



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS

MAESTRÍA EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

**EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y EL FOTOPERIODO SOBRE EL
CRECIMIENTO, COMPOSICION CORPORAL Y FISILOGIA ALIMENTICIA
DE JUVENILES DE ABULÓN AZUL *Haliotis fulgens*, ALIMENTADOS CON
UNA DIETA BALANCEADA**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS
EN OCEANOGRAFÍA COSTERA**

PRESENTA:

SILVIA MONTES MAGALLÓN

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, AGOSTO DE 2004.

**EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y EL FOTOPERIODO SOBRE EL
CRECIMIENTO, COMPOSICION CORPORAL Y FISILOGIA ALIMENTICIA
DE JUVENILES DE ABULÓN AZUL *Haliotis fulgens*, ALIMENTADOS CON
UNA DIETA BALANCEADA**

Se probó el efecto combinado de dos temperaturas (20 °C y 25 °C) y tres fotoperíodos (00:24; 12:12 y 24:00 horas luz:oscuridad) sobre el crecimiento, mortalidad, composición corporal y fisiología alimenticia (consumo de alimento, porcentaje de digestibilidad aparente de materia seca, proteínas y energía; razón de conversión alimenticia; y eficiencia de retención proteica) de juveniles de abulón azul, *Haliotis fulgens* (talla inicial 31.27 ± 0.17 mm; 3.71 ± 0.10 g). Los organismos se alimentaron con una dieta formulada de alta proteína bajo sistema de flujo abierto. Los abulones exhibieron un período de aclimatación caracterizado por un mínimo crecimiento durante los primeros dos meses. A partir del tercer mes se presentaron efectos significativos de la temperatura y el fotoperíodo sobre el crecimiento y mortalidad de *H. fulgens*. La sobrevivencia a 20°C fue cercana al 100% mientras a 25°C se redujo entre 68% y 75%. A esta temperatura los abulones se enfermaron y adquirieron el “síndrome de deterioro” al final de los seis meses de experimentación. Los abulones de 20°C exhibieron alrededor de 30% mayores tasas de crecimiento que los de 25°C. Las máximas tasas de crecimiento bruto y específico se detectaron en la combinación de 00:24/20 °C ($106 \mu\text{m d}^{-1}$; 68 mg d^{-1} ; $1.15 \% \text{ d}^{-1}$), y las menores ($37 \mu\text{m d}^{-1}$; 23.6 mg d^{-1} ; $0.51\% \text{ d}^{-1}$) en la combinación 24:00/25°C. El porcentaje de humedad del tejido y la proporción de concha aumentaron significativamente a 25 °C, pero no se detectaron efectos significativos de la temperatura o el fotoperíodo sobre el porcentaje de proteínas o el contenido de energía del tejido. En todos los casos *H. fulgens* exhibió mayor consumo de alimento en la noche y menor en el

día, lo que sugiere la presencia de un ritmo circadiano. La temperatura mas alta (25 °C) produjo un incremento significativo del consumo de alimento y de la razón de conversión alimenticia y una reducción de la digestibilidad aparente de la materia seca, proteínas y energía. En conjunto, los resultados del presente estudio indican que el mayor crecimiento exhibido por los organismos de 20 °C se debió en parte a la mayor digestibilidad del alimento, mientras que el consumo de alimento explicó parcialmente las diferencias de crecimiento en función del fotoperíodo. Debido a que las diferencias en la digestibilidad del alimento (8 a 10% de diferencia) no explica la disparidad en las tasas de crecimiento entre los tratamientos de 20 y 25 °C (alrededor de 30% de diferencia), se sugiere que los organismos de 25 °C tuvieron mayores pérdidas de energía debido a un incremento de su tasa metabólica y/o producción de moco. Se recomienda cultivar a los juveniles de *H. fulgens* bajo condiciones de oscuridad continua y a temperaturas cercanas a (20 °C).


**EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y EL FOTOPERIODO SOBRE EL
CRECIMIENTO, COMPOSICION CORPORAL Y FISIOLOGIA
ALIMENTICIA DE JUVENILES DE ABULÓN AZUL *Haliotis fulgens*,
ALIMENTADOS CON UNA DIETA BALANCEADA**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS
EN OCEANOGRAFÍA COSTERA**

PRESENTA:

SILVIA MONTES MAGALLÓN

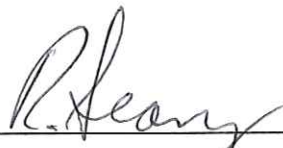
APROBADA POR:



**DR. ZAUL GARCÍA ESQUIVEL
PRESIDENTE DEL JURADO**



**DRA. MARÍA TERESA VIANA CASTILLON
SINODAL PROPIETARIO**



**DR. RICARDO SEARCY. BERNAL
SINODAL PROPIETARIO**

Dedicatoria

Dedico esta tesis con todo cariño y respeto a quienes me dieron la vida a mis padres Ramón Montes Farias y Dolores Magallón Cisneros, por darme la oportunidad de nacer, por todo su apoyo y confianza.

Los quiero.

Agradecimientos

Agradezco en primera instancia a CONACYT por el apoyo otorgado mediante la beca crédito para la realización de mis estudios de maestría.

Un agradecimiento a la SEMARNAP por haberme autorizado y otorgado la beca en tiempo, así como a la SAGARPA por haber extendido dicha beca para concluir mis estudios de maestría.

Agradezco el financiamiento otorgado para la realización de este trabajo, así como a la beca económica autorizada a través del fondo mixto CONACYT-BC (clave 002-DE), “Estimación de los requerimientos de proteína/energía en el abulón azul *Haliotis fulgens*, utilizando dietas artificiales”

El mayor agradecimiento a mi director de tesis Dr. Zaúl García Esquivel por manifestarme en todo momento su apoyo incondicional, sus sabios consejos y sobre todo por su confianza y paciencia para la realización de esta tesis, a la Dra. Maria Teresa Viana Castrillón por brindarme su valiosa ayuda y atinados comentarios para el mejoramiento de este trabajo y al Dr. Ricardo Searcy Bernal, por sus correcciones y acertadas recomendaciones que contribuyeron con mucho al enriquecimiento del mismo.

Agradezco al personal académico y administrativo de la Universidad Autónoma de Baja California, a la Facultad de Ciencias Marinas (F.C.M.), así como al Instituto de Investigaciones Oceanológicas (I.I.O.), por el apoyo técnico e instalaciones para la realización del presente trabajo.

Agradezco invaluablemente la asesoría y el apoyo técnico a M. C. Marco Aurelio González Gómez, que me brindo durante todo el desarrollo experimental, a Jessica

Montaño por su valiosa ayuda en la elaboración de la dieta. Un enorme agradecimiento a Laura Montes, Jessica, Zaúl y Marco, que me dieron su apoyo durante la fase de medición de consumo de oxígeno

A todos mis compañeros de generación, especialmente a Jessica, Juan Manuel y José Luis muchas gracias por brindarme su amistad y su gran apoyo en todo momento.

Agradezco las valiosas asesorías a Ramón Astorga, Walter Daesslé, y Miguel Téllez, gracias por haberme proporcionado parte de su tiempo.

A mis amigos del I.I.O., especialmente Alberto Gálvez, Pepe Guzmán, Arturo Siqueiros, gracias por su valiosa ayuda y sobre todo por compartir sus conocimientos.

A mis eternos amigos Carolina, Maria y Felipe, con los que he compartido los mejores momentos y otros no tan buenos de nuestras vidas, que a pesar de la distancia siempre hemos permanecido unidos. Gracias a ti Maria por enseñarme hacer optimista y a tener confianza.

A todos los grandes amigos con los que he compartido gratos momentos, gracias por brindarme su amistad y considerarme aun dentro su equipo a Ana Maria Ibarra, Elisa Serviere, José Luis Ramírez, Pedro Cruz y a mi comadre Susana Ávila.

A mis compañeros y amigos de la Subdelegación de Pesca, especialmente a los del Departamento de Acuicultura al cual pertenezco (Rubén, Jesús, Enrique, Jorge, Everardo, Gabriel y Cecy. A Lolita, Betty y Juan de la Oficia de Pesca-La Paz, a todos ustedes gracias por su apoyo.

A los integrantes del Sindicato de la desaparecida SEMARNAP, en especial a Porfirio, que me ayudo a tramitar la beca de tiempo. Así como a todos los representantes

sindicales del SDTPA-SAGARPA, principalmente a Trinidad Gallegos† en donde te encuentres, gracias.

A ti María de Jesús, te agradezco enormemente todo el apoyo y tu amistad que me has brindado en todo momento, no sé que hubiera hecho sin tu valiosa ayuda.

A mi gran amiga y compañera Nirari Cárdenas, por los gratos momentos que compartimos.

A las chicas y chicos del conjunto coral del I.I.O., Nancy, Raquel, Tania, Jessy, Marco y Alberto.

Mil gracias Ruth, por haberme brindado tu hogar y soportar que te quitara parte de tu tiempo, pero sobre todo por haberme hecho sentir como de la familia todo el tiempo que permanecí, sin todo esto no hubiera sido posible concluir mi trabajo.

El más grande y eterno agradecimiento a quienes me dieron la vida, mi padre Ramón y a mi madre Dolores, a mis hermanos Hilda, Paz, Javier y Jorge por su confianza, apoyo y sobre todo por aguantarme.

Agradezco a todos los investigadores, maestros, técnicos y secretarías de la F.C.M. y del I.I.O, que de alguna forma contribuyeron en la realización de este trabajo, así como en mi formación profesional.

Índice

Resumen	I
Votos aprobatorios	III
Dedicatoria	IV
Agradecimientos	V
Índice	VIII
Lista de tablas	X
Lista de figuras	XII
Introducción	1
Materiales y métodos	4
Diseño y mantenimiento	4
Crecimiento y mortalidad	6
Consumo de alimento	7
Colecta de heces y contenido de cenizas	9
Análisis bioquímicos	11
Porcentaje de digestibilidad	12
Proporción de sexos y madurez	12
Análisis histopatológico	13
Estadística	13
Resultados	15
Sobrevivencia y crecimiento	16
Consumo de alimento y ritmo circadiano	16

Composición bioquímica	17
Conversión del alimento y digestibilidad	17
Proporción de sexos y grado de madurez	19
Discusión	19
Sobrevivencia y crecimiento	19
Ritmo circadiano del consumo alimenticio	22
Consumo, digestibilidad y conversión alimenticia	24
Proporción de sexos y madurez	27
Conclusiones	29
Bibliografía	30

LISTA DE TABLAS

- Tabla I.** Composición de los ingredientes (% en peso seco) de la dieta suministrada a los abulones del 19 de diciembre del 2001 al 14 de mayo de 2002 35
- Tabla II.** Tasa promedio (\pm desviación estándar) de crecimiento bruto de la concha (GGR_s), del peso (GGR_w), y tasa de crecimiento específico (SGR , %/d) exhibidos por juveniles de abulón azul, *H. fulgens*, a tres fotoperíodos (horas luz:oscuridad) y 2 temperaturas, durante el período del 19 de diciembre del 2001 al 14 de mayo del 2002 (organismos de 20 °C) o del 19 de diciembre al 1 de mayo del 2002 (25 °C) 36
- Tabla III.** Composición bioquímica promedio (\pm desviación estándar) de juveniles del abulón, *H. fulgens*, sometidos a tres fotoperíodos y dos temperaturas. Las evaluaciones se realizaron en dos fechas distintas. El experimento inició en noviembre del 2001. PS = peso seco total; TH = peso húmedo del tejido; TS = peso seco del tejido; CT = cenizas totales) 37
- Tabla IV.** Valores promedio (\pm desviación estándar) de la razón alimenticia (FCR), razón de eficiencia proteica (PER), consumo alimenticio (C, % del peso de los organismos), así como del porcentaje de digestibilidad aparente (DA%) de la materia seca, proteína cruda y energía bruta en

juveniles de *H. fulgens*, sometidos a tres fotoperíodos y dos temperaturas.
Las evaluaciones de DA % se realizaron en febrero, para FCR, PER y C
en dos fechas distintas. TS = peso del tejido seco 39

Tabla V. Proporción de sexos e índice de madurez gonádico de juveniles del
abulón, *H. fulgens*, sometidos a tres fotoperíodos (horas L:O) y dos
temperaturas durante 6 meses. El total de organismos evaluados en cada
combinación de fotoperíodo y temperatura también se indica 40

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Diagrama del sistema experimental en el cual se desarrollo el ensayo del (17 de noviembre de 2001 al 1 y 14 de mayo de 2002). Con juveniles de abulón azul *Haliotis fulgens*, bajo la combinación de dos temperaturas y tres fotoperíodos 41
- Figura 2.** Supervivencia (%) y crecimiento en longitud y peso húmedo en juveniles de abulón azul, bajo la combinación de dos temperaturas y tres fotoperíodos, durante el desarrollo experimental (17 de nov – 01 al 1 y 14 de mayo)..... 42
- Figura 3.** Tasa promedio de consumo de alimento por juveniles de abulón azul (*H. fulgens*) bajo la combinación de dos temperaturas y tres fotoperíodos, las evaluaciones se realizaron durante las diferentes mediciones de consumo (enero-abril)..... 43
- Figura 4.** Consumo de alimento en juveniles de abulón azul (*Haliotis fulgens*) durante el suministro diario en dos periodos de día y noche (D y N). 44

INTRODUCCIÓN

La temperatura es un factor que afecta todos los procesos fisiológicos de los organismos (Prosser, 1991). Las tasas fisiológicas corporales (metabolismo, ingestión, excreción, etc.) y la actividad de enzimas metabólicas tienden a incrementarse con el aumento de temperatura, y disminuyen a temperaturas bajas (Hochachka y Somero, 1984). La temperatura también afecta la velocidad de crecimiento (Leighton *et al.*, 1981; Britz *et al.*, 1997; Hirst y Bunker, 2003), y maduración de invertebrados (ej. Morse *et al.*, 1981; Browne y Wanigasekera, 2000; Halsband-Lenk *et al.*, 2002), por lo que su inclusión como factor de prueba es indispensable en estudios sobre la biología y/o los requerimientos ambientales de especies marinas. Por otra parte, todos los organismos están expuestos a variaciones estacionales en la duración de horas-luz. Se cree que el fotoperíodo es la principal señal indicadora de estacionalidad en ambientes terrestres debido a su escasa variación en escalas de tiempo cortas, mientras que la temperatura modula la respuesta de los eventos iniciados por aquel (Hairston y Kerns, 1995). El fotoperíodo es particularmente importante como señal iniciadora de eventos fenológicos como la diapausa y la dispersión de insectos en zonas templadas terrestres (Hairston y Kerns, 1995). También señala el momento del inicio de la migración e hibernación de vertebrados terrestres (Hairston y Kerns, 1995). Por el contrario, la temperatura parece ser un mejor indicador de la estacionalidad en ambientes marinos, debido a que las variaciones cortas de temperatura son amortiguadas por la alta capacidad calorífica del agua (Hairston y Kerns, 1995). En este caso el fotoperíodo parece funcionar principalmente como modulador de la respuesta a la temperatura (Brett, 1979).

