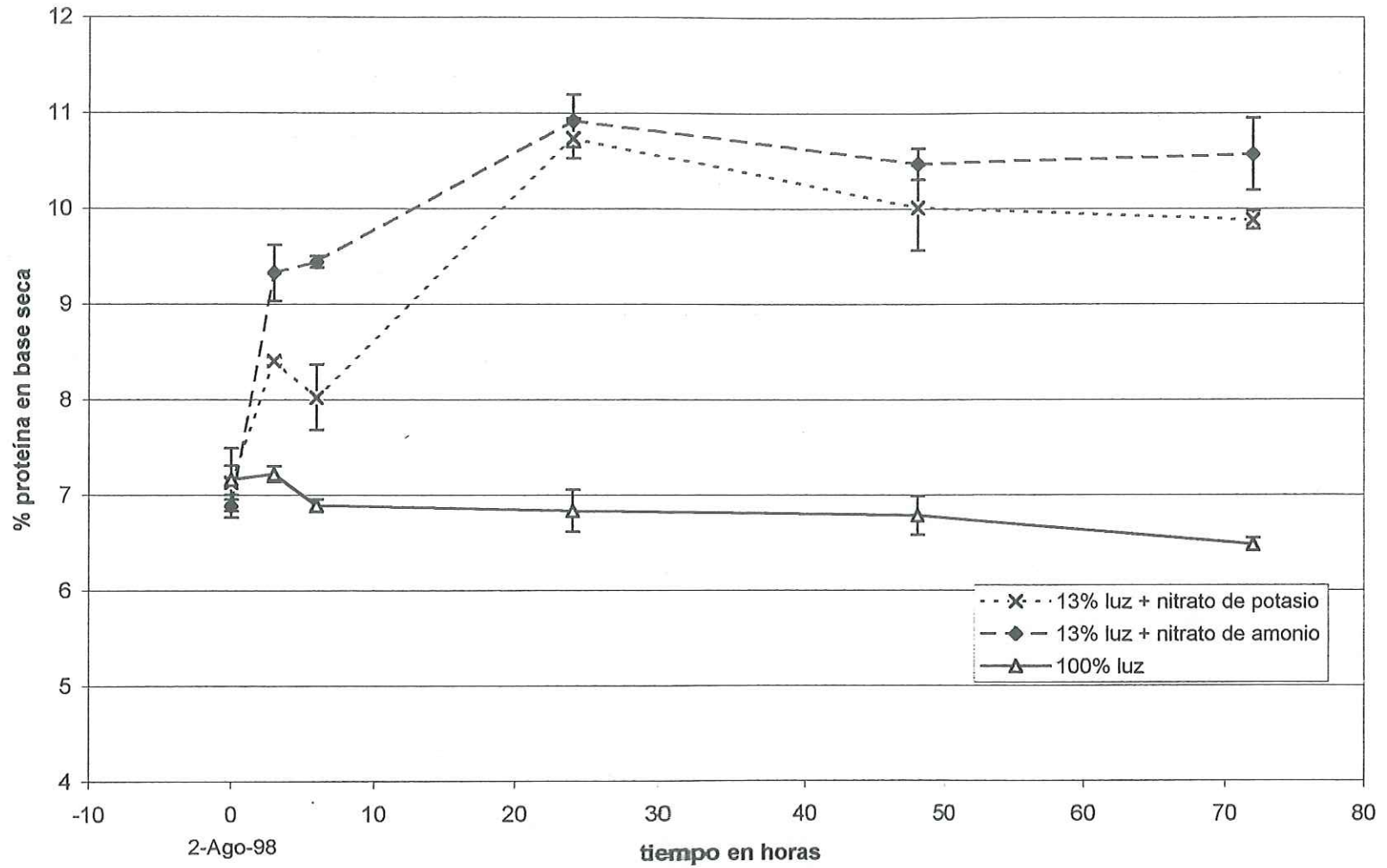


Figura 4.- Contenido de proteína cruda en *Gracilaria pacifica* con 13% de luz y fertilizada con una o dos fuentes de nitrógeno (ensayo A3). Las barras representan el error estándar.

ambos tratamientos fueron significativos respecto al control y al tiempo cero. A las tres horas el contenido de proteína cruda aumentó 35 % (de 6.89 a 9.32%) con nitrato de amonio y 17.8 % (de 7.13 a 8.4%) con nitrato de potasio, siendo la diferencia entre ambos tratamientos significativa ($F=24.7657$, $P=0.0183$). Las diferencias también fueron significativamente mayores con respecto al control ($P=0.0008$ y $P=0.0108$), y con respecto al tiempo cero ($F=45.8612$, $P=0.0000$, y $P=0.0000$). El incremento fue máximo a las 24 horas con ~ 53 % (de 7.06 a 10.83% en promedio) para los dos tratamientos. A este tiempo no hubo diferencia significativa entre ambos tratamientos ($P=0.6008$), pero sí respecto al control ($F=73.9983$, $P=0.0001$ y $P=0.0001$) y al tiempo cero ($F=153.9325$, $P=0.0000$, y $P=0.0000$). El control tuvo tendencia a disminuir a partir de las 6 horas, sin embargo no fue diferente respecto al inicio del experimento, inclusive a las 72 hr ($P=0.6890$). Se observó cambio de color en los talos de los tratamientos respecto al tiempo cero y al control. Los talos de los tratamientos a las 24, 48 y 72 horas fueron rojos, mientras los del control y tiempo cero eran casi amarillos.

3.1.4 Contenido inicial de proteína cruda y máximo enriquecimiento

El contenido promedio inicial (tiempo cero) de proteína cruda y el máximo enriquecimientos logrados en los ensayos fueron 11.8 y 7.6% en el ensayo A1, 18.9 y 7.7 % en el ensayo A2 y 7.06 y 53.4% en el ensayo A3, respectivamente (tablas III, IV y V).

3.2 B.- Alimentación de juveniles de abulón rojo (*Haliotis rufescens*).

3.2.1 Ensayo B1

Todos los organismos murieron al mes y medio. Se observó en el comportamiento de estos organismos (7.06 ± 0.65 mm) una alta preferencia por la biopelícula que se formaba en las paredes de las cubetas, más que por las dietas ofrecidas. Los organismos de los tratamientos con alimento balanceado y alimento balanceado + *G. pacifica* fertilizada sobrevivieron un 50% más de tiempo que los alimentados sólo con macroalgas.

3.2.2 Ensayo B2

El desarrollo de este experimento estuvo caracterizado por tres etapas; una primera etapa, desde el inicio hasta el día 63, durante la cual las mortalidades fueron mínimas (tabla VI, fig. 5) y se observó crecimiento (figs. 6 y 7). La segunda etapa, a partir del día 63, cuando los organismos enfermaron, hasta el día 173, durante la cual no crecieron, se mostraron enfermos y se presentaron las mayores mortalidades. La tercera etapa, durante la cual se recuperaron, desde el día 173, hasta el final del experimento, el día 295. El día 184, las dietas con *Gracilaria*, *Gracilaria* fertilizada, y diatomeas, fueron cambiadas a la dieta con alimento balanceado + *G.* fertilizada, hasta

Tabla VI.- Supervivencia (%) de abulón rojo alimentado con diferentes dietas, (ensayo B2), el error estándar está indicado entre paréntesis.

Trat	Tiempo en días									
	28	56	86	113	144	173	202	231	256	295
I <i>Gracilaria</i>	100	100 ^a	80 ^b (10.1)	69.3 ^b (10.9)	57.3 ^{a,b} (14.8)	28 ^b (8.3)	21.3 ^b (8.1)	17.3 ^b (4.81)	17.3 ^b (4.8)	17.3 ^b (4.8)
II <i>G. fertilizadas</i>	100	100 ^a	96 ^a (2.3)	86.7 ^a (3.5)	60 ^{a,b} (10.1)	30.7 ^b (6.7)	22.7 ^b (5.8)	14.7 ^b (3.5)	14.7 ^b (3.5)	14.7 ^b (3.5)
III Alimento balanceado	100	97.3 ^a (2.7)	96 ^a (2.3)	88 ^a (4)	66.7 ^a (5.3)	58.7 ^a (8.1)	53.3 ^a (11.6)	52 ^a (11.5)	52 ^a (11.5)	49.3 ^a (9.3)
IV A. balanceado + <i>G. fertilizada</i>	100	100 ^a	100 ^a	96 ^a (0)	77.3 ^a (2.7)	70.7 ^a (4.8)	66.7 ^a (3.5)	64 ^a (4)	64 ^a (4)	61.3 ^a (5.8)
V <i>Macrocystis</i>	100	98.7 ^a (1.3)	25.3 ^c (4.8)	5.3 ^c (9.2)	0	0				
VI Diatomeas	100	97.3 ^a (1.3)	82.7 ^b (3.5)	60 ^b (0)	38.7 ^b (4.8)	26.7 ^b (7.0)	24 ^b (6.9)	24 ^b (6.9)	24 ^b (6.9)	24 ^b (6.9)
F		0.9667	31.7783	37.6646	12.0084	15.1676	7.4759	10.5999	10.5999	10.5870
P		0.4755	0.0000	0.0000	0.0002	0.0000	0.0047	0.0013	0.0013	0.0013
g.l.		5	5	5	5	5	4	4	4	4

Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos ($P < 0.05$). La segunda etapa del experimento comprende los días marcados en negritas. A partir del día 184, las dietas I,II y VI, fueron cambiadas a la dieta IV.

