

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**

**FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS**

**“EFECTO DEL ÁCIDO GAMMA-AMINOBUTÍRICO SOBRE EL  
ASENTAMIENTO, SOBREVIVENCIA Y CRECIMIENTO POSTLARVAL DEL  
ABULÓN AZUL (*Haliotis fulgens*) CULTIVADO CON EL MÉTODO  
JAPONÉS”**

**TESIS  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
OCEANÓLOGO  
PRESENTA:  
RICARDO CASTRO GÁLVEZ**

**ENSENADA, B. C., MAYO DE 1999.**

## RESUMEN.


Se comparó el efecto del uso de diatomeas bentónicas y ácido gamma-aminobutírico (GABA) como inductores a la metamorfosis de larvas de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en la sobrevivencia y crecimiento de postlarvas y juveniles. El experimento se llevó a cabo en un laboratorio productor de semilla que utiliza el sistema japonés de placas, ubicado en Puerto Nuevo, B.C.S., México. Se utilizaron tanques de cultivo ubicados en dos áreas del laboratorio (interior y exterior) con intensidades de luz diferentes. Se presentaron mayores sobrevivencias a los 51, 101 y 127 días en los tanques tratados con GABA (18.03, 15.28 y 11.98%, respectivamente) que en los tanques con diatomeas bentónicas (2.06, 2.23 y 2.41%, respectivamente) en las dos áreas del laboratorio. Sin embargo el crecimiento fue menor en los tanques fijados con GABA (4.13 mm de longitud a los 127 días) que en el tratamiento de diatomeas (6.28 mm de longitud en el mismo período). El crecimiento menor en las postlarvas fijadas con GABA se puede atribuir a las densidades de cultivo más altas logradas con este inductor. El crecimiento del día 51 al 101 fue mayor en las postlarvas asentadas con diatomeas bentónicas (65.05  $\mu\text{m}/\text{día}$ ) que con GABA (36.2  $\mu\text{m}/\text{día}$ ), mientras que del día 101 al 127 no difirió significativamente entre los dos tratamientos (23.17 y 30.12  $\mu\text{m}/\text{día}$  para diatomeas y GABA respectivamente), período en el que hubo menos diferencias de densidades entre inductores. Se presentaron diferencias en la sobrevivencia y el crecimiento entre áreas del laboratorio, interactuando con el inductor, y se atribuyen a diferencias en la intensidad de luz. Los resultados obtenidos sugieren que se puede utilizar el GABA como inductor a la fijación y obtener buenos rendimientos en laboratorios de producción de semilla a nivel masivo con el sistema japonés de placas.

**“EFECTO DEL ÁCIDO GAMMA-AMINOBUTÍRICO SOBRE EL  
ASENTAMIENTO, SOBREVIVENCIA Y CRECIMIENTO POSTLARVAL DEL  
ABULÓN AZUL (*Haliotis fulgens*) CULTIVADO CON EL MÉTODO JAPONÉS”**

**T E S I S  
QUE PRESENTA:  
RICARDO CASTRO GÁLVEZ**

**Aprobada por:**

  
\_\_\_\_\_  
**M.C. Ricardo Searcy Bernal**  
**Presidente del Jurado**

  
\_\_\_\_\_  
**M.C. Alfredo Salas Garza**  
**Sinodal Propietario**

  
\_\_\_\_\_  
**Dra. Roxana Rico Mora**  
**Sinodal Propietario**

## DEDICATORIA

A MIS PADRES

*Koky Gálvez de Castro  
Ricardo Castro Bastida*

A MI ESPOSA

*Cecilia*

## AGRADECIMIENTOS

Al M. en C. Ricardo Searcy Bernal por su gran ayuda y la dirección de este trabajo de Tesis.

A mis sinodales Dra. Roxana Rico Mora y M. en C. Alfredo Salas Garza por sus valiosas contribuciones al revisar y corregir este trabajo. En especial quiero agradecer al M. en C. Alfredo Salas Garza por haberme facilitado el uso de su equipo de cómputo para la realización de este trabajo.

A la Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera Emancipación, S.C.L., por su apoyo en la realización de este trabajo de Tesis en las instalaciones de su laboratorio en Puerto Nuevo, B.C.S.

## CONTENIDO.

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Generalidades.....	1
1.2 Antecedentes.....	5
1.3 Objetivo.....	12
2. MATERIALES Y MÉTODO.....	13
2.1 Descripción y operación del laboratorio.....	13
2.2 Descripción del experimento.....	17
2.3 Condiciones generales de cultivo.....	21
2.4 Evaluaciones de sobrevivencia y crecimiento.....	21
2.5 Análisis estadístico.....	23
3. RESULTADOS.....	25
3.1 Asentamiento y metamorfosis.....	25
3.2 Sobrevivencia.....	28
3.3 Crecimiento.....	32
4. DISCUSIÓN.....	41
4.1 Sobrevivencia.....	41
4.2 Crecimiento.....	43
4.3 Consideraciones finales.....	51
5. CONCLUSIONES.....	53
6. LITERATURA CITADA.....	55

## Lista de tablas.

- Tabla I.** Número de larvas competentes de *H. fulgens* introducidas por tanque con diferentes inductores a la metamorfosis (diatomeas bentónicas y GABA) en dos áreas del laboratorio (I=interior, E=exterior)..... 20
- Tabla II.** Fechas en que se realizaron el desove, asentamiento de larvas, desdoble y evaluaciones de postlarvas de *H. fulgens* en tanques con diferentes inductores a la metamorfosis (diatomeas bentónicas y GABA). Días=días después del asentamiento..... 22
- Tabla III.** Supervivencia (%) de postlarvas de *H. fulgens* en diferentes tiempos después del asentamiento con diferentes inductores (diatomeas bentónicas y GABA) en tanques de dos áreas del laboratorio (I=interior, E=exterior). Se incluyen resultados del análisis de varianza de dos vías (F=valor del estadístico, P=probabilidad asociada), de los datos transformados con el arcoseno de la raíz cuadrada..... 29
- Tabla IV.** Longitud (mm) de postlarvas de *H. fulgens* en diferentes tiempos después del asentamiento con diferentes inductores (diatomeas bentónicas y GABA) en tanques de dos áreas del laboratorio (I=interior, E=exterior). Se incluyen resultados del análisis de varianza de dos vías (F=valor estadístico, P=probabilidad asociada)..... 34

<b>Tabla V.</b> Crecimiento ( $\mu\text{m}/\text{día}$ ) de postlarvas de <i>H. fulgens</i> en diferentes períodos después del asentamiento con diferentes inductores (diatomeas bentónicas y GABA) en tanques de dos áreas del laboratorio (I=interior, E=exterior). Se incluyen resultados del análisis de varianza de dos vías (F=valor del estadístico, P=probabilidad asociada).....	36
<b>Tabla VI.</b> Supervivencia de postlarvas de abulón reportadas por diferentes autores, utilizando GABA como inductor a la metamorfosis.....	44
<b>Tabla VII.</b> Crecimiento de postlarvas y juveniles de <i>H. fulgens</i> en diferentes períodos y temperaturas, reportado por diferentes autores. El asentamiento fue utilizando diatomeas bentónicas, excepto donde se especifique otro método.....	50

## Lista de figuras.

- Figura 1.** Localización del laboratorio productor de semilla de abulón de la S.C.P.P. Emancipación, S.C.L., en donde se realizó el experimento (flecha)..... 14
- Figura 2.** Distribución de los tanques de asentamiento y cultivo de postlarvas y juveniles en las diferentes áreas del laboratorio Puerto Nuevo..... 16
- Figura 3.** Temperatura (°C) durante el período experimental en los tanques de asentamiento y cultivo de postlarvas y juveniles de *H. fulgens*. Los puntos graficados son promedios de cinco días en base a registros diarios tomados a la misma hora (9:00 A.M.)..... 26
- Figura 4.** Intensidad de luz promedio mensual (pies candelas) en cada área del laboratorio (interior y exterior) y horas de luz del día durante el período experimental. Las mediciones se realizaron diariamente a la misma hora (12:00 horas)..... 27
- Figura 5.** Supervivencia de postlarvas de *H. fulgens* asentadas con diatomeas bentónicas (D) y con GABA (G) en tanques interiores (I) y exteriores (E). Los tanques en los que se asentaron con GABA fueron desdoblados 62 días después del asentamiento (flecha). Las barras verticales son errores estándar..... 30
- Figura 6.** Supervivencia de postlarvas de *H. fulgens* asentadas con diatomeas bentónicas (D) y GABA (G) en tanques interiores (I) y exteriores (E). Las barras verticales son errores estándar..... 31

<b>Figura 7.</b> Crecimiento de postlarvas de <i>H. fulgens</i> asentadas con diatomeas bentónicas (D) y con GABA (G) en tanques interiores (I) y exteriores (E). Los tanques en los que se asentaron con GABA fueron desdoblados 62 días después del asentamiento (flecha). Las barras verticales son errores estándar.....	35
<b>Figura 8.</b> Longitud y densidad de postlarvas de <i>H. fulgens</i> 51 días después del asentamiento con diatomeas bentónicas (D) y con GABA (G) en tanques interiores (I) y exteriores (E).....	38
<b>Figura 9.</b> Relación entre tasa de crecimiento y densidad de cultivo de <i>H. fulgens</i> del día 51 al 101 después del asentamiento. Postlarvas asentadas con dos inductores (D=diatomeas bentónicas, G=GABA) en dos áreas del laboratorio (I=interior, E=exterior).....	39
<b>Figura 10.</b> Relación entre tasa de crecimiento y densidad de cultivo de postlarvas de <i>H. fulgens</i> del día 101 al 127 después del asentamiento. Postlarvas asentadas con dos inductores (D=diatomeas bentónicas, G=GABA) en dos áreas del laboratorio (I=interior, E=exterior).....	40

# 1. INTRODUCCIÓN.

## 1.1 Generalidades.

El abulón es un gasterópodo herbívoro con todas sus especies pertenecientes al género *Haliotis*. En el mundo existen alrededor de 100 especies de abulón, de las cuales aproximadamente 25 son capturadas a nivel comercial. Las especies sujetas a explotación están distribuidas principalmente en zonas templadas, habitando sustratos rocosos donde abundan distintas especies de algas de las cuales se alimentan. Las zonas del mundo en donde se distribuyen las principales especies de abulón que sostienen pesquerías comerciales son, en el Hemisferio Norte, las costas del Océano Pacífico en América del Norte y en el Este de Asia; y en el Hemisferio Sur, las costas del Sur de Australia, Nueva Zelanda y el extremo Sur de Africa (Hahn, 1989; Uki, 1989).

México se encuentra dentro de los países que tienen pesquerías comerciales de abulón en las costas del Pacífico de Norteamérica, localizándose exclusivamente en la costa occidental de la Península de Baja California (Uki, 1989; Guzmán del Prío, 1992; Ramírez-Granados, 1992; Maeda-Martínez, 1994). Para esta región el abulón es un recurso de gran importancia económica, debido a que alcanza un alto valor económico provocado por una alta demanda en países de oriente como Japón y China (Guzmán del Prío, 1992; Ramírez-Granados, 1992; Maeda-Martínez, 1994).

Debido al alto valor económico que alcanza el abulón y a que es relativamente fácil capturarlo, se ha incurrido en sobrepesca de este recurso en los diferentes países que cuentan con él, registrándose disminuciones considerables en la producción. Como una alternativa para la recuperación de la producción de este molusco se han realizado esfuerzos para cultivarlo, para lo cual se han desarrollado técnicas que permitan producir juveniles de 10-30 mm de longitud de la concha (semilla), los cuales son liberados con el fin de repoblar las áreas en las que se ha registrado abatimiento de las poblaciones de este molusco. Además se ha visto estimulada la producción de abulón de cultivo para el consumo directo en presentaciones como "*medallón*" (~75 mm), debido al incremento del precio de este producto provocado por la disminución de la oferta al declinar las pesquerías (Hooker y Morse, 1985; Hahn, 1989; Leighton, 1989; Uki, 1989).

Los esfuerzos por cultivar el abulón en México fueron estimulados inicialmente para recuperar las capturas que sufrieron drásticas caídas, mediante la producción de semilla en laboratorio con fines de repoblamiento y recientemente para producción de abulón de cultivo en sistemas de engorda (Salas-Garza y Searcy-Bernal, 1992; Maeda-Martínez, 1994; Pérez-Muñoz, 1995).

El proceso de producción de semilla de abulón comprende varias fases:

- 1) maduración de reproductores;
- 2) inducción a desove y fertilización;
- 3)

eclosión y cultivo de larvas; 4) asentamiento y metamorfosis; 5) cultivo de postlarvas y juveniles.

La maduración de reproductores se lleva a cabo en sistemas que proporcionen condiciones de buena calidad del agua, suficiente alimentación y control de la temperatura, con variaciones dependiendo de la especie (Uki y Kikuchi, 1984; Hooker y Morse, 1985; Uki, 1989; Hahn, 1989).

Para la inducción a desove se han desarrollado varias técnicas:

- 1) "Shock" térmico. El cual consiste en elevar la temperatura del agua de los contenedores donde se colocan los reproductores (aproximadamente 4°C) y volver a bajarla a la temperatura inicial (Hahn, 1989).
- 2) Desecación. Los reproductores son sacados del agua y expuestos al aire a temperatura ambiente por 1-2 horas y posteriormente se vuelven a introducir al agua (Hahn, 1989).
- 3) Agua irradiada con luz ultravioleta. Los reproductores son colocados en contenedores que reciben suministro de agua fuertemente irradiada con luz ultravioleta (Kikuchi y Uki, 1974; Uki, 1989).
- 4) Peróxido de hidrógeno. Se agrega peróxido de hidrógeno a los contenedores con agua de mar para lograr una concentración de 5 mM y se colocan allí los reproductores (Morse, 1984).

El cultivo de larvas se lleva a cabo en sistemas estáticos o de flujo continuo utilizando agua de mar filtrada y esterilizada con luz ultravioleta y no se les proporciona alimento. En condiciones adecuadas normalmente se logran sobrevivencias de aproximadamente 90%. (Ebert y Houk, 1984; Hooker y Morse, 1985; Hahn, 1989; Uki, 1989; Tong y Moss, 1992).

El asentamiento y metamorfosis se realiza cuando las larvas se han desarrollado y son competentes para el asentamiento, lo cual es indicado por la presencia de cuatro ramificaciones de los tentáculos cefálicos (Seki y Kan-no, 1977; Ebert y Houk, 1984) o de 10-12 hileras de dientes en la rádula (Moss y Tong, 1992; Tong y Moss, 1992). En esta etapa el abulón pasa de la vida nadadora libre a la vida bentónica y después de la metamorfosis empieza a alimentarse de bacterias y pequeñas diatomeas (Morse, 1984; Hahn, 1989; Uki, 1989).

El cultivo de postlarvas y juveniles requiere de un sustrato que les proporcione espacio físico a éstos, así como para el asentamiento y crecimiento de diatomeas que les sirven como alimento. El estadio de postlarva empieza con la metamorfosis y termina al aparecer el primer poro respiratorio, cuando alcanzan aproximadamente 2 mm de longitud de concha (~40 días después del asentamiento) y son considerados juveniles (Seki y Kan-no, 1977; Searcy-Bernal *et al.*, 1988).