Se sabe que la temperatura tiene mayor efecto sobre el retraso del fotoperíodo crítico para el inicio de la diapausa en copépodos pelágicos que en insectos terrestres (refs. en Hairston y Kerns, 1995). También se ha reportado que las bajas temperaturas limitan el control que ejerce el fotoperíodo sobre los cambios fisiológicos pre-migratorios (“smolting”) del salmón del Atlántico, por medio de mecanismos endocrinos que limitan la producción de algunas hormonas del crecimiento (McCormick *et al.*, 2000). En contraste, Jonassen *et al.*, (2000) observaron que independientemente de la temperatura, los juveniles del lenguado del Atlántico (*Hipoglossus hipoglossus*), crecieron más rápido y mostraron mayores tasas de conversión alimenticia bajo iluminación continua que bajo fotoperíodo natural. Dichos organismos también mostraron mayor tasa metabólica en la oscuridad y mayor consumo de alimento a mayor temperatura, por lo que los autores sugirieron que el mayor crecimiento podría estar asociado a una menor actividad motora y mayor anabolismo provocados por la iluminación continua.

Los abulones son organismos ectotermos, lo que significa que su temperatura corporal varía de acuerdo a las condiciones del medio (Prosser, 1991). Debido a esta característica, la capacidad termorreguladora de los haliótidos y de los invertebrados marinos en general es limitada, y los intervalos de tolerancia son especie-específicos. En particular, el abulón azul, *Haliotis fulgens*, es un gasterópodo marino que habita en refugios protegidos (rocas) localizados en la zona intermareal de 0 hasta 10 m de profundidad (Hahn, 1989). Se ha reportado que los juveniles (1 a 2 cm) de *H. fulgens* muestran su mayor crecimiento a temperaturas entre 18 y 28 °C (Leighton *et al.*, 1981) y exhiben un marcado ritmo circadiano en su metabolismo (Chacon *et al.*, 2003). En un sentido amplio, la palabra circadiano deriva del latín “circa” (alrededor de) y “dies” (día),

y está definido como cualquier variación biológica con un período aproximado de 24 h (Pati, 2001). Los ritmos circadianos son de naturaleza endógena y persisten aún en ausencia de estímulos iniciadores tales como el ciclo día-noche (Pati, 2001).

Desde 1993 se han utilizado exitosamente dietas balanceadas como reemplazo alimenticio de las macroalgas (Viana *et al.*, 1993), lo cual ha servido entre otras cosas para iniciar el estudio de los requerimientos energéticos de organismos juveniles (Gómez-Montes *et al.*, 2003). A pesar de que los juveniles de *H. fulgens* presentan altas tasas de crecimiento bajo condiciones de 12:12 horas Luz:Oscuridad L:O (Viana *et al.*, 1996; Gómez-Montes *et al.*, 2003) y a temperaturas de 22 a 28 °C (Leighton *et al.*, 1981), hasta ahora se desconoce si existe un efecto negativo crónico a temperaturas sostenidas de 25 °C. Tampoco se sabe en que grado pueden interactuar la temperatura y el fotoperíodo para modificar las tasas fisiológicas de *H. fulgens* y eventualmente, el crecimiento de esta especie en períodos relativamente prolongados de cultivo. Hasta ahora son escasos los estudios sobre el efecto combinado de la temperatura y el fotoperíodo sobre la fisiología de invertebrados marinos. Las investigaciones en haliótidos se han enfocado principalmente a determinar el efecto de la temperatura sobre la gametogénesis y desove (Hetch, 1994; Hahn, 1994), tolerancia termal (Leighton *et al.*, 1981, Liu y Chang, 1987; Gao *et al.*, 1990) y tasas de excreción y metabolismo (Segawa, 1991). Fermín *et al.*, (2001) utilizó recientemente combinaciones de temperatura y fotoperíodo para evaluar su efecto sobre el crecimiento, tasas de alimentación y razones de conversión alimenticia del abulón *Haliotis asinina*. Basados en la literatura disponible para peces, es de esperarse que tanto la temperatura como el fotoperíodo influyan en la tasa de conversión alimenticia y eficiencia energética de los invertebrados marinos.

En el presente estudio se utilizó una combinación de dos temperaturas (20 °C y 25 °C) y tres fotoperíodos (00:24; 12:12 y 24:00 horas L:O) con el fin de investigar su efecto sobre la fisiología alimenticia (ingestión, digestibilidad, razón de conversión alimenticia y eficiencia de retención proteica) y el crecimiento de juveniles del abulón azul, *Haliotis fulgens*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño y Mantenimiento

En noviembre del 2001 se transportaron al Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la Universidad Autónoma de Baja California (IIO-UABC) un total de 200 juveniles de abulón azul (*Haliotis fulgens*) de 15 meses de edad, provenientes de la granja BC Abalone S.A. de C.V., ubicada en el Ejido Erendira, B. C. Los organismos se transportaron en hieleras cubiertos con tela impregnada de agua marina y bolsas de gel congelado ("blue ice"), para mantener una atmósfera fría y húmeda. Para su aclimatación en laboratorio se utilizaron cuatro recipientes de plástico con volumen de 15 L. Se introdujeron 50 abulones en cada unidad y se mantuvieron a temperatura de 20 ± 0.3 °C y fotoperíodo de 12:12 horas luz:oscuridad (L:O), con flujo de agua continuo y aireación. Los recipientes con juveniles permanecieron bajo estas condiciones durante dos días, y a partir del tercer día se incrementó gradualmente la temperatura en dos de las unidades (un grado diario) hasta llegar a 25 °C.

Dos semanas después se inició el experimento. Un total de 190 abulones previamente medidos y pesados (31.3 ± 0.17 mm; 3.7 ± 0.10 g; promedio \pm desv. estándar) se distribuyeron en 18 tamices contenidos dentro de cubetas de plástico de 4 litros (10- 11

organismos por tamiz/cubeta). Los tamices fueron hechos a partir de tubo ABS negro (15 cm x 16 cm, diámetro x altura) y malla mosquitero (2 mm de luz de malla diagonal) en el fondo. La base del tamiz consistió en tubo ABS del mismo diámetro y 3 cm de altura. La malla mosquitero se colocó en la parte inferior del tubo de 15 cm y tanto este como la malla se unieron a la base con pegamento ABS, formando así el tamiz completo. En la parte lateral de los tamices se hicieron dos perforaciones de 6 cm de diámetro y se cubrieron con malla mosquitero. La malla mosquitero permitió la libre circulación del agua por abajo y por los lados del tamiz, así como la retención del alimento ofrecido a los abulones y el paso de las heces hacia el fondo de la cubeta.

Las cubetas con abulones se colocaron sobre una charola delgada de fibra de vidrio (2.45 m de largo x 75 cm de ancho) dividida en tres compartimientos aislados con hoja fon negra (Fig.1). En cada compartimiento se mantuvo uno de los siguientes fotoperíodos: 00:24; 12:12 y 24:00 horas luz:oscuridad. El fotoperíodo 12:12 L:O se controló con un cronómetro (“timer”) que activaba la lámpara a las 8 horas y la apagaba a las 20 horas. Para los tratamientos de 12:12 y 24:00 L:O se utilizaron lámparas fluorescentes de 20 watts cubiertas con malla mosquitero, para reducir la intensidad luminosa hasta $5 \times 10^{-4} \mu\text{E m}^2 \text{s}^{-1}$, la cual se midió con un irradiómetro (Biospherical Instruments Inc QSL-100). Debido a limitaciones de espacio, en el extremo longitudinal de cada compartimiento (fotoperíodo) se distribuyeron tres cubetas experimentales (réplicas) sometidas a 25 °C, y en el extremo opuesto otras tres cubetas sometidas a 20 °C, de tal forma que el diseño experimental no fue totalmente aleatorio, sino segregado (Fig.1). La temperatura de 25 °C se controló mediante un calentador digital de 1000 watts colocado en un reservorio de plástico de 80 litros, el cual alimentaba a las cubetas

por medio de mangueras de plástico de 5 mm de diámetro. La temperatura de 20 °C se mantuvo constante en un tanque alimentador de 80 litros recubierto con hule espuma, utilizando una bomba de calor (Aquatic Ecosystems). El flujo de agua en las cubetas se reguló a aproximadamente 400 ml min⁻¹ y se mantuvo aireación constante. Durante el experimento se llevó un registro semicontínuo (cada 30 minutos) de la temperatura del agua mediante un termógrafo, obteniendo una variación de $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ para cada una de las temperaturas experimentales.

Diariamente los abulones se alimentaron con una dieta de alta proteína en forma de pelets (Tabla 1), la cual se preparó utilizando la formulación de Gómez-Montes *et al.* (2003). Los pelets recién preparados se almacenaron al vacío a -70 °C, y se fueron utilizando conforme se requería. Durante el período noviembre – febrero el alimento fue ofrecido diariamente a las 20:00 h y retirado a las 8:00 h, utilizando un 4 % del peso de los abulones para cada cubeta. A partir del 25 de febrero el alimento se ofreció/retiró dos veces al día (20:00 y 8:00 hrs), utilizando el 2% del peso de los organismos en cada ocasión.

Crecimiento y Mortalidad

Cada mes y durante un período total de 6 meses se midió la longitud de la concha de cada uno de los abulones experimentales utilizando un vernier electrónico digital (Max-cal – Max-6, ± 0.001 cm). También se registró el peso húmedo individual utilizando una balanza digital (AND SV-200) capacidad 200 ± 0.01 mg). A lo largo del experimento se hicieron observaciones diarias en cada una de las cubetas con el fin de identificar y eliminar los organismos muertos.

Las tasas de crecimiento y el porcentaje de sobrevivencia se calcularon de la siguiente manera De Silva y Anderson (1995):

$$\textit{Porcentaje de sobrevivencia} (\%): [(N_i - N_f) / N_i] * 100 \quad (1)$$

donde N_i y N_f es el número inicial de organismos vivos presentes inicialmente y al tiempo t , respectivamente.

$$\textit{Tasa de crecimiento específico} (\text{SGR}, \% \text{ d}^{-1}) = \{ [\text{Ln} (W_f / W_i)] / t \} * 100 \quad (2)$$

donde W_f y W_i es el peso (gr) o talla (mm) final e inicial de los organismos; t es el tiempo transcurrido entre las dos mediciones.

$$\textit{Tasa de crecimiento bruto} (\text{GGR}, \text{mg d}^{-1} \text{ ó } \mu\text{m d}^{-1}): [(W_f - W_i) / t] * 1000 \quad (3)$$

donde W_i y W_f es el peso (gr) o talla (mm) final e inicial de los organismos, respectivamente; t es el tiempo transcurrido entre las dos mediciones y 1000 es el factor utilizado para convertir a mg y μm .

Consumo de Alimento

El consumo de alimento se calculó por diferencia entre la cantidad de alimento ofrecido y el consumido, evaluándose en tres ocasiones distintas: del 26 enero al 8 febrero (14 días consecutivos); del 25-29 de marzo (5 días), y del 23-27 de abril (5 días). En el primer caso (consumo nocturno) el alimento no consumido se retiró diariamente a las 8:00 AM, mientras que en los últimos dos casos se cuantificó el consumo nocturno (colecta a las 8:00 AM) y diurno (colecta a las 8:00 PM), ya que el

alimento se había ofrecido en ambos horarios (ver Diseño y Mantenimiento). Lo anterior permitió detectar si el abulón presentaba alguna ritmicidad (día-noche) en el patrón de consumo alimenticio. El alimento húmedo se pesó antes de ofrecerlo a los abulones durante las fechas en las que se evaluó el consumo. También se pesaron 5 pelets adicionales, los cuales se secaron a 60 °C por 24 horas y por diferencia de peso se obtuvo el porcentaje de humedad, con el fin de expresar el peso del alimento ofrecido en una base seca.

En cada ocasión el alimento no consumido se retiró de los recipientes sifoneando cuidadosamente el agua de las cubetas por la parte externa del tamiz para no desintegrar los pelets remanentes. Posteriormente el tamiz se invirtió y el alimento remanente se pasó directamente a charolas de aluminio previamente pesadas/marcadas utilizando pinzas. El alimento que no se pudo coleccionar con pinzas se pasó con una piseta a filtros de papel para café colocados sobre un embudo. El alimento retenido en el filtro se coleccionó con una espátula y se transfirió a las charolas de aluminio, las cuales se secaron a 60 °C durante 24 horas, y se pesaron. Durante la evaluación del consumo se utilizaron pelets control para determinar la estabilidad y la humedad del alimento. La estabilidad se determinó por triplicado colocando los pelets en el mismo tipo de cubetas/tamices experimentales, solo que sin abulones y simultáneamente para cada temperatura. Los pelets remanentes en estas cubetas fueron coleccionados y pesados de la forma indicada arriba.

