

Avances en la Nutrición, Fisiología Digestiva y Metabolismo del Abulón

María Teresa Viana Castrillón

Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad Autónoma de Baja California.
Km. 107 Carretera Tij-Eda, 22860 Ensenada BC México.
Tel. (646) 1745 462, Fax. (646) 1755 530, viana@uabc.mx

INTRODUCCIÓN

Grandes avances en el ámbito de la nutrición del abulón se han llevado a cabo en los últimos años, no solo para lograr un objetivo común que es la obtención de abulones con tasas mayores de crecimiento, sino también por el gusto de investigar a este fascinante molusco, que por ser un organismo filogenéticamente de los más primitivos, nos lleva de la mano durante un gran número de facetas evolutivas para llegar a entender todos los procesos que se llevan a cabo dentro de él. De tal forma que nos encontramos con un molusco sumamente eficiente que es capaz de sobrevivir por largos periodos en inanición utilizando el tejido proteico como fuente energética para cubrir sus requerimientos de energía basal, mientras que los lípidos no son utilizados y utiliza bacterias para hacer más eficiente su fisiología digestiva.

El alimento que consumen para que sea provechoso requiere de una máxima digestión para que una mínima parte sea desechada y la mayor proporción quede para darle energía para sobrevivir y crecer. De esta manera, el abulón posee un sistema de digestión eficiente para degradar carbohidratos del tipo de diversas fibras como celulosa, agar, alginato, carragenano y almidón, con la ayuda de bacterias digestivas, de las cuales posiblemente incluso, las utilice como fuente de nutrientes. Además, presenta tasas de eficiencia de alimentos de hasta el 130%, lo cual reitera su alta capacidad y eficiencia.

Sin embargo, nos encontramos con un organismo que crece lentamente debido a sus hábitos lentos desde alimentación y movimiento. Es así que la nutrición y alimentación del abulón se convierta en un reto que en conjunto con un esfuerzo en conjunto con el desarrollo de líneas genéticas, ingeniería genética y sistemas de producción en conjunto con la investigación de nutrición logremos al final producir un abulón de talla comercial en menor tiempo del que actualmente es necesario.

GENERALIDADES

El abulón es un molusco de gran importancia para la economía de muchos países, como China, Taiwan, México, Australia, Japón, Nueva Zelandia, Sudáfrica, etc. Donde la sobre explotación de este recurso, aunado a su lento crecimiento y destrucción de su hábitat natural ha causado que el valor comercial de las diferentes especies se haya elevado lo suficiente como para catalogar esta pesquería en un recurso exótico. Por lo anterior, su

Viana Alfaro, M.T., 2002. Avances en la nutrición, fisiología digestiva y metabolismo del abulón. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). Avances en Nutrición Acuicola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.

cultivo se ha convertido en una actividad muy atractiva, tanto para su engorda comercial como para satisfacer los programas de repoblación para la recuperación de la especie en su medio natural. Hoy en día, cada país ha ido adaptando la tecnología de acuerdo a su situación geográfica así como características económicas y materiales disponibles en el área, dando por resultado diversos sistemas de cultivo. Sin embargo, la mayoría de éstos implican la utilización de alimentos naturales, los cuales no siempre cubren sus requerimientos o se encuentran disponibles, por lo que uno de los problemas comunes a resolver es la alimentación y nutrición de las diversas especies de abulón.

El abulón es un organismo gasterópodo herbívoro que en forma natural se alimenta de macroalgas (Hahn, 1989). Sin embargo, se cree que para lograr un óptimo crecimiento, se requiere de cantidades de proteína mayores que las contenidas en ellas (Mai *et al.*, 1995). Es por esto, que se piensa que el abulón, en el medio natural, debe de alimentarse en gran medida de organismos epífitos de las macroalgas. Por otro lado, el suministro de macroalgas en una explotación comercial puede dar lugar a la introducción de patógenos del medio natural hacia las granjas, además de presentar una gran variedad en su composición proximal durante el transcurso del año (Rodríguez-Montesinos & Hernández-Carmona, 1991). Este hecho hace que la nutrición del abulón en cultivo sea difícil, ya que es necesario el suministro de una alimentación diversa aparte de las macroalgas. Esto puede lograrse cuando es favorecida la producción de diatomeas bentónicas en los estanques (Arroyo *et al.*, 1996), las cuales para su desarrollo en una cantidad substancial, hace necesaria la disminución de la densidad de abulones por estanque, o bien, con el empleo de dietas balanceadas. Estas, son capaces de resultar en tasas de crecimiento mayor que la obtenida con macroalgas en condiciones de cultivo (Viana *et al.*, 1993a; Britz *et al.*, 1994). El problema para implementar los alimentos balanceados ha sido, que con su uso se permita un margen de ganancia atractivo para el productor compensando el costo del alimento junto con el largo periodo para llegar a la talla comercial. Esto, ya que hasta la fecha se han utilizado ingredientes costosos con una manufactura especial (debido a su forma) y que no siempre se cubren los requerimientos del abulón por falta de investigación, aunado a que el tipo de sistemas utilizado para la explotación del abulón no siempre se presta al empleo de dietas balanceadas.