## 1.2 Antecedentes.

Las etapas críticas para la producción de semilla de abulón, son el período del asentamiento y metamorfosis así como los primeros tres meses de vida postmetamórfica, fases donde se presentan las mortalidades mayores, usualmente de alrededor del 95% hasta, en algunos casos, mayores al 99% (Hooker y Morse, 1985; Leighton 1989; Hahn, 1989; Searcy-Bernal *et al.*, 1992a, b).

En base a investigaciones recientes se ha descubierto que las larvas de abulón requieren un estímulo bioquímico externo que las induzca al asentamiento y metamorfosis sin el cual las larvas permanecen nadando hasta agotar sus reservas y mueren. Las mortalidades tan altas presentadas en la fase del asentamiento y la metamorfosis se han atribuido a la falta de este estímulo externo en sistemas de cultivo, (Morse *et al.*, 1979a, b; Hooker y Morse, 1985; Hahn, 1989).

El asentamiento y la metamorfosis pueden ser estimulados externamente por inductores, los cuales en el medio natural se encuentran en algas rojas coralinas costrosas que crecen en los sustratos rocosos donde habita el abulón (Morse *et al.*, 1979a, b, 1980b; Morse, 1984; Tong *et al.*, 1987; Roberts y Nicholson, 1997); en el mucus de congéneres juveniles y adultos (Seki y Kanno, 1981; Hahn, 1989; Uki, 1989), y en diatomeas bentónicas y bacterias

asociadas al sustrato (Morse *et al.*, 1979b; Searcy-Bernal *et al.*, 1992b; Tong y Moss, 1992).

El uso de diatomeas bentónicas y bacterias asociadas en los sustratos de asentamiento es conocido como la tecnología convencional de cultivo, la cual presenta resultados pobres y variables (Ebert y Houk, 1984; Hooker y Morse, 1985; Leighton, 1989; Tong y Moss, 1992; Searcy-Bernal, 1994)

El uso del mucus como inductor al asentamiento y metamorfosis es utilizado masivamente en laboratorios de producción de Japón, en donde han perfeccionado la técnica para la inducción al asentamiento y metamorfosis y el posterior desarrollo de las postlarvas y juveniles de *H. discus hannai*. La técnica consiste en preparar los sustratos colectores de larvas (placas de plástico) con películas de diatomeas y mucus secretado por abulones juveniles al pastorear dichas diatomeas, promoviendo así una sucesión de especies en la comunidad microalgal. Los sustratos preparados de esta forma proporcionan el inductor al asentamiento y metamorfosis de las larvas (mucus) y alimento adecuado para las postlarvas recién metamorfizadas (Seki y Kan-no, 1981; Suzuki *et al.*, 1987; Takahashi y Koganezawa, 1988; Hahn, 1989; Uki, 1989).

En base a observaciones de campo se ha determinado que juveniles de 1 a 20 mm de longitud de concha, de varias especies de abulón, se distribuyen en criaderos naturales consistentes de rocas con algas rojas coralinas costrosas a densidades mayores que las de áreas cercanas similares pero sin

esas algas. Estas observaciones llevaron a Morse *et al.* (1979a, b) a realizar experimentos de laboratorio para probar el efecto de esas algas como inductores al asentamiento y metamorfosis de larvas de *H. rufescens*. El resultado obtenido fue que las larvas competentes se asentaron selectivamente sobre esas algas costrosas en comparación con superficies cubiertas con diatomeas, bacterias, otras algas, o en superficies inorgánicas. Las algas rojas costrosas que presentaron efecto inductor pertenecen a los géneros *Lithothamnium*, *Lithophyllum* e *Hildenbrandia*, (esta última no es coralina). Las larvas recién asentadas en estas algas se metamorfizaron y empezaron a alimentarse rápidamente.

El hallazgo del efecto de estas algas como inductor al asentamiento y metamorfosis ha despertado el interés de realizar experimentos de liberación de larvas competentes de abulón con fines de repoblamiento buscando áreas en las que abunden este tipo de algas (Tong *et al.*, 1987; Preece *et al.*, 1997).

Los extractos de esas algas también presentaron un efecto inductor a la metamorfosis y se encontró que contienen compuestos que tienen enlazado un grupo estructuralmente similar al ácido gamma aminobutírico (GABA). Este aminoácido es un neurotransmisor en animales superiores y al utilizarlo en forma pura disuelto en agua de mar induce a la metamorfosis en casi el 100% de las larvas competentes (Morse *et al.*, 1979a, b; Morse *et al.*, 1980a).

La inducción al asentamiento con GABA, a diferencia del uso de algas rojas costrosas, es independiente del sustrato, pues las larvas son inducidas a asentarse sobre cualquier tipo de sustrato con este aminoácido y casi exclusivamente en el fondo, debido a que es inhibido el movimiento ciliar con el que las larvas nadan (Morse *et al.*, 1980a; Leighton, 1989).

La concentración del GABA es muy importante al utilizarlo como inductor a la metamorfosis, pues a concentraciones menores de  $10^{-6}$  M su efecto inductor es muy bajo y a concentraciones mayores se asientan rápidamente pero se observa una inhibición de la metamorfosis y posteriormente mueren (Morse *et al.*, 1980a).

Los resultados obtenidos con el uso del GABA fueron excelentes a nivel experimental a pequeña escala, sin embargo al tratar de aplicarlo a nivel masivo, los resultados no fueron satisfactorios ya que los porcentajes de mortalidad continuaron siendo tan elevados como con la tecnología convencional (Leighton, 1989; Searcy-Bernal *et al.*, 1992a; Slattery, 1992).

Los resultados pobres obtenidos a escala masiva fueron atribuidos a las condiciones de cultivo, ya que el efecto del GABA es disminuído en presencia de bacterias que pueden ser controladas con el uso de antibióticos (Morse *et al.*, 1979b; Morse, 1990). Entre los posibles efectos de las bacterias se consideran la producción microbiana de compuestos que inducen o inhiben el asentamiento o la metamorfosis y el metabolismo microbiano del GABA que

baja su concentración al convertirlo en aminoácidos que no son inductores, reduciendo así su efecto (Morse, 1990; Kaspar y Mountfort, 1995).

En algunos experimentos se ha reportado el éxito del GABA como inductor a la metamorfosis aún en presencia de diatomeas y bacterias sin antibióticos y se atribuye a condiciones de cultivo con poca carga bacteriana, buena calidad del agua y bajas temperaturas, así como a variaciones en la respuesta a este inductor en diferentes especies y al tipo de película de diatomeas y bacterias presentes en los sustratos de asentamiento (Searcy-Bernal *et al.*, 1992b; Salas-Garza *et al.*, 1994; Roberts y Nicholson, 1997).

Debido a que las condiciones de buena calidad de agua y baja carga bacteriana en películas de diatomeas son variables y poco común en laboratorios comerciales y el uso de antibióticos es evitado a nivel masivo por su alto costo y el riesgo de crear bacterias mutantes que resistan los antibióticos (Morse *et al.*, 1979b), se han buscado otras alternativas para poder utilizar el GABA a nivel masivo sin el uso de antibióticos. Una alternativa viable es el retraso en la primera alimentación hasta después de la metamorfosis, pues se considera que las bacterias que interfieren en el efecto del GABA y en la sobrevivencia inicial de las postlarvas coexisten con las diatomeas proporcionadas como alimento y éste no es necesario hasta después de que se ha completado la metamorfosis (Flores-Aguilar, 1989; Searcy-Bernal *et al.*, 1992a).

Otra alternativa viable al utilizar GABA a nivel masivo es hacerlo a concentraciones mayores de  $10^{-6}$  M para evitar que al ser metabolizado por bacterias heterótrofas (Kaspar y Mountfort, 1995) baje su concentración a niveles que disminuya o nulifique su efecto inductor a la metamorfosis. Sin embargo se debe utilizar una concentración que no sea tan alta que alcance niveles tóxicos. Considerando esta alternativa, Searcy-Bernal y Anguiano-Beltrán (1998) realizaron experimentos para detectar con mayor precisión la concentración óptima de GABA para la inducción a metamorfosis de larvas de *H. rufescens* y su posterior sobrevivencia y crecimiento. De los resultados obtenidos por esos autores, se ha utilizado con éxito el GABA en laboratorios mexicanos a concentraciones de 1.5 - 2.0  $\mu$ M.

En la actualidad el GABA es utilizado con éxito a nivel masivo en varios laboratorios de producción en California (E.U.) y México, los cuales utilizan sistemas de cultivo donde los sustratos de asentamiento y cultivo de postlarvas y juveniles son las paredes y el fondo de tanques redondos (Searcy-Bernal, 1994). Salas-Garza *et al.* (1994) realizaron experimentos para comparar la efectividad del GABA respecto a otros inductores en el sistema japonés de placas, obteniendo resultados que sugieren su utilización exitosa en este sistema de cultivo. Sin embargo el uso del GABA como inductor a la metamorfosis a nivel masivo en el sistema japonés de placas no está reportado y es el sistema utilizado por los principales laboratorios de producción de semilla de abulón azul (*H. fulgens*) de las cooperativas pesqueras en México.

El crecimiento de las postlarvas y juveniles de abulón son afectados por diferentes factores. La temperatura influye en la sobrevivencia y el crecimiento del abulón en sus diferentes etapas de desarrollo. Las postlarvas de *H. fulgens* presentan crecimiento más rápido y sobrevivencia más alta a temperaturas de 20 – 23°C, disminuyendo fuera de ese rango. Sin embargo los juveniles de aproximadamente tres meses pueden tolerar un rango más amplio de temperatura (Leighton, 1974).

La cantidad y calidad de alimento, que en las etapas de postlarva y recién juvenil está compuesto principalmente de diatomeas bentónicas, también influyen en el crecimiento del abulón. El tipo de diatomeas que proporciona buen crecimiento para el abulón, está relacionado con la digestibilidad de éstas, pues las postlarvas requieren la asimilación de su contenido celular que puede depender de la resistencia de la pared celular de las diatomeas a la ruptura por parte de las postlarvas (Roberts y Kawamura, 1997; Kawamura *et al.*, en prensa).

La intensidad de luz es otro factor que influye en el crecimiento de las postlarvas de abulón. McBride (1990) obtuvo mayor crecimiento a intensidades mayores de luz, que se pueden atribuir a mayor tasa de fotosíntesis y producción de clorofila *a*.

La densidad de cultivo de postlarvas y juveniles puede afectar el crecimiento y la sobrevivencia debido a que a altas densidades, el pastoreo

puede superar la producción de diatomeas bentónicas, disminuyendo y haciendo insuficiente el alimento disponible (Roberts y Kawamura, 1997).

### **1.3 Objetivo.**

El objetivo del presente trabajo es:

Comparar el efecto del uso de diatomeas bentónicas y GABA en el asentamiento de larvas de abulón azul (*Haliotis fulgens*), y en su posterior sobrevivencia y crecimiento, en un laboratorio de producción masiva de semilla con el método japonés de placas.

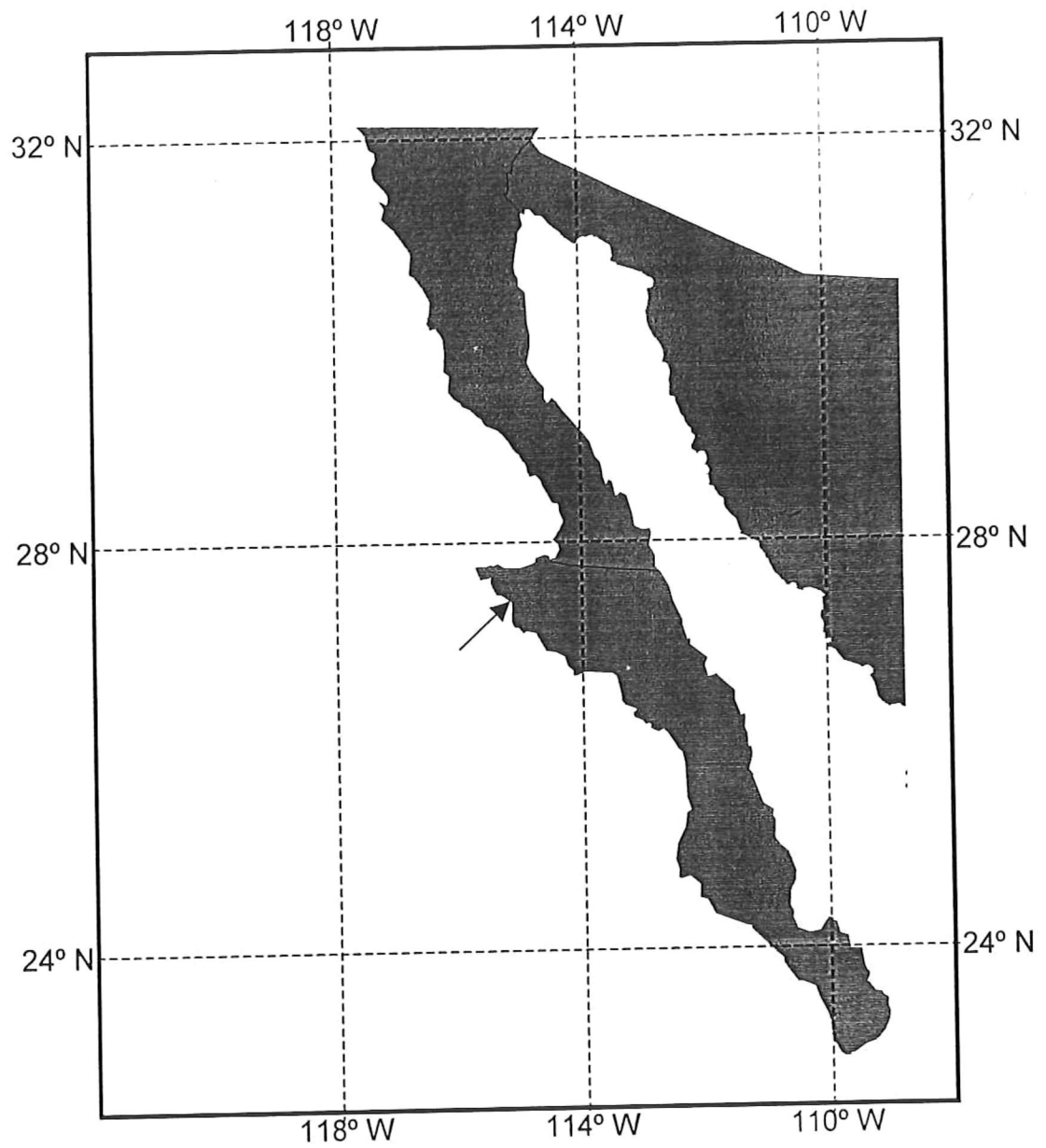
## 2. MATERIALES Y MÉTODOS.

### 2.1 Descripción y operación del laboratorio.

El experimento se llevó a cabo en el laboratorio de producción de semilla de abulón de la Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera Emancipación, S.C.L. en Puerto Nuevo, B.C.S. (figura 1). Este laboratorio produce anualmente alrededor de 100,000 juveniles de abulón azul (*Haliotis fulgens*) mayores de 10 mm. Cuenta con infraestructura para inducción a desoves, cultivo de larvas, asentamiento y cultivo de postlarvas y juveniles, un área para acondicionamiento y mantenimiento de reproductores, así como un área pequeña de producción de diatomeas.