Con los datos anteriores se determinó el porcentaje de estabilidad (S) y el consumo de alimento (C) de la siguiente manera:

$$\textit{Estabilidad (S, \%)} = (F_i/F_f) * 100 \quad (4)$$

donde: F_i y F_f son el peso seco inicial y final del alimento en los recipientes control.

$$\textit{Consumo de alimento (C, \% peso corporal d}^{-1}\text{)}: C = \{[(F_{oi} * S) - F_{of}] / W\} * 100 \quad (5)$$

donde, y F_{oi} y F_{of} son el peso seco inicial y final del alimento presente en los recipientes con organismos experimentales; W es el peso húmedo (g) de los organismos experimentales (correspondientes a la fecha más cercana a la evaluación del consumo) y S es la estabilidad del alimento.

La razón de conversión alimenticia (FCR) se calculó en base al consumo promedio de alimento (g) observado en cada una de las réplicas durante las evaluaciones de marzo-abril, y el peso ganado por los organismos durante ese período, utilizando la siguiente ecuación De Silva y Anderson (1995):

$$\textit{FCR (adimensional)} = \textit{alimento seco consumido (g)/incremento en peso húmedo del organismo (g)}. \quad (6)$$

Colecta de Heces y Contenido de Cenizas

Durante el mes de febrero a través 14 días consecutivos se colectaron las heces producidas por los organismos experimentales de cada cubeta con el fin de determinar su contenido de cenizas, energía y proteínas, y a partir de estos datos determinar la digestibilidad del alimento. La colecta se realizó de la siguiente forma: una vez retirado el alimento no consumido por los organismos, los tamices y cubetas se limpiaron con una esponja. Posteriormente se colocó una tapa colectora de plástico en el fondo de cada tamiz, en la cual se depositaron por gravedad las heces producidas en las siguientes 10 h. Al cabo de ese tiempo el agua de las cubetas se sifoneó y se retiró la tapa colectora. Las

heces se concentraron en la tapa colectora empleando un movimiento circular, y posteriormente se transfirieron a microtubos de 1.5 ml utilizando una pipeta de plástico de 2 ml se utilizó un microtubo por cada cubeta. El agua de mar se eliminó mediante centrifugación a 4 °C (IEC Centra MP4R) y posteriormente las muestras se enjuagaron con agua destilada para eliminar las sales remanentes. Las muestras se guardaron a -80 °C y al final del período de colecta (14 días) se liofilizaron durante 72 horas (VIRTIS Freezemobile 12EL) y se almacenaron en seco a -80 °C, hasta su posterior análisis.

Debido a la poca cantidad de muestra diaria, en la mayoría de los casos se mezclaron las heces de distintos días correspondientes a la misma cubeta. Un mínimo de 50 mg de heces liofilizadas se transfirieron a una navecilla de aluminio previamente marcada, calcinada y pesada. Las muestras se secaron a 60 °C durante 24 horas para determinar el peso seco y posteriormente se calcinaron en una mufla a 600 °C por 2 horas para determinar el contenido de cenizas totales de la siguiente manera:

$$\text{Cenizas totales (\%)} = [\text{mg de cenizas totales} / \text{mg peso seco heces}] * 100 \quad (7)$$

Las cenizas insolubles se cuantificaron de acuerdo a la metodología descrita por Agribusiness in Sustainable Natural African Plant Products (ASNAPP, www.asnapp.org). Las muestras de cenizas totales se transfirieron a tubos de vidrio pre-combustionados conteniendo 4 ml HCl diluido con agua destilada (1:2.5 v/v). Los tubos se transfirieron a un baño de agua hirviendo (baño María) donde permanecieron por 7 minutos. Posteriormente las muestras se filtraron a través de filtros de fibra de vidrio GF/C pre-combustionados (2h a 200 °C) y pre-pesados en una microbalanza analítica digital (± 0.001 mg). Los tubos se enjuagaron con agua destilada caliente y el filtrado se

combustionó secuencialmente a 200 °C (1 h) y 600 °C (4 h), utilizando la metodología. Los filtros con muestra se pesaron en la microbalanza para determinar el peso de las cenizas insolubles. El porcentaje de cenizas insolubles se estimó como:

$$\text{Cenizas insolubles (\%)} = (\text{mg cenizas insolubles/mg peso seco heces}) * 100 \quad (8)$$

Análisis Bioquímicos

El 24 de enero (dos meses) y el 14 de mayo (seis meses) de 2002 se colectó aleatoriamente un organismo por cada cubeta con el fin de determinar su contenido energético, cenizas totales y la proporción de nitrógeno en el tejido. Los abulones se separaron de la concha y el tejido se liofilizó durante 72 horas. Posteriormente el tejido liofilizado se pulverizó en un molino analítico Retsch ZM100. El tejido pulverizado de cada organismo se congeló en seco utilizando frascos de vidrio con diedrita. Las cenizas totales del tejido se cuantificaron en submuestras de aprox. 50 a 60 mg. Asimismo, el contenido de carbono y nitrógeno total de las muestras de heces, tejido de abulón y alimento fueron cuantificados automáticamente en submuestras de aprox. 2 mg, por medio de un analizador orgánico elemental (LECO - CHNS-932.), utilizando lisina como estándar. El porcentaje proteínas totales se estimó a partir del contenido de nitrógeno en las muestras (Gnaiger, 1983), utilizando el siguiente factor de conversión:

$$\text{Proteína Cruda (\%)} = \% \text{ N} * 6.25 \quad (9)$$

La energía bruta de heces, tejido y alimento (cal/g) se cuantificó en muestras de 100 a 200 mg utilizando una bomba calorimétrica adiabática (Parr 1281) y ácido benzoico como estándar.

La eficiencia de retención de proteínas (PER) se calculó a partir del contenido de proteína cruda del alimento consumido por los abulones durante las evaluaciones de marzo-abril, y al peso ganado durante ese mismo período, utilizando la siguiente ecuación (Werner, 1985):

$$\begin{aligned} & \textit{Eficiencia de Retención Proteica} \text{ (PER, adimensional)} \\ & = [\text{Incremento en peso húmedo del organismo (g)}] / [\text{cantidad de proteína consumida} \\ & \text{(g)}] \end{aligned} \quad (10)$$

Porcentaje de Digestibilidad

El porcentaje de digestibilidad aparente de la materia seca, proteínas y energía se calculó en forma indirecta utilizando a las cenizas insolubles como marcador, de acuerdo a las ecuaciones dadas por De Silva y Anderson (1995):

$$\textit{Digestibilidad aparente de la materia seca} (\%AD_m) = 100 - [100 * (I_{fo} / I_{fe})] \quad (11)$$

$$\begin{aligned} & \textit{Digestibilidad aparente de proteína} (\%AD_p) \text{ y } \textit{energía} (\%AD_e) = \\ & 100 - \{100 * [(N_{fe} / N_{fo}) * (I_{fo} / I_{fe})]\} \end{aligned} \quad (12)$$

donde: I es el porcentaje del marcador (cenizas insolubles) en las heces (fe) o el alimento (fo), y N es el porcentaje de nutriente (proteína o energía).

Proporción de Sexos y Madurez

La proporción de sexos y el índice de madurez gonadal de los 111 abulones remanentes se evaluó durante la última biometría (25 °C, 1 mayo; 20 C, 14 de mayo). El

sexo se identificó a partir del color de las gónadas del abulón (Cox, 1960), correspondiendo el crema a machos (♂) y verde oliva o verde oscuro a hembras (♀). El grado de madurez se estableció a partir de una escala visual del tamaño de las gónadas referida por otros autores (Molina-Martínez 1982 y Godoy-Corrales, 1989). La escala 0 correspondió a un estadio indiferenciado en el cual no se observan gónadas; la escala 1 fue asociada a organismos con gónadas incipientes en las cuales pudo identificarse el sexo; la escala 2 se asignó a organismos cuyo grosor de la gónada sobresalía ligeramente por encima de la concha del abulón; y la escala 3 correspondió a organismos cuyo abultamiento de las gónadas rebasó con mucho la altura de la concha.

Análisis Histopatológico

Debido a los síntomas de enfermedad que mostraban los organismos sometidos a 25 °C, el 22 mayo se muestreó un total de 30 abulones, tomando aleatoriamente dos organismos por cubeta. No se colectó ningún organismo del tratamiento de 20 °C-oscuridad continua, debido a que en esta combinación no se detectaron abulones con signos de debilidad. Los juveniles se midieron, pesaron e inmediatamente después se desconcharon y se almacenaron individualmente en una solución fijadora Davidson, hasta su posterior análisis. La disección y el diagnóstico histopatológico fue llevado a cabo por personal del Laboratorio de Biología y Patología, del CICESE.

Estadística

Se utilizaron análisis de varianza de dos vías (ANOVA) para probar el efecto del fotoperíodo y la temperatura sobre las tasas promedio de crecimiento, composición

bioquímica, digestibilidades, FCR y PER. Cabe mencionar que las pruebas de (ANOVA) son aplicables solamente en diseños aleatorizados, sin embargo, debido a la falta de recursos económicos no se construyeron mas sistemas experimentales, además de no contar con suficiente espacio para su instalación. No obstante, es importante señalar que los tratamientos no se les consideró replicas verdaderas respecto al fotoperíodo, mientras que la temperatura se mantuvo de manera segregada. En caso de presentarse efectos significativos por cualquiera de los factores de prueba, se procedió a realizar pruebas “a posteriori” de comparaciones múltiple de Tukey. Únicamente en caso de que se presentara alguna interacción significativa entre los factores de prueba se procedió a efectuar ANOVAS de una vía. Las pruebas se aplicaron para dos períodos distintos de muestreo (enero y mayo), excepto en el caso de digestibilidad aparente de la materia seca, proteínas y energía bruta, que solo se evaluaron en febrero. Asimismo, y debido a que no se colectó suficiente muestra de heces para el análisis de energía bruta en el tratamiento de 25 °C y 24:00 L:O, se omitió este tratamiento en las comparaciones estadísticas de digestibilidad aparente de energía. En este caso solo se compararon los efectos principales, sin tomar en cuenta el factor de interacción. Todas las pruebas se realizaron utilizando el programa estadístico SIGMA Stat 2.0

RESULTADOS

Sobrevivencia y Crecimiento

La sobrevivencia en los tratamientos de 20 °C fue cercana al 100% durante toda la fase experimental, mientras que a 25 °C se observaron valores entre el 68% y 75% (Fig. 2 a). Durante el primer mes del experimento no se detectó crecimiento de la concha/peso en ninguno de los tratamientos, pero a partir del segundo mes se inició una fase de crecimiento lineal que continuó hasta que se suspendió el experimento (Fig. 2 b-c). Los abulones sometidos a 20°C alcanzaron aproximadamente 15% y 25% mayor talla y peso finales (respectivamente) que los organismos de 25 °C. También se observaron diferencias en el crecimiento de los abulones con respecto al fotoperíodo de acuerdo al siguiente orden: 00:24 > 12:12 = 24:00 L:O (Fig. 2 b-c).

Las tasas promedio de crecimiento bruto de la concha (GGRc), del peso (GGRw) y específico (SGR, Tabla 2) fueron afectadas significativamente por la temperatura y el fotoperíodo (ANOVA de dos vías, $F > 13.4$ y $p < 0.01$ en todos los casos; Anexo 1 (a-c). Los organismos sometidos a 20 °C crecieron más rápido que los de 25 ° mientras que los de 00:24 crecieron mas que los de 12:12 o 24:00 (Tabla 2).

Es importante notar que los organismos de los tratamientos de 25 °C mostraron síntomas del “síndrome del deterioro” (Valles-Ríos, 2000) hacia el final del experimento, la cual se caracterizó en el último mes por una fuerte debilidad de los abulones para adherirse a los recipientes, disminución de la masa muscular y, en su etapa más avanzada, incapacidad para mantenerse en posición ventral o para ingerir alimento. Estos organismos también presentaron abundantes bacterias intracelulares tipo *Rickettsia* en su

tracto digestivo, y el análisis histológico reveló la presencia del metaplasma de epitelios, hipertrofia de células afectadas y descamación de epitelios del esófago, estómago y divertículos digestivos. Debido a lo anterior, el experimento se concluyó 15 días antes para los organismos 25 °C (Fig. 2 a-c).

Consumo de Alimento y Ritmo Circadiano

Un ANOVA de dos vías reveló las tasas de consumo promedio diario evaluadas en enero fueron afectadas significativamente por la temperatura ($F=58.5$; $p < 0.001$) pero no por el fotoperíodo ($F=2.85$; $p > 0.09$, Anexo 1-d). En contraste, las tasas de consumo promedio de marzo-abril fueron afectadas por la temperatura ($F=54.5$, $p < 0.001$) y el fotoperíodo ($F=10.21$, $p < 0.01$; Anexo 1-e). En todos los casos los valores tendieron a disminuir con la edad de los organismos, reduciéndose desde aproximadamente 1.2 hasta 0.8 % del peso corporal d^{-1} (25 °C) y desde 0.9 hasta 0.6 % peso corporal d^{-1} (20 °C) durante el período experimental (Fig. 3). Dentro de una misma temperatura, los menores consumos se observaron consistentemente en el fotoperíodo de luz continua, con valores promedio de 0.5 % y 0.74 % del peso corporal d^{-1} (25 °C y 20 °C, respectivamente) al final del experimento (Fig. 3 y Tabla 4).