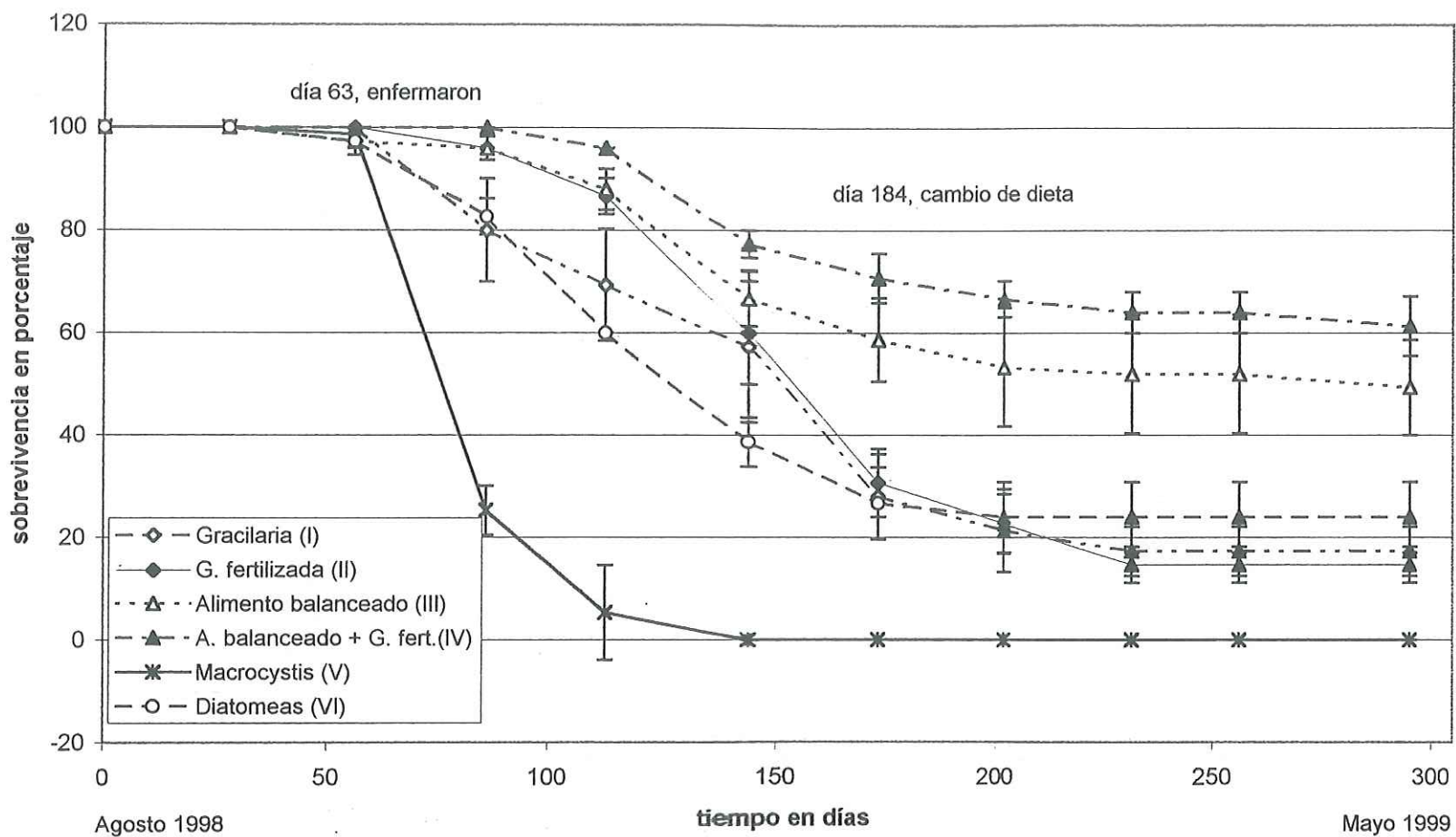


Figura 5.- Sobrevivencia de abulón rojo alimentado con diferentes dietas (ensayo B2). A partir del día 184, las dietas I, II y VI, cambian a la dieta IV. Las barras representan el error estándar.

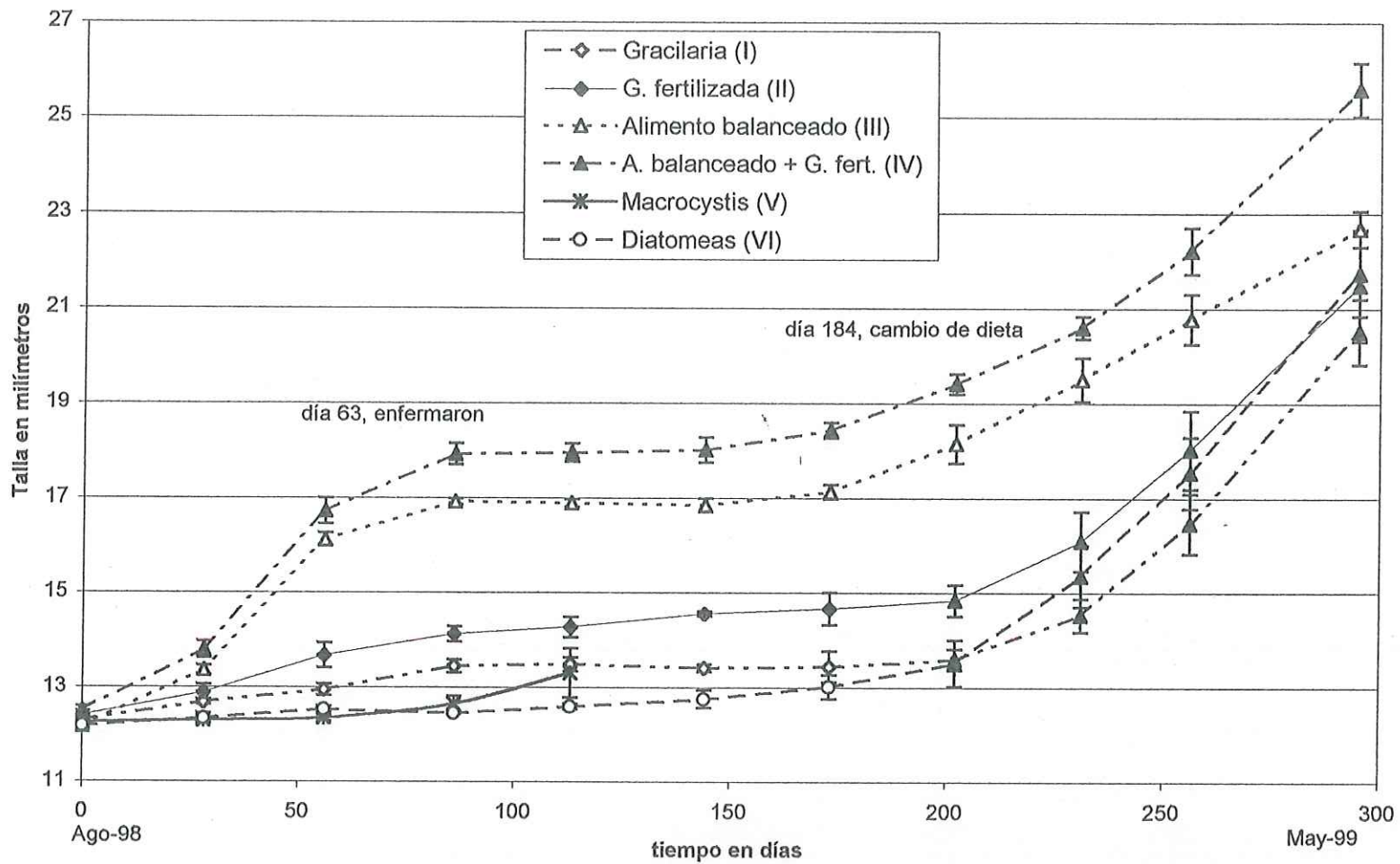


Figura 6.- Talla promedio de abulón rojo alimentado con diferentes dietas (ensayo B2). A partir del día 184, las dietas I, II, y VI cambian a la dieta IV. Las barras representan el error estándar.

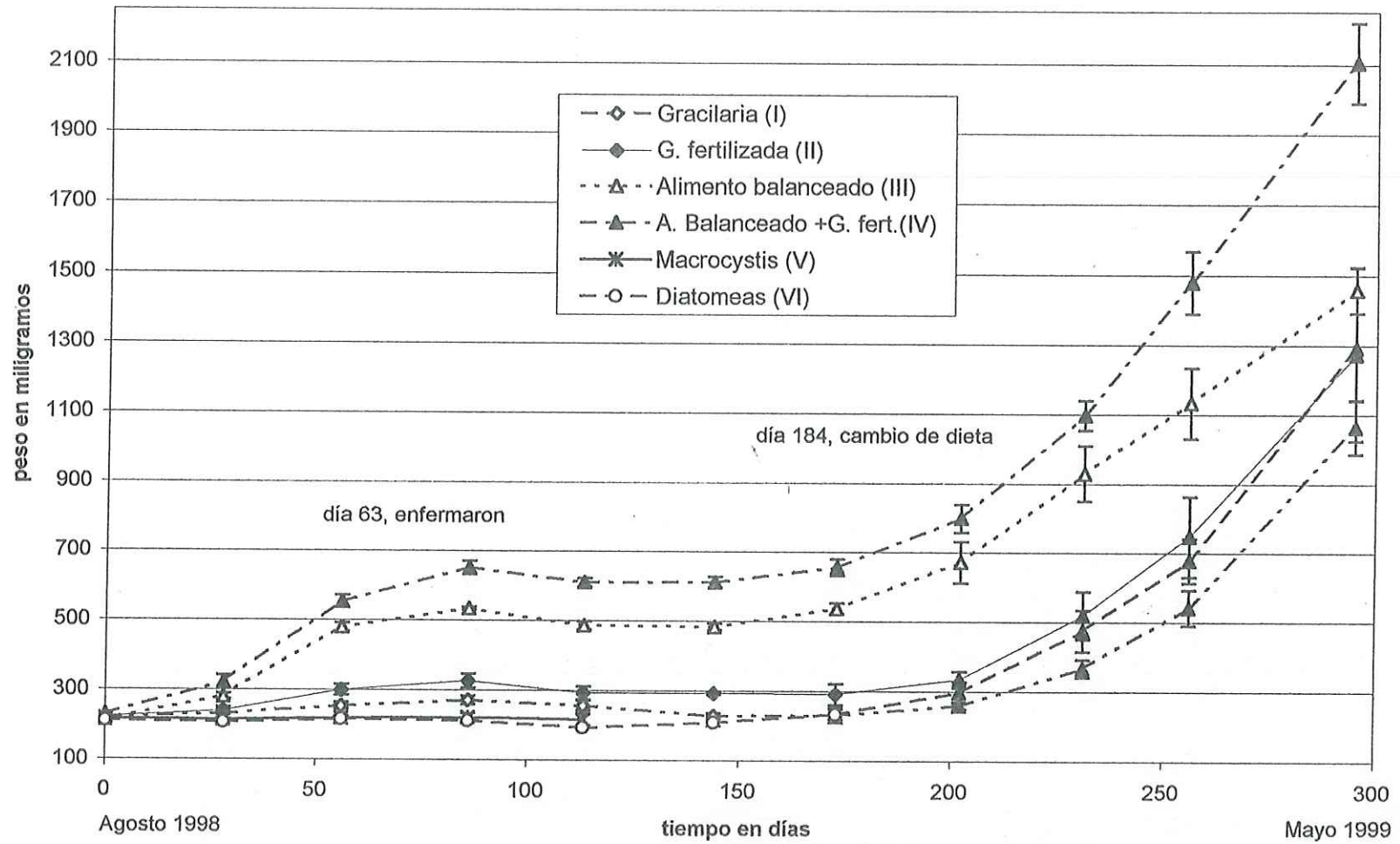


Figura 7.- Peso promedio de abulón rojo alimentado con diferentes dietas (ensayo B2). A partir del día 184, las dietas I, II y VI cambian a la dieta IV. Las barras representan el error estándar.

el día 295. Las temperaturas promedio mínimas y máximas a lo largo del experimento se muestran en la figura 8. Las temperaturas promedio mínimas estuvieron en el intervalo de 12.8 a 15.9 °C y las máximas de 14.3 a 17.8 °C.