La inducción a los desoves se lleva a cabo en cubetas de plástico de 20 litros, utilizando como inductores una combinación de agua irradiada con luz ultravioleta (Kikuchi y Uki, 1974), desecación y shock térmico (Hahn, 1989).

El cultivo de larvas se realiza en cubetas de plástico de 20 litros. Se utilizan métodos de cultivo estático y con flujo continuo. En este último se utilizan tamices tipo "pandero" (Tong y Moss, 1992) para evitar que escapen las larvas con el flujo. En ambos métodos se realizan cambios de agua periódicos. La competencia de las larvas para el asentamiento se determina en base a la morfología, cuando alcanza el estadio "R" (Seki y Kan-no, 1977), en el cual cuentan con cuatro ramificaciones de los tentáculos cefálicos; también se

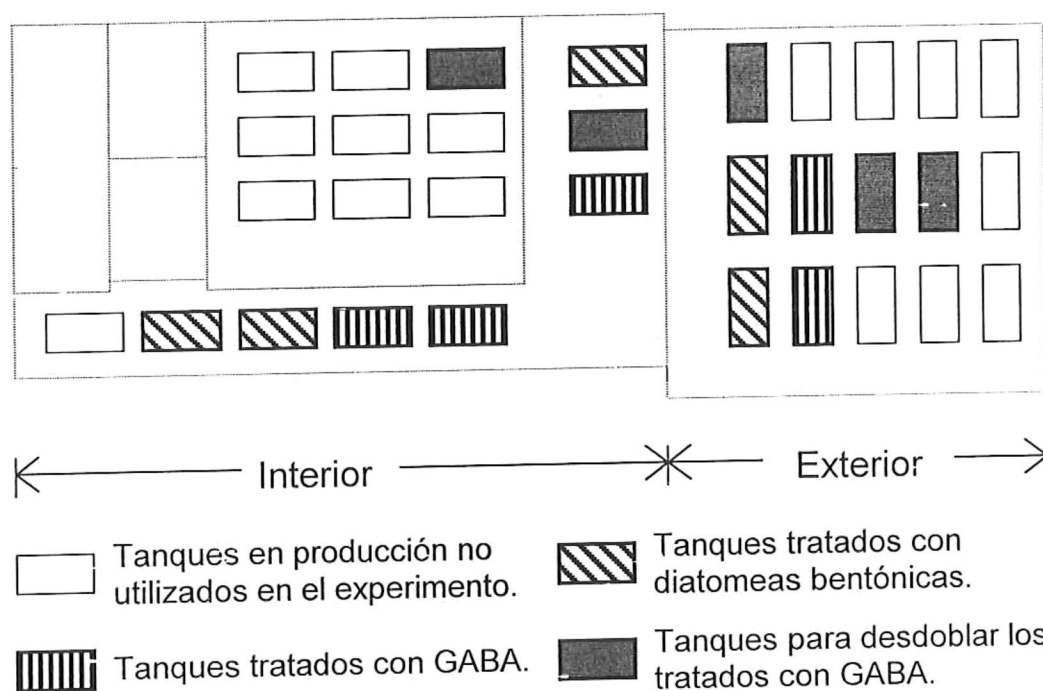


**Figura 1.** Localización del laboratorio productor de semilla de abulón de la S.C.P.P. Emancipación, S.C.L., en donde se realizó el experimento (flecha).

considera el comportamiento, al observar una fuerte conducta reptadora y exploratoria.

Para el asentamiento y cultivo de postlarvas y juveniles, el laboratorio cuenta con 32 tanques rectangulares de fibra de vidrio de 2.00 x 1.00 x 0.60 metros. La altura del agua en estos tanques es de 50 cm, por lo que se manejan con una capacidad de 1,000 litros de agua de mar. Cada tanque cuenta con 8 contenedores (racas) con 20 placas cada uno, para un total de 160 placas por tanque. Las placas son onduladas de fibra de vidrio transparente con dimensiones de 40 x 33 cm. Las placas en los tanques aumentan la superficie disponible para los organismos que se cultivan, tanto los abulones (postlarvas y juveniles) como las diatomeas con las cuales se alimentan. Este sistema de tanques con placas fue desarrollado en Japón (Hanh, 1989), por lo que se le denomina sistema o método de cultivo japonés.

Los 32 tanques se encuentran distribuidos en dos áreas diferentes, 17 en un área interior y 15 en un área exterior (figura 2). Los tanques del área interior cuentan con una lámpara de luz fluorescente cada uno, lo que permite aumentar la intensidad de luz y el fotoperíodo, cuando es necesario. Cada tanque cuenta con suministro de aire y agua de mar filtrada por arena, para lo cual cada área cuenta con un filtro de arena marca *Jacuzzi* modelo ST-27 cargados con arena sílica No. 30.



**Figura 2.** Distribución de los tanques de asentamiento y cultivo de postlarvas y juveniles en las diferentes áreas del laboratorio Puerto Nuevo.

El área de captación y producción de diatomeas consiste de cuatro mangueras de plástico transparente de 15 metros de largo y 1.9 cm de diámetro, enrolladas en espirales planas en una tabla de madera de 1.22 x 1.22 metros y conectadas en serie. Se les suministra iluminación las 24 horas y flujo continuo de agua de mar filtrada hasta 5  $\mu\text{m}$ . Las diatomeas silvestres de diferentes especies que son conducidas por el flujo de agua, se asientan y crecen en la pared interna de las mangueras y son cosechadas introduciendo esponjas dentro de las mangueras y empujándolas con agua a presión. Después son filtradas por filtros de bolsa hasta 1  $\mu\text{m}$ , para inocularse a los tanques de asentamiento y cultivo de postlarvas y para reinocular las mangueras de producción de diatomeas.

## **2.2 Descripción del experimento.**

Para el experimento se utilizaron inicialmente diez tanques de cultivo con larvas competentes, en cinco de los cuales se utilizaron diatomeas bentónicas y en los otros cinco GABA, como inductores a la metamorfosis. De los cinco tanques para cada tratamiento tres fueron en el área interior y dos en el área exterior (figura 2).

Las larvas utilizadas fueron producidas en una inducción a desove realizada el día 24 de noviembre de 1996 y alcanzaron la competencia para el asentamiento el día 28 de noviembre. La temperatura del agua durante el período de cultivo de larvas fluctuó entre 19 y 20.8 °C.

Los tanques en los que se utilizaron diatomeas bentónicas para inducción al asentamiento, se prepararon de manera similar al método de Tong y Moss (1992). Tres días antes de la inducción al asentamiento, se lavaron y enjuagaron los tanques y placas, suministrándoles flujos de aire y agua de mar filtrada por arena (8-9 litros por minuto), con el fin de desarrollar una película inicial de bacterias (Tong y Moss, 1992). Antes de la inducción a la metamorfosis (8-12 horas) los tanques con placas se drenaron, se enjuagaron y se llenaron con agua filtrada a 5  $\mu\text{m}$  e irradiada con luz ultravioleta, y se inocularon con diatomeas filtradas a 1  $\mu\text{m}$ . Se interrumpieron los flujos de agua y aire y se colocaron las placas en forma horizontal para permitir el asentamiento de las diatomeas inoculadas. Después, de por lo menos 8 horas de haber inoculado las diatomeas, se vertieron a los tanques las larvas competentes para el asentamiento, se homogeneizaron y se dejaron sin flujos de agua y aire. Debido a que 24 horas después de haber vertido las larvas competentes para el asentamiento aún había muchas nadando, se dejaron los tanques otras 24 horas sin flujo de agua y aireación. Después de esas 24 horas adicionales ya no se observaron larvas nadando, por lo que se colocaron las placas en posición vertical y se les suministró flujo de agua filtrada por arena (3-4 litros por minuto inicialmente).

Los tanques en los que se utilizó GABA como inductor al asentamiento, se prepararon 1-2 horas antes de introducir las larvas competentes a dichos tanques. Los tanques y las placas limpias se lavaron y desinfectaron con cloro,

se enjuagaron y se llenaron con agua filtrada a 5  $\mu\text{m}$  e irradiada con luz ultravioleta. Se agregó GABA a una concentración final en los tanques de 1.5  $\mu\text{M}$  (Searcy-Bernal y Anguiano-Beltrán, 1998) y posteriormente se virrieron las larvas competentes, se colocaron las placas horizontalmente y se cubrió todo el fondo de los tanques con placas sueltas, debido a que el GABA induce al asentamiento exclusivamente en el fondo (Morse et al., 1980b; Leighton, 1989). Al siguiente día, después de verificar que no había larvas nadando, se inocularon con diatomeas filtradas a 1  $\mu\text{m}$  los tanques tratados con GABA, colocando las placas en posición horizontal para facilitar el asentamiento de las diatomeas. Aproximadamente 12 horas después de haber inoculado las diatomeas, se colocaron las placas en posición vertical y se les proporcionó flujo de aire y agua filtrada por arena (3-4 litros por minuto inicialmente).

La concentración de las diatomeas bentónicas inoculadas a los tanques de ambos tratamientos fue de 326 células/ $\text{cm}^2$ . Esta cantidad fue calculada mediante el conteo del total de las diatomeas bentónicas cosechadas de las mangueras de captación y producción, y dividido entre los 10 tanques del experimento.

El número de larvas competentes para el asentamiento vertidas a cada tanque con placas fue de 340,000-390,000 (Tabla I). La superficie total de placas por tanque es de 422,400  $\text{cm}^2$ , por lo que las densidades fueron de 0.81-0.92 larvas/ $\text{cm}^2$ .

**Tabla I.** Número de larvas competentes de *H. fulgens* introducidas por tanque con diferentes inductores a la metamorfosis (diatomeas bentónicas y GABA) en dos áreas del laboratorio (I=interior, E= exterior).

Inductor:	Réplica (Area-No.)	No. de larvas sembradas:
Diatomeas	I - 1	375,000
Diatomeas	I - 2	390,000
Diatomeas	I - 3	375,000
Diatomeas	E - 1	375,000
Diatomeas	E - 2	390,000
GABA	I - 1	360,000
GABA	I - 2	360,000
GABA	I - 3	375,000
GABA	E - 1	345,000
GABA	E - 2	360,000
<i>SUBTOTALES:</i>		
	GABA:	1,845,000
	Diatomeas:	1,860,000
	<i>TOTAL:</i>	3,705,000

### **2.3 Condiciones generales de cultivo.**

Los tanques de cultivo fueron suministrados con flujos continuos de aire y agua de mar filtrada por arena. El flujo de agua fue de ~9 litros por minuto por tanque.

Cada cinco días se lavaron los tanques y las placas, vaciándolos y enjugando las placas, paredes y fondo con flujo suave de agua de mar filtrada por arena y volviéndolos a llenar.

El día 62 después del asentamiento, en los tanques que se utilizó GABA se realizaron desdobles con otros tanques que contenían solamente placas con diatomeas bentónicas (sin abulones). Dichos desdobles se efectuaron intercalando placas con abulones y placas con soio diatomeas dentro de las racas.

Todos los días se midió la temperatura mínima y máxima y la intensidad de luz (al medio día) con un exposímetro con escala en pies candela.

### **2.4 Evaluaciones de sobrevivencia y crecimiento.**

Se realizaron evaluaciones de sobrevivencia y crecimiento de las postlarvas y juveniles en placas de cultivo de los tanques sometidos a la prueba experimental, a los días 51, 101 y 127 después del asentamiento (Tabla II).

En la primera evaluación (día 51), se seleccionaron al azar una placa de cada raza (ocho en total) y se contaron las postlarvas por ambos lados de esas

**Tabla II.** Fechas en que se realizaron el desove, asentamiento de larvas, desdoble y evaluaciones de postlarvas de *H. fulgens* en tanques con diferentes inductores a la metamorfosis (diatomeas bentónicas y GABA). Días=días después del asentamiento.

Evento	Fecha	Días
Desove	24/Nov/96	
Asentamiento	28/Nov/96	0
1a. evaluación	18/Ene/97	51
Desdoble	29/Ene/97	62
2a. evaluación	9/Mar/97	101
3a. evaluación	4/Abr/97	127

placas. De las ocho placas seleccionadas, en cuatro de ellas se midió la longitud de la concha de 8 abulones, para un total de 32 abulones por tanque.

En las evaluaciones posteriores se seleccionaron al azar dos placas de cada raza (16 en total) y se contaron los abulones por ambos lados. En 8 de esas placas se midió la longitud de la concha de 10 abulones, para un total de 80 abulones por tanque. El incremento en el número de abulones medidos se hizo para aumentar la precisión de las evaluaciones, debido a que el día 62 después del asentamiento se realizó un desdoble en los tanques tratados con GABA y podría resultar en mayor dispersión de los datos.

Las mediciones de la longitud de la concha se hicieron con un vernier de plástico marca SPI 2000 modelo 31-415-3, con una precisión de 0.1 mm.

Con los datos de longitud de la concha y número de abulones por placa, se calcularon el número total de abulones, el porcentaje de sobrevivencia y el crecimiento por cada tanque para ambos tratamientos.

## **2.5 Análisis estadístico.**

Se consideraron dos factores experimentales: el inductor a la metamorfosis (dos tipos: diatomeas bentónicas y GABA), y el área dentro del laboratorio (dos lugares: interior y exterior). Las variables de respuesta fueron el porcentaje de sobrevivencia y el crecimiento postlarval.

Los datos de sobrevivencia, longitud de la concha y crecimiento se sometieron a un análisis de varianza de dos vías para su comparación y

determinar su significancia estadística. Los datos de porcentaje de supervivencia fueron transformados con el arcoseno de la raíz cuadrada para el análisis de varianza.

El análisis estadístico se realizó con una microcomputadora, utilizando el paquete estadístico "*Statgraphics*" (versión 5.0).