Para poder abaratar el costo del alimento balanceado se necesita el conocimiento básico sobre su nutrición y fisiología metabólica para aprovechar de una manera más eficiente los nutrientes de la dieta. Es por esto, que el estudio de la fisiología digestiva y metabolismo nutricional del abulón sea considerado como un factor crucial para su cultivo exitoso (Fleming *et al.*, 1996).

En varios países como Japón, Australia, Nueva Zelanda y Sudáfrica producen ya de manera comercial dietas balanceadas. Estas si bien están dando buenos resultados su costo, incluyendo producción y envío, hace imposible su utilización en otras áreas.

En el Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la Universidad Autónoma de Baja California se han desarrollado a lo largo de once años una serie de experimentos elaborando dietas balanceadas con ingredientes locales (harina de pescado, ensilaje de subproductos

pesqueros de atún y de vísceras de abulón y otros moluscos) comparando con fuentes comerciales de proteína de óptima calidad, como lo es la caseína y dietas comerciales para abulón. Estos experimentos probaron en todos los casos que las tasas de crecimiento son mejores que lo observado con la alimentación natural, en este caso, la macroalga *Macrocystis pyrifera*. Sin embargo, se ha observado que las prácticas comerciales pueden dar lugar a diferentes resultados bajo condiciones comerciales, por lo que resulta importante hacer pruebas comerciales antes de dar los resultados a nivel de investigación experimental, ya que el tipo de sistema es de importancia para que una dieta balanceada este disponible para el organismo.

Los abulones viven adheridos al fondo, que en el caso de los estanques de cultivo, se adhieren a las paredes de los estanques y para aumentar el área superficie se utilizan refugios hechos de fibra de vidrio o similares. Entonces para alimentarse son capaces de tomar las algas que se encuentran en el medio levantando su cuerpo sin desprenderlo de la superficie sujetando las algas con el manto y aprisionándolo contra el substrato, preferentemente durante la noche, posición en la que pueden permanecer durante horas mientras se alimentan. Por su parte, las dietas balanceadas son planas y densas para que puedan ser utilizadas por el abulón de la misma manera, además de tener una buena estabilidad en el agua, de tal manera que no pierdan más de un 10% de materia seca después de 12 horas de permanencia. Por otro lado, los estanques utilizados en la mayoría de las granjas, presentan cierta profundidad, lo que hace que el abulón tenga que dirigirse al alimento en vez de que este llegue a ellos, con un consecuente gasto de energía. Por otro lado, al permanecer posado sobre el alimento, limita el consumo de los demás abulones, incrementando el porcentaje de desperdicio en detrimento de la tasa de conversión alimenticia comercial. Por esto, en Australia han dedicado mucho tiempo en el diseño de alimentos y estanques (sistemas) adecuados para su uso, llegando a un sistema con flujo laminar (5-7 cm de profundidad) sin aireación, que permite que el alimento (granulado) se distribuya homogéneamente con un mínimo de desperdicio y máxima eficiencia. Sin embargo, se sabe que algunas especies de abulón son más activas que otras por lo que estos sistemas no podrían ser transferidos a todos los sistemas de cultivo, recomendando hacer pruebas preliminares antes de tomar una decisión al respecto.

ALIMENTACIÓN Y NUTRICIÓN

1. *Larvas y poslarvas*

Las larvas de abulón son lecitotróficas, es decir, no requieren de alimentación directa, aunque es muy importante la cantidad y tipo de materia orgánica disuelta, ya que se ha comprobado que existe absorción de importantes nutrientes a través del tejido, como aminoácidos y carbohidratos solubles (Jaekle & Manahan, 1989; Manahan, 1989; Manahan, 1990). Experimentos a escala comercial han sido desarrollados, sin embargo, por la carencia de control de las variables no se ha llegado a implementar dichos conocimientos a escala comercial, por lo que se recomienda seguir haciendo más investigación a este respecto de tal manera que se pueda mejorar el estado general de nutrición en estos estadios donde la tasa de mortalidad es elevada.