3.2.2.1 Primera etapa: Día cero a 63.

Durante esta primera etapa, las mejores tasas de crecimiento en talla y peso ($F=124.1598$, $P=0.0000$ y $F=173.4819$, $P=0.0000$), las presentaron las dietas con alimento balanceado + *G. fertilizada* y alimento balanceado (tabla VII, figs. 9 y 10). En cuanto a talla, las tasas de crecimiento fueron 75.53 y 70.68 $\mu\text{m}/\text{día}$, respectivamente, sin que hubiese diferencia significativa entre ambas ($P=0.2668$). Mientras que para peso, las tasas de crecimiento fueron 5.77 y 4.75 $\text{mg}/\text{día}$, para las dietas con alimento balanceado + *G. fertilizada* y alimento balanceado, respectivamente y en este caso, la diferencia sí fue significativa ($P=0.0024$). De los organismos alimentados con dietas naturales, la mejor tasa de crecimiento en talla y peso, fue para la dieta con *Gracilaria* fertilizada ($P<0.02$). En cuanto a talla presentó una tasa de 22.76 $\mu\text{m}/\text{día}$, comparado con 11.63 $\mu\text{m}/\text{día}$ con *Gracilaria*, 6.35 $\mu\text{m}/\text{día}$ con diatomeas y 3.03 $\mu\text{m}/\text{día}$ con *Macrocystis*. Mientras que la tasa de crecimiento en peso de la dieta con *Gracilaria* fertilizada fue de 1.39 $\text{mg}/\text{día}$, comparado con 0.59 $\text{mg}/\text{día}$ de la dieta con *Gracilaria*, 0.12 $\text{mg}/\text{día}$ con diatomeas y 0.05 $\text{mg}/\text{día}$ con *Macrocystis* (tabla VII, figs.9 y 10). Durante este periodo las temperaturas promedio mínimas estuvieron en el intervalo de 15.1 a 15.9 °C y las máximas de 17.0 a 17.1 °C.

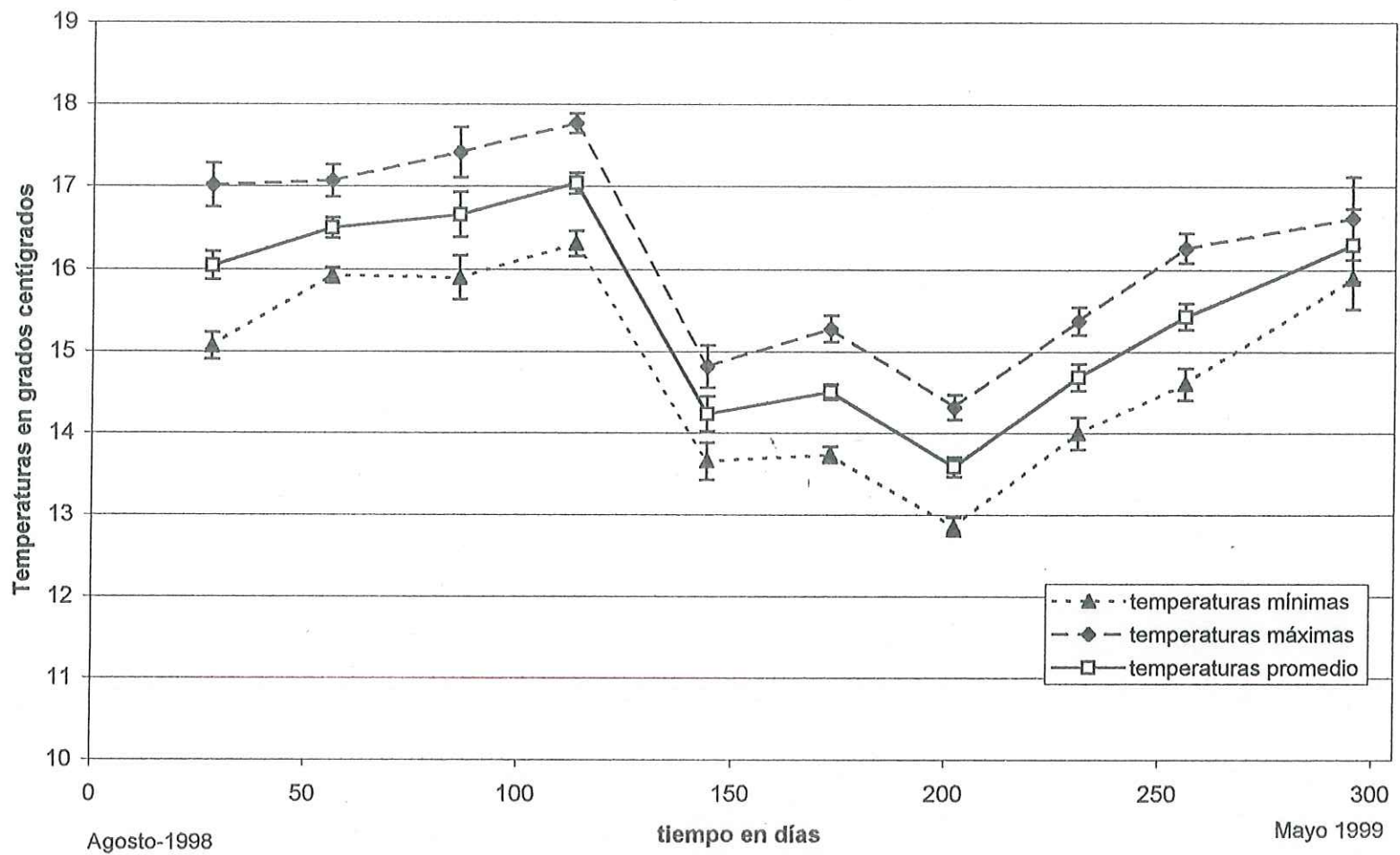


Figura 8 .- Temperaturas promedio, mínimas y máximas, durante el ensayo B2. Las barras indican el error estándar.

Tabla VII.- Tasas absolutas de crecimiento de abulón rojo, durante la primera etapa del ensayo B2. El error estándar se indica entre paréntesis.

Tasas de crecimiento			
tratamiento	Día	$\mu\text{m}/\text{día}$	$\text{mg}/\text{día}$
I Gracilaria	0-28	13.95 (0.90)	0.35 (0.03)
	28-56	9.30 (2.37)	0.82 (0.23)
	0-56	11.63 (1.18)^c	0.59 (0.10)^d
II <i>Gracilaria</i> fertilizada	0-28	17.47 (3.53)	0.60 (0.23)
	28-56	28.06 (3.22)	2.18 (0.21)
	0-56	22.76(3.30)^b	1.39 (0.21)^c
III Alimento balanceado	0-28	42.86 (3.48)	2.40 (0.14)
	28-56	98.50 (1.54)	7.09 (0.32)
	0-56	70.68 (2.48)^a	4.75 (0.21)^b
IV A. balanceado + <i>G.</i> fertilizada	0-28	46.35 (6.32)	3.27 (0.66)
	28-56	104.71 (5.72)	8.28 (0.17)
	0-56	75.53 (5.55)^a	5.77 (0.32)^a
V Macrocystis	0-28	1.84 (1.16)	-0.12 (0.10)
	28-56	4.22 (2.78)	0.22 (0.04)
	0-56	3.03 (0.86)^c	0.05 (0.06)^d
VI Diatomeas	0-28	5.78 (2.20)	-0.13 (0.14)
	28-56	6.92 (1.95)	0.36 (0.13)
	0-56	6.35 (1.45)^c	0.12 (0.12)^d
F		124.1598	173.4819
P		0.0000	0.0000

g.l.=5

Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos ($P < 0.05$). El análisis estadístico se realizó considerando la tasa de crecimiento comprendida entre el día cero hasta el día 56, indicada con negritas.

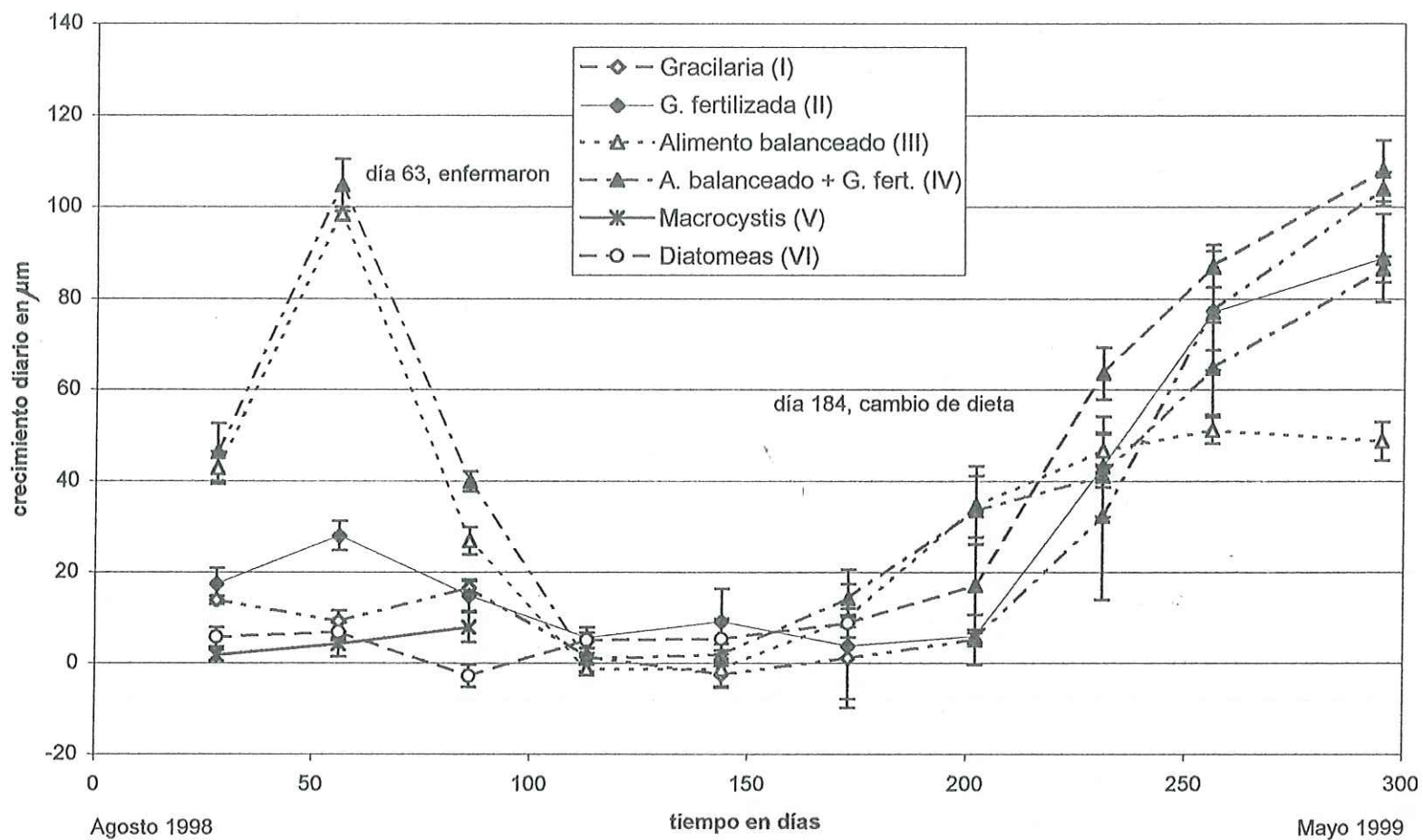


Figura 9.- Tasas absolutas de crecimiento en longitud ($\mu\text{m}/\text{día}$) de abulón rojo alimentado con diferentes dietas (ensayo B2). A partir del día 184, las dietas I, II y VI cambian a la dieta IV. Las barras representan el error estándar.