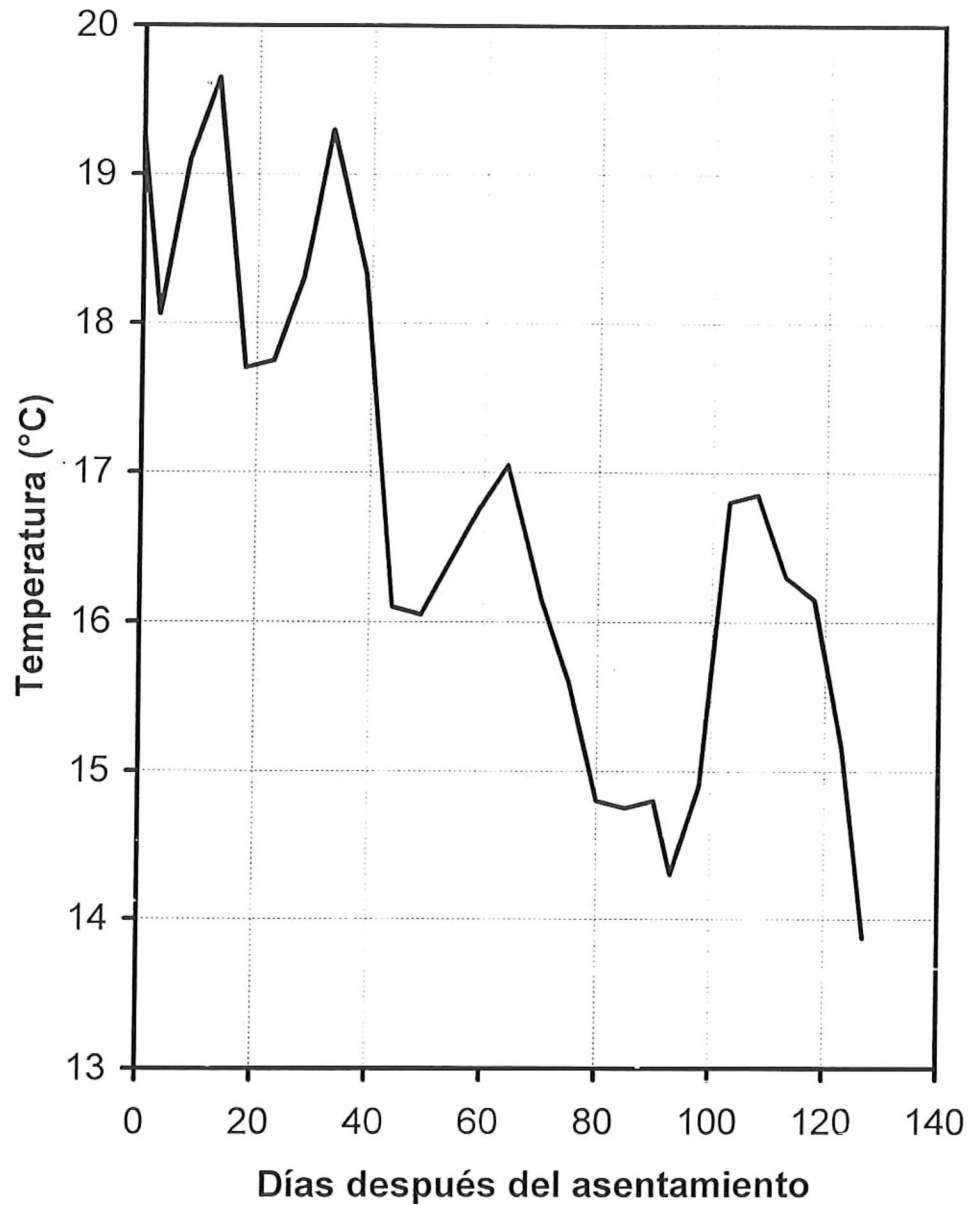
### 3. RESULTADOS.

La temperatura promedio mensual en los tanques de asentamiento y cultivo de postlarvas y juveniles durante el período experimental registró un máximo de 18.9°C en noviembre de 1996 y un mínimo de 14.8°C en abril de 1997 (figura 3). La intensidad de luz promedio mensual para cada área del laboratorio durante el período experimental fluctuó entre 361 y 653 pies candelas en el interior y entre 767 y 1956 en el exterior (figura 4).

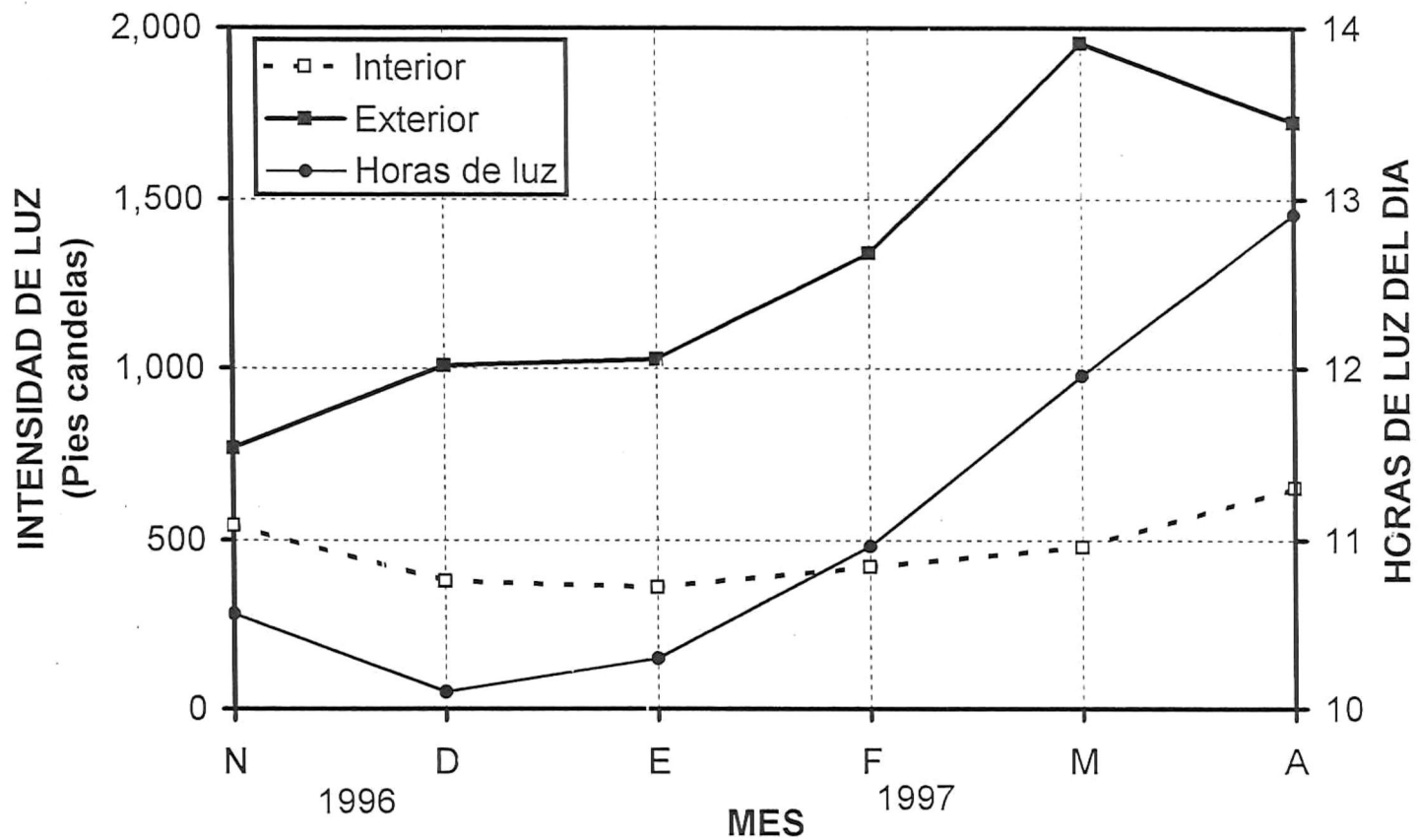
#### 3.1 Asentamiento y metamorfosis.

A las 12 horas después de agregar las larvas a los tanques de asentamiento en los que se utilizó el GABA como inductor, no se observaron larvas nadando y en las placas había muchas asentadas de las cuales algunas mostraban aún vélum ciliar lo que indicaba que no habían sufrido la metamorfosis. A las 24 horas no se observó ninguna larva con cilios en las placas de estos tanques, por lo que se consideró que la mayoría había sufrido la metamorfosis. No se observaron larvas asentadas en las paredes de los tanques, todas se asentaron en el fondo del tanque y en las placas en posición horizontal.

En los tanques que se utilizaron bacterias y diatomeas bentónicas como inductores, a las 24 horas aún había muchas larvas nadando, por lo que se dejaron sin flujo de agua y las placas en posición horizontal otras 24 horas, al cabo de las cuales ya no se observaron larvas nadando y en las placas se



**Figura 3.** Temperatura (°C) durante el período experimental en los tanques de asentamiento y cultivo de postlarvas y juveniles de *H. fulgens*. Los puntos graficados son promedios de cinco días en base a registros diarios tomados a la misma hora (9:00 A.M.).



**Figura 4.** Intensidad de luz promedio mensual (pies candela) en cada área del laboratorio (interior y exterior) y horas de luz del día durante el período experimental. Las mediciones se realizaron diariamente a la misma hora (12:00 horas).

habían asentado las larvas, muchas de ellas aún con vélum ciliar que no habían sufrido la metamorfosis y podrían volver a nadar. Sin embargo se decidió reanudar los flujos de agua y aire y colocar las placas en posición vertical debido a que en las placas había muchas larvas muertas en estado de descomposición, lo que podría ocasionar un deterioro en las condiciones de cultivo al favorecer la proliferación de bacterias patógenas y protozoarios.

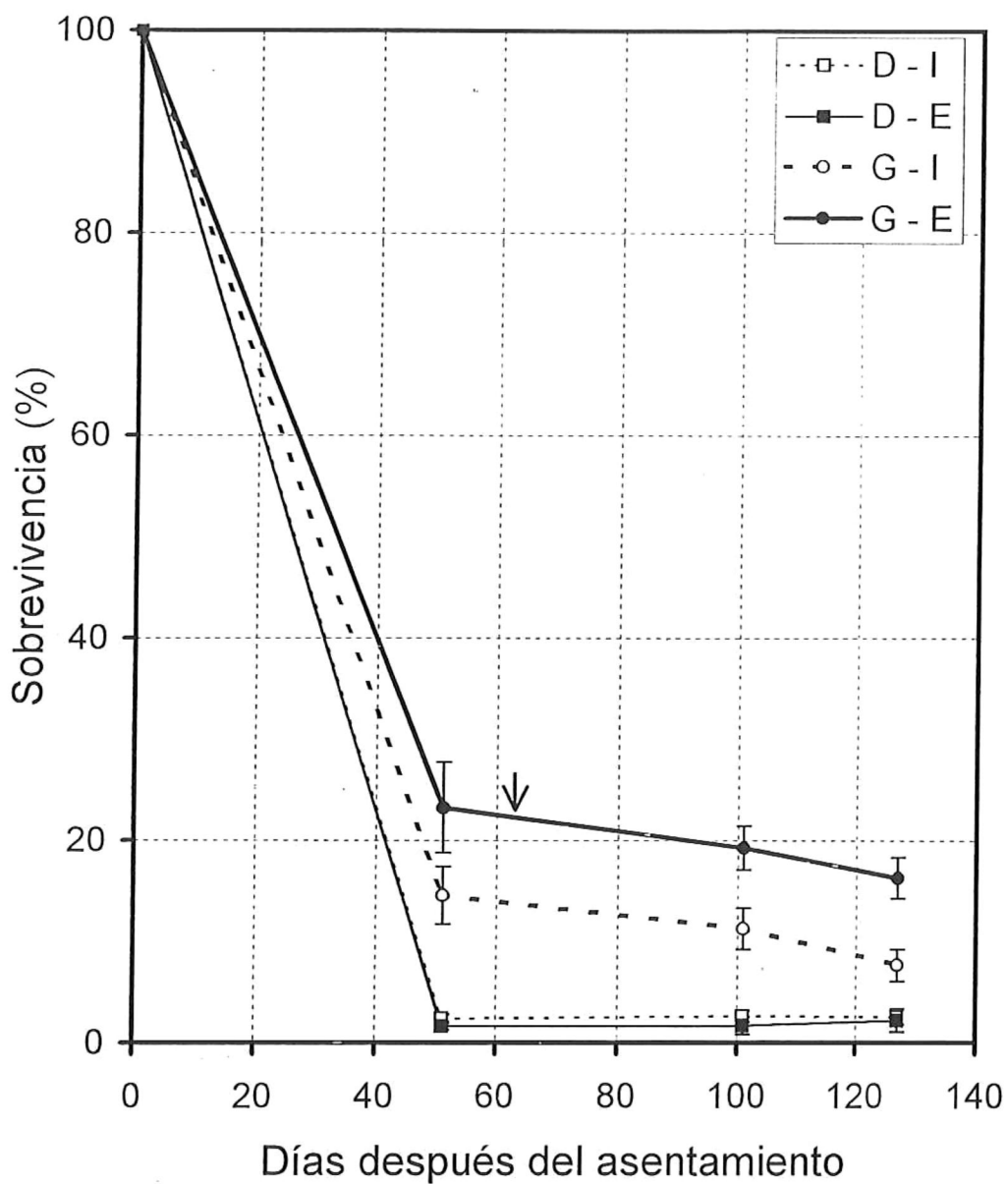
### **3.2 Sobrevivencia.**

Los porcentajes de sobrevivencia de las postlarvas por tratamiento para las tres evaluaciones realizadas (51, 101 y 127 días) se presentan en la tabla III. Para todas las evaluaciones, en los tanques que se utilizó el GABA como inductor a la metamorfosis, se obtuvieron mayores porcentajes de sobrevivencia que en los que se utilizaron diatomeas bentónicas, tanto en el interior como en el exterior del laboratorio. Se presentaron mayores porcentajes de sobrevivencia globales en el exterior que en el interior, aunque en los tanques tratados con diatomeas bentónicas se obtuvieron mayores sobrevivencias en el interior para todas las evaluaciones, mientras que en los tratados con GABA las sobrevivencias fueron mayores en el exterior (Tabla III, figuras 5 y 6).