Más tarde, las postlarvas se alimentan activamente de diatomeas bentónicas, cuya presencia tanto en cantidad como calidad limita su crecimiento, además de la densidad de los organismos en cultivo. Este es el periodo del abulón que puede ser más costoso, ya que dependerá de una buena producción de diatomeas con una alta mortalidad tasa durante un periodo que puede llegar a durar hasta 6-7 meses hasta que éstos sean transferidos a la alimentación por algas o alimento balanceado.

A esta edad, las postlarvas deberán llegar a los 6-8 mm, cuando la rádula raspadora ha adquirido cierta dureza para raspar el alimento natural o balanceado.

La nutrición y fisiología de poslarvas es quizás la etapa menos estudiada en el abulón donde se conoce lo siguiente:

1. Se cree que el grado de digestibilidad de las diatomeas depende de la relación entre la fuerza de adhesión de las diatomeas al sustrato y la fuerza raspadora de la rádula de las postlarvas para lograr el rompimiento de la pared de las diatomeas y así tener acceso a los nutrientes. De tal manera que una misma diatomea tendrá una diferente digestibilidad entre dos organismos de una misma especie pero de diferente edad (Kawamura *et al.*, 1998) o entre dos organismos con diferente fuerza de la rádula.

2. Al parecer, en postlarvas hasta las 600-800 μm de longitud no se observan diferencias significativas en crecimiento con diferentes tipos de diatomeas. Esto se puede deber a que las postlarvas de esa edad aún estén utilizando las reservas restantes que les quedan a partir del saco vitelino aunado a la fuerza de la rádula para triturar la pared celular, o bien a que su tubo digestivo aún no se encuentre del todo maduro para producir o generar las enzimas necesarias. Y es precisamente durante la etapa inicial donde los productores ponen mayor énfasis en la calidad y cantidad de diatomeas en los estanques de producción. Por otro lado, existen indicios de que las bacterias juegan un papel muy importante en la digestión de la materia vegetal en el abulón. Si esto es cierto, entonces podría implicar el que en esta etapa temprana, el estómago no está del todo maduro como para contener a la flora bacteriana.

3. En cambio, postlarvas de 0.8 a 4 mm de longitud, la calidad y abundancia de diatomeas es crítica para resultar en un crecimiento óptimo, siendo precisamente esta etapa donde se descuida más la producción de diatomeas, donde incluso, es práctica común el permitir el asentamiento de colonias naturales (segunda fase) que generalmente es de mala calidad y en ocasiones con muy poca abundancia, perdiendo el control para obtener una alimentación adecuada. Por esto, es recomendable en esta etapa la inoculación de las especies de diatomeas que se consideren importantes, de manera continua (goteo) o discontinua (pulsos) para poder contar una buena densidad de alimento durante esta etapa. Es así que de esta manera podrá ser el sistema utilizado más eficiente.

2. Juveniles

Por lo general, al igual que cualquier tipo de producción animal, la meta es el obtener organismos de una manera controlada donde se pueda planear el tiempo de crecimiento, costos de producción y calidad de los organismos. Esto, se logra en parte si se cuenta con un alimento que contenga los requerimientos nutritivos y con calidad uniforme durante todo el tiempo de producción. Por esto, los alimentos balanceados son tan importantes en cualquier sistema de producción.

Hoy en día el alimento balanceado para abulón a nivel comercial existe en varios países, sin embargo, en ocasiones su costo es alto, su acceso es difícil, o bien su calidad no es la adecuada. Sin embargo, la investigación ha permitido que estos factores se vayan mejorando. En general las dietas balanceadas muestran un alto contenido de proteínas (20-50%), carbohidratos (30-60%), bajo en lípidos (1.5-5.3%), fibra (0-6%), con una alta cantidad de mezcla de minerales (4-5%) y vitaminas (0.5-2%) (Fleming *et al.*, 1996).

FUENTES PROTEICAS Y SU UTILIZACIÓN

La proteína es proporcionada, por lo general, a partir de fuentes como harina de pescado, harina de soya y caseína (Uki *et al.*, 1985; Hahn, 1989; Gorfine, 1991; Britz, 1996a y b). Aparte de que otras nuevas alternativas de proteína como ensilados de pescado (López & Viana, 1995), y vísceras de abulón (Viana *et al.*, 1996) o *Spirulina* spp. se han ensayado, aunque su utilización no ha sido hasta ahora muy significativa (Fleming *et al.*, 1996). En el caso de una dieta comercial sudafricana *Abfeed*, se utiliza 10% de *Spirulina* spp. en la formulación (Britz *et al.*, 1994); además, se ha demostrado que con una mezcla de ensilaje de vísceras de abulón con harina de soya es posible substituir por completo a la harina de pescado sin resultar en diferencias significativas en el crecimiento (Guzmán & Viana, 1988).