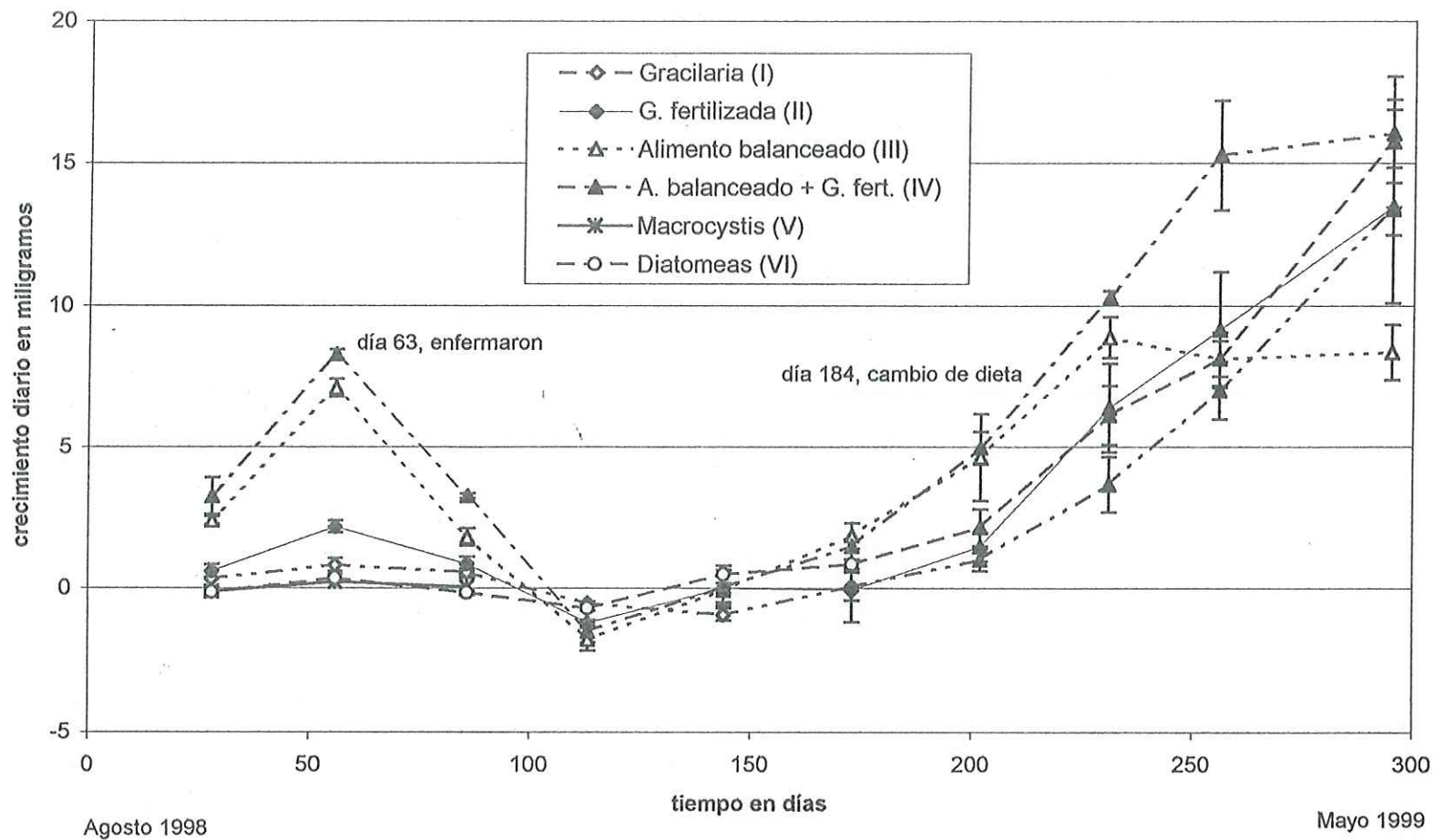


Figura 10 .- Tasas absolutas de crecimiento en peso (mg/día) de abulón rojo alimentado con diferentes dietas (ensayo B2). A partir del día 184, las dietas I, II y VI cambian a la dieta IV. Las barras representan el error estándar.

3.2.2.2 Segunda etapa: Día 63 a 173.

Durante esta etapa, se registraron las mayores mortalidades y las menores tasas de crecimiento (tabla VI, fig. 5). Debido a la falta de abastecimiento de agua de mar por cuatro días y la presencia de un foco infeccioso, los organismos enfermaron y empezaron a morir. Los primeros síntomas que manifestaron, fueron la disminución de actividad y disminución de consumo de alimento (reflejada en la ausencia de heces). Después también se debilitaron, notándose esto, en dificultad para adherirse a las paredes del refugio o de la cubeta y dificultad para girarse, el pie se notaba hinchado. Presentaron degeneración del tejido de los tentáculos epipodiales y alrededor de la boca, la cual se notaba hinchada, también enflacaron, algunos al grado de desprenderse de la concha. En algunos casos se observaron ámpulas en el pie. La mayoría de los organismos que presentaron degeneración de tejido, y/o desprendimiento de la concha, murieron. La recuperación se notó en el aumento de actividad, consumo de alimento (presencia de heces), capacidad de mantenerse adheridos a las paredes y de girarse, al principio lentamente.

Al inicio de la crisis (entre los días 63 a 86), la mortalidad afectó en mayor proporción a los alimentados con *Macrocystis* y en menor a los alimentados con *Gracilaria* fertilizada, alimento balanceado y alimento balanceado + *G.* fertilizada (tabla VI, fig.5). La menor sobrevivencia fue en el tratamiento con *Macrocystis*, todos los organismos de este tratamiento murieron antes del día 144. La sobrevivencia en el

tratamiento con *Gracilaria* fertilizada fue mayor que la del tratamiento con *Gracilaria*, hasta el día 113 (87 vs 69%), para el día 144 la primera disminuyó casi hasta el nivel del tratamiento con *Gracilaria* (60 vs 57 %). Las mejores sobrevivencias se tuvieron en los tratamientos con alimento balanceado + *G.* fertilizada y alimento balanceado, cabe mencionar que para el día 113 las sobrevivencias en los tratamientos con *Gracilaria* fertilizada y alimento balanceado eran casi iguales (87 vs 88 %). Durante este periodo las temperaturas promedio mínimas estuvieron en el intervalo de 13.7 a 15.9 °C y las máximas de 14.8 a 17.8 °C.

3.2.2.3 Tercera etapa: Día 173 a 295.

Durante esta etapa, todos los tratamientos presentaron crecimiento. No hubo diferencias significativas ($F=2.7926$, $P=0.08555$), en las tasas de crecimiento en peso, entre los tratamientos (tabla VIII). Sin embargo, este crecimiento fue especialmente notorio en los organismos provenientes de la dieta con diatomeas bentónicas, que al final del bioensayo (día 295) se acercaron en talla y peso al tratamiento con dieta balanceada, e igualaron a los provenientes del tratamiento con *Gracilaria* fertilizada (figs. 6 y 7). La tasa de crecimiento en talla (88.53 $\mu\text{m}/\text{día}$) de los organismos provenientes del tratamiento con diatomeas fue mayor ($F=5.29$, $P<0.04$), que las tasas de los tratamientos con alimento balanceado + *G.* fertilizada y alimento balanceado, que presentaron tasas de 66.53 y 48.78 $\mu\text{m}/\text{día}$, respectivamente.

Tabla VIII.- Tasas absolutas de crecimiento de abulón rojo, durante la tercera etapa del ensayo B2. Se señala entre paréntesis, la dieta del día 0 a 184. El error estándar se indica entre paréntesis.

tratamiento	tasas de crecimiento		
	día	$\mu\text{m}/\text{día}$	$\text{mg}/\text{día}$
A. balanceado + G fertilizada (I.-Gracilaria)	202-231	32.33 (18.35)	3.67 (0.97)
	231-256	77.42 (13.10)	7.00 (1.02)
	256-295	103.92 (3.67)	13.40 (0.91)
	202-295	74.47 (8.28)^{a,b}	8.65 (0.81)^a
A. balanceado + G fertilizada (II.- Gracilaria fertilizada)	202-231	43.21 (10.98)	6.39 (1.57)
	231-256	77.18 (8.42)	9.14 (2.05)
	256-295	88.92 (9.60)	13.49 (3.39)
	202-295	71.51 (9.11)^{a,b}	10.10 (2.42)^a
III Alimento balanceado	202-231	46.71 (3.53)	8.88 (0.72)
	231-256	51.16 (2.92)	8.12 (0.94)
	256-295	48.79 (4.19)	8.35 (0.98)
	202-295	48.78 (0.36)^b	8.45 (0.08)^a
IV A. balanceado + G fertilizada	202-231	41.18 (2.43)	10.28 (0.25)
	231-256	64.76 (10.18)	15.28 (1.92)
	256-295	86.51 (2.76)	16.04 (1.20)
	202-295	66.53 (4.17)^b	14.04 (0.84)^a
A. balanceado + G fertilizada (VI.- Diatomeas)	202-231	63.59 (5.74)	6.12 (1.04)
	231-256	87.24 (4.63)	8.12 (0.63)
	256-295	107.89 (6.67)	15.75 (2.29)
	202-295	88.53 (5.16)^a	10.70 (1.36)^a
F		5.2917	2.7926
P		0.0149	0.0855

g.l.=4

Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos ($P < 0.05$). El análisis estadístico se realizó considerando la tasa de crecimiento comprendida entre el día 202 hasta el día 295, indicada con negritas.