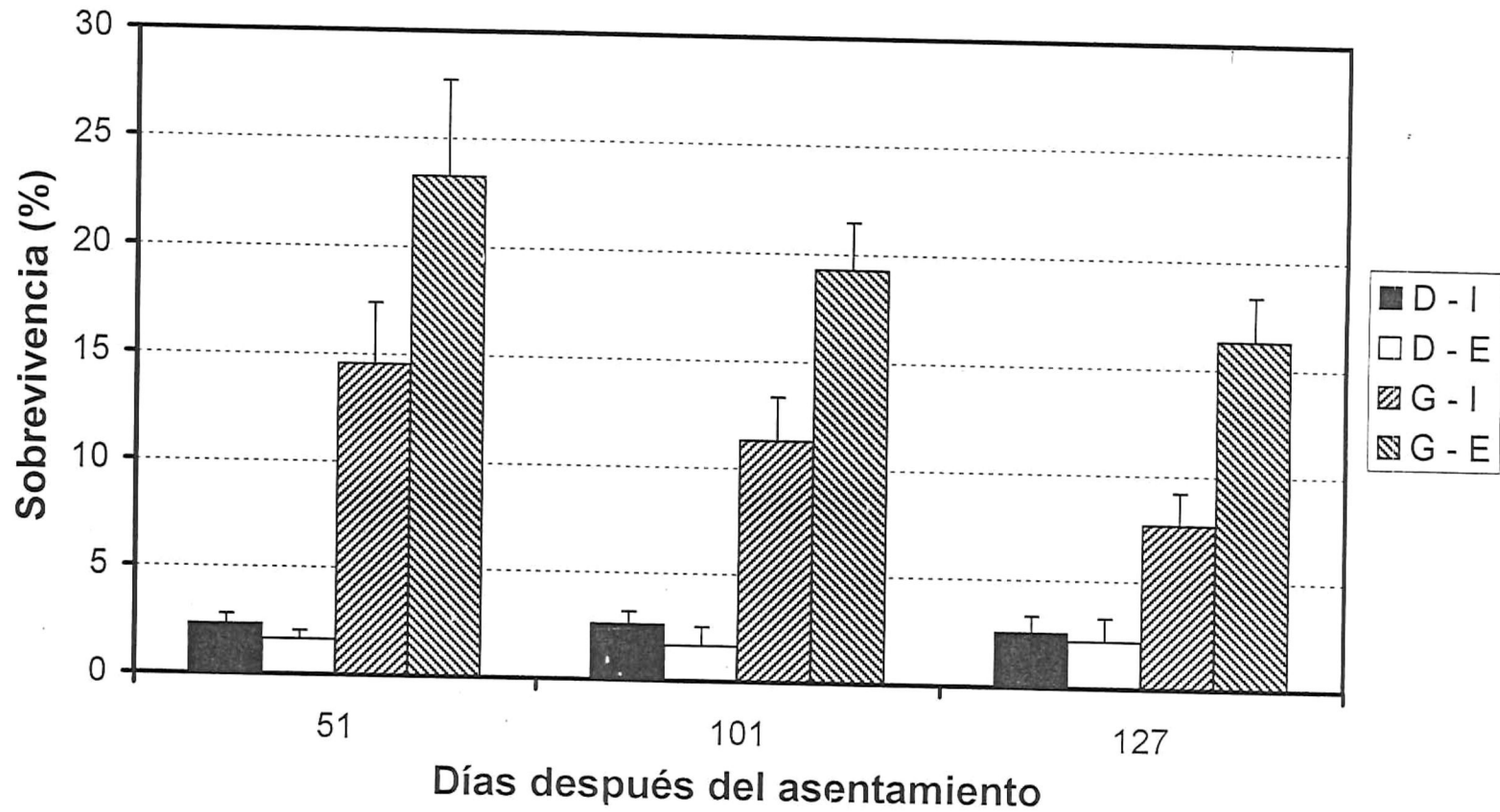
Los resultados del análisis de varianza de dos vías indican que hay diferencia estadísticamente significativa para el inductor a la metamorfosis en las tres evaluaciones, mientras que entre áreas del laboratorio no existe diferencia significativa en las 3 evaluaciones, aunque a los 127 días la

**Tabla III.** Sobrevivencia (%) de postlarvas de *H. fulgens* en diferentes tiempos después del asentamiento con diferentes inductores (diatomeas bentónicas y GABA) en tanques de dos áreas del laboratorio (I=interior, E=exterior). Se incluyen resultados del análisis de varianza de dos vías (F=valor del estadístico, P=probabilidad asociada.). de los datos transformados con el arcoseno de la raíz cuadrada.

Réplica (Area-No.)	Días después del asentamiento								
	51 días			101 días			127 días		
	Inductor		Prom. Area	Inductor		Prom. Area	Inductor		Prom. Area
	Diats.	GABA		Diats.	GABA		Diats.	GABA	
I - 1	2.06	20.08		1.68	18.13		1.55	10.95	
I - 2	3.19	10.61		3.67	13.51		4.06	11.80	
I - 3	1.75	12.91		2.47	9.63		2.08	6.26	
I - 4					7.08			4.28	
I - 5					8.11			4.99	
Media (I)	<b>2.33</b>	<b>14.53</b>	<b>8.43</b>	<b>2.60</b>	<b>11.29</b>	<b>8.03</b>	<b>2.57</b>	<b>7.66</b>	<b>5.75</b>
Err. Std. (I)	0.44	2.85	3.02	0.58	2.03	2.01	0.76	1.56	1.34
E - 1	1.23	27.74		0.78	11.45		1.07	9.74	
E - 2	2.05	18.79		2.53	23.66		3.27	19.47	
E - 3					21.59			21.57	
E - 4					17.61			14.58	
E - 5					22.05			16.12	
Media (E)	<b>1.64</b>	<b>23.26</b>	<b>12.45</b>	<b>1.66</b>	<b>19.27</b>	<b>14.24</b>	<b>2.17</b>	<b>16.30</b>	<b>12.26</b>
Err.Std. (E)	0.41	4.48	6.51	0.87	2.19	3.59	1.10	2.05	2.97
Media-Ind.:	<b>2.06</b>	<b>18.03</b>		<b>2.23</b>	<b>15.28</b>		<b>2.41</b>	<b>11.98</b>	
Err.Std. Ind.	0.32	3.00		0.48	1.94		0.55	1.88	
ANOVA	F:	P:		F:	P:		F:	P:	
Inductor	79.637	0.0001		55.223	0.0000		33.586	0.0001	
Area	1.690	0.2413		1.308	0.2771		3.384	0.0929	
Interacción	4.087	0.0897		4.838	0.0501		5.197	0.0436	



**Figura 5.** Supervivencia de postlarvas de *H. fulgens* asentadas con diatomeas bentónicas (D) y con GABA (G) en tanques interiores (I) y exteriores (E). Los tanques en los que se asentaron con GABA fueron desdoblados 62 días después del asentamiento (flecha). Las barras verticales son errores estándar.



**Figura 6.** Sobrevivencia de postlarvas de *H. fulgens* asentadas con diatomeas bentónicas (D) y con GABA (G) en tanques interiores (I) y exteriores (E). Las barras verticales son errores estándar.

probabilidad es muy baja (.0929). Sin embargo se presenta interacción significativa a los 101 y a los 127 días, y a los 51 días no existe interacción significativa, aunque la probabilidad es muy baja (Tabla III), lo que sugiere que sí existe diferencia significativa para el área del laboratorio interactuando con el inductor a la metamorfosis, presentándose la misma tendencia en las tres evaluaciones, con sobrevivencias mayores en el interior que en el exterior en los tanques tratados con diatomeas y mayores en el exterior que en el interior en los tanques tratados con GABA. Para la primera evaluación (51 días después del asentamiento) se obtuvo una sobrevivencia global (interior y exterior) de casi 9 veces mayor con GABA que con diatomeas bentónicas, y para el final del período experimental (127 días después del asentamiento) la diferencia fue de casi 5 veces. Lo anterior es reflejo de la mayor sobrevivencia que se obtuvo con GABA al inicio del experimento, ya que a lo largo del ensayo se presentaron mayores mortalidades (de hasta 47% en interior y 30% en exterior) con este inductor que con diatomeas bentónicas.

### **3.3 Crecimiento.**

La longitud promedio de la concha de las larvas inducidas al asentamiento y metamorfosis, fue de aproximadamente 250  $\mu\text{m}$ .

La longitud promedio de la concha por tanque para cada inductor y área del laboratorio, en cada una de las tres evaluaciones se presentan en la tabla IV. La longitud fue mayor en las postlarvas y juveniles asentados con diatomeas

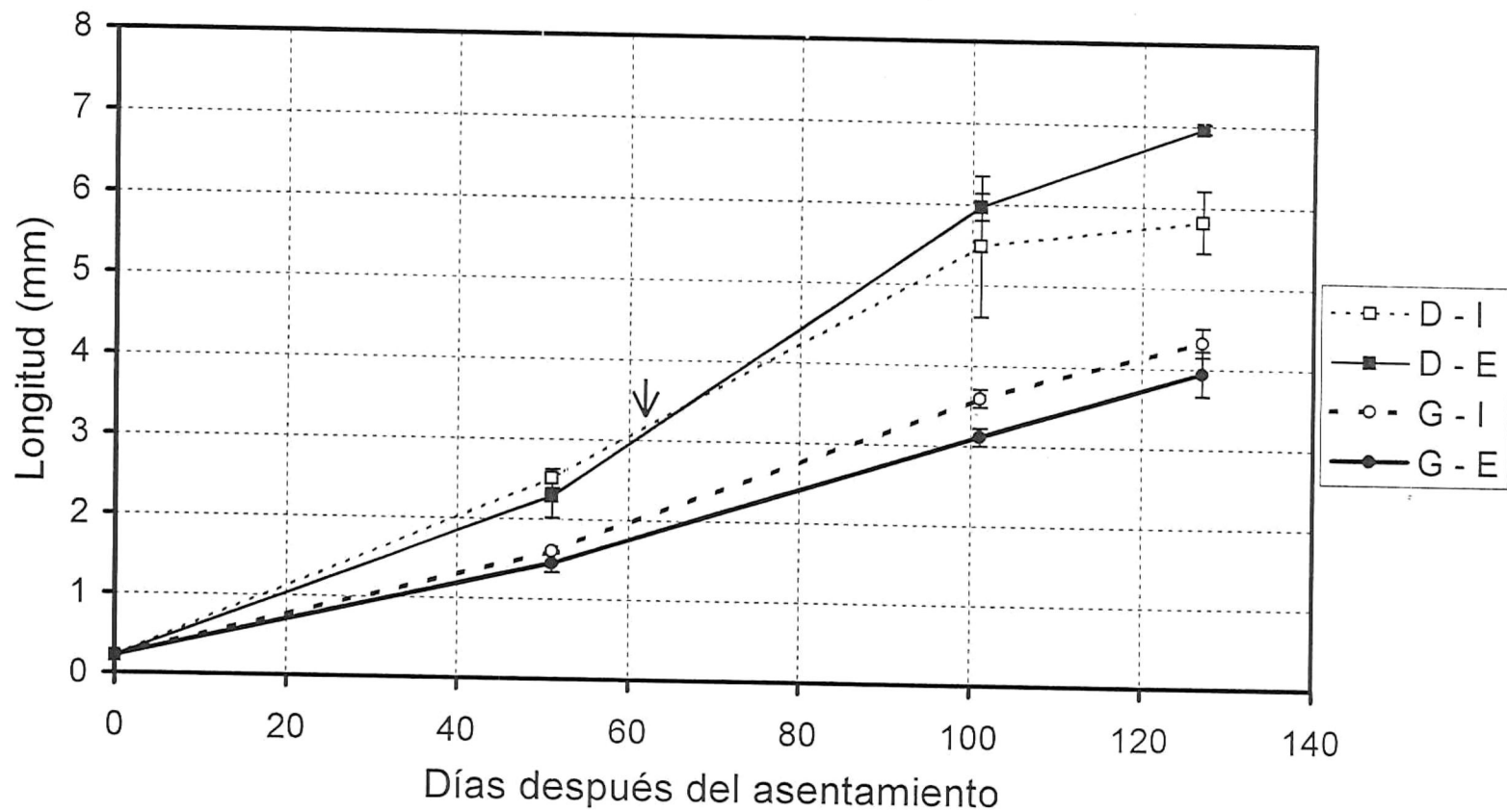
bentónicas que en los asentados con GABA tanto en el interior como en el exterior, para las tres evaluaciones (Tabla IV, figura 7).

El análisis de varianza de dos vías dió como resultado una diferencia estadísticamente significativa para la longitud de la concha entre inductores en las tres evaluaciones, mientras que entre las áreas del laboratorio no la hubo. La interacción no fue significativa a los 51 y a los 101 días, pero a los 127 días sí lo fue, indicando que a ese tiempo la ubicación del área del laboratorio sí influyó en la longitud de la concha junto con el inductor a la metamorfosis.

En la tabla V se presentan las tasas de crecimiento en micras por día en dos períodos diferentes, del día 51 al 101 y del día 101 al 127 después del asentamiento, para los diferentes tratamientos. Se presentó mayor crecimiento en las postlarvas asentadas con diatomeas bentónicas en el primer período en ambas áreas del laboratorio. En el segundo período se presentó mayor crecimiento en las postlarvas asentadas con GABA en el interior y mayor en las postlarvas asentadas con diatomeas en el exterior. El análisis de varianza de dos vías indicó que hubo diferencia estadísticamente significativa para el inductor y no la hubo para el área del laboratorio en el primer período. Mientras que, en el segundo período no hubo diferencia estadísticamente significativa para ningún factor experimental (inductor y área del laboratorio). La interacción no fue significativa en ninguno de los dos períodos.

**Tabla IV.** Longitud (mm) de postlarvas de *H. fulgens* en diferentes tiempos después del asentamiento con diferentes inductores (diatomeas bentónicas y GABA) en tanques de dos áreas del laboratorio (I=interior, E=exterior). Se incluyen resultados del análisis de varianza de dos vías (F=valor del estadístico, P=probabilidad asociada.).

Réplica (Area-No.)	Días después del asentamiento								
	51 días			101 días			127 días		
	Inductor		Prom. Area	Inductor		Prom. Area	Inductor		Prom. Area
	Diats.	GABA		Diats.	GABA		Diats.	GABA	
I - 1	2.68	1.59		7.17	3.73		6.37	4.16	
I - 2	2.28	1.58		4.97	3.45		5.07	4.99	
I - 3	2.58	1.62		4.30	3.33		6.01	4.46	
I - 4					3.50			4.04	
I - 5					3.95			3.98	
Media (I)	<b>2.51</b>	<b>1.60</b>	<b>2.05</b>	<b>5.48</b>	<b>3.59</b>	<b>4.30</b>	<b>5.82</b>	<b>4.33</b>	<b>4.89</b>
Err. Std. (I)	0.12	0.01	0.21	0.87	0.11	0.45	0.39	0.18	0.32
E - 1	2.01	1.34		6.13	3.39		7.02	4.68	
E - 2	2.57	1.57		5.80	3.22		6.91	4.35	
E - 3					2.73			3.52	
E - 4					3.05			3.11	
E - 5					3.15			4.04	
Media (E)	<b>2.29</b>	<b>1.45</b>	<b>1.87</b>	<b>5.96</b>	<b>3.11</b>	<b>3.93</b>	<b>6.96</b>	<b>3.94</b>	<b>4.80</b>
Err.Std. (E)	0.28	0.12	0.27	0.17	0.11	0.53	0.05	0.28	0.59
Media-Ind.:	<b>2.42</b>	<b>1.54</b>		<b>5.67</b>	<b>3.35</b>		<b>6.28</b>	<b>4.13</b>	
Err.Std. Ind.	0.12	0.05		0.49	0.11		0.35	0.17	
ANOVA	F:	P:		F:	P:		F:	P:	
Inductor	40.793	0.0007		39.783	0.0001		57.339	0.0000	
Area	1.771	0.2316		0.000	0.9990		1.627	0.2284	
Interacción	0.089	0.7790		1.659	0.2242		6.590	0.0262	



**Figura 7.** Crecimiento de postlarvas de *H. fulgens* asentadas con diatomeas bentónicas (D) y con GABA (G) en tanques interiores (I) y exteriores (E). Los tanques en los que se asentaron con GABA fueron desdoblados 62 días después del asentamiento (flecha). Las barras verticales son errores estándar.