En las dos ocasiones que se evaluó el consumo diurno (8:00 AM – 8:00 PM) y nocturno (8:00 PM – 8:00 AM) se observó un marcado ritmo circadiano para los tratamientos de 00:24 y 12:12 luz:oscuridad (Fig. 4 a-d). Los organismos del fotoperíodo 12:12 (Fig. 4 c-d) exhibieron los ritmos más marcados, mientras que los de 24:00 mostraron mayor irregularidad en la amplitud y frecuencia del ritmo (Fig. 4 e, f).

Composición Bioquímica

Los contenidos de energía bruta (4398 a 4531 cal g⁻¹ tejido seco), proteína cruda (65% a 73% del tejido seco), cenizas totales (10.4 a 14.2 % del tejido seco) de los abulones muestreados en enero y mayo no fueron significativamente afectados por el fotoperíodo (ANOVA de dos vías, $p > 0.079$ en todos los casos; Anexos 1 f-k). Tampoco se detectaron efectos significativos de la temperatura sobre esas variables (ANOVA dos vías, $p > 0.296$), excepto en el caso de las cenizas totales de mayo las cuales fueron mayores a en los abulones de 20 °C que en los de 25 °C (ANOVA de dos vías, $p < 0.039$; Anexo 1k). No obstante, la temperatura sí afectó significativamente la proporción de concha en ambas fechas de muestreo ($p = 0.025$ y $p = 0.003$ respectivamente; Anexos 1-l y 1-m), así como el contenido de humedad en el tejido de los abulones muestreados en mayo ($p = 0.003$; Anexo 1o). En este sentido, los organismos de 25 °C exhibieron mayor proporción de concha (76 a 83% del peso total) que los de 20 °C (71 a 76% del peso total), tal como se muestra en la Tabla 3. Asimismo, el porcentaje promedio de humedad del tejido en los organismos de mayo fué mayor a 25 °C (78 a 83%) que a 20 °C (71 a 74%). De acuerdo al ANOVA de dos vías, el porcentaje de humedad en el tejido de los abulones de enero también fue afectado por el fotoperíodo ($p = 0.034$; Anexo 1-n) con los una tendencia hacia mayores valores en los fotoperíodos de 12:12 y 24:00 (Tabla 3).

Conversión del Alimento y Digestibilidad

Un ANOVA de dos vías (Anexo 1-p, q) mostró que solo la temperatura afectó en forma significativa la FCR en los muestreos de enero ($F=13.625$; $p < 0.003$) y abril (F

=26.19, $p < 0.001$), con valores mas altos asociados a la temperatura de 25 °C (enero 4.0 a 7.7; abril 2.1 a 6.1; (Tabla 4) y menores a 20 °C (enero 1.6 a 2.1; abril 0.8 a 1.4, Tabla 4). Por el contrario, el PER estimado en los abulones de enero fue significativamente mayor a 20 °C que a 25 °C ($F=32.851$; $p < 0.001$; Anexo 1-r), mientras que en abril (Anexo 1-s) se observaron efectos significativos tanto de la temperatura ($F=137.1$; $p < 0.001$) como del fotoperíodo ($F=11.2$, $p < 0.002$) y la interacción entre ambos factores ($F=6.37$, $p=0.013$). El ANOVA de una vía corrido para cada temperatura mostró que solamente a los 20 °C se detectaron efectos del fotoperíodo sobre el PER, con mayores valores (PER= 2.64) asociados a 00:24 (Tabla 4 Anexo 2-r). A 25 °C no se detectaron efectos significativos del fotoperíodo sobre el PER (ANOVA de una vía, $p =0.631$; Anexo 2-s), aunque hubo una tendencia a valores más bajos (PER= 0.378) en el fotoperíodo de 24:00 (Tabla 4).

Por otra parte, el ANOVA de dos vías reveló que solamente la temperatura la afectó significativamente la digestibilidad aparente de la materia seca (Tabla 4, Anexo 1-t), con valores significativamente mas altos asociados a la temperatura de 20 °C (78.1 a 80.3 %) y mas bajos a la de 25 °C (71.7 a 73.1). Por el contrario, tanto la digestibilidad de proteínas (%AD_p) como de energía bruta (%AD_e) fueron significativamente afectadas por la temperatura y el fotoperíodo ($p < 0.01$; Anexos 1-u, y 1-v, respectivamente). En ambos casos la digestibilidad fue mayor a 20 °C (73 a 80.5 %) que a 25 °C (70.1 a 74.4%), correspondiendo los valores más altos al fotoperíodo 12:12 en ambas temperaturas (Tabla 4).

Proporción de Sexos y Grado de Madurez

Al final del experimento la proporción de hembras:machos fue de alrededor de 2:1 a 20 y de 1:1 a 25° C, aunque en el último caso se observó un valor anómalo de 11:1 en el tratamiento de iluminación continua, el cual también presentó el máximo número de organismos no maduros (Tabla 5). Es de resaltar el hecho de que entre el 20% y 40% de los organismos de 20 °C fueron clasificados como indefinidos al momento de la evaluación, mientras que el 100% de los organismos de 25 °C (fotoperíodos 00:24 y 12:12) mostraron sexo definido. Asimismo, con excepción del tratamiento de 25 °C /24:00, en el resto de los tratamientos se encontró que el 50%-60% de los abulones mostraban el grado 1 de madurez, con una mayor proporción de hembras en ese estadio (Tabla 5). Los organismos de 25 °C, exhibieron la mayor proporción de organismos en fase 2 de madurez, aunque no se observó una tendencia clara en la dominancia de hembras o machos que alcanzaron esa fase (Tabla 5).

DISCUSION

Crecimiento y Supervivencia

El presente estudio demostró que tanto la temperatura como el fotoperíodo afectaron significativamente el crecimiento y supervivencia de los juveniles de *Haliotis fulgens*. La temperatura fue el factor que más afectó a los organismos, ya que a 20 °C se presentaron las mayores tasas de crecimiento y supervivencia, mientras que la magnitud de esas variables disminuyó significativamente a 25 °C, independientemente del fotoperíodo. Lo

anterior sugiere que en el mediano plazo la temperatura sostenida de 25 °C produce un estrés térmico crónico sobre las tasas fisiológicas y condición general de *H. fulgens*. Dicho estrés no solamente se tradujo en la mortalidad observada, sino también en un mayor contenido de agua en el tejido y mayor proporción de concha que los organismos mantenidos a 20 °C (Tabla 3). La alta proporción de agua en el tejido es un indicador común del bajo índice de condición en un organismo (Jones, 2000). El resultado final del estrés térmico acumulativo sería una mayor predisposición para contraer el síndrome del deterioro, el cual fue muy evidente en los organismos de 25 °C hacia el final del experimento. Se sabe que el síndrome del deterioro está asociado con una exposición prolongada de los abulones a altas temperaturas (Moore *et al.*, 2000), y las características exhibidas por los organismos enfermos del presente estudio coinciden plenamente con la descripción del síndrome reportado previamente para *H. rufescens* (Moore *et al.*, 2000) y *H. cracherodii* (Friedman *et al.*, 1997; Valles-Ríos, 2000).

En conjunto, los resultados de crecimiento y mortalidad del presente estudio contrastan con las observaciones de Leighton *et al.* (1981), quien reportó altas tasas de crecimientos y mínima mortalidad de juveniles de *H. fulgens* aún después de 4 meses de estar sometidos a temperaturas de 22 a 28 °C. Los organismos usados por Leighton *et al.* (1981) eran más pequeños (inicio ca. 13 mm) que los del presente estudio (inicio 30 mm), por lo que es probable que las diferencias entre aquel y el presente estudio estén reflejando un corrimiento hacia abajo (edad-específico) en los óptimos y límites de tolerancia a la temperatura en *H. fulgens*. No obstante, se requieren estudios específicos para definir el papel que juega la edad sobre los requerimientos termales de *H. fulgens*. En este sentido, se ha reportado que la temperatura óptima de crecimiento del lenguado

del Atlántico, *Hippoglossus hippoglossus*, disminuye conforme aumenta su edad (Björnsson, B. And Tryggvadóttir, 1996). Es importante notar que a pesar de que el experimento tuvo una duración aproximada de seis meses, los primeros 30 o 45 días sirvieron como período de aclimatación a las condiciones experimentales. Lo anterior se vio reflejado en el crecimiento nulo o ligeramente negativo de los organismos durante ese período en todos los tratamientos (Fig. 2 b-c). Por lo mismo y con el fin de obtener resultados representativos de los factores de prueba, es recomendable considerar un período mínimo de aclimatación de 1 a 1.5 meses en diseños experimentales que incluyan juveniles de *H. fulgens* en cautiverio.

Con respecto al fotoperíodo, los ANOVAS de dos vías sugieren que el efecto de este factor sobre el crecimiento de los juveniles de *H. fulgens* fue independiente de la temperatura ya que con excepción de la PER de abril en ningún otro caso se detectaron interacciones significativas entre ambos factores. Es importante notar que las mayores tasas de crecimiento obtenidas en el presente estudio se encontraron en la combinación de 20 °C y 00:24 (106 $\mu\text{m}/\text{d}$; 68 mg/d ; 1.1 $\%/ \text{d}$), y fueron comparables a los máximos reportados previamente para organismos más pequeños (talla inicial = 10 a 18 mm) de la misma especie cultivados bajo fotoperíodo natural (Leighton *et al.*, 1981) o 12:12 (Viana *et al.*, 1996; Gómez-Montes *et al.*, 2003). El mayor crecimiento exhibido por los organismos del fotoperíodo 00:24 permite sugerir que la oscuridad continua es la mejor opción para producir juveniles de *H. fulgens* en cautiverio, seguido por el fotoperíodo de 12:12. Es probable que las diferencias de crecimiento con respecto al fotoperíodo hayan reflejado principalmente diferencias en la cantidad diaria de alimento consumido por los abulones, ya que ambas variables mostraron el mismo patrón ordinal, con mayores

valores asociados al fotoperíodo 00:24 y menores al 24:00, independientemente de la temperatura (Figs. 2 y 4).

Ritmo Circadiano del Consumo Alimenticio

Una de las características más sobresalientes del presente estudio fue la presencia de un aparente ritmo circadiano en el consumo de alimento en los organismos sometidos al fotoperíodo 12:12, y la alteración gradual del mismo en los tratamientos de 00:24 y 24:00, respectivamente (Fig. 4 a-b, e-f). La duración del experimento (seis meses) y la consistencia exhibida por los abulones en la ritmicidad del consumo nocturno sugiere que este es un fenómeno repetible, consistente y característico del abulón. Este patrón ya ha sido documentado en otros gasterópodos, pero el presente estudio es el primero en reportar la ritmicidad evaluada en dos fechas distintas, con una separación de dos meses entre ellas. Kupfermann (1974) observó en un estudio de tres días la presencia de un ritmo circadiano en la vaquita de mar *Aplysia californica*, con mayor consumo nocturno en el fotoperíodo de 12:12. El ritmo se mantuvo aún cuando el fotoperíodo fue cambiado a oscuridad completa durante 24 horas, lo que sugirió a los autores que dicho ritmo fue de naturaleza endógena. Barkai y Griffiths (1987) también reportaron mayor consumo de alimento durante las horas nocturnas en el abulón *H. midae*.

A pesar de que la temperatura jugó un papel importante en la magnitud del consumo del alimento, es evidente que la amplitud y frecuencia del ritmo circadiano fue dictada principalmente por el fotoperíodo, con valores mas altos asociados a las horas “nocturnas” (Fig. 4). La disminución de la amplitud del ritmo en los tratamientos de 00:24 y 24:00 probablemente se debió a una limitación en la capacidad gástrica de los

abulones, ya que los organismos de estos tratamientos continuaron alimentándose durante el “día”, aunque en menor proporción que en la “noche”. Es evidente que la luz jugó un papel importante como agente sincronizador del consumo nocturno en el fotoperíodo 12:12, pero la ausencia de dicha señal en los fotoperíodos de oscuridad o iluminación continua probablemente propició que la frecuencia de alimentación también influyera secundariamente como señal sincronizadora del consumo. En otras palabras, la hora en que se ofrecía el alimento (8 AM y 8 PM) probablemente influyó para que los abulones de 00:24 y 24:00 mostraran un patrón principal de consumo nocturno y (en menor grado) diurno. En este sentido, se sabe que tanto la luz como la temperatura y el alimento sirven como agentes sincronizadores del reloj interno de los organismos (Pati, 2001; Stephan, 2002), pero el diseño experimental utilizado en el presente estudio no permitió separar el papel que jugaron ambos factores como agentes sincronizadores del ritmo, ni tampoco permite explicar la disminución en la amplitud del ritmo de los tratamientos 00:24 y 24:00. Sin embargo, es posible concluir que los juveniles de *H. fulgens* presentan un ritmo en el consumo de alimento, con mayor actividad nocturna. Es importante notar que estrictamente el tratamiento 00:24 no existió, ya que diariamente los organismos de estos tratamientos se exponían a la luz experimental (aprox. $5 \times 10^{-4} \mu\text{E/s/m}^2$) durante aproximadamente 5 minutos, tiempo en el que se colectaba el alimento no consumido y se lavaba cada cubeta. Por lo tanto, es probable que en este tratamiento la frecuencia de alimentación jugara un papel menor como agente sincronizador del ritmo, comparado con el tratamiento 24:00.