Aunque no hubo diferencia significativa en las tasas de crecimiento en talla ni en peso, entre los tratamientos alimento balanceado y alimento balanceado + *G. fertilizada* (que tuvieron la misma dieta desde el inicio del experimento), resalta el hecho de que mientras las tasas de crecimiento se estabilizaron a partir del día 256, para el tratamiento con alimento balanceado, las tasas de crecimiento del tratamiento con alimento balanceado + *G. fertilizada*, continuaron incrementándose, siguiendo un comportamiento similar al de los tratamientos en los que se realizó cambio de dieta (tabla VIII, figs. 9 y 10). Las temperaturas promedio mínimas, en esta etapa, estuvieron en el intervalo de 12.8 a 14.6 °C y las máximas de 14.3 a 16.6 °C.

Al final del experimento, las mejores sobrevivencias fueron de las dietas con alimento balanceado + *G. fertilizada* y alimento balanceado con 61 y 49 % respectivamente. En el caso de los organismos provenientes de la dieta con *Gracilaria fertilizada*, a pesar de que hasta el día 113, presentaron mejor sobrevivencia que los provenientes de la dieta con diatomeas (tabla VI, fig. 5), al final del experimento, la sobrevivencia de los provenientes del tratamiento con diatomeas fue mayor, con 24% para la dieta con diatomeas y 15% para la dieta con *Gracilaria fertilizada*, aunque la diferencia no fue significativa ($P=0.2803$).

3.2.2.4 Contenido de proteína cruda del alimento.

Los contenidos de proteína cruda del alimento a lo largo del experimento se muestran en la tabla IX y la fig. 11. Los promedios hasta el día 63 (primera etapa), para las macroalgas *Gracilaria*, *Gracilaria* fertilizada, y *Macrocystis*, fueron 5.8, 15.35 y 5.96 %, en base seca, respectivamente. El alimento balanceado, tuvo promedio de 29.6% durante todo el experimento. Los promedios de la segunda etapa, hasta el día 161 (antes del cambio de dieta), para las algas *Gracilaria*, *Gracilaria* fertilizada y *Macrocystis*, fueron 10.34, 19.28 y 4.65 %, respectivamente. En general hubo enriquecimiento en proteína cruda en los remanentes de las algas, sin embargo, cuando los tratamientos *Gracilaria*, *Gracilaria* fertilizada y diatomeas bentónicas tuvieron la dieta A. balanceado + *Gracilaria* fertilizada (tercera etapa), el contenido de proteína cruda de los remanentes disminuyó, respecto al contenido inicial (tabla IX).

3.2.2.5 Incorporación diaria de nitrógeno por las macroalgas usadas como alimento.

La incorporación diaria de nitrógeno en mg N/día por las algas (tabla X, fig. 12), aumentó a más del doble, del día 74, al día 93, en el tratamiento *Gracilaria*, y se mantuvo alta los siguientes dos periodos. Para el día 172, la incorporación disminuyó, pero fue aún mas alta que hasta el día 74. La incorporación de N de las algas del tratamiento *Gracilaria* fertilizada fue menor que la de los tratamientos *Gracilaria* y A. balanceado + *Gracilaria* fertilizada, excepto para el día 127. La incorporación de *Macrocystis*, fue menor que las de *Gracilaria* y *Gracilaria* fertilizada.

Tabla IX.- Contenido de proteína cruda (%), en base seca, del alimento ofrecido a abulones rojos, así como de los remanentes recogidos en el ensayo B2. El error estándar se indica entre paréntesis.

alimento ofrecido el día	remanente recogido el día	Gracilaria antes fertilizar	Gracilaria	Gracilaria	Gracilaria fertilizada	Gracilaria fertilizada	A. balanceado +G. fertilizada remanente*	Macrocystis	Macrocystis
			ofrecido	remanente	ofrecido	remanente		ofrecido	remanente
32	41		4.83	6.81 (0.46)	15.45	15.89 (0.02)	16.77 (0.20)	6.15	6.12 (0.14)
48	55		6.78 (0.08)	8.88 (0.450)	15.26 (0.19)	15.84 (0.50)	17.10 (0.31)	5.78 (0.10)	6.44 (0.07)
63	74	13.44	9.70 (0.060)	12.83 (0.14)	21.02 (0.260)	21.75 (0.22)	22.67 (0.52)	4.52 (0.05)	5.87 (0.39)
85	93	9.43	7.51 (0.13)	12.53 (0.23)	13.80 (0.09)	16.90 (0.40)	17.18 (0.21)	4.78 (0.11)	6.70 (0.37)
120	127	14.95	11.11 (0.21)	16.83 (0.37)	21.62 (0.53)	22.92 (0.26)	22.24 (0.22)		
143	151		12.71 (0.14)	18.96 (0.20)	18.91 (0.27)	21.43 (0.35)	22.22 (0.53)		
161	172	13.58	10.67 (0.30)	15.31 (0.38)	21.07 (0.99)	23.19	23.80		
184	197	11.65 (0.79)		20.06 (0.23)	21.44 (0.51)	20.45 (0.80)	18.76 (0.11)		
218	242	15.01		18.69 (0.23)	19.34 (0.43)	18.49 (0.35)	15.51 (1.14)		
254					20.38 (0.46)				
1a etapa			5.80 (0.97)		15.35 (0.01)			5.96 (0.18)	
2a etapa			10.34 (0.86)		19.28 (1.45)			4.65 (0.13)	
1a y 2a etapa			9.04 (1.05)		18.16 (1.23)			5.31(0.39)	
3a etapa					20.39 (0.61)				

• El remanente es solamente el alga. A partir del día 184, se cambia a la dieta alimento balanceado + *Gracilaria* fertilizada

El contenido de proteína cruda del alimento balanceado tuvo promedio de 29.69% (e.estd.0.22), durante todo el experimento.

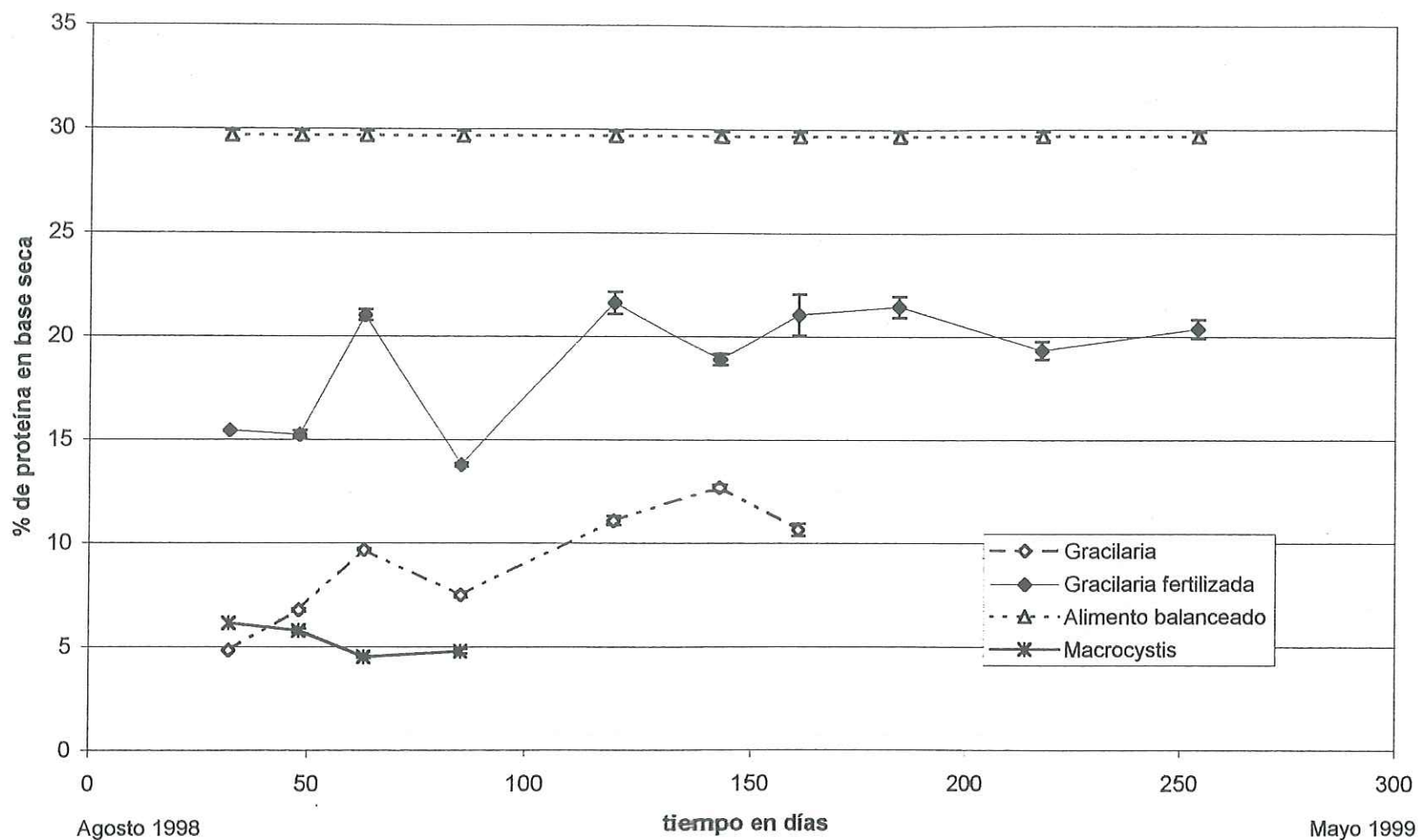


Figura 11 .- Contenido de proteína cruda de las macroalgas y alimento balanceado, ofrecidos como alimento a bulón rojo (ensayo B2). Las barras representan el error estándar.