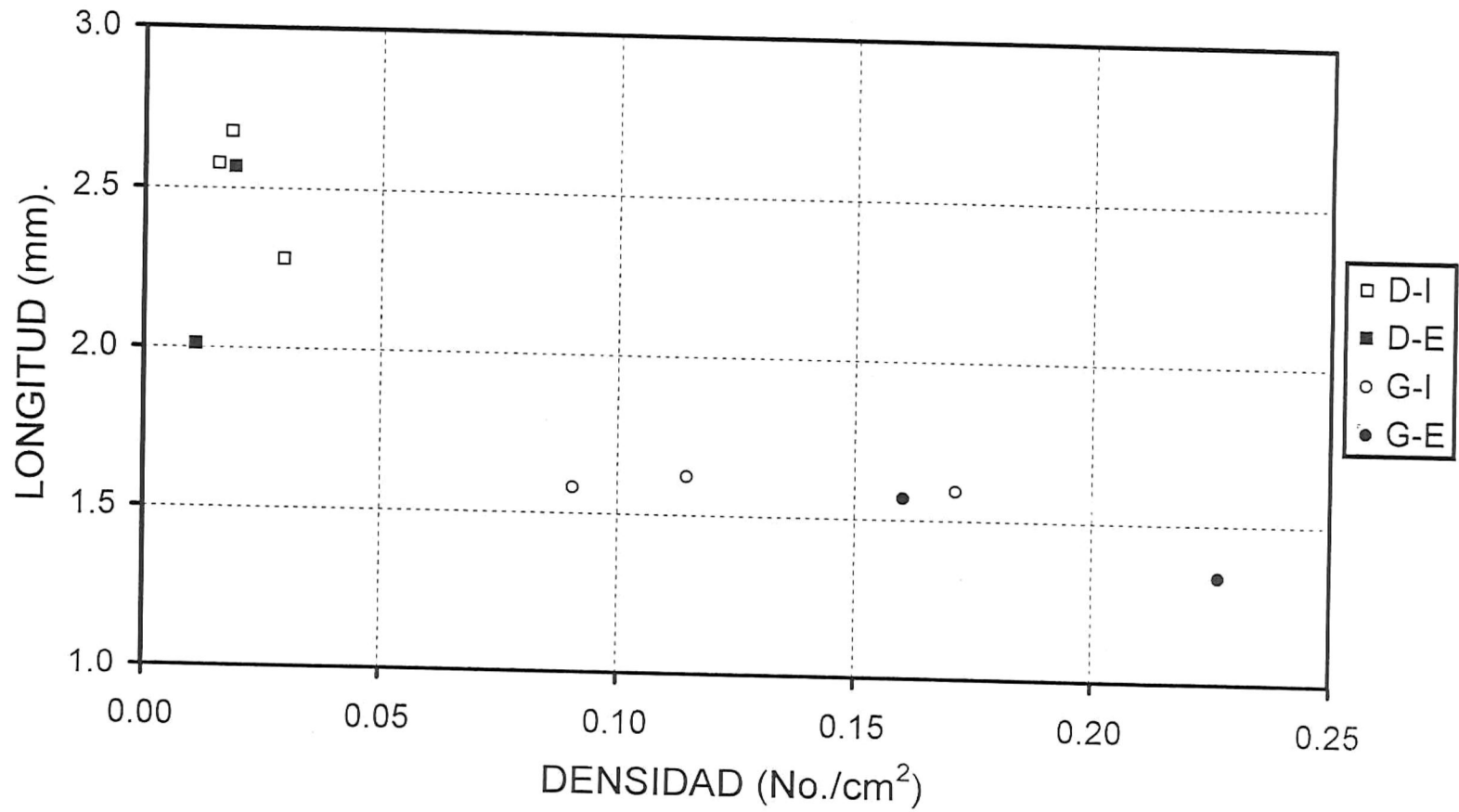
**Tabla V.** Crecimiento ( $\mu\text{m}/\text{día}$ ) de postlarvas de *H. fulgens* en diferentes períodos después del asentamiento con diferentes inductores (diatomeas bentónicas y GABA) en tanques de dos áreas del laboratorio (I=interior, E=exterior). Se incluyen resultados del análisis de varianza de dos vías (F=valor del estadístico, P=probabilidad asociada).

Réplica (Area-No.)	Período después del asentamiento					
	día 51 al 101			día 101 al 127		
	Inductor		Prom. Area	Inductor		Prom. Area
	Diats.	GABA		Diats.	GABA	
I - 1	89.98	42.72		-31.06	16.64	
I - 2	53.78	37.46		3.94	58.92	
I - 3	34.40	34.11		66.11	43.57	
I - 4		38.30			21.02	
I - 5		46.52			1.43	
Media (I)	<b>59.38</b>	<b>39.82</b>	<b>47.16</b>	<b>13.00</b>	<b>28.32</b>	<b>22.57</b>
Err. Std. (I)	16.29	2.17	6.55	28.41	10.20	11.47
E - 1	82.46	35.90		34.09	49.67	
E - 2	64.61	37.65		42.79	43.44	
E - 3		23.30			30.22	
E - 4		29.66			2.07	
E - 5		36.34			34.17	
Media (E)	<b>73.54</b>	<b>32.57</b>	<b>44.28</b>	<b>38.44</b>	<b>31.91</b>	<b>33.78</b>
Err.Std. (E)	8.92	2.70	8.02	4.35	8.21	5.87
Media-Ind.:	<b>65.05</b>	<b>36.20</b>		<b>23.17</b>	<b>30.12</b>	
Err.Std. Ind.	9.98	2.03		16.82	6.20	
ANOVA	F:	P:		F:	P:	
Inductor	16.418	0.0019		0.083	0.7816	
Area	0.213	0.6582		0.905	0.3718	
Interacción	2.052	0.1798		0.512	0.4965	

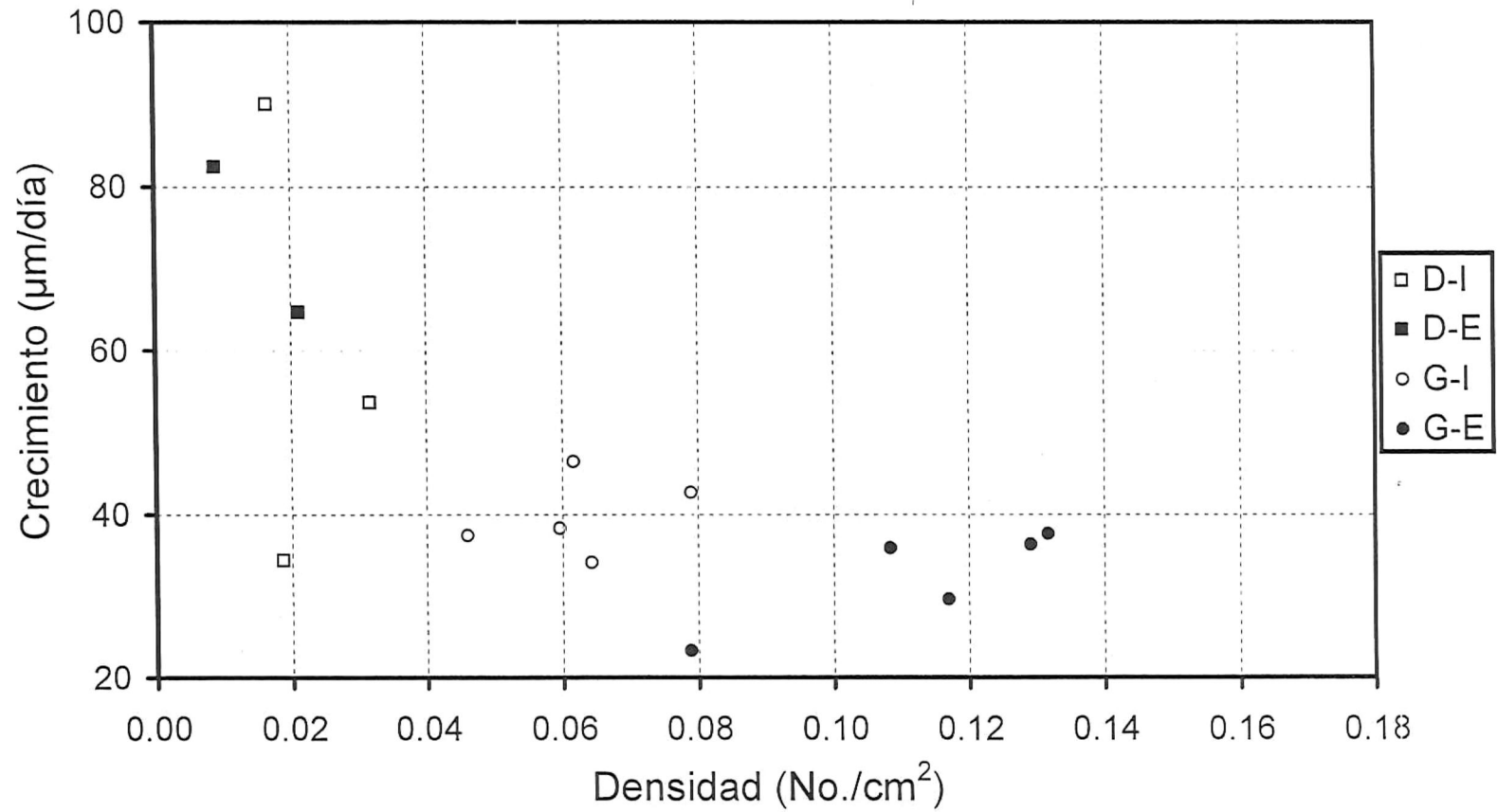
En la figura 8 se puede observar la relación entre la densidad de cultivo (postlarvas/cm<sup>2</sup>) y la longitud de la concha para la primera evaluación (51 días después del asentamiento), donde se presentan mayores longitudes para los tanques con menores densidades de cultivo. En los tanques que se utilizó GABA se presentaron las densidades de cultivo más altas (la mayoría >0.1 postlarvas/cm<sup>2</sup>) y longitudes menores (<2 mm), mientras que los tratados con diatomeas bentónicas todos tuvieron unas densidades por debajo de 0.05 postlarvas/cm<sup>2</sup> y la longitud de la concha fue mayor de 2 mm.

En la figura 9 se puede observar la relación entre la densidad de cultivo y el crecimiento (µm/día) en el período comprendido del día 51 al 101 después del asentamiento. La densidad de cultivo es el promedio de la densidad inicial (51 días) y la densidad final (101 días). El patrón que sigue el crecimiento en relación a la densidad es similar al de la figura 8; es decir, se presenta mayor crecimiento a densidades menores que corresponden al tratamiento de diatomeas.

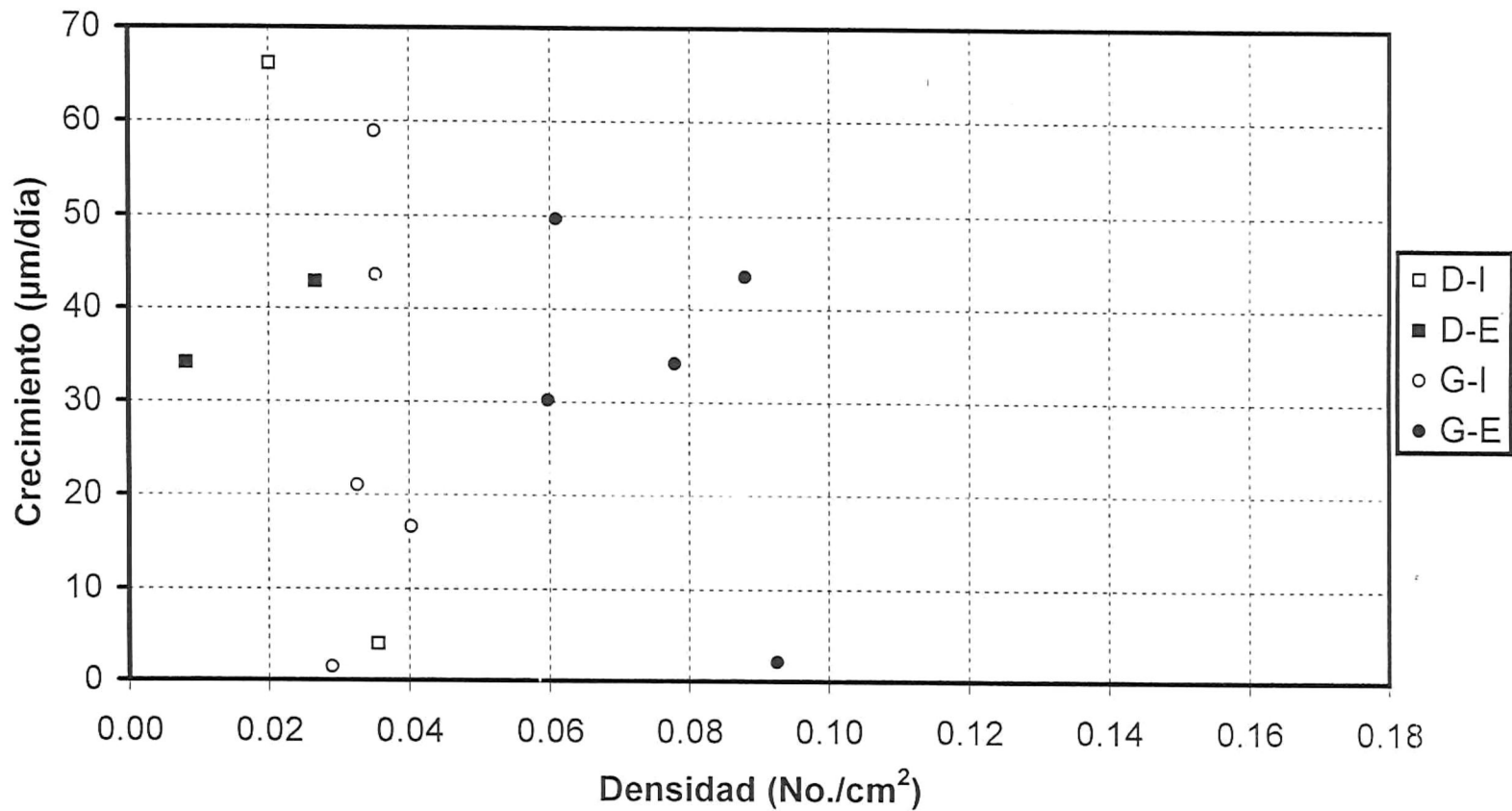
En la figura 10 se presenta la relación entre la densidad de cultivo y el crecimiento (µm/día) en el período del día 101 al 127. Aquí no se aprecia un patrón bien definido del crecimiento en relación a la densidad de cultivo ni el inductor.



**Figura 8.** Longitud y densidad de postlarvas de *H. fulgens* 51 días después del asentamiento con diatomeas bentónicas (D) y con GABA (G) en tanques interiores (I) y exteriores (E).



**Figura 9.** Relación entre tasa de crecimiento y densidad de cultivo de *H. fulgens* del día 51 al 101 después del asentamiento. Postlarvas asentadas con dos inductores (D=diatomeas bentónicas, G=GABA) en dos áreas del laboratorio (I=interior, E=exterior).



**Figura 10.** Relación entre tasa de crecimiento y densidad de cultivo de postlarvas de *H. fulgens* del día 101 al 127 después del asentamiento. Postlarvas asentadas con dos inductores (D=diatomeas bentónicas, G=GABA) en dos áreas del laboratorio (I=interior, E=exterior).

## 4. DISCUSIÓN.

### 4.1 Sobrevivencia.

Los resultados mostraron que en las tres evaluaciones realizadas (51, 101 y 127 días) se obtuvieron sobrevivencias mayores en los tanques que se utilizó GABA que en los que se utilizaron diatomeas bentónicas como inductores a la metamorfosis. Esto se atribuye al mayor éxito en el asentamiento y la metamorfosis con GABA, y es congruente con lo reportado por Morse *et al.* (1979a, b, 1980b), Flores-Aguilar (1989), García-Mendoza (1991), Searcy-Bernal (1994), Searcy-Bernal *et al.* (1992a, b,) y Salas-Garza *et al.* (1994), y confirma la efectividad de este inductor en larvas de abulón de *H. fulgens*, en condiciones de producción masiva. Este es el primer reporte en ese sentido a nivel masivo para *H. fulgens* con el sistema de cultivo japonés de placas.