Las proteínas son el nutrimento más caro en una dieta balanceada, esenciales en el crecimiento del tejido suave del abulón. Según Fleming *et al.* (1996) el nivel óptimo de proteína en las dietas balanceadas para abulón se ha estimado a través de métodos empíricos donde se ha tomado como base la concentración de proteína cruda en la dieta a la cual se tiene un crecimiento favorable. Esto se basa en que los requerimientos de proteína no se pueden cubrir con el incremento en su suministro si se trata de una proteína inadecuada para un organismo dado. Por ésto, es necesario asegurar que la proteína suministrada sea de alta calidad antes de su inclusión en los niveles que el organismo requiere. Si las necesidades de cantidad de proteínas del abulón son cubiertas en forma adecuada, es necesario conocer los requerimientos de aminoácidos específicos, para el balance más apropiado y su disponibilidad en una variedad de fuentes proteicas (Mai *et al.*, 1994; Fleming *et al.*, 1996) y así obtener el nivel adecuado en la dieta (Coote *et al.*, 2000). Por otro lado, la razón proteína:energía resulta ser importante para determinar el consumo del alimento, consistiendo en que a determinado valor calórico en la dieta, lo cual determina el consumo y se tratará más adelante, debe de contener una cantidad apropiada

de proteína. Es por esto, que en la mayoría de los casos el aumento de la proteína resulta en una respuesta positiva en el crecimiento al ofrecer alimentos ricos en calorías. Sin embargo, resulta necesario hacer nuevas dietas balanceadas a con menor contenido energético para estudiar los niveles de proteína óptica con base al consumo y digestibilidad de la proteína ofrecida.

En realidad, pocos estudios han abordado la identificación de aminoácidos limitantes en las dietas balanceadas y los requerimientos diarios de aminoácidos para el abulón. Esto, más por la dificultad de trabajar con aminoácidos estables en el agua que por su importancia, ya que al tratarse de alimentos que deben permanecer durante muchas horas en el agua la ingestión de dietas con cantidades específicas de éstos nutrientes son poco controlables. Britz, (1996), hizo un intento al estudiar la arginina, encontrando tasas de pérdida mayores al 10% después de un tiempo corto de permanencia en el agua. En términos generales se reportan para *H. rufescens* a la treonina, valina, metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina, triptófano, lisina, histidina y arginina como aminoácidos esenciales (Fleming *et al.*, 1996). El estudio de aminoácidos contenidos en plasma podría dar un indicio de los principales aminoácidos que son utilizados y no sintetizados por el organismo, sin embargo, en un estudio reciente (Suarez-Garcia, 2002), se logró determinar que el abulón es muy eficiente para movilizar los aminoácidos del tejido hacia el plasma en estados de inanición no encontrando diferencias significativas entre el contenido de aa entre tejido, aa libres en tejido y plasma después de un periodo de inanición de 30 días, encontrando una pérdida de peso del 3% en el abulón *Haliotis fulgens*. Donde además, un gran porcentaje de aminoácidos se encuentra en forma libre donde la taurina constituye casi el 50%.

Por otro lado, se ha sugerido que el abulón requiere grandes contenidos de arginina obedeciendo al alto contenido de este aminoácido en el tejido, además de conocer que la mayoría de los invertebrados marinos lo requieren en altas cantidades por su papel como fosfógeno utilizándolo para la realización de movimientos bruscos, por lo que su estudio será de suma importancia para determinar los niveles adecuados y encontrar la fuente proteica ideal para su balanceo.

RELACIÓN PROTEÍNA:ENERGÍA

Pocos trabajos se han enfocado sobre la razón proteína energía en el abulón, donde Bautista-Teurel & Millamena (1999) balancearon diferentes razones proteína:energía, sin embargo también se variaron los perfiles de aminoácidos, por lo que los resultados podrían estar enmascarados. Por otro lado, Britz, (1997) realizó un estudio en el que las diferentes razones proteína:energía se obtuvieron por medio de la inclusión de diferentes niveles de lípidos, en este estudio una de las principales conclusiones es que dietas con altos niveles de lípidos (10%) resultan en un efecto negativo sobre el crecimiento, pero igual, no queda claro si las diferencias se deben al tipo de lípido utilizado o a la razón P:E. Sin embargo, recientemente, (Gómez-Montes *et al.*, sometido al Journal of Aquaculture) se ha logrado demostrar con dietas que mantuvieron el mismo perfil de aminoácidos y ácidos grasos, que la ingestión del alimento depende del contenido calórico en la dieta donde entre 60 y 65 cal por gramo de organismo (peso húmedo con concha) son ingeridos diariamente por un