Consumo, Digestibilidad y Conversión Alimenticia

En el presente estudio se observó que el consumo de alimento por unidad de peso se comportó de acuerdo a lo esperado, con los valores mas altos asociados a las tallas más pequeñas y a mayor temperatura. No obstante, el mayor consumo exhibido por los organismos de 25 °C no se tradujo en mayor crecimiento; mejor eficiencia de retención proteica (PER) o menor razón de conversión alimenticia (FCR). Por el contrario, los abulones de estos tratamientos exhibieron entre 30% y 40% menores tasas de crecimiento; de 4% y 8% menor digestibilidad de nutrientes, y de dos a cuatro veces mayor FCR y menor eficiencia de PER que los organismos de 20 °C. Es de esperarse que los bajos valores de crecimiento y conversión alimenticia encontrados en el presente estudio se deban, al menos en parte, a la reducción de la digestibilidad con el aumento de temperatura. El mismo patrón de comportamiento del PER y FCR con respecto a la temperatura ha sido reportado anteriormente en juveniles de *H. midae*, quienes aumentaron su FCR (1.15 a 3.02) y disminuyeron PER (2.97 a 0.41) con un aumento de 4 °C sobre el óptimo termal de 18 C (Britz *et al.*, 1997). Tanto la FCR como la PER son variables que reflejan la fracción de alimento que se incorpora como tejido, lo cual a su vez está en función de la eficiencia de absorción (= digestibilidad) y de gastos adicionales relacionados con el metabolismo, excreciones, y secreciones (Lucas, 1996). La dieta utilizada en el presente estudio fue la misma para todos los tratamientos, por lo que se infiere que la menor digestibilidad exhibida en los abulones de 25 °C se debió al menor tiempo de residencia del alimento en el tracto digestivo. Está ampliamente documentado que existe una relación inversa entre la temperatura y el tiempo de paso del alimento (De Silva y Anderson, 1995).

No es posible explicar las diferencias de crecimiento en los tratamientos de fotoperíodo en función de la digestibilidad, ya que solamente la digestibilidad de proteínas fue significativamente afectada por el fotoperíodo (anexo 1 u). Por el contrario, el consumo de alimento fue claramente mayor en los tratamientos de 00:24 que en los de 24:00 (tabla 4), lo cual sugiere que esta variable tuvo una influencia importante en las diferencias de crecimiento observadas para los distintos fotoperíodos. En conjunto, los resultados del presente estudio sugieren que dentro de una misma temperatura los organismos crecen más cuando comen más (en la oscuridad). Por el contrario, los organismos sometidos a temperaturas por encima del óptimo son capaces de consumir mayor cantidad de alimento, pero crecen menos debido en parte a que su eficiencia de absorción disminuye. Es importante notar que el valor de PER estimado en el presente estudio para la combinación 12:12/20°C (PER= 1.7) fue menor que el reportado previamente para otro lote de juveniles de *H. fulgens* (PER, 2.71), los cuales fueron alimentados y mantenidos en condiciones similares a las del presente estudio Gómez-Montes *et al.*, (2003). No se sabe en que grado estas discrepancias puedan deberse a diferencias de edad, lote de organismos, o variaciones en las condiciones experimentales y/o manejo de los organismos.

Si bien los argumentos vertidos arriba ayudan a explicar parcialmente las diferencias de crecimiento en función de la temperatura y el fotoperíodo, es poco probable que la digestibilidad y/o el consumo de alimento puedan explicar más del 20% de las diferencias observadas en función de la temperatura. Es evidente sin embargo, que la temperatura de 25 °C estuvo por encima del óptimo fisiológico de los juveniles de *H. fulgens*, lo cual sugiere que otras variables fisiológicas consideradas sumideros (pérdidas) en la ecuación

de presupuesto energético también fueron afectadas por la alta temperatura. En particular, se sabe que la tasa metabólica contribuye alrededor del 25 a 30% de las pérdidas de energía ingerida en distintas especies de abulón (Donovan y Carefoot 1998; McBride *et al.*, 2000; Gómez-Montes *et al.*, 2003). Además, un cálculo a partir de las ecuaciones alométricas generadas por Barkai y Griffiths (1987), indican que un incremento de 5 °C por encima del óptimo de *H. midae* puede aumentar hasta en un 30 % la tasa metabólica de juveniles de 20 g. Por lo tanto, es probable que el crecimiento comparativamente bajo de en los organismos de 25 °C se deba en gran parte a un aumento en su tasa metabólica. En este sentido, es importante comentar que al final del experimento se intentó medir la tasa metabólica de los juveniles experimentales, pero los resultados obtenidos fueron erráticos y no pueden ser considerados seriamente en el presente trabajo debido a que, en aquel momento los abulones de 25 °C ya mostraban signos avanzados del síndrome del deterioro. Un sumidero adicional de energía que no fue evaluado en el presente estudio fue la producción de moco. Se sabe que este es un componente importante de la ecuación de presupuesto energético del abulón (Ej. Peck *et al.*, 1987; McBride *et al.*, 2001), pero hasta ahora no se ha evaluado el efecto de la temperatura sobre esta variable. Cabe mencionar que Valles-Ríos, (2000) reportó una proliferación de células mucosas en el ápice de las lámelas branquiales de *H. cracherodii* infectados con el síndrome del deterioro. Las células mucosas sustituyeron al epitelio cúbico y cilíndrico que típicamente se observa en las branquias (Valles-Ríos, 2000) por lo que no se descarta que esto haya representado un gasto energético adicional en los organismos enfermos durante el último mes de experimentación.

Finalmente, es importante notar que si bien la temperatura y el fotoperíodo afectaron el crecimiento del abulón, dichos factores no alteraron el contenido peso-específico de proteínas y energía del tejido. Lo anterior sugiere que el abulón tiende a mantener conservada la proporción de estos componentes debido a que juegan un papel crítico como moléculas estructurales (proteínas) y como reserva energética. Se desconoce la razón por la cual se obtuvieron valores tan altos de cenizas totales en los tratamientos de 20 °C (mayo). Los valores obtenidos en enero y en los tratamientos de 25 °C están más acorde a lo reportado previamente para esta especie (Gómez-Montes et al., 2003). Es probable que la temperatura de 20 °C haya facilitado la mayor acumulación de minerales en el tejido de los abulones, pero en el presente trabajo no se realizaron análisis de estos componentes.

Proporción de Sexos y Madurez

Un resultado puntual del presente estudio es que cuando menos el 50% de los organismos experimentales presentó gónadas definidas (fase 1) al término del experimento, es decir, una vez cumplidos 1.5 años de edad. Se esperaba que la proporción teórica de machos y hembras se mantuviera en 1:1 debido a que el total de organismos evaluados sobrepasó los 100. No obstante, el hecho de encontrar consistentemente una mayor proporción de hembras y organismos inmaduros en los tratamientos de luz continua (24:00), sugiere que dichas condiciones retrasaron la velocidad de formación de gónadas masculinas. Desgraciadamente no se pudo comprobar la proporción final de sexos en los organismos inmaduros debido a que el experimento solo tuvo una duración de seis meses. Recientemente se reportó una alta

variabilidad en la proporción de sexos de *H. fulgens* silvestres, con una tendencia a mayor proporción de machos (Rodríguez-Valencia y Caballero-Alegría, 2002), mientras que otros estudios han demostrado que la razón de sexos 1:1 es típica en haliótidos silvestres (Capinpin *et al.*, 1998; Litaay y De Silva, 2003). El hecho de que la razón hembras:machos tendiera a invertirse conforme aumentó el grado de madurez en los tratamientos del presente estudio, sugiere que una vez definido el sexo los machos de *H. fulgens* tienden a formar gametas más rápido que las hembras. En este sentido Uki y Kikuchi (1984) encontraron que los machos adultos del abulón *Haliotis discus hannai* alcanzaron mayores índices gonádicos que las hembras cuando ambos fueron sometidos a temperaturas entre 8 °C y 23 °C, siendo más evidente las diferencias a la temperatura más altas.

CONCLUSIONES

- La temperatura y el fotoperíodo afectaron significativamente la tasa de crecimiento de *Haliotis fulgens*. El mayor crecimiento se observó a 20 °C y en oscuridad continua.
- Los organismos de 25 °C estuvieron sometidos a estrés térmico, lo cual resultó en una menor eficiencia de conversión alimenticia, mayor su contenido de agua en el tejido, mayor mortalidad y mayor proporción de organismos con el síndrome del deterioro que los de 20 °C.
- *H. fulgens* presentó un marcado ritmo circadiano aunque la magnitud y/o la frecuencia del ritmo tendieron a alterarse bajo condiciones de oscuridad o iluminación constantes.
- Las menores tasas de crecimiento exhibidas por los organismos de 25 °C se debieron, en parte, a la menor digestibilidad del alimento. La cantidad de alimento consumido explicó parcialmente las diferencias de crecimiento con respecto al fotoperíodo.
- Se sugiere que existió una alta proporción de energía ingerida (no cuantificada) que se perdió por respiración y/o producción de moco, y que pudieron contribuir a las diferencias de crecimiento observadas entre los organismos de 25 y 20 °C.

BIBLIOGRAFIA

- Agribusiness in Sustainable Natural African Plant Products junio de 2002
(www.asnapp.org/Resources_methods/resources_method3-0 and [4-0](http://www.asnapp.org/Resources_methods/resources_method4-0) htm).
- Barkai, R. y Griffiths, C.L. 1987. Consumption, absorption efficiency, respiration and excretion in the South African abalone *Haliotis midae*. S. Afr. J. Mar. Sci., **5**: 523-529.
- Björnsson, B. And Tryggvadóttir, S.V. 1996. Effects of size on optimal temperature for growth and growth efficiency of immature Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture* 142: 33-42.
- Britz, P.J. y Hecht, T. 1997. Effect of dietary protein and energy level on growth and body composition of South African abalone, *Haliotis midae*. *Aquaculture*, 156:195-210.
- Britz, P.J., Hecht, T. y Mangold, S. 1997 Effect of temperature on growth, feed consumption and nutritional indices of *Haliotis midae* fed a formulated diet. *Aquaculture*, 152: 191-203.
- Brett, J. R. 1979 Environmental factors and growth. In: Fish Physiology, Vol. VIII (ed. By W. S. Hoar, D.J. Randall & J.R. Brett), 599-675 pp. Academic Press, New York.
- Browne, R.A.; Wanigasekera, G. 2000. Combined effects of salinity and temperature on survival and reproduction of five species of Artemia. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 244: 29-44.

- Capinpin, E.C Jr.; Encena, V. C.; Bayona, N.C. 1998. Studies on the reproductive biology of the Donkey's ear abalone, *Haliotis asinia* Linne. *Aquaculture*, 166: 141-150.
- Chacón, O.; Viana, M.T.; Faria, A.; Vázquez, C. y García-Esquivel, Z. 2003. Circadian metabolic rate and short-term response of juvenile green abalone (*Haliotis fulgens* Philippi) to three anesthetics. *J. Shellfish Res.*, 22: 415-421.
- Cox, K.W. 1960. Review of the abalone of California. *California Fish and Game (Davis)*, *Fish Bull.*, vol. 46(4). 381-406 pp.
- De Silva & Anderson 1995. *Fish Nutrition in Aquaculture*. 1^{er} Edition. Chapman & Hall Great Britain, 319 pp.
- Donovan, D. y Carefoot, T. 1998. Effect of activity on energy allocation in the northern abalone *Haliotis kamtschatkana* (Jonas). *J. Shellfish Res.*, 17:729-736.
- Fermin, A. C., Buen, SMA. 2001. Photoperiod effects on feeding food conversion, growth, and survival of abalone (*Haliotis asinine* Linne) during nursery rearing. *Phuket Marine Biological Center Special Publication*, 25: 113-117.
- Friedman, CS; Thompson, M; Chun, C; Haaker, P.L; Hedrick, R.P. 1997. Whitering syndrome of the black abalone, *Haliotis cracherodii* (Leach): water temperature, food availability, and parasites as possible causes. *J. Shellfish Res.*, 16: 403-411.
- Gao X., Liu, Y., Liu, Y., Liu, J. 1990. Temperature and tolerances in the abalone, *Haliotis diversicolor supertexta* Lischke. *Oceanologia et Limnologia Sinica* 21: 20-26.
- Gnaiger, E., 1983. Appendix C, calculation of energetic and biochemical equivalents of respiratory oxygen consumption. In: Gnaiger, E Fostner, H. (Eds.), *Polarographic*

- Oxigen Sensors. Aquatic and Physiological Applications. Springer-Verlag, Berlin, 337-345 pp.
- Godoy-Corrales J.R. 1989. "Efecto del Fotoperíodo sobre el desarrollo Gonadal y crecimiento del Abulón Rojo *Haliotis rufescens*" Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, B. C. 87 pp.
- Gómez-Montes, L.; García-Esquivel, Z.; D'Abramo, L.R.; Shimada, A.; Vázquez-Peláez, C. y Viana, M.T. 2003. Effect of dietary protein:energy ratio on intake, growth and metabolism of juvenile green abalone, *Haliotis fulgens*. *Aquaculture*, 220:769-780.
- Hahn, K.O. 1989. Nutrition and growth of abalone. In: Hahn, K.O. (Ed.), CRC Handbook of Culture of Abalone and Other Gastropods. CPR Press, Boca Raton, FL, pp. 17 y 135-156.
- Hairston, NG; Kearns, CM. 1995. Interaction of photoperiod and temperature in diapause timing: a copepod example. *Biol. Bull.*, 189: 42-48.
- Halsband-Lenk, C.; Hans-Juergen, H; Francois, C. 2002. Temperature impact on reproduction and development of congener copepod populations. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 271: 121-153.
- Hecht, T. 1994. Behavioural thermoregulation of the abalone, *Haliotis midae*, and implications for intensive culture. *Aquaculture*, 126:171-181.
- Hirst, A.G.; Bunker, A.J., 2003. Growth of marine planktonic copepods: Global rates and patterns in relation to chlorophyll a, temperature, and body weight. *Limnology and Oceanography* 48: 1988-2010.