El área del laboratorio influyó significativamente en interacción con el inductor a la metamorfosis, presentándose sobrevivencias más altas en los tanques tratados con GABA en el exterior que en el interior y al inverso en los tratados con diatomeas (Tabla III, figura 5). Esto pudiera atribuirse a las diferencias de intensidad de luz entre las dos áreas, pues en el exterior se registraron intensidades de luz mayores que en el interior (figura 4.), lo que favoreció un mayor crecimiento de diatomeas en los tanques del área exterior. La producción de diatomeas mayor en el área exterior permitió que las larvas

asentadas con GABA tuvieron suficiente alimento en las etapas iniciales y se reflejó en mayor sobrevivencia que en los tanques del interior tratados con este inductor. Sin embargo, los tanques tratados con diatomeas bentónicas, al tener bajas densidades de cultivo de postlarvas (figura 8) y, por lo tanto, una presión de pastoreo más baja, presentaron un sobrecrecimiento de diatomeas bentónicas en las etapas iniciales en el área exterior con mayor intensidad de luz (figura 4). Esto es un ambiente inadecuado para las postlarvas, pues las diatomeas que dominan en esas condiciones no son buen alimento (Roberts y Kawamura, 1997) y engrosan la capa límite, pudiendo resultar en condiciones extremas de concentración de oxígeno disuelto (Searcy-Bernal, 1996). Es posible que debido a esas condiciones, se presentaron mayores sobrevivencias en el área interior que en el exterior, en los tanques tratados con diatomeas bentónicas. Cabe mencionar que los tanques del área interior contaron con iluminación las 24 horas y los del exterior solamente durante las horas de luz del día del fotoperíodo natural (figura 4).

El método utilizado para el asentamiento con GABA fue el recomendado por Searcy-Bernal *et al.* (1992a), agregando el alimento un día después del asentamiento para evitar alguna interferencia por microorganismos en el proceso de inducción a la metamorfosis. Este método resultó ser mucho mejor en el rendimiento promedio por tanque, obteniendo a los 127 días después del asentamiento hasta 11.98% de sobrevivencia contra 2.41% con el método de diatomeas bentónicas.

La sobrevivencia obtenida utilizando el GABA como inductor a la metamorfosis es relativamente alta comparada con las reportadas por otros autores que utilizaron el mismo inductor (Tabla VI). El porcentaje de sobrevivencia más alto obtenido por García-Mendoza (1991) para *H. fulgens* a los 31 días postasentamiento (24.7%), es comparable al obtenido en este trabajo para el área exterior a los 51 días (23.3%), aunque en el área interior fue más bajo (14.5%). Las sobrevivencias reportadas por Searcy-Bernal et al. (1992a y b) para *H. rufescens* (a los 22 días postasentamiento) y por Flores-Aguilar (1989) para *H. corrugata* (a los 22 días), son mayores que las más altas presentadas en este trabajo (a los 51 días). La sobrevivencia reportada por Flores-Aguilar (1989) para *H. rufescens* a los 22 días, es menor que las presentadas en este trabajo a los 51 días, tanto en el área interior como en el exterior.

No se detectó influencia de la temperatura en la sobrevivencia de las postlarvas y juveniles, lo cual es explicable ya que los valores de este parámetro a lo largo del ensayo (figura 3) estuvieron dentro del rango apropiado para *H. fulgens* (Leighton, 1974).

#### **4.2 Crecimiento.**

El crecimiento fue significativamente mayor en las postlarvas asentadas con diatomeas bentónicas que las asentadas con GABA, lo cual contrasta con lo reportado por Flores-Aguilar (1989) quien encontró mayor crecimiento en las

**Tabla VI.** Supervivencia de postlarvas de abulón reportadas por diferentes autores, utilizando GABA como inductor a la metamorfosis.

Fuente	Especie	Supervivencia (%)	Días Postasentamiento
Flores-Aguilar, 1989	<i>H. rufescens</i>	9.0	22
		69.5	22
García-Mendoza, 1991	<i>H. corrugata</i>	24.7	31
	<i>H. fulgens</i>		
Searcy-Bernal <i>et al.</i> , 1992a	<i>H. rufescens</i>	34.5	22
Searcy-Bernal <i>et al.</i> , 1992b	<i>H. rufescens</i>	36.4	22
Este trabajo (interior)	<i>H. fulgens</i>	14.5	51
Este trabajo (exterior)	<i>H. fulgens</i>	23.3	51

postlarvas de *H. rufescens* asentadas con GABA que con diatomeas bentónicas, y lo atribuye a que las postlarvas empiezan a desarrollarse acelerada y sincrónicamente al alcanzar más rápidamente su metamorfosis y poder alimentarse primero (Morse *et al.*, 1979a, b; Morse, 1984; Searcy-Bernal y Anguiano-Beltrán, 1998). Sin embargo, García-Mendoza (1991) reportó mayor crecimiento en las postlarvas asentadas con diatomeas bentónicas que con GABA, y lo atribuye a la disponibilidad de mayor cantidad de alimento en el tratamiento con diatomeas bentónicas. El hecho de que en este experimento se haya presentado menor crecimiento en las postlarvas asentadas con GABA que con diatomeas bentónicas parece estar relacionado con las densidades de cultivo de postlarvas (figuras 8 y 9) como lo reportado por Roberts y Kawamura (1997) y García-Mendoza (1991). Los tanques tratados con GABA, al tener mayores densidades de postlarvas debido a la eficiencia de este aminoácido como inductor a la metamorfosis, presentaron mayor consumo de diatomeas y no fue posible suministrarles alimento adicional suficiente, reflejándose un menor crecimiento por falta de alimento, a pesar de que el día 62 después del asentamiento se desdoblaron todos los tanques tratados con GABA. Incluso se puede observar que aún cuando con el GABA se lograron mayores sobrevivencias iniciales, éstas fueron relativamente menores a lo largo del experimento (Tabla III, figuras 5 y 6), lo cual es atribuido a las densidades de cultivo de postlarvas y es consistente con lo reportado por Roberts y Kawamura (1997). Con el desdoble realizado se pudieron disminuir las densidades de

cultivo de postlarvas y se les proporcionó alimento adicional, ya que se intercalaron las placas conteniendo postlarvas con placas cubiertas de película de diatomeas previamente cultivadas. Esto ayudó a que no disminuyera más el crecimiento de las postlarvas asentadas con GABA y en el último período (día 101 al 127) se presentó una tasa de crecimiento ( $\mu\text{m}/\text{día}$ ) similar entre los tanques de ambos tratamientos (figura 10), lo que sugiere que las diferencias en el crecimiento se dieron en los primeros períodos debido a que las diferencias de densidades fueron mucho mayores entre tratamientos.

Posiblemente la diferencia de crecimiento en el primer período pudo haber disminuído realizando el desdoble antes, sin embargo, se hizo hasta el día 62 debido a que no había tanques disponibles, pues estaban ocupados en la producción del laboratorio.

Cabe mencionar que los resultados obtenidos por Flores-Aguilar (1989) con *H. rufescens* fueron de evaluaciones de la longitud de la concha a los 8, 23 y 37 días después del asentamiento y en las dos primeras evaluaciones se presentó mayor crecimiento en las postlarvas asentadas con GABA que con diatomeas, pero en la evaluación del día 37 no hubo diferencia significativa de la longitud entre tratamientos. En este experimento se hizo la primera evaluación a los 51 días después del asentamiento por lo que no se puede descartar la posibilidad de que en los primeros días haya habido un mayor crecimiento en las postlarvas asentadas con GABA debido a que hayan

empezado a alimentarse más rápido y sincrónicamente (Morse, 1984), pero no fue detectado en este experimento.

El área del laboratorio no influyó significativamente en las tres evaluaciones, sin embargo a los 127 días después del asentamiento se presenta interacción significativa entre los dos factores experimentales (inductor y área), lo que indica que el área del laboratorio influyó significativamente en el crecimiento, interactuando con el inductor a la metamorfosis. Por lo que la longitud de la concha para los juveniles asentados con diatomeas fue mayor en el exterior que en el interior, mientras que en los asentados con GABA se observó lo inverso. Esto se atribuye a que en el área exterior se obtuvo mayor producción de diatomeas debido a que se presentaron intensidades de luz más altas que en el interior (figura 4), lo que favoreció el crecimiento mayor en los juveniles asentados con diatomeas. Sin embargo, en los tanques tratados con GABA se presentó menor crecimiento en el área exterior debido a que en esta área se presentaron las densidades de cultivo más altas para ese inductor (figuras 8 y 9). McBride (1990), reportó mayor crecimiento y sobrevivencia de *H. rufescens* a intensidades de luz más altas, y lo atribuyó a diferentes tasas de fotosíntesis y a posibles diferencias en la bioquímica celular de las diatomeas bentónicas, al incrementarse la producción de clorofila *a* en niveles de luz más altos.

No se observó un efecto de la temperatura en el crecimiento ya que, si bien es un factor muy importante en el crecimiento del abulón (Leighton, 1974),

hubo otros factores que posiblemente tuvieron más influencia en el crecimiento. Analizando las pendientes de las gráficas de crecimiento (figura 7), se puede apreciar que la tasa de crecimiento más alta durante el experimento para todos los tratamientos, se presentó en el período del día 57 al 101. Durante este período se presentaron temperaturas más bajas que en el período anterior (día cero al 51), y similares al último período (día 101 al 127) (figura 3).

El crecimiento mayor presentado del día 51 al 101, se pudiera atribuir a factores fisiológicos, pues durante ese período se presentó la formación del primer poro respiratorio en los abulones tratados con GABA, y en los tratados con diatomeas se había presentado al final del período anterior (día cero al 51). El incremento en la tasa de crecimiento después de la formación del primer poro respiratorio ha sido reportado para diferentes especies de abulón (Ino, 1952; Leighton, 1972; Searcy-Bernal *et al.*, 1988; García-Mendoza, 1991). Este hecho puede atribuirse a una mayor eficiencia en la utilización del oxígeno (Ino, 1952).

Del día 101 al 127 bajó la tasa de crecimiento de los juveniles asentados con diatomeas bentónicas, mientras que los asentados con GABA presentaron una tasa similar al período anterior (día 51 al 101) (figura 7, Tabla V). La disminución en el crecimiento de los juveniles tratados con diatomeas bentónicas, parece estar relacionado a la disponibilidad de alimento, ya que si bien los tanques de ese tratamiento presentaron densidades de cultivo de postlarvas menores, el crecimiento de los abulones fue mayor en las primeras

etapas del experimento, aumentando con la talla el consumo de alimento a tal grado que superó la capacidad para proporcionárselo. La disminución del crecimiento en los juveniles asentados con diatomeas bentónicas fue más pronunciada en los tanques ubicados en el área interior, lo cual es atribuible a menor producción de diatomeas bentónicas debido a la menor intensidad de luz (figura 4) en el interior que en el exterior (McBride, 1990).

Por otro lado, los abulones del tratamiento con diatomeas bentónicas fueron sometidos al cambio de dieta de diatomeas bentónicas a macroalgas, durante el período del día 101 al 127 debido a que no fue suficiente el suministro de diatomeas. La disminución del crecimiento durante el cambio de dieta ha sido reportado por Ebert y Houk (1984) para *H. rufescens*, Searcy-Bernal *et al.* (1988) para *H. fulgens* y es atribuido a un proceso de adaptación a la nueva dieta.

El crecimiento presentado en el tratamiento con diatomeas bentónicas, fue mayor al reportado por Leighton *et al.* (1981) a 21 °C, pero menor que lo reportado por ese mismo autor a 23 °C . En todas la etapas de cultivo, el crecimiento fue menor al reportado por Searcy-Bernal *et al* (1988), pero similar al señalado por García-Mendoza (1991) (Tabla VII). El crecimiento obtenido en este trabajo para el tratamiento con GABA, durante los primeros meses de etapa poslarval, son menores que los reportados por García-Mendoza (1991) (Tabla VII).

**Tabla VII.** Crecimiento de postlarvas y juveniles de *H. fulgens* en diferentes periodos y temperaturas, reportado por diferentes autores. El asentamiento fue utilizando diatomeas bentónicas, excepto donde se especifique otro método.

Fuente	No. de org.	Longitud inicial (mm)	Duración del período (días)	Temperatura (°C)	Crecimiento (µm/día)
Leighton <i>et al.</i> , 1981	15	1.00	30	21.0	40.00
				23.0	73.30
Searcy-Bernal <i>et al.</i> , 1988	7-15	0.40	29	19.6	50.00
	7-15	1.85	41	17.2	129.10
	7-15	6.62	41	15.9	80.90
García-Mendoza, 1991	12-20	0.31	32	~18.0	47.50
García-Mendoza, 1991 (GABA)	20	0.31	32	~18.0	42.12
	283	1.66	64	~15.0	61.88
	141	5.62	27	~14.1	82.59
Ogawa <i>et al.</i> , 1992		0.40	50	~20.0	56.00
		3.20	40	~19.0	32.50
		4.50	20	~19.5	125.00
Este trabajo (diatomeas)	400	0.25	51	18.1	43.06
	400	2.42	50	15.6	65.05
	400	5.67	26	16.1	23.17
Este trabajo (GABA)	800	0.25	51	18.1	25.80
	800	1.54	50	15.6	37.67
	800	3.11	26	16.1	42.45

Las diferencias entre las tasas de crecimiento de este experimento y las reportadas por diferentes autores (Tabla VII), pueden deberse a diferentes condiciones de cultivo como son la densidad de cultivo, la calidad y cantidad de diatomeas bentónicas y macroalgas (Robert y Kawamura, 1987; Kawamura *et al.*, en prensa), y la intensidad de luz (McBride, 1990).

#### **4.3 Consideraciones finales.**

Una de las desventajas por las que no se utilizaba el GABA como inductor a nivel masivo, es el hecho de que induce al asentamiento de las larvas exclusivamente en el fondo al paralizar su acción nadadora, lo cual provoca que las postlarvas se desarrollen en un ambiente de baja calidad de agua al encontrarse en el fondo entre los deshechos metabólicos (Leighton, 1989). Sin embargo, en el sistema de cultivo de placas esta desventaja no se presenta debido a que las placas son colocadas horizontalmente al inducir al asentamiento de las larvas, y después de que éstas se asientan son colocadas verticalmente, con lo que las postlarvas son posteriormente cultivadas adheridas a sustratos verticales en los cuales no se acumulan los deshechos sólidos como las heces fecales.

Otra desventaja que inicialmente desalentó el uso del GABA a nivel masivo fue su baja efectividad en presencia de diatomeas y sin antibióticos (Morse *et al.*, 1979a, b; Morse, 1990; Slattery, 1992); sin embargo, en algunos experimentos se ha utilizado este inductor y han obtenido buenos resultados

aún en presencia de diatomeas y sin utilizar antibióticos (Searcy-Bernal *et al.*, 1992b; Salas-Garza *et al.*, 1994). Estas diferencias son atribuibles a diferentes condiciones de cultivo que podrían perturbar el efecto del GABA. Dichas condiciones de cultivo comprenden la temperatura, especie cultivada, tipo de diatomeas y bacterias en el sustrato de asentamiento (Morse, 1984; Searcy-Bernal *et al.* 1992a), edad de las larvas (Moss y Tong, 1992; Tong y Moss, 1992) así como la materia orgánica disuelta, la cual puede contener inductores y/o amplificadores a la metamorfosis (Trapido-Rosenthal y Morse, 1985, 1986; Morse, 1992) y además también contribuye a la nutrición de las larvas (Manahan y Jaeckle, 1992).