abulón juvenil, de tal manera que en la cantidad correspondiente a las 60 cal deberá incluir la cantidad de nutrientes necesarios para asegurar el crecimiento óptimo. El contenido energético de las dietas es por eso muy importante ya que nos permitirá de una manera fácil establecer la razón P:E contenida en las dietas para hacer su balanceo. Por otro lado, que la razón P:E es de 100 considerando la Kcal. como la unidad energética. De esta manera, el segundo paso será el encontrar el nivel mínimo de proteína requerido conservando esta misma razón que asegure el máximo de ingestión alcanzando el óptimo de ingestión proteica por gramo de tejido y posteriormente, con dietas por debajo de los requerimientos de aminoácidos se podrá más fácilmente, estudiar a los aminoácidos esenciales y limitantes.

CARBOHIDRATOS, SUS REQUERIMIENTOS Y UTILIZACIÓN

El abulón es un herbívoro, y como tal, debe de tener la capacidad de degradarlos, además un elemento importante en el balanceo de dietas es el conocer su aprovechamiento para conocer cuales fuentes son las más apropiadas para rellenar las dietas al 100% después de que los otros nutrientes han sido incluidos.

En las dietas de abulón por lo general incluyen cereales como harina de trigo, harina de maíz o subproductos, almidón de maíz o almidón de arroz, donde el almidón juega un papel importante tanto para suministro de energía, como por su papel como agente enlazante o ligante en las dietas (Fleming *et al.*, 1996). Existen un buen número de trabajos que demuestran que el almidón es fácilmente degradado, sobre todo el de maíz. Existen varios reportes que indican que el abulón posee enzimas capaces de degradar una gran variedad de enlaces de monosacáridos como α -D-galactosa, β -D-galactosa, α -L-fucosa, α -D-glucosa, β -D-glucosa, ácido β -D-glucurónico, α -D-manosa, β -D-manosa, α -D-xilosa, β -L-xilulosa y β -D-xilosa (Benett *et al.*, 1971). Sin embargo, este tipo de estudios no han logrado distinguir el origen real de estas enzimas ya que se sabe que el abulón posee bacterias simbióticas que al igual que en herbívoros superiores ayudan a degradar los carbohidratos.

Al mismo tiempo, la utilización de carbohidratos complejos (polisacáridos) en el abulón aún no se conoce ampliamente, pero se ha reportado que éstos presentan un sistema de enzimas capaces de hidrolizar carbohidratos complejos presentes en algas (Nakada y Sweeny, 1967), su alimento natural. Por otro lado, Uki *et al.* (1985) establecieron que a medida que se incrementa el nivel de celulosa en la dieta es posible observar un efecto significativamente negativo en el crecimiento, aún a niveles bajos de celulosa. Además, los carbohidratos solubles constituyen la fuente primaria de energía. Un abulón que consume entre el 1.5 y 2 % de su peso/día de una dieta balanceada con 50% de carbohidratos podría considerarse que consume un exceso en los requerimientos de energía del organismo (Gorfine, 1991).

Por ser herbívoros los abulones, en principio, deberían poder degradar carbohidratos estructurales, pues se ha detectado en extractos de contenido estomacal, la presencia de enzimas digestivas con características para hidrolizar alginatos, celulosa, etc., (Oshima, 1931; Nakada & Sweeny, 1967; Leighton, 1968; Mody & Chauhan, 1993). Varios autores han apuntado la importancia o al menos la presencia de bacterias digestivas en el abulón.

En el laboratorio del Instituto de Investigaciones Oceanológicas hemos demostrado que la presencia de celulosa en la dieta estimula la producción de enzimas digestivas (Monje & Viana, 1998) y que existen bacterias celulolíticas en el estómago del abulón (ver cuadro 1). Sin embargo, algunos autores (Erasmus *et al.*, 1999) establecen que a pesar de haber bacterias con actividad celulolítica, el abulón también presenta enzimas propias capaces de degradar carboximetilcelulosa.

Cuadro 1. Actividad enzimática de alginasas y celulasas en el estómago de juveniles de abulón *Haliotis fulgens* alimentados con una dieta sin y con celulosa (DA y DC). El error estándar se indica con paréntesis.