Tabla X.-Incorporación diaria de nitrógeno por las macroalgas usadas como alimento, en mg/día. El error estándar se indica entre paréntesis.

día	<i>Gracilaria</i>	<i>Gracilaria</i> fertilizada	<i>G. fertilizada</i> (de A. balanceado + <i>G. fertilizada</i>)	<i>Macrocystis</i>
41	0.76 (0.18)	0.17 (0.01)	0.51 (0.08)	-0.01 (0.04)
55	1.04 (0.22)	0.29 (0.25)	0.91 (0.16)	0.25 (0.02)
74	0.99 (0.04)	0.23 (0.07)	0.52 (0.16)	0.38 (0.11)
93	2.17 (0.10)	1.34 (0.17)	1.46 (0.09)	0.73 (0.15)
127	2.35 (0.15)	0.53 (0.11)	0.25 (0.09)	
151	2.70 (0.11)	0.91 (0.13)	1.19 (0.16)	
172	1.09 (0.11)	0.50	0.64	

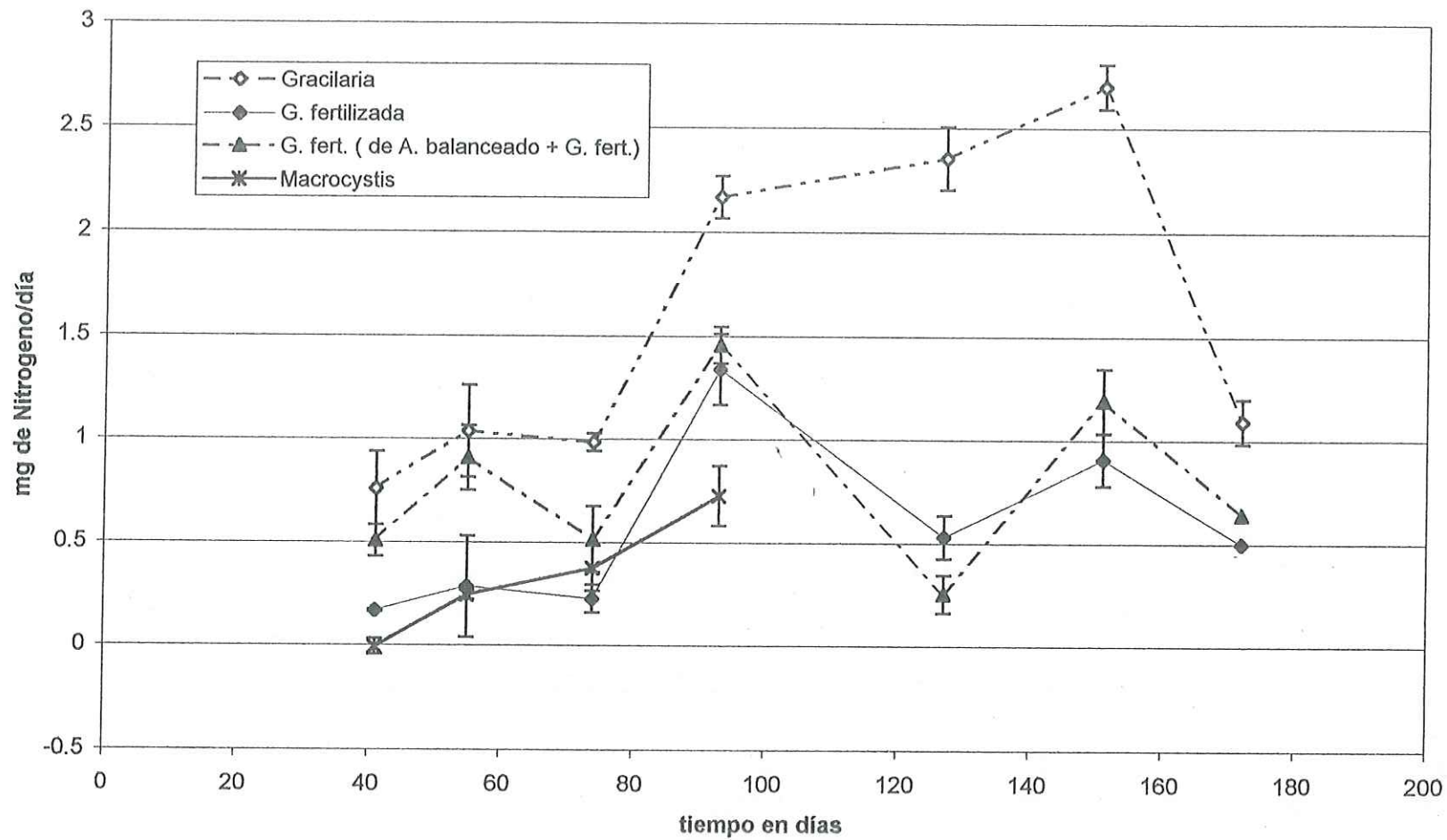


Figura 12.- Incorporación diaria de nitrógeno por las macroalgas de cada tratamiento (ensayo B2). Las barras representan el error estándar.

3.2.2.6 Color de *Gracilaria pacifica* y de los abulones.

En todos los casos el color de los talos de *Gracilaria pacifica* fertilizada fue más intenso que el de *Gracilaria pacifica* no fertilizada.

Los abulones, alimentados exclusivamente con *Macrocystis* o alimento balanceado, presentaron conchas blancas y músculo claro, los alimentados con diatomeas presentaron conchas blancas con tonos cafés o acuamarinos y músculo ligeramente pigmentado, mientras los alimentados con *Gracilaria pacifica* y la dieta en la que ésta se incluyó con el alimento balanceado, presentaron conchas rojas y músculo pigmentado. El color de *Gracilaria pacifica* ofrecida también influyó en el color de las conchas, ya que las conchas de los abulones alimentados con *Gracilaria pacifica* fertilizada fueron más oscuras que las de los abulones alimentados con *Gracilaria pacifica* sin fertilizar. El cambio de dieta, se vió reflejado en el color de la banda de crecimiento de la concha, principalmente en los organismos provenientes de la dieta con diatomeas.

4 DISCUSIÓN

4.1 Ensayos para enriquecer el alga

Este estudio demuestra que es factible enriquecer el contenido de proteína cruda de *Gracilaria pacifica*, enriquecimiento que es afectado por varios factores, como la cantidad de luz, el contenido inicial de proteína en el alga, la cantidad y fuente de nitrógeno en el medio.

Cuando un 100% de luz estuvo presente, la biomasa de alga aumentó, lo que explica que el contenido de proteína en el tejido no aumentara, pues se destinaba a tejido nuevo y no a la acumulación de reservas. Estos resultados concuerdan con lo reportado para *Ulva fasciata*, donde a altas intensidades de luz, aumenta el crecimiento al incrementar el nitrógeno en el medio, pero no aumenta el porcentaje de N en el tejido o la relación C:N (Lapointe y Tenore, 1981). Cuando la cantidad de luz se redujo en 67 y 83% además de fertilizar, sí hubo enriquecimiento de proteína aunque resultó un casi nulo crecimiento. Resultados similares fueron obtenidos en *Gracilaria conferta* en cultivos exteriores, donde a menores irradiancias se obtienen los menores crecimientos, y las mayores concentraciones de ficoeritrina (Friedlander, *et al.*, 1991).

Además, de que en *Gracilaria tickvahiae* existe una relación similar entre la concentración de pigmento con la irradiancia y concentración de amonio (Lapointe y Duke, 1984). Cabe recordar que las ficobilinas (v. gr. ficoeritrina), son cromoproteínas, (Harold y Kycia, 1978), por lo que al aumentar su concentración, incrementan la fracción protéica.

El contenido de proteína cruda del alga (y por tanto calidad nutricional), en el campo, varía fuertemente de una temporada a otra, e incluso en la misma localidad, por ejemplo, las plantas colectadas en abril de 1997, tuvieron 13.23% (0.23) de proteína cruda, las colectadas en noviembre de 1997, 19.62% (0.32) y las colectadas en marzo de 1998, 17.18% (1.54). Una forma práctica de saber si el contenido de proteína es "alto" o "bajo", es por su color, ya que se observó que las plantas oscuras tienen mayor contenido de proteína que las pálidas, esto concuerda con lo reportado por Lapointe, 1981; Bird, *et al.*, 1982; Dawes y Koch, 1990; Chávez-Valdez, 1993; y Talarico, 1996. Cuando la planta viene del campo con niveles bajos de proteína el proceso de enriquecimiento puede ser relativamente rápido (3-6 hr), sin embargo, la velocidad y magnitud del enriquecimiento en proteína dependerán no sólo de la cantidad de luz y de la fuente de nitrógeno, sino también del contenido inicial de proteína en el tejido (antes de ser fertilizada), a menor contenido inicial de proteína, mayor será la magnitud del enriquecimiento. Lo anterior se infiere por los máximos enriquecimientos obtenidos en los ensayos en relación con el estado inicial del tejido (tablas III, IV y V).

Se observaron diferencias en el enriquecimiento según la fuente de nitrógeno en el medio. Se sabe que las reservas de $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ son llenadas más rápidamente que las de aminoácidos (Hwang, *et al.*, 1987), lo cual no se refleja como un aumento en proteína cruda, esto explica por qué, cuando la fertilización se realizó sólo con nitrato (ensayo. A2), el mayor enriquecimiento se obtuvo entre las 49 a 73 horas. El contenido de proteína fue ligeramente mayor (ensayo A1), cuando se fertilizó con amonio que cuando se fertilizó con nitrato (aunque no fue significativo). Además, se observó que el enriquecimiento fue más rápido fertilizando con nitrato de amonio que con nitrato de potasio (ensayo A3). Lo anterior se debe a que el amonio es incorporado al tejido más fácilmente que el nitrato, y depende menos de la luz, pues no requiere ser reducido para formar glutamato e ir a la síntesis de aminoácidos (Hanisak, 1997, Falkowski, 1983). Por tanto, se puede lograr enriquecimiento sólo manteniendo el alga en la oscuridad, siempre y cuando la disponibilidad de nitrógeno en el medio sea suficiente.

Se decidió utilizar nitrato de amonio para enriquecer el alimento para los abulones, ya que el contenido de fenilalanina, en *Gracilaria edulis*, aumenta cuando la fuente de N es amonio, y cuando la fuente de N es nitrato, aumenta el contenido de alanina. Mientras que en muestras del campo cuando se tienen ambas fuentes de nitrógeno también se tienen ambos aminoácido libres (Jones *et al.*, 1996). Esto es importante, pues para el abulón rojo, *Haliotis rufescens*, los aminoácidos esenciales (Allen y Kilgore, 1975) son: treonina, valina, metionina, leucina, isoleucina, triptofano,

arginina, fenilalanina, histidina y lisina. Además, se reporta que el nivel de ingesta de prolina, alanina, histidina y lisina, están positivamente relacionados con la tasa de crecimiento en *Haliotis midae* (Simpson, 1994).

Para lograr el incremento de proteína, se requiere, disminuir la luz lo suficiente para evitar que el alga crezca y, asegurar suficiente nitrógeno en el medio.

4.2 Alimentación de juveniles de abulón rojo (*Haliotis rufescens*)

4.2.1 Ensayo B1.

Los resultados sugieren que los abulones fueron capaces de ingerir parte del alimento "lavado" y/o de la biopelícula que se formaba diariamente en estos tratamientos, ya que se observaba a los abulones en las zonas de las paredes donde había mayor producción de película. En el tratamiento con *Macrocystis*, se observó que cuando las láminas estaban "sucias", los abulones las "limpiaban". En los tratamientos con *Gracilaria*, los talos (que fueron observados al microscopio) estaban "limpios" al ofrecerlos como alimento, pues tenían ya dos meses en tanques, habiendo perdido materia orgánica y diatomeas adheridas. Lo mismo sucedía con las láminas de *Chondrus* que provenían de cultivos en tanques.