- Hochachka, P.W. and G. N. Somero 1984. Biochemical Adaptation. Princeton University Press, New Jersey, USA. 538 pp.
- Jonassen, TM; Imsland, AK; Kadowaki, S; Stefansson, SO. 2000. Interaction of temperature and photoperiod on growth of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* L. *Aquaculture Res.*, 31:219-227.
- Jones P.L. and Obst, J.H. 2000. Effects of starvation and subsequent refeeding on the size and nutrient content of the hepatopancreas of *Cherax destructor* (Decapoda:parastacidae). *J. Crustacean Biology*, 20 (3), 431-441 pp.
- Kupfermann, I. 1974. Feeding behavior in *Aplysia*: a simple system for the study of motivation. *Behav. Biol.*, 10: 1-26.
- Leighton D L; Byhower, MJ; Kelly, JC; Hooker, GN; Morse, DE. 1981. Acceleration of development and growth in young green abalone (*Haliotis fulgens*) using warmed effluent seawater. *J. World Maricul. Soc.*, 12: 170-180.
- Liu, L-L; Chang, K-H. 1987. Upper limitation of suitable temperature for rearing larvae and post settlement juveniles of the abalone *Haliotis discus hannai*. *Bulletin of the Institute of Zoology Academia Sinica (Taipei)* 26: 19-25.
- Litaay, M.; De Silva, S.S. 2003. Spawning season, fecundity and proximate composition of the gonads of wild-caught blacklip abalone (*Haliotis rubra*) from Port Fairy waters, south eastern Australia. *Aquat. Living Res.*, 16: 353-361.
- Lucas, A., 1996. Bioenergetics of Aquatic Animals. Taylor & Francis, London. 168 pp.
- McBride, S.C., E Rotem D. Ben-Ezra & M. Shpigel. 2000. Evaluation of sasonal bionergatic of *Haliotis fulgens* and *Haliotis tuberculata*. National Shellfisheries Association. *J. Shellfish Res* 19 (1), 525 pp.

- McBride, S.C., E Rotem D. Ben-Ezra & M. Shpigel. 2001. Sasonal energetics of *Haliotis fulgens* (Philippi) and *Haliotis tuberculata* (L.). *J. Shellfish Res* 20:659-665.
- McCormick, SD; Moriyama, S; Bjornsson, BT. 2000. Low temperature limits photoperiod control of smolting in the Atlantic salmon through endocrine mechanisms. *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.*, 278R: 1352-1361.
- Molina-Martínez J. 1982. Estimaciones de Fecundidad en *Haliotis rufescens* Abulón Rojo Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, B.C. México. 52 pp.
- Moore, J.D.; Robbins, T.T.; Friedman, C.S. 2000. Withering syndrome in farmed red abalone *Haliotis rufescens*: thermal induction and association with a gastrointestinal Rickettsiales-like prokaryote. *J. Aquat. An. Health*, 12: 26-34.
- Morse, W W. 1981. Reproduction of the Summer Flounder, *Paralichthys dentatus* (L.). *J. Fish Biol.*, 19:189-203.
- Pati, A.K. 2001. Chronobiology: the dimension of time in biology and medicine. *Pinsa-B*, 67: 323-372
- Peck, L.S; Culley, M.B. y Helm, M.M. 1987. A laboratory energy budget for the ormer *Haliotis tuberculata* L. *J. Exp. mar. Biol. Ecol.*, 23:104-123.
- Prosser, C.L. 1991. Comparative animal physiology, 4th. edition. Saunders, Philadelphia, 1378 pp.
- Rodríguez-Valencia, J.A.; Caballero-Alegría, F. 2002. Temporal fluctuations (1989-1999) in the populations of *Haliotis fulgens* and *H. corrugata* (Gastropoda:

- Haliotidae), at Islas San Benito (Baja California, Mexico). *J. Shellfish Res.*, 21: 163-171.
- Segawa, S. 1991. Oxygen consumption and ammonia excretion by the abalone *Sulculus diversicolor aquatilis* in starved condition. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 57: 2001-2006.
- Stephan, F.K. 2002. The “other” circadian system: food as a zeitgeber. *Biological Rhythms*, 17:284-292.
- Uki, N. and Kikuchi, S., 1984. Regulation of maturation and spawning of an abalone, *Haliotis* (Gasteropoda) by external environmental factors. *Aquaculture*, 39:247-261.
- Valles-Ríos H. 2000. Análisis histopatológico del abulón negro *Haliotis cracherodii* afectado por el síndrome de deterioro. *Ciencia Pesquera* No.14. 13 pp.
- Viana, M.T., L.M. López & A. Salas. 1993. Diet development for juvenile abalone *Haliotis fulgens*. Evaluation of two artificial diets and macroalgae. *Aquaculture*. 117:149-156.
- Viana, M.T., L.M. López, Z. García-Esquivel & E Méndez. 1996. The use of silage from fish and abalone viscera as an ingredient in abalone Feed. *Aquaculture*, 140:87-89.
- Werner S. 1989. *Principles of Fish Nutrition*.- 1^{er}. Edition. Hohn Wiley & Sons. Chichester, England 384 pp.

Tabla I. Composición de los ingredientes (% en peso seco) de la dieta suministrada a los abulones del 19 de diciembre del 2001 al 14 de mayo de 2002.

INGREDIENTES	42% 1Kg
Harina de pescado	333.50
Harina de soya 92%	166.30
Harina de <i>Macrocystis</i>	131.40
Aceite de Pescado	26.30
Aceite de Maíz	3.75
Almidón modificado	219.00
Celulosa	23.10
Vitaminas	15.00
Stay - C	4.00
Minerales	33.00
Metionina	2.30
Benzonato de Sodio	2.30
Cloruro de Colina	1.10
BTH	0.90
Tocoferol	0.10
Ensilaje de Pescado	102.90
Grenetina	73.39
Análisis Bioquímicos	
Proteína Cruda	47.22 ± 0.185
Energía Bruta	4382.45 ± 24.30
Cenizas Totales	14.59 ± 0.55
Humedad	33.06 ± 6.9

Tabla II. Tasa promedio (\pm desviación estándar) de crecimiento bruto de la concha (GGR_s), del peso (GGR_w), y tasa de crecimiento específico (SGR, %/d) exhibidos por juveniles de abulón azul, *H. fulgens*, a tres fotoperíodos (horas luz:oscuridad) y 2 temperaturas, durante el período del 19 de diciembre del 2001 al 14 de mayo del 2002 (organismos de 20 °C) o del 19 de diciembre al 1 de mayo del 2002 (25 °C).

Variable	FOTOPERIODO			Promedios
	0:24	12:12	24:0	
20 °C				
GGR_s ($\mu\text{m/d}$)	106.2 \pm 6.6	80.7 \pm 13.4	65.9 \pm 9.6	84.3 \pm 20.4
GGR_w (mg/d)	67.9 \pm 6.6	45.8 \pm 4.5	40.9 \pm 4.0	51.5 \pm 14.4
SGR (%/d)w	1.15 \pm 0.06	0.91 \pm 0.06	0.84 \pm 0.08	0.97 \pm 0.16
25 °C				
GGR_s ($\mu\text{m/d}$)	66.3 \pm 16.2	55.1 \pm 13.3	37.1 \pm 7.4	52.8 \pm 14.7
GGR_w (mg/d)	40.6 \pm 7.8	31.7 \pm 9.8	23.6 \pm 2.5	31.9 \pm 8.5
SGR (%/d)w	0.79 \pm 0.10	0.67 \pm 0.14	0.51 \pm 0.03	0.65 \pm 0.14

Tabla III. Composición bioquímica promedio (\pm desviación estándar) de juveniles del abulón, *H. fulgens*, sometidos a tres fotoperíodos y dos temperaturas. Las evaluaciones se realizaron en dos fechas distintas. El experimento inició en noviembre del 2001. PS= peso seco total; TH = peso húmedo del tejido; TS = peso seco del tejido; CT = cenizas totales).

VARIABLE	FOTOPERIODO/TEMPERATURA							Promedio
	20°C			25°C			Promedio	
	0:24	12:12	24:00	0:24	12:12	24:00		
Enero, 2002								
Concha (% PS)	73 \pm 4.1	74 \pm 0.75	76 \pm 5.0	74.3 \pm 1.5	76 \pm 4.0	80 \pm 3.7	80 \pm 2.2	78.7 \pm 2.3
Humedad (% TH)	83 \pm 0.6	83 \pm 0.7	85 \pm 1.9	83.7 \pm 1.2	83 \pm 2.5	86 \pm 1.5	86 \pm 0.6	85 \pm 1.7
Proteína (% TS)	65 \pm 2.0	68 \pm 0.92	67 \pm 2.8	66.7 \pm .15	64 \pm 0.5	67 \pm 3.0	66 \pm 2.5	65.7 \pm 1.5
CT (% TS)	11.4 \pm 1.6	10.4 \pm 1.9	10.4 \pm 0.7	10.7 \pm 0.6	10.6 \pm 0.6	10.9 \pm 1.8	14.2 \pm 4.3	11.9 \pm 1.9
Energía (cal/gTS)	4527 \pm 43	4547 \pm 56	4457 \pm 140	4510 \pm 47.3	4506 \pm 70	4498 \pm 55	4398 \pm 198	4467 \pm 60

Continuación

Tabla III.

FOTOPERIODO/TEMPERATURA

VARIABLE	20°C				25°C				Promedio	
	0:24	12:12	24:00	Promedio	0:24	12:12	24:00	Promedio		
Mayo, 2002										
Concha (% PS)	71 ± 2.2	75 ^b ± 2.2	74 ± 2.5	73.3 ± 2.0	80 ± 2.4	78 ± 7.2	83 ± 5.8	80.3 ± 2.5		
Humedad (% THP)	82 ± 0.43	83 ± 1.5	83 ± 0.5	82.7 ± 0.57	86 ± 2.7	85 ± 3.3	89 ± 3.4	86.7 ± 2.0		
Proteína (% TS)	69 ± 4.6	73 ± 0.8	71 ± 3.1	71 ± 2.0	70 ± 8.2	65 ± 6.9	67 ± 9.7	67.3 ± 2.5		
CT (% TS)	22.7 ± 3.4	21.6 ± 4.3	19.4 ± 6.1	21.2 ± 1.6	15.9 ± 4.0	16.4 ± 4.7	17.2 ± 3.0	16.5 ± 0.65		
Energía (cal/gTS)	4474 ± 98	4531 ± 66	4471 ± 50	4492 ± 33	4637 ± 29	4545 ± 155	4419 ± 65	4533 ± 109		

Tabla IV. Valores promedio (\pm desviación estándar) de la razón alimenticia (FCR), razón de eficiencia proteica (PER), consumo alimenticio (C, % del peso de los organismos), así como del porcentaje de digestibilidad aparente (DA%) de la materia seca, proteína cruda y energía bruta en juveniles de *H. fulgens*, sometidos a tres fotoperíodos y dos temperaturas. Las evaluaciones de DA % se realizaron en febrero, para FCR, PER y C en dos fechas distintas. TS = peso del tejido seco.

VARIABLE	FOTOPERIODO/TEMPERATURA							
	0:24	12:12	24:00	Promedio	0:24	12:12	24:00	Promedio
	20°C							
FCR	1.63 \pm 0.46	2.15 \pm 0.56	2.02 \pm 0.27	1.93 \pm 0.27	3.97 \pm 0.76	4.45 \pm 1.5	7.67 \pm 4.5	5.36 \pm 2.0
PER	1.38 \pm 0.43	1.03 \pm 0.23	1.06 \pm 0.14	1.15 \pm 0.19	0.59 \pm 0.13	0.55 \pm 0.18	0.37 \pm 0.19	0.50 \pm 0.11
Consumo	0.96 \pm 0.08	0.83 \pm 0.13	0.82 \pm 0.06	0.82 \pm 0.07	1.24 \pm 0.059	1.19 \pm 0.07	1.14 \pm 0.11	1.21 \pm 0.03
	25°C							
	Abril, 2002							
FCR	0.81 \pm 0.08	1.3 \pm 0.30	1.4 \pm 0.02	1.17 \pm 0.31	4.82 \pm 2.44	5.72 \pm 3.58	6.15 \pm 0.96	5.6 \pm 0.68
PER	2.64 \pm 0.29	1.69 \pm 0.36	1.47 \pm 0.02	1.9 \pm 0.62	0.58 \pm 0.32	0.51 \pm 0.29	0.38 \pm 0.05	0.49 \pm 0.10
Consumo	0.72 \pm 0.087	0.73 \pm 0.087	0.50 \pm 0.11	0.65 \pm 0.13	1.00 \pm 0.07	0.88 \pm 0.01	0.85 \pm 0.02	0.91 \pm 0.08
%DA materia. seca	78.1 \pm 1.33	80.3 \pm 2.0	78.5 \pm 1.9	78.9 \pm 1.1	73.1 \pm 2.2	71.7 \pm 3.2	71.7 0.72	72.2 \pm 0.80
%DA proteína	78.5 \pm 1.8	80.5 \pm 2.3	78.5 \pm 1.9	79.1 \pm 1.1	70.1 \pm 0.84	72.0 \pm 3.9	70.3 \pm 1.03	70.8 \pm 1.0
%DA energía	78.4 \pm 1.8	80.0 \pm 82	74.2 \pm 2.4	77.5 \pm 2.9	74.3 \pm 3.3	74.4 \pm 0.36	nd	74.3 \pm 0.07

Tabla V. Proporción de sexos e índice de madurez gonádico de juveniles del abulón, *H. fulgens*, sometidos a tres fotoperíodos (horas L:O) y dos temperaturas durante 6 meses. El total de organismos evaluados en cada combinación de fotoperíodo y temperatura también se indica.