	DA*	DC**	P
ALGINASAS	0.04 (0.01)	0.26 (0.02)	0.001
CELULASAS	1.87 (0.15)	3.24 (0.31)	0.003

*DA-Dieta con alginato de sodio al 20%

**DC Dieta con celulosa al 19% y 1% de alginato como aglutinante

Dentro de los mamíferos capaces de digerir celulosa, pueden identificarse dos grupos, aquellos que dependen fuertemente de los metabolitos, y aquellos que utilizan únicamente los metabolitos como un complemento nutricional. De cualquier manera, ninguno de ellos puede degradar celulosa a partir de sus propias enzimas por lo que depende de microorganismos digestivos para llevar a cabo este proceso. En cualquier caso, la digestibilidad de la celulosa, la cual varía de acuerdo a un número de factores (Merchen & Bourquin, 1994) se espera que ocurra entre los rangos del 40-60% o de 0-20% para los animales de ambos grupos, respectivamente (Van Soest, 1994). Las bacterias simbióticas de los mamíferos digieren la celulosa adhiriéndose a ella como sustrato liberando entonces sus enzimas las cuales se difunden dentro del complejo estructural de la matriz de celulosa. Estas enzimas se producen ya sea de manera extracelular o enlazadas en la membrana de los microbios. Sin embargo, cuando las bacterias son destruidas, liberan las enzimas directamente actuando seguramente sobre la celulosa.

Se piensa que el abulón debe degradar de manera similar la celulosa, ya que evolutivamente entre los invertebrados no se ha podido comprobar del todo la presencia de enzimas digestivas propias que degraden por sí mismas las fibras de celulosa.

La celulosa cristalina, también conocida como celulosa verdadera constituye un carbohidrato estructural, que es degradado de acuerdo a Wortington (1999) en dos pasos: el primero se refiere a la pre-hidrólisis dentro de las cadenas ahidro-glucosa para ser hinchadas o hidratadas, paso que corresponde al sistema de enzimas C_1 . El segundo paso involucra el rompimiento hidrolítico de los ahora polímeros susceptibles, acción que se lleva a cabo al azar o en los carbonos terminales por un complejo enzimático llamado C_x que consiste de exo o endo β -1, 4 glucanasas y β -glucosidasas (celobiasa) que atacan los derivados solubles de la celulosa que ha sido disuelta por un tratamiento ácido o álcali. Por lo anterior, es recomendable que para medir la actividad de la celulosa verdadera, la forma más cristalina sea utilizada.

Recientemente en investigaciones en proceso en el IIO (Lazo de la vega, estudiante de maestría) ha sido posible aislar un gran número de cepas de organismos silvestres, y de cultivo ya sea a partir de abulones con alimentación con dietas naturales, balanceadas o ambas, identificando en todos los casos cepas con actividades similares para degradar celulosa, alginato, agar, carragenano, etc. Por esto, será de suma importancia poder definir el manejo adecuado de los organismos para se favorezca la producción de bacterias benéficas para un aprovechamiento máximo de los nutrientes, tanto los adquiridos por alimentación como por los proporcionados por las bacterias presentes en el estómago.

LÍPIDOS Y SU UTILIZACIÓN

El conocimiento sobre ácidos grasos esenciales (AGE) en la nutrición de moluscos es escaso (Voogt, 1983; Mai *et al.*, 1996; Caers *et al.*, 1999) en comparación con la información disponible para peces y crustáceos (Watanabe & Takeguchi, 1989; Rodríguez *et al.*, 1993; Sargent *et al.*, 1993; Shiao, 1998).

En lípidos de animales marinos los ácidos grasos poliinsaturados (AGP) n-3 como 20:5n-3 y 22:6n-3 son característicos y se les asocia como ácidos grasos esenciales (AGE) (Sargent, 1976; Voogt, 1983; Delaunay *et al.*, 1993; Knauer & Sothgate, 1997). Sin embargo, en el abulón se ha prestado poca atención a los requerimientos de AGE debido a que se ha demostrado que sus requerimientos de lípidos totales son bajos (Uki & Watanabe, 1992; Mai *et al.*, 1996).

En el abulón japonés *Haliotis discus hannai* se ha establecido que los AGE que requiere son del tipo n-3 y n-6, donde la inclusión de AG del tipo 18:2n-6 y 18:3n-3 resultan en una mayor tasa de crecimiento y eficiencia alimenticia aunque es menor que cuando se incluyen los AG 20:4n-6 ó n-3 (Uki *et al.*, 1986). A partir de ensayos de alimentación con *H. discus hannai* y algas con diferentes perfiles de ácidos grasos, se estimó que el abulón es incapaz de sintetizar 18:2n-6, 18:3n-3 y 18:4n-3, sugiriéndose que 20:4n-6 pueda ser un AG que afecta directamente el crecimiento del organismo (Floreto *et al.*, 1996). Por otro lado, con base en un estudio comparativo entre el abulón japonés *H. discus hannai* y la especie europea *H. tuberculata* se especula que 20:5n-3 presenta un papel importante en el crecimiento de ambas especies, y que el 18:3n-3 puede influir en el desarrollo de *H. tuberculata* y 18:2n-6 en el de *H. discus hannai*.