La mortalidad de los organismos puede haber sido influida por el hecho de alimentarlos casi exclusivamente de macroalgas a esta talla (7.06 ± 0.65 mm), aunque al momento de recibirlos se indicó que ya eran alimentados con macroalgas (Enrique Vázquez y Roberto Flores, com. pers.)³ es muy probable que complementaran su dieta con los epibiontes y materia orgánica adherida a ellas. En las granjas se acostumbra cambiar la dieta de los abulones a macroalgas cuando tienen entre 5 y 6 meses de edad (entre 8-10 mm de talla), y en algunos casos a esta talla, considerada semilla, son llevados a sistemas de engorda en el mar (Ebert, 1992, *op.cit.*). El cambio de dieta es gradual, ya que en casos en que juveniles de aproximadamente 5 mm, son transferidos a tanques donde se les proporcionan especies como *Egregia* y *Macrocystis*, también están presentes microalgas en las paredes de los tanques. Cuando llegan a 10-15 mm, ya son capaces de crecer exclusivamente con macroalgas (Hooker y Morse, 1985). Los organismos utilizados en este bioensayo, aunque ya tenían 204 días de edad (casi 7 meses), aún no alcanzaban la talla de 8-10 mm. Además aún es muy probable que en el caso de organismos de 8-10 mm de talla, las diatomeas y materia orgánica presentes en las macroalgas sean una parte importante de su dieta.

4.2.2 Ensayo B2

El presente estudio demostró que es factible enriquecer el contenido protéico de *Gracilaria pacifica* y, bajo este procedimiento, favorecer el crecimiento del abulón

³ Enrique Vázquez y Roberto Flores, Abulones Cultivados, S. de R. L. de C.V.

Haliotis rufescens. Aunque los resultados del experimento se vieron enmascarados debido a la alta mortalidad. El crecimiento de los abulones fue mayor cuando el alga fue fertilizada que cuando no lo fue. En cuanto a *Macrocystis*, el bajo crecimiento puede deberse además del bajo contenido de proteína que presentó (similar al de *Gracilaria* no fertilizada), a la textura del alga, pues se ha demostrado que ésta también influye en las tasas de consumo (McShane *et al.*, 1994). Cuando los organismos se alimentaron con una sola especie de alga, el crecimiento fue bajo comparado con la dieta balanceada rica en proteínas. Cuando fueron alimentados con diatomeas bentónicas, el bajo crecimiento pudo deberse a que el alimento fuera insuficiente, ya que se terminaban el alimento antes de que les fuera proporcionado más. Cuando el alga enriquecida se proveyó junto con el alimento artificial, el resultado en el crecimiento fue mayor que el crecimiento de los organismos alimentados exclusivamente con alimento artificial. Este resultado demostró un efecto aditivo del alga, sin embargo no puede atribuirse este efecto al enriquecimiento del alga, porque no se tuvo un tratamiento en el que se incluyeran tanto el alimento balanceado como el alga sin fertilizar. En la tercera etapa del experimento, este efecto tampoco se puede atribuir a un factor en específico, ya que los organismos que tuvieron la dieta A. balanceado + *Gracilaria* fertilizada desde el inicio, se comportaron en forma similar a los que tuvieron cambio de dieta, lo que indica que probablemente, no llegaron aún a su crecimiento normal. En los organismos a los que se realizó cambio de dieta, las altas tasas de crecimiento pueden deberse no sólo a crecimiento compensatorio debido a estrés nutricional (pues tenían ya seis meses con la misma dieta), sino también a la

disminución de densidad de los organismos en las unidades experimentales causadas por la mortalidad, ya que se ha encontrado que las altas densidades reducen el crecimiento de los abulones en cultivo (Koike *et al.*, 1979; Chen, 1984, ambos citados por Day y Fleming, 1992).

Durante el experimento, las temperaturas promedio mínimas estuvieron en el intervalo de 12.8 a 15.9 °C y las máximas de 14.3 a 17.8 °C. Aunque, el rango térmico, reportado para *Haliotis rufescens* es de 7 a 16 °C (Secretaría de Pesca, 1994, Howorth, 1978), también en esta especie se ha reportado, el mejor crecimiento a 18°C (Leighton, D. L., 1974, citado en Hahn, 1989).

Aún cuando las tendencias actuales en la acuicultura moderna son las de abastecer a los organismos con alimentos balanceados, éstos no siempre están disponibles y, dependiendo de los sistemas de cultivo, éstos no siempre se prestan para suministrar alimento balanceado en forma práctica. En el caso del abulón, existen dos alternativas genéricas; el cultivo en tierra o el cultivo en el mar. En primero ofrece la ventaja de que se obtiene un mayor control sobre los organismos. Por esta misma razón, en estos casos resulta relativamente práctico el abastecer animales con alimento balanceado. Este estudio demuestra que aún para estos casos, la inclusión de algas resulta provechoso para el crecimiento de los animales además de proveer un color y posiblemente sabor

más natural. Al mismo tiempo, las algas, permiten mantener condiciones de sanidad más altas por su capacidad de remover nutrientes como el amonio, que en exceso puedan perjudicar la salud de los organismos (Basayaux y Mathieu, 1999; Harris *et al.*, 1998a; Harris *et al.*, 1998b). Esta capacidad resultó mayor en *Gracilaria* que en *Macrocystis*, ya que aunque *Gracilaria* en general presentó mayores contenidos de proteína cruda inicial que *Macrocystis*, incorporó más N/día, aún *Gracilaria* fertilizada fue capaz de incorporar nitrógeno mientras permaneció en las cubetas, con lo que además de remover nutrientes del medio aumentó su valor nutritivo. El utilizar *Gracilaria* podría resultar en la disminución de mano de obra, pues el alga se mantiene en buenas condiciones por largos periodos de tiempo en las cubetas sin luz (aproximadamente tres semanas, sin problema de descomposición). Lo que reduciría la necesidad de cambiarla tan frecuentemente como en el caso de *Macrocystis*, y reduciría también la intensidad de limpieza.

Para aquellos sistemas de cultivo donde la engorda de juveniles se lleva a cabo en el mar, la dieta balanceada resulta difícil de suministrar. En estos casos, los acuacultores están limitados al uso de las algas que colectan del medio natural. Para estos casos resulta particularmente importante contar con algas con un alto valor nutritivo durante todo el año. Aquí el punto crítico, sería el diseño de un sistema adecuado a la morfología del alga.

El enriquecimiento del alga resultó un procedimiento sencillo que podría implementarse en granjas de cultivo de una manera económica. Basta con fertilizar las algas por periodos cortos con fertilizantes agrícolas que resultan económicos. Habría que hacer notar que, dependiendo de la especie de alga y el lugar y época de cosecha, podría no ser necesario un enriquecimiento para garantizar la calidad protéica. Sin embargo, esta práctica resultaría particularmente útil en aquellas épocas del año cuando se conoce que las algas tienen bajos niveles de proteína. En condiciones como El Niño, estos periodos pueden resultar relativamente largos.

El enriquecimiento puede resultar una práctica sencilla, efectiva y económica, por ejemplo, se puede saber que el alga tiene bajos niveles de proteína, si tiene color pálido. Entonces podemos enriquecerla fertilizándola y manteniéndola en la oscuridad. Puede incluso no ser necesario fertilizar, utilizando agua rica en nutrientes como la de salida de los sistemas donde se tiene a los abulones, siempre y cuando se disminuya la luz, lo cual puede lograrse simplemente teniendo una alta densidad de alga. En la investigación del desarrollo de alimentos balanceados, podría utilizarse el enriquecimiento con el objeto de obtener talos con un alto contenido de ficoeritrina y probar su inclusión en el alimento para pigmentar a los organismos. Los procedimientos planteados en este estudio, permitirían mantener una dieta con un alto valor nutritivo todo el año.

5 LITERATURA CITADA

- Aguilar, M. B. 1997. Uso del alga (*Gracilariapacifica*) como biofiltro en un cultivo de camarón (*Penaeus vannamei*). Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California . Facultad de Ciencias Marinas. 43pp.
- Allen, W. V. y J. Kilgore. 1975. The essential amino acid requirements of the red abalone, *Haliotis rufescens*. **Comp. Biochem. Physiol.**, 50A: 771-775.
- Ambler, R., M. Edding, A. Rodríguez y S. Escobar. 1988. Excreción de amonio por *Argopecten purpuratus* (Mollusca, Pectinidae) y su utilización por *Gracilaria* sp.(Rhodophyta, Gracilariaceae): una posibilidad de policultivo. **Gayana, Bot.**, 45(1-4): 309-315.
- A.O.A.C. 1990. **Official methods of analysis**. K. Helrich (ed.). 15th. edition. Arlinton, Virginia, U.S.A.
- Basuyaux, O. y M. Mathieu. 1999. Inorganic nitrogen and its effect on growth of the abalone *Haliotis tuberculata* Linnaeus and the sea urchin *Paracentrotus lividus* Lamarck. **Aquaculture**, 174: 95-107.
- Bautista-Teruel, M. N. y O. M. Millamena. 1999. Diet development and evaluation for juvenile abalone, *Haliotis asina*: protein/energy levels. **Aquaculture** 178: 117-126.
- Bird, K. T. 1984. Seasonal variation in protein: Carbohydrate ratios in a subtropical estuarine alga, *Gracilaria verrucosa*, and the determination of nitrogen limitation using these ratios. **Botanica Marina**, 27: 111-115.
- Bird, K. T. ; C. Habig y T. DeBusk. 1982. Nitrogen allocation and storage patterns in *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyta). **J. Phycol.** 18: 344-348.

- Buschmann, H. A., O. A. Mora, P. Gómez, M. Böttger, S. Buitano, C. Retamales, P. A. Vergara y A. Gutiérrez.. 1994. *Gracilaria chilensis* outdoor tank cultivation in Chile: Use of land-based salmon culture effluents. **Aquacultural Engineering**, 13(4): 283-300.
- Castro-González, M. I.; S. Carrillo-Domínguez y F. Pérez-Gil. 1994. Composición química de *Macrocystis pyrifera* (sargazo gigante) recolectada en verano e invierno y su posible empleo en alimentación animal. **Ciencias Marinas**. 20(1): 33-40.
- Chavez-Valdéz, R. E. 1993. Cultivo de *Gigartina pectinata* Dawson (Rhodophyta, Gigartinales) con fertilizantes agrícolas. Tesis de licenciatura. **Fac. de Cs. Marinas. Universidad Autónoma de Baja California**. 45 pp.
- Dawes, C. J. y E. W. Koch. 1990. Physiological responses of the red algae *Gracilaria verrucosa* and *G. tikvahiae* before and after nutrient enrichment. **Bulletin of Marine Science**, 46(2): 335-344.
- Day, R. W. y A. E. Fleming. 1992. The determinants and measurements of abalone growth. En: Sheperd, Tegner y Guzmán del Proó, (eds.) **Abalone of the world. Biology, fisheries and culture. 1st. International Symposium on Abalone.1989. Fishing News Books**. (XLIV). 141-167.
- Ebert, E. E. 1992. Abalone aquaculture: A North America regional review. En: Sheperd, Tegner y Guzmán del Proó, (eds.) **Abalone of the world. Biology, fisheries and culture. 1st. International Symposium on Abalone.1989. Fishing News Books**. (XLIV): 570-582.
- Enander y Hasselstrom. 1994. An experimental wastewater treatment system for a shrimp farm. **Aquaculture, INFOFISH International**, 4: 56-61
- Falkowski, P. G. 1983. Enzimology of nitrogen assimilation. En: Carpenter, E. J. y Capone, D. G. (eds.) **Nitrogen in the Marine Environment. Academic Press, N. Y.** (23):839-868.