	FOTOPERIODO					
	0:24	12:12	24:00	0:24	12:12	24:00
	20 °C			25 °C		
Proporción ♀ : ♂	1.8 : 1	1.7 : 1	3 : 1	1 : 1.5	1 : 1.1	11 : 0
No. Indefinidos	4	4	7	0	0	9
Total de organismos	18	15	15	20	23	20
Índice de madurez						
0	4	4	7			9
♀	6	7	6	3	11	11
1 ♂	4	2	2	4	4	0
♀	3	0		5	1	
2 ♂	1	2		7	7	
♀				0		
3 ♂				1		

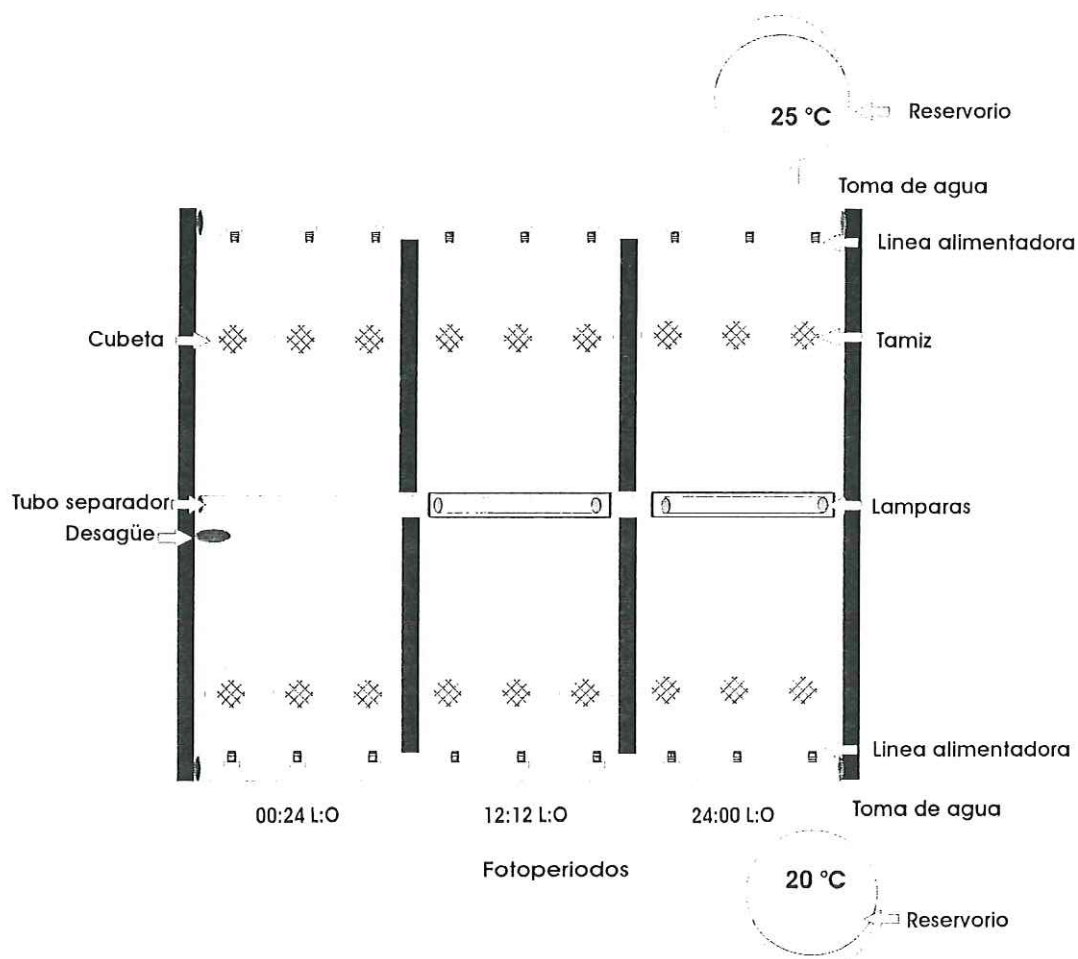


Fig. 1. Diagrama del sistema experimental en el cual se desarrollo el ensayo del (17 de noviembre de 2001 al 1 y 14 de mayo de 2002). Con juveniles de abulón azul *Haliotis fulgens*, bajo la combinación de dos temperaturas y tres fotoperíodos.

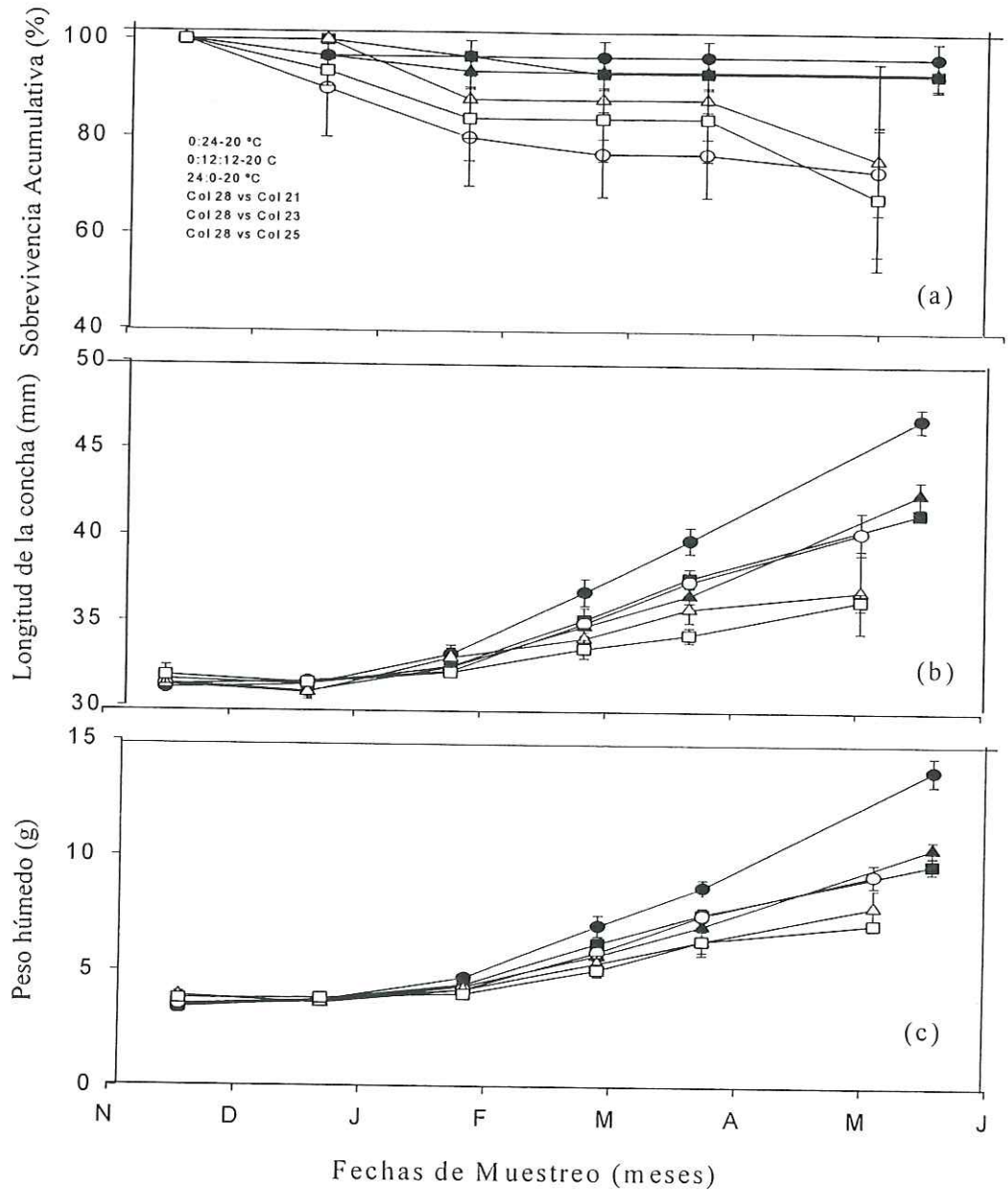


Fig. 2. Sobrevivencia (%) y crecimiento en longitud y peso húmedo en juveniles de abulón azul, bajo la combinación de dos temperaturas y tres fotoperíodos, durante el desarrollo experimental (17 de nov – 01 al 1 y 14 de mayo). Los símbolos oscuros corresponden a los tratamientos de 20°C (●-00:24, ▲- 12:12 , ■ 24:00) y los claros a 25°C (○-00:24, △ - 12:12, □ 24:00)." Las barras verticales indican el error estándar.

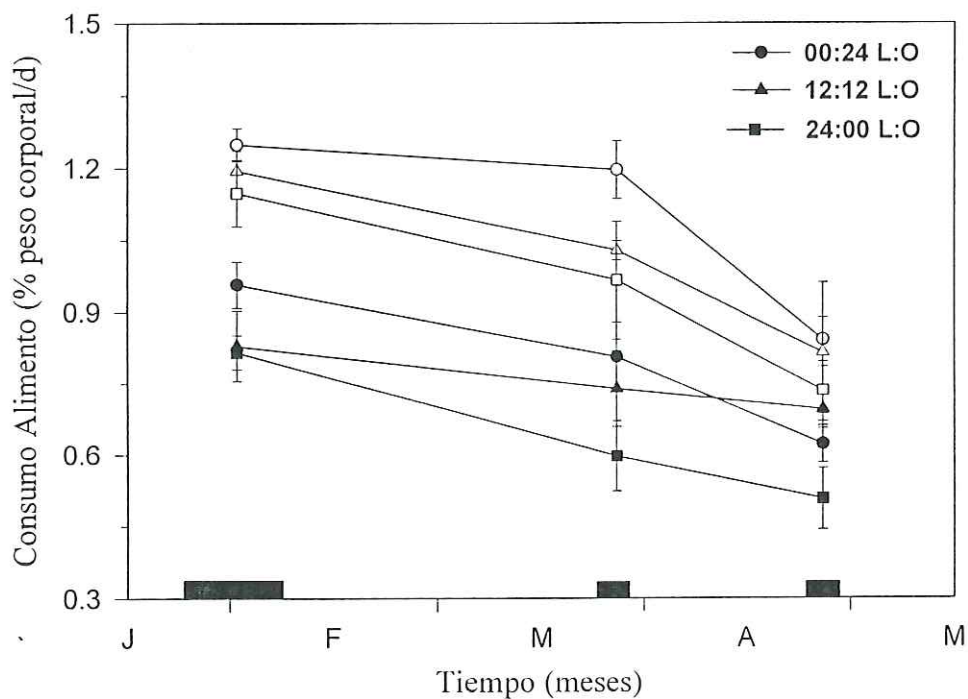


Fig. 3. Tasa promedio de consumo de alimento por juveniles de abulón azul *H. fulgens* bajo la combinación de dos temperaturas y tres fotoperiodos, las evaluaciones se realizaron durante las diferentes mediciones de consumo (enero - abril). "Los símbolos oscuros corresponden a los tratamientos de 20° C y los claros a los de 25° C." Las barras oscuras señalan los días de medición de consumo de alimento. Las barras verticales indican el error estándar.

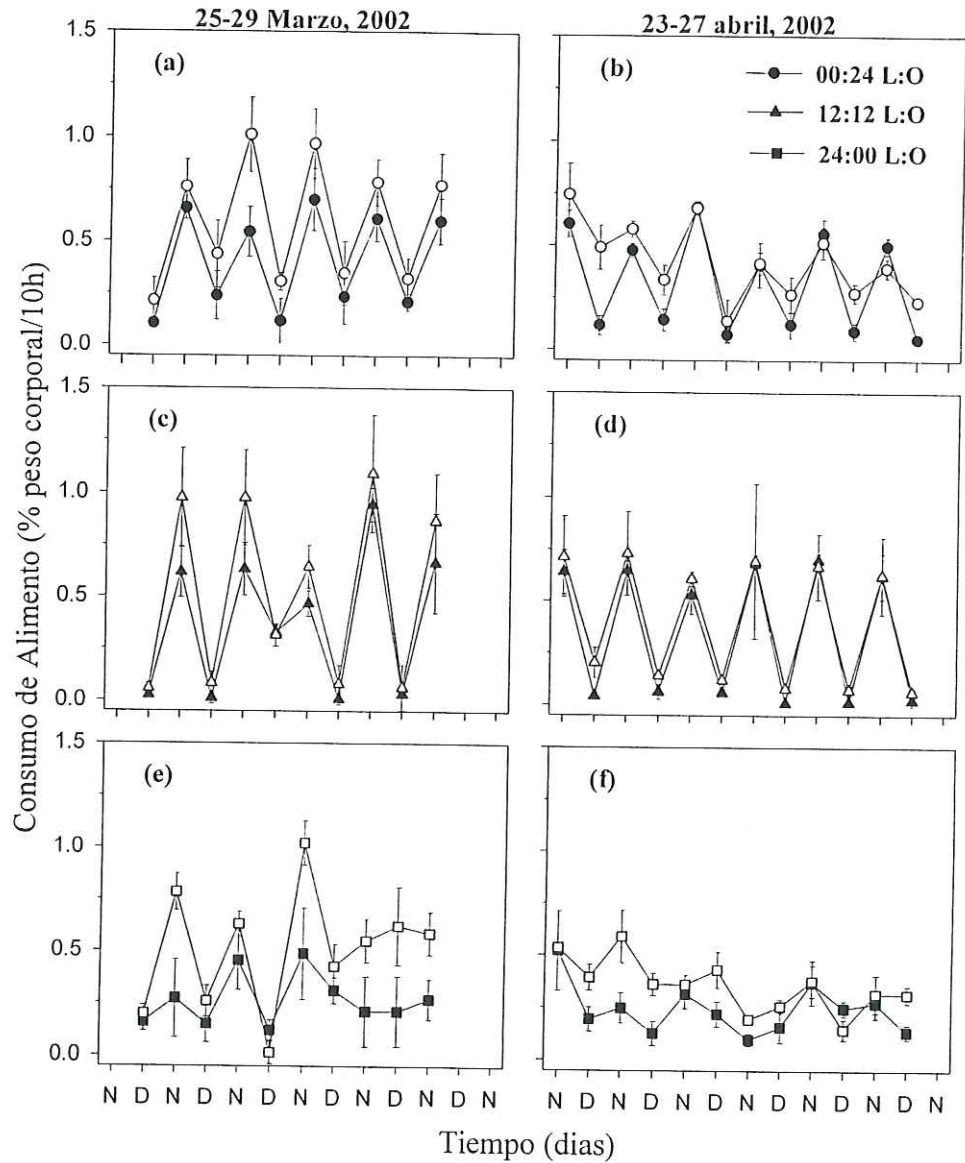


Fig. 4. Consumo de alimento en juveniles de abulón azul (*Haliotis fulgens*) durante el suministro diario en dos periodos de día y noche (D y N). "Los símbolos oscuros corresponden a los tratamientos de 20° C y los claros a los de 25° C". Los fotoperiodos 00:24 (a-b); 12:12 (c-d) y 24:00 (e-f). Las barras verticales indican el error estándar.