En las especies australianas comerciales de abulón *H. laevis* y *H. rubra* se reportó que los ácidos grasos 16:0, 18:0, 18:1n-9, 18:1n-7, 20:4n-6, 20:5n-3 y 22:5n-3 fueron los principales componentes de los lípidos encontrados en músculo independientemente de especie, edad y dieta (Dunstan *et al.*, 1996).

Los animales marinos en general muestran a 20:5n-3 y 22:6n-3 como AGE, en contraste con diversas especies de *Haliotis spp.* quienes muestran un alto contenido de 22:5n-3 y una reducida concentración de 22:6n-3 (Uki *et al.*, 1986; Dunstan *et al.*, 1996; Floreto *et al.*, 1996), lo cual sugiere que el abulón podría tener diferentes requerimientos de AGE con relación a otros animales marinos (Dunstan *et al.*, 1996).

Hasta hace poco, la información disponible sobre requerimientos de ácidos grasos esenciales en abulón era de tipo cualitativo, excepto en *H. discus hannai*, donde se recomienda que las dietas que contengan 5% de lípidos que 1% sea de AGP n-3 (Uki *et al.*, 1986). Por otro lado, se ha dicho que organismos alimentados con dietas sin lípidos o deficientes en ácidos grasos esenciales (AGE) presentan un aumento en el contenido del ácido eicosatrienoico 20:3(n-9) (Sargent, 1993; Dunstan *et al.*, 1996), fenómeno que también ha sido observado en conejos, pollos y ratas. Por lo tanto se ha propuesto como índices de deficiencia de AGE las relaciones 20:3(n-9)/20:4(n-6) y 20:3(n-9)/22:6(n-3). En peces como la carpa, valores de <0.4 y <0.6 indican que el organismo está recibiendo una adecuada cantidad de (n-6) y (n-3), y valores mayores de 0.4 para 20:3(n-9)/22:6(n-3) en mamíferos (Watanabe & Takeguchi, 1989), mientras que para abulón se reporta que valores < 0.8 del índice de AGE $\Sigma n-9/(20:4n-6+22:5n-6+22:6n-3)$ se han reportado como indicadores de que el organismo está recibiendo una dieta con suficientes cantidades de AGE (Uki *et al.*, 1986).

Sin embargo, recientemente, estudios llevados a cabo por Durazo et al. (enviado al JWAS y otros en preparación) han demostrado que los lípidos en el abulón influyen directamente sobre el perfil de AG en tejido como se había demostrado con anterioridad, sin embargo al probar alimentos balanceados con diferentes aceites(oliva, linaza, maíz y pescado) a 3 niveles de inclusión (1.5, 3 y 5%) utilizando un control de referencia sin lípidos (0.2% de lípidos según extracción metanol/cloroformo) se observó que no existieron diferencias significativas entre aceites con un máximo crecimiento al nivel de 1.5%. Lo interesante fue observar que aún el tratamiento sin lípidos alcanzó el máximo crecimiento, presentando diferencias en el perfil de ácidos grasos acumulados en tejidos entre todos los tratamientos vs el control de referencia, sugiriendo que no se trataba de alguna contaminación por el posible crecimiento de diatomeas en las unidades experimentales. Más estudios con este respecto en estado de inanición se están desarrollando actualmente para observar bajo este estado cuales son los ácidos grasos que tienden a acumularse o utilizarse con respecto a los que se están ingiriendo o depositando a partir de dietas sin lípidos.

Por las observaciones anteriores es que existe la fuerte sospecha de que las bacterias estén aportando los lípidos necesarios a los abulones cuando la dieta carece de ellos. Por esto, una nueva línea de investigación se está desarrollando en la UABC para estudiar el papel que éstas desempeñan en la nutrición del abulón.