- Fleming, A.E. 1995. Digestive efficiency of the Australian abalone *Haliotis rubra* in relation to growth and feed preference. **Aquaculture**, (134): 279-273.
- Friedlander, M., M.D. Krom y A. Ben-Amotz. 1991. The effect of light and ammonium on growth, epiphytes and chemical constituents of *Gracilaria conferta* in outdoor cultures. **Botanica Marina**. 34: 161-166.
- Friedlander, M. y C. J. Dawes. 1985. In situ uptake kinetics of ammonium and phosphate and chemical composition of the red seaweed *Gracilaria tikvahiae*. **J. Phycol.** 21: 448-453.
- Guzmán del Proó, S.A. 1992. A review of the biology of abalone and its fishery in Mexico. En: Sheperd, Tegner y Guzmán del Proó, (eds.) **Abalone of the world. Biology, fisheries and culture. 1st. International Symposium on Abalone. 1989. Fishing News Books.** (VII): 341-360.
- Hahn, K.O. 1989. Nutrition and growth of abalone. En: Hahn, K.O (ed.) **Handbook of culture of abalone and other marine gastropods.** CRC Press, Inc. 135-156.
- Hanisak, M. D. 1997. Growth patterns of *Codium fragile* sp. *Tomentosoides* in response to temperature, irradiance, salinity and nitrogen source. **Mar. Biol. (Ber.)** 50: 319-332.
- Harold, W. S. y J.H. Kycia. 1978. Algal biliproteins. En: J. A. Hellebust y J. S. Craigie (eds.) **Handbook of phycological methods. Physiological and biochemical methods.** Cambridge University Press. 7:71-79.
- Harris, J. O., G. B. Maguire, S. Edwards y S. M. Hindrum. 1998 a. Effect of ammonia on the growth rate and oxygen consumption of juvenile greenlip abalone, *Haliotis laevis* Donovan. **Aquaculture**, 160: 259-272.
- Harris, J. O., G. B. Maguire y J. H. Handler. 1998 b. Effects of chronic exposure of greenlip abalone, *Haliotis laevis* Donovan, to high ammonia, nitrite and low dissolved oxygen concentrations on gill and kidney structure. **Journal of Shellfish Research**, 17(3): 683-687.
- Hooker, N. y D. E. Morse. 1985. Abalone: The emerging development of commercial cultivation in the United States. En: Huner, J. V. y E. E. Brown (eds.)

- Crustacean and Mollusk Aquaculture in the United States.** AVI publishing Company INC. U.S.A. (9): 365-413.
- Hopkins, Kevin. 1992. Reporting fish growth: A review of the basics. **Journal of the world Aquaculture Society.** 23(3): 173-179.
- Howorth, P. C. 1978. The abalone book. **Naturegraph Publishers, Inc. CA.** 80 pp.
- Hwang, S.-P. L., S. L. Williams y B. H. Brinkhuis. 1987. Changes in internal dissolved nitrogen pools as related to nitrate uptake and assimilation in *Gracilaria tickvahiae* McLachlan. **Botanica Marina,** 30: 11-19.
- Indergaard, M. y S. H. Knudsen. 1990. Seasonal differences in ash, carbon, and nitrogen components of *Furcellaria lumbricalis* (Gigartinales, Rhodophyceae), Norway. **Botanica Marina,** 33: 327-334.
- Jones, A. B., W. C. Dennison y G. R. Stewart. 1996. Macroalgal responses to nitrogen source and availability: amino acid metabolic profiling as a bioindicator using *Gracilaria edulis* (Rhodophyta). **J. Phycology.** 32: 757-766.
- Lapointe, B. E. y C. S. Duke. 1984. Biochemical strategies for growth of *Gracilaria tickvahiae* in relation to light intensity and nitrogen availability. **J. Phycol.** 20: 488-495.
- Lapointe, B. E., K. R. Tenore. 1981. Experimental outdoor studies with *Ulva fasciata*, Delile. I. Interaction of light and nitrogen on nutrient uptake, growth, and biochemical composition. **J. Mar. Biol. Ecol.,** 53: 135-152.
- Laycock, M.V. y J.S. Craigie. 1977. The occurrence and seasonal variation of gigartinine an L-citrullinyl-L-arginine in *Chondrus crispus* Stackh. **Can. J. Biochem.** 55:27-30.
- Lobban, C. S. y P. J. Harrison. 1994. Nutrients. En: **Seaweed Ecology and Physiology.** Cambridge University Press. (5):163-209.
- McBride, Susan C. 1998. Current status of abalone aquaculture in the Californias. **Journal of Shellfish Research,** 17(3): 593-600.

- McShane, P. E., H. K. Gorfine e I. A. Knuckey. 1994. Factors influencing food selection in the abalone *Haliotis rubra* (Mollusca: Gastropoda). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 176: 27-37.
- Peckol, P. , B. DeMeo-Anderson, J. Rivers, I. Valiela, M. Maldonado y J. Yates. 1994. Growth, nutrient uptake capacities and tissue constituents of the macroalae *Cladophora vagabunda* and *Gracilaria tikvahiae* related to site- specific nitrogen loading rates. **Marine Biology**. 121: 175-185.
- Pérez-Muñoz, G.E. 1995. El cultivo del abulón en México: desarrollo histórico, estado actual y sus perspectivas. **Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California. Facultad de Ciencias Marinas. Ensenada, B. C.** 121 pp.
- Ramade-Villanueva, M. R., D. B. Lluch-Cota., S. E. Lluch-Cota, S. Hernández-Vázquez, A. Espinoza-Montes y A. Vega-Velázquez. 1998. An evaluation of the annual quota mechanism as a management tool in the Mexican abalone fishery. **Journal of Shellfish Research**, 17(3): 847-851.
- Rodríguez-Montesinos, Y. E. y G. Hernández-Carmona. 1991. Variación estacional y geográfica de la composición química de *Macrocystis pyrifera* en la costa occidental de Baja California. **Ciencias Marinas**. 17(13): 91-107.
- Salas-Garza, A. E. y R. Searcy-Bernal. 1992. Desarrollo y estado actual del cultivo de abulón en México. En: Sheperd, Tegner y Guzmán del Proó, (eds.). **Abalone of the world. Biology, fisheries and culture..1st. International Symposium on Abalone. Fishing News Books (IX): 538-546.**
- Santelices, B. y M. Doty. 1984. A review of Gracilaria farming. **Aquaculture**, 78: 95-113.
- Secretaría de Pesca, 1994. Descripción de la biología del recurso. En: Dirección General de Acuicultura, convenio SEPESCA-CIBNOR. **Desarrollo científico y tecnológico del cultivo del abulón**, (3): 11-26.
- 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.

- Simpson, B. J. A. 1994. An investigation of diet management strategies for the culture of the South African abalone, *Haliotis midae*. **Tesis de maestría. University of Cape Town.** 80pp.
- Sphigel, M. y A. Neori. 1996. The integrated culture of seaweed, abalone, fish and clams in modular intensive land-based systems: I. Proportions of size and project revenues. **Aquacultural Engineering**, 15(5): 313-326.
- Stuart, M.D. y M.T. Brown. 1994. Growth and diet of black-footed abalone, *Haliotis iris* (Martyn). **Aquaculture**, 127:329-337.
- Talarico, L. 1996. Phycobiliproteins and phycobilisomes in red algae: adaptative responses to light. **Scientia Marina**, 60(1): 205-222.
- Tong, L.J. y G.A. Moss. 1992. The New Zealand culture system of abalone. En: Sheperd, Tegner y Guzmán del Proó, (eds.). **Abalone of the world. Biology, fisheries and culture. 1st. International Symposium on abalone.1989. Fishing News Books.** (IX):583-591.
- Troell, M., C. Halling, A. Nilson, A. H. Buschmann, N. Kautsky y L. Kautsky. 1997. Integrated marine cultivation of *Gracilaria chilensis* (Gracilariales, Rhodophyta) and salmon cages for reduced environmental impact and increased economic output. **Aquaculture**, 156: 45-61
- Uki,N., A. Kemuyama y T. Watanabe. 1985. development of semipurified test diets for abalone. **Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.** , 51: 1825-1833.
- Upatham, E.S., S. Sawatpeera, M. Kruatrachue, Y. P. Chitramvong, T.Singhagriawan, T. Pumthong y P. Jarayabhand. 1998. Food utilization by *Haliotis asinina* Linnaeus. **Journal of Shellfish Research**, 17(3): 771-776.
- Viana,M.T., L.M. López, Z. García-Esquivel y E. Mendez. 1996. The use of silage made from fish and abalone viscera as an ingredient in abalone feed. **Aquaculture**, 140: 87-98.

- Viana, M. T., L.M. López y A. Salas. 1993. Diet development for juvenile abalone *Haliotis fulgens*. Evaluation of two artificial diet and macroalgae. **Aquaculture**, 117: 149-156.
- White, H. I. ,T. Hecht y B. Potgieter. 1996. The effect of four anesthetics on *Haliotis midae* and their suitability for application in commercial abalone culture. **Aquaculture**, 140: 145-151.
- Zertuche-González, J. A. 1993. Situación actual de la industria de las algas marina productoras de ficocoloides en México. En: Zertuche-Gonzalez, J.A. (ed.). Situacion Actual de la Industria de macroalgas Productoras de ficocoloides en America latina y El Caribe **FAO-AQUILA. D.C. No.13: 33-38.**
- Zertuche-González, J. A.1989. Las macroalgas y el desarrollo de su cultivo. En: Rosa-Vélez, J. de la y F. González-Farías,(eds.). **Temas de Oceanografía Biológica en México. UABC, Ensenada, México. 319-337.**
- Zertuche-González, J.A., Z. García-Esquível y B. H. Brinkhuis. 1987. Cultivo en tanques exteriores del alga roja *Eucheuma uncinatum* del Golfo de California. **Ciencias Marinas**, 13(2): 1-18.