ANEXO 1

Resultados del ANOVA de dos vías para probar diferencias, entre los tratamientos de fotoperíodo y temperatura en juveniles de abulón azul *H. fulgens*, sometidos a 180 días de experimentación.

a) GGRs

Fuente variación	df	SS	MS	F	P
Fotoperíodo	2	3619.06	1809.53	13.414	<0.001
Temperatura	1	4451.84	4451.84	33.002	<0.001
Fotop x Temp	2	168.932	84.466	0.626	0.551
Residual	12	1618.77	134.897		
Total	17	9858.61	579.918		

Comparación Múltiple Prueba de Tukey

Fotoperíodo	Dif.	P	q	P<0.05
	Prom.			
00:24 vs 24:00	34.713	3	7.321	Si
00:24 vs 12:12	18.38	3	3.876	Si
12:12 vs 24:00	16.333	3	3.445	No

c) SGR

Fuente variación	df	SS	MS	F	P
Fotoperíodo	2	0.252	0.126	16.97	<0.001
Temperatura	1	0.442	0.442	59.47	<0.001
Fotop x Temp	2	0.0106	0.00528	0.71	0.511
Residual	12	0.0892	0.00743		
Total	17	0.794	0.0467		

b) GGRw

df	SS	MS	F	P
2	1538.84	769.419	18.985	<0.001
1	1720.4	1720.4	42.45	<0.001
2	142.13	71.065	1.754	0.215
12	486.329	40.527		
17	3887.7	228.688		

Comparación Múltiple Prueba de Tukey

Fotoperíodo	Dif.	p	q	P<0.05
	Prom.			
00:24 vs 24:00	22.05	3	8.484	Si
00:24 vs 12:12	15.503	3	5.965	Si
12:12 vs 24:00	6.548	3	2.519	No

Comparación Múltiple Prueba de Tukey

Fotoperíodo	Dif.	P	q	P<0.05
	Prom.			
00:24 vs 24:00	0.288	3	8.187	Si
00:24 vs 12:12	0.172	3	4.896	Si
12:12 vs 24:00	0.116	3	3.291	No

Resultados del ANOVA de dos vías para probar diferencias, entre los tratamientos de fotoperiodo y temperatura en juveniles de abulón azul *H. fulgens*, sometidos a 180 días de experimentación

d) Consumo Enero

Fuente de variación	df	SS	MS	F	P
Fotoperiodo	2	0.0476	0.0238	2.852	0.097
Temperatura	1	0.488	0.488	58.509	<0.001
Foto x Temp	2	0.00402	0.00201	0.241	0.79
Residual	12	0.1	0.00834		
Total	17	0.64	0.0376		

Comparación Múltiple Prueba de Tukey

Fotoperiodo	Dif. Prom.	p	q	P<0.05
00:24 vs 24:00	0.121	3	3.241	No
00:24 vs 12:12	0.0912	3	2.445	No
12:12 vs 24:00	0.0297	3	0.796	No

f) Energía (cal/g TS) Enero

Fuente de variación	df	SS	MS	F	P
Fotoperiodo	2	32585.1	16292.5	1.277	0.317
Temperatura	1	7680.24	7680.24	0.602	0.454
Fotop x Temp	2	1063.08	531.538	0.0417	0.959
Residual	11	140315	12755.9		
Total	16	183671	11479.5		

e) Consumo Abril

df	SS	MS	F	P
2	0.171	0.0857	6.871	0.01
1	0.683	0.683	54.75	<0.001
2	0.0281	0.0141	1.128	0.356
12	0.15	0.0125		
17	1.032	0.0607		

Comparación Múltiple Prueba de Tukey

Fotoperiodo	Dif. Prom.	p	q	P<0.05
00:24 vs 24:00	0.238	3	5.227	Si
00:24 vs 12:12	0.103	3	2.27	No
12:12 vs 24:00	0.135	3	2.957	No

g) Energía (cal/g TS) Mayo

df	SS	MS	F	P
2	36279.9	18139.9	2.397	0.137
1	7152.74	7152.74	0.945	0.352
2	33602.7	16801.3	2.22	0.155
11	83234.2	7566.74		
16	160273	10017.1		

h) Proteína (% PTS) Enero

Fuente de variación	df	SS	MS	F	P
Fotoperíodo	2	30.003	15.001	3.164	0.079
Temperatura	1	2.214	2.214	0.467	0.507
Fotop x Temp	2	0.632	0.316	0.0667	0.936
Residual	12	56.904	4.742		
Total	17	89.753	5.28		

i) Proteína (% PTS) Mayo

df	SS	MS	F	P
2	1.904	0.952	0.0237	0.977
1	47.916	47.916	1.192	0.296
2	63.058	31.529	0.784	0.478
12	482.384	40.199		
17	595.262	35.015		

j) Cenizas Totales (% PTS) Enero

Fuente de variación	df	SS	MS	F	P
Fotoperíodo	2	5.756	2.878	0.966	0.408
Temperatura	1	16.708	16.708	1.205	0.294
Fotop x Temp	2	57.334	28.667	1.748	0.216
Residual	12	89.025	7.419		
Total	17	169.823	9.990		

k) Cenizas Totales (% PTS) Mayo

df	SS	MS	F	P
2	3.182	1.591	0.0838	0.92
1	101.702	101.702	5.358	0.039
2	15.973	7.986	0.421	0.666
12	227.793	18.983		
17	348.65	20.509		

Comparación Múltiple Prueba de Tukey

Fotoperíodo	Dif. Prom.	p	q	P<0.05
00:24 vs 24:00	1.005	3	0.565	No
00:24 vs 12:12	0.307	3	0.173	No
12:12 vs 24:00	0.698	3	0.392	No

l) Concha (% PS) –Enero

Fuente de variación	df	SS	MS	F	P
Fotoperiodo	2	39.694	19.847	1.539	0.254
Temperatura	1	84.973	84.973	6.589	0.025
Fotop x Temp	2	4.287	2.144	0.166	0.849
Residual	12	154.744	12.895		
Total	17	283.698	16.688		

Comparación Múltiple Prueba de Tukey

Fotoperiodo	Dif. Prom.	p	q	P<0.05
24:00 vs.00:24	3.366	3	2.296	No
24:00 vs.12:12	0.49	3	0.334	No
12:12 vs 00:24	2.877	3	1.962	No

m) Concha (% PS) Mayo

df	SS	MS	F	P
2	30.725	15.363	0.867	0.445
1	245.902	245.902	13.884	0.003
2	30.841	15.421	0.871	0.444
12	212.528	17.711		
17	519.997	30.588		

Comparación Múltiple Prueba de Tukey

Fotoperiodo	Dif. Prom.	p	q	P<0.05
24:00 vs.00:24	3.12	3	1.816	No
24:00 vs.12:12	2.175	3	1.266	No
12:12 vs 00:24	0.945	3	0.55	No

n) Tejido (% Humedad) Enero

Fuente de variación	df	SS	MS	F	P
Fotoperiodo	2	20.787	10.394	4.539	0.034
Temperatura	1	7.691	7.691	3.359	0.092
Fotop x Temp	2	7.844	3.922	1.713	0.222
Residual	12	27.477	2.29		
Total	17	63.799	3.753		

o) Tejido (% Humedad) Mayo

df	SS	MS	F	P
2	12.922	6.461	1.195	0.336
1	74.27	74.27	13.738	0.003
2	11.256	5.628	1.041	0.383
12	64.875	5.406		
17	163.322	9.607		

Fotoperíodo	Dif. Prom.	p	q	P<0.05
24:00 vs.00:24	2.553	3	4.132	Si
24:00 vs.12:12	0.72	3	1.165	No
12:12 vs 00:24	1.833	3	2.967	No

p) FCR Enero

Fuente de variación	df	SS	MS	F	P
Fotoperíodo	2	13.667	6.834	1.756	0.214
Temperatura	1	53.035	53.035	13.625	0.003
Fotop x Temp	2	11.12	5.56	1.428	0.278
Residual	12	46.708	3.892		
Total	17	124.53	7.325		

Comparación Múltiple Prueba de Tukey

Fotoperíodo	Dif. Prom.	p	q	P<0.05
24:00 vs.00:24	2.049	3	2.544	No
24:00 vs.12:12	1.543	3	1.915	No
12:12 vs 00:24	0.506	3	0.628	No

Fotoperíodo	Dif. Prom.	p	q	P<0.05
24:00 vs.00:24	1.861	3	1.961	No
24:00 vs.12:12	1.726	3	1.818	No
12:12 vs 00:24	0.135	3	0.142	No

q) FCR Abril

df	SS	MS	F	P
2	3.061	1.53	0.463	0.64
1	86.505	86.505	26.192	<0.001
2	0.365	0.182	0.0552	0.947
12	39.633	3.303		
17	129.563	7.621		

Comparación Múltiple Prueba de Tukey

Fotoperíodo	Dif. Prom.	p	q	P<0.05
24:00 vs.00:24	0.983	3	1.325	No
24:00 vs.12:12	0.292	3	0.393	No
12:12 vs 00:24	0.692	3	0.932	No

r) PER Enero

Fuente de variación	df	SS	MS	F	P
Fotoperíodo	2	0.238	0.119	2.05	0.171
Temperatura	1	1.909	1.909	32.851	<0.001
Fotop x Temp	2	0.08	0.04	0.688	0.521
Residual	12	0.697	0.0581		
	17	2.925	0.172		

Comparación Múltiple Prueba de Tukey

Fotoperíodo	Dif.	p	q	P<0.05
	Prom.			
00:24 vs 24:00				
00:24 vs 12:12				
12:12 vs.24:00				

s) PER Abril

df	SS	MS	F	P
2	1.534	0.767	11.236	0.002
1	9.356	9.356	137.08	<0.001
2	0.869	0.435	6.37	0.013
12	0.819	0.0683		
17	12.578	0.74		

Comparación Múltiple Prueba de Tukey

Fotoperíodo	Dif.	p	q	P<0.05
	Prom.			
00:24 vs 24:00	0.689	3	6.465	Si
00:24 vs 12:12	0.509	3	4.769	Si
12:12 vs.24:00	0.181	3	1.696	No

t) %DA materia seca

Fuente de variación	df	SS	MS	F	P
Fotoperíodo	2	2.681	1.34	0.319	0.733
Temperatura	1	209.558	209.558	49.798	<0.001
Fotop x Temp	2	9.915	4.957	1.178	0.341
Residual	12	50.498	4.208		
Total	17	272.651	16.038		

u) %AD Proteína

df	SS	MS	F	P
1	64.743	32.372	6.689	0.011
2	190.817	190.817	39.426	<0.001
2	33.1	16.55	3.42	0.067
12	58.079	4.84		
17	346.739	20.396		

Fotoperíodo	Dif. Prom.	p	q	P<0.05
12:12 vs 24:00	0.936	3	1.117	No
12:12 vs 00:24	0.352	3	0.421	No
00:24 vs 24:00	0.584	3	0.697	No

Fotoperíodo	Dif. Prom.	p	q	P<0.05
12:12 vs 24:00	4.631	3	5.156	Si
12:12 vs 00:24	1.993	3	2.219	No
00:24 vs 24:00	2.638	3	2.937	No

v) %DA Energía

Fuente de variación	df	SS	MS	F	P
Fotoperíodo	1	50.759	50.759	13.338	0.006
Temperatura	2	45.511	22.756	5.979	0.026
Residual	8	30.445	3.806		
Total	11	98.417	8.947		

Comparación Múltiple Prueba de Tukey

Fotoperíodo	Dif. Prom.	p	q	P<0.05
12:12 vs 24:00	5.372	3	4.665	Si
12:12 vs 00:24	0.907	3	0.975	No
00:24 vs 24:00	4.465	3	4.01	No

ANEXO 2

Resultados del ANOVA de una vía en función de la temperatura de (20C y 25 C.) para la Eficiencia de Retención de Proteínas (PER)

r) PER 20°C Abril

	DF	SS	MS	F	P
Tratamiento	2	2.339	1.17	16.162	0.004
Residual	6	0.434	0.0724		
Total					

s) PER 25°C Abril

	DF	SS	MS	F	P
	2	0.0638	0.0319	0.497	0.631
	6	0.385	0.0641		

Comparación Múltiple Prueba de Tukey

Fotoperíodo	Dif. Prom.	p	q	P<0.05
00:24 vs 24:00	1.177	3	7.576	Si
00:24 vs 12:12	0.951	3	6.121	Si
12:12 vs 24:00	0.226	3	1.455	No