Los lípidos no muestran un aporte de energía significativo en la dieta del abulón. Se ha establecido que un nivel mayor al 5% resulta en un retardo en el crecimiento (Uki *et al.*, 1986; Mai *et al.*, 1995a). Estos, son suministrados en los alimentos balanceados en forma de aceite de pescado o aceite vegetal, ya sea con los lípidos contenidos en la harina de pescado o bien con combinaciones entre éstos (Hahn, 1989; Fleming *et al.*, 1996). Sin embargo, debido a que el abulón requiere de un nivel bajo de lípidos, en algunas formulaciones que contengan harina de pescado, los lípidos contenidos en ésta pueden constituir el único aporte de la dieta (Fleming *et al.*, 1996).

Los abulones recientemente asentados; así como, los juveniles tempranos se alimentan principalmente de diatomeas, las cuales contienen por lo general entre 7 y 23% de lípidos (base seca) ricos en PUFA 20:5n-3 y 22:6n-3, con la presencia también de 20:4n-6 (De Roeck-Holtzhauer *et al.*, 1993; Brown *et al.*, 1997). Los adultos se alimentan de macroalgas principalmente aunque se sabe que una gran cantidad de diatomeas se encuentran poblando a las macroalgas del medio natural. De esta manera se sabe que el tipo de alga consumida afecta significativamente el crecimiento, debido probablemente a sus perfiles diferentes de ácidos grasos insaturados (Uki *et al.*, 1986). Sin embargo, estudios recientes han demostrado que los abulones son capaces de sintetizar ácidos grasos de cadena larga a partir de ácidos grasos de 18 C, o bien, como se señaló con anterioridad son tomados de las bacterias presentes en el estómago.

OTROS NUTRIENTES

Es común que los minerales y vitaminas se incorporen en las dietas en forma de mezclas de acuerdo a lo establecido por Uki *et al.* (1985), donde el principal problema para decidir el nivel óptimo esta basado en la capacidad de retención de los micronutrientes evitando el lavado de éstos. Por lo anterior, el estudio de los micronutrientes se ha visto limitado al no poder evitar su pérdida en tiempos cortos de inmersión en el agua. El uso de harina de algas (*v. gr. Macrocystis pyrifera*) en la elaboración de alimento balanceado, con un elevado contenido de minerales, favorece en algunos casos la no incorporación adicional de macro y microelementos ya que la materia seca de las macroalgas es rica en minerales (Jensen, 1993). Uki *et al.* (1985) con base en valores establecidos para peces plantearon los requerimientos de minerales para abulón, reportando un óptimo crecimiento con 8%; posteriormente se recomendó un mínimo de 4% para mejorar la estabilidad del alimento (Uki & Watanabe, 1992). De la misma manera, el contenido de vitaminas utilizado en dietas balanceadas también está basado en los requerimientos de peces (Fleming *et al.*, 1996), pudiéndose concluir que muy poca atención se ha prestado en este aspecto.

Recientemente Mai *et al.* (1998) ha estudiado el requerimiento de ciertos minerales, sin embargo, el contenido y nivel de las mezclas de minerales no ha llegado a cambiarse ya que la mezcla ofrecida actualmente es abundante y no representa un costo excesivo.

FISIOLOGÍA DIGESTIVA Y METABOLISMO

Anteriormente se mencionó el papel que juegan las bacterias digestivas dentro del proceso digestivo del abulón, tema de gran importancia y que apenas se ha venido investigando. Como cualquier otro herbívoro será interesante investigar el papel que juega la microbiota digestiva en el abulón, no solo como proveedor de suplementos nutricios, sino también como una importante fuente de nutrientes. En estudios recientes se ha visto que un abulón alimentado con una dieta balanceada sin contener lípidos es capaz de sobrevivir con una buena tasa de crecimiento y al mismo tiempo incorporar lípidos en el tejido. Esto parece raro, pero si se piensa que pudiera estar utilizando los lípidos provenientes de bacterias sería un tema interesante de ser abordado. Se sabe que las bacterias pueden jugar un papel preponderante en el suministro de proteína, lípidos y vitaminas en herbívoros superiores.

Por lo anterior, toda una nueva línea de investigación en fisiología digestiva deberá de ser abordada en un futuro cercano para poder diseñar dietas novedosas que estimulen la producción de la microbiota digestiva para un mayor aprovechamiento de los nutrientes. Actualmente en la UABC estamos desarrollando una línea de investigación para el estudio de la fisiología digestiva del abulón y el papel que juega la microbiota digestiva.

El abulón es un molusco con hábitos nocturnos por lo que se recomienda que sea alimentado durante la noche, presentando un marcado ciclo circadiano (Ver Fig. 1). Recientemente, los Australianos están practicando un sistema de producción donde mantienen a los abulones en obscuridad las 24 h. Esto con el fin de que se encuentren activos y puedan incrementar su tasa alimenticia.