El retraso en la alimentación a un día después del asentamiento parece una buena medida en el cultivo masivo, pues evita la posible interferencia bacteriana en la acción del GABA como inductor a la metamorfosis sin el uso de antibióticos. La temperatura a la que se cultivaron las postlarvas registró su máximo de 19.7 °C al inicio del período experimental (diciembre de 1996) y disminuyó en los meses subsecuentes hasta llegar a un mínimo de 13.9°C en abril de 1997 (figura 3), a estos niveles de temperatura es posible que no haya habido una acción bacteriana importante, lo que permitió que, además de haber obtenido asentamiento y metamorfosis consistentes en los tanques tratados con GABA, se presentaran sobrevivencias subsecuentes más altas.

## 5. CONCLUSIONES.

El método de inducción a la metamorfosis con GABA y alimentando un día después del asentamiento, demostró ser efectivo en escala masiva utilizando el sistema de cultivo japonés de placas para *H. fulgens*, logrando obtener buenos rendimientos en el número de organismos producidos por tanque. Sin embargo, esos altos rendimientos provocaron densidades de cultivo de postlarvas altas que pudieron incidir en un menor crecimiento. El crecimiento podría ser mejorado proporcionando mayores cantidades de alimento a las postlarvas para lo cual se tendría que aumentar la capacidad de producción de diatomeas en este laboratorio, así como cultivar tipos de diatomeas adecuadas que proporcionen buen crecimiento. Otra alternativa para mejorar el crecimiento sería la reducción en las densidades de larvas inducidas a metamorfosis, aunque así podría disminuirse el rendimiento en número de organismos producidos por tanque.

La utilización del GABA como inductor a la metamorfosis, además de producir una sobrevivencia mayor, tiene las siguientes ventajas operativas: 1) el flujo de agua a los tanques de asentamiento y cultivo de postlarvas puede abrirse más pronto, pues la mayoría de las larvas se fijan antes de 24 horas, evitando así favorecer condiciones de cultivo inadecuadas; 2) no se requiere acondicionamiento previo de los tanques con diatomeas, ya que éstos se preparan justo antes de la inducción a la metamorfosis; 3) es barato y fácil de usar. En el sistema japonés de placas tiene la ventaja adicional de que las

larvas pueden ser asentadas casi totalmente en las placas de cultivo, al ser colocadas en posición horizontal y cubriendo el fondo del tanque con éstas al inducir a la metamorfosis, permitiendo así el cultivo posterior de las postlarvas en sustratos verticales al colocar las placas en su posición normal (vertical).

## 6. LITERATURA CITADA.

- Ebert, E.E. y Houk, J.L., 1984. Elements and innovations in the cultivation of red abalone *Haliotis rufescens*. *Aquaculture*, 39: 375-392.
- Flores-Aguilar, R., 1989. Estudio sobre la inducción del asentamiento y metamorfosis de larvas de dos especies de abulón (*Haliotis rufescens* y *H. corrugata*). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, B.C., 57 pp.
- García-Mendoza, E., 1991. Comparación a escala piloto de técnicas de producción de semilla de abulón *Haliotis fulgens* Philippi, 1845: Asentamiento y metamorfosis, densidad inicial de larvas y primera alimentación. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, B.C., 104 pp.
- Guzmán del Prío, S.A., 1992. A review of the biology of abalone and its fishery in México. En: Sheperd, S.A., Tegner, M.J. y Guzmán del Prío, S.A. (Editors). *Abalone of the World, Biology, Fisheries and Culture*. Fishing News Books, Oxford. pp 341-360.
- Hahn, K.O. (Editor), 1989. *Handbook of Culture of Abalone and Other Marine Gastropods*. CRC Press, Boca Ratón, FL, 348 pp.

- Hooker, N. y Morse, D.E., 1985. Abalone: The emerging development of commercial cultivation in the United States. En: Hunter, J.V. y Brown, E.E. (Editors), Crustacean and mollusc aquaculture in the United States, AVI Publishers, Westport, CT. pp. 356-413.
- Ino, T., 1952. Biological studies on the propagation of the japanese abalone (genus *Haliotis*). Bulletin of Regional Fishery Research Laboratory. 5: 1-102.
- Kaspar, H.F. y Mountfort, D.O., 1995. Microbial production and degradation of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) in the abalone larval settlement habitat. FEMS Microbiology Ecology, 17: 205-212.
- Kawamura, T., Roberts, R.D., y Takami, H., en prensa. A review of the feeding and growth of postlarval abalone. Journal of Shellfish Research.
- Kikuchi, S. Y Uki, N., 1974. Technical study on artificial spawning of abalone, genus *Haliotis* II. Effect of irradiated sea water with ultraviolet rays on inducing to spawn. Reprinted from: The Bulletin of Tohoku Regional Fisheries Research Laboratory. No. 33.
- Leighton, D.L., 1972. Laboratory observations on the early growth of the abalone *Haliotis sorenseni*, and the effect of temperature on larval development and settling success. Fishery Bulletin, 70: 313-381.

- Leighton, D.L., 1974. The influence of temperature on larval and juvenile growth in three species of southern California abalones. *Fishery Bulletin*: Vol. 72, No. 4: 1137-1145.
- Leighton, D.L., 1989. Abalone (Genus *Haliotis*) mariculture on the North American Pacific coast. *Fishery Bulletin*: Vol. 87, No. 3: 689-702.
- Leighton, D.L., Byhower, M.J., Kelly, J.C., Hooker, G.N. y Morse, D.E., 1981. Acceleration of development and growth in young green abalone (*Haliotis fulgens*) using warmed effluent seawater. *Journal of World Mariculture Society*, 12(1): 170-180.
- Maeda-Martínez, A. (Editor), 1994. Programa de Investigación y Desarrollo Científico para el Cultivo del Abulón. Volumen I, Secretaría de Pesca, México, D.F., 196 pp.
- Manahan, D.T. y Jaeckle, W.B., 1992. Implications of dissolved organic material in seawater for the energetics of abalone larvae *Haliotis rufescens*: a review. En: Sheperd, S.A., Tegner, M.J. y Guzmán del Prío, S.A. (Editors). *Abalone of the World, Biology, Fisheries and Culture*. Fishing News Books, Oxford. pp 95-106.
- McBride, S.C., 1990. The relative effects of diet and irradiance on the growth and survival of post-larval red abalone, *Haliotis rufescens*. M.S. Thesis, San José State University. 45 pp.

- Morse, D.E., 1984. Biochemical and genetic engineering for improved production of abalone and other valuable molluscs. *Aquaculture*, 39: 263-282.
- Morse, D.E., 1990. Recent progress in larval settlement and metamorphosis: Closing the gaps between molecular Biology and Ecology. *Bulletin of Marine Science*, 46 (2); 465-486.
- Morse, D.E., 1992. Molecular mechanisms controlling metamorphosis and recruitment in abalone larvae. En: Sheperd, S.A., Tegner, M.J. y Guzmán del Prío, S.A. (Editors). *Abalone of the World, Biology, Fisheries and Culture*. Fishing News Books, Oxford. pp 107-119.
- Morse, D.E., Hooker, N., Duncan H. y Jensen, L., 1979a. Gamma-aminobutyric acid, a neurotransmitter, induces planktonic larvae to settle and begin metamorphosis. *Science*, 204, 407-10.
- Morse, D.E., Hooker, N., Jensen, L. y Duncan, H., 1979b. Induction of larval abalone settling and metamorphosis by gamma-aminobutyric acid and its congeners from crustose red algae. II: Application to cultivation, seed-production and bioassays; principal causes of mortality and interference. *Proceedings of World Mariculture Society*, 10: 81-91.
- Morse, D.E., Duncan, H., Hooker, N., Baloun, A. y Young, G., 1980a. GABA induces behavioral and developmental metamorphosis en planktonic molluscan larvae. *Federation Proceedings*, 39: 3237-3241.

- Morse, D.E., Tegner, M., Duncan, H., Hooker, N., Trevelian, G. y Cameron, A., 1980b. Induction of settling and metamorphosis of planktonic molluscan (*Haliotis*) larvae. III: Signaling by metabolites of intact algae is dependent on contact. In: Müller-Schwarze, D. And Silverstein, R.M. (Editors), Chemical signals. Vertebrate and aquatic invertebrates. Plenum Press. N.Y., 445 pp.
- Moss, G.A. y Tong, L.J., 1992. Effect of stage of larval development on the abalone, *Haliotis iris*. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research, 26: 69-73.
- Ogawa, J., Muciño-Díaz, M. y Aguilar-Osuna, D., 1992. Producción de semillas de abulón *Haliotis fulgens* en el laboratorio de la Sociedad Cooperativa Progreso de Producción Pesquera, S.C.L. en La Bocana, B.C.S., México. Secretaría de Pesca, Instituto Nacional de la Pesca. 63pp.
- Pérez-Muñoz, G.E., 1995. El cultivo de abulón en México: Desarrollo histórico, estado actual y sus perspectivas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, B.C., 121 pp.
- Preece, P.A., Shepherd, S.A., Clarke, S.M. y Keesing, J.K., 1997. Abalone stock enhancement by larval seeding: effect of larval density on settlement and survival. In: Shepherd, S.A., McShane. P.E. and Wells, F.E. (Editors), Molluscan Research, 18(2): 265-273.

- Ramírez-Granados, R., 1992. Alternativas científicas para la recuperación de los recursos abuloneros de la Baja California, México: administración, biológico-pesquera y acuacultura. En: Sheperd, S.A., Tegner, M.J. y Guzmán del Prío, S.A. (Editors). *Abalone of the World, Biology, Fisheries and Culture*. Fishing News Books, Oxford. pp 361-369.
- Roberts, R.D. y Nicholson, C.M., 1997. Variable response from abalone larvae (*Haliotis iris*, *H. virginea*) to a range of settlement cues. In: Shepherd, S.A., McShane, P.E. and Wells, F.E. (Editors), *Molluscan Research*, 18(2): 131-141.
- Roberts, R. y Kawamura, T., 1997. Diatoms for paua culture: a workshop for paua farmers. Cawthron Report No. 392. Cawthron Institute, Wellington, New Zealand, 31 pp.
- Salas-Garza, A.E. y Searcy-Bernal, R., 1992. Desarrollo y estado actual del cultivo de abulón en México. En: Sheperd, S.A., Tegner, M.J. y Guzmán del Prío, S.A. (Editors). *Abalone of the World, Biology, Fisheries and Culture*. Fishing News Books, Oxford. pp 538-546.

- Salas-Garza, A., Vázquez-Moreno, E., Carpizo-Ituarte, E. y McAnally-Salas, L.S., 1994. *Haliotis fulgens* larvae induced to metamorphose with GABA and other inducers on vinyl plates. Abstract Second International Symposium on Abalone Biology, Fisheries and Culture. 7th-11th February, 1994. Hobart, Tasmania.
- Searcy-Bernal, R., 1994. Current use of gamma-aminobutyric acid in massive-scale abalone seed production. Presentado en el 2º. Simposio Internacional sobre Abulón, Hobart, Tasmania, Australia. Febrero 7-11 de 1994.
- Searcy-Bernal, R., 1996. Boundary layers and abalone postlarval culture: Preliminary studies. *Aquaculture* 140: 129-137.
- Searcy-Bernal, R. y Anguiano-Beltrán, C., 1998. Optimizing the concentration of gamma-aminobutyric acid (GABA) for inducing larval metamorphosis in the red abalone *Haliotis rufescens* (Mollusca: Gastropoda). *Journal of the World Aquaculture Society*, 29(4):463-470.
- Searcy-Bernal, R., Salas-Garza, A. y Flores-Aguilar, R., 1988. Crecimiento de postlarvas y juveniles de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en un laboratorio en México. *Ciencias Marinas*, 14(4): 57-72.

- Searcy-Bernal, R., Salas-Garza, A.E. y Flores-Aguilar, R.A., 1992a. Research in México on the critical stage of abalone (*Haliotis spp.*) seed production. En: Sheperd, S.A., Tegner, M.J. y Guzmán del Prío, S.A. (Editors). Abalone of the World, Biology, Fisheries and Culture. Fishing News Books, Oxford. pp 547-560.
- Searcy-Bernal, R., Salas-Garza, A.E., Flores Aguilar, R.A. e Hinojosa-Rivera, P.R., 1992b. Simultaneous comparison of methods for settlement and metamorphosis induction in the red abalone (*Haliotis rufescens*). Aquaculture 105: 241-250.
- Seki, T. Y Kan-no, H., 1977. Synchronized control of early life in the abalone, *Haliotis discus hannai* Ino, Haliotidae, Gastropoda. Bulletin of Tohoku Regional Fisheries Resources Laboratory, No. 38.
- Seki, T., y Kan-no, H., 1981. Induced settlement of the Japanese abalone *Haliotis discus hannai* veliger by the mucous trails of the juvenile and adult abalone. Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab., 43: 29-34.
- Slattery, M. 1992. Larval settlement and juvenile survival in the red abalone (*Haliotis rufescens*): an examination of inductive cues and substrate selection. Aquaculture, 102: 143-153.
- Suzuki, H., Ioriya, T., Seki, T. y Aruga, Y., 1987. Changes of algal community on the plastic plates used for rearing the abalone *Haliotis discus hannai*. Nippon Suisan Gakkaishi, 53 (12): 2163-2167.

- Takahashi, K. y Koganezawa, A., 1988. Mass culture of *Ulvelia lens* as a feed for abalone, *Haliotis discus hannai*. NOAA Technical report, NMFS, 70: 29-36.
- Tong, L.J. y Moss, G.A., 1992. The New Zealand culture system for abalone. En: Sheperd, S.A., Tegner, M.J. y Guzmán del Prío, S.A. (Editors). Abalone of the World, Biology, Fisheries and Culture. Fishing News Books, Oxford. pp 583-591.
- Tong, L.J., Moss, G.A. e Illinworth, J., 1987. Enhancement of natural population of abalone, *Haliotis iris*, using cultured larvae. Aquaculture, 62: 67-72.
- Trapido-Rosenthal, H. y Morse, D., 1985. L- $\alpha$ , $\omega$ -Diamino acids facilitate GABA induction of larval metamorphosis in a gastropod mollusc (*Haliotis rufescens*). Journal of Comparative Physiology B, 155: 403-414.
- Trapido-Rosenthal, H. y Morse, D., 1986. Regulation of receptor-mediated settlement and metamorphosis in larvae of a gastropod mollusc (*Haliotis rufescens*). Bulletin of Marine Science, 39 (2): 383-392.
- Uki, N., 1989. Abalone seedling production and its theory (1). International Journal of the Aquaculture and Fisheries Technology, Vol 1: 3-15.
- Uki, N. y Kikuchi, S., 1984. Regulation of maturation and spawning of an abalone, *Haliotis* (Gastropoda) by external environmental factors. Aquaculture, 39: 247-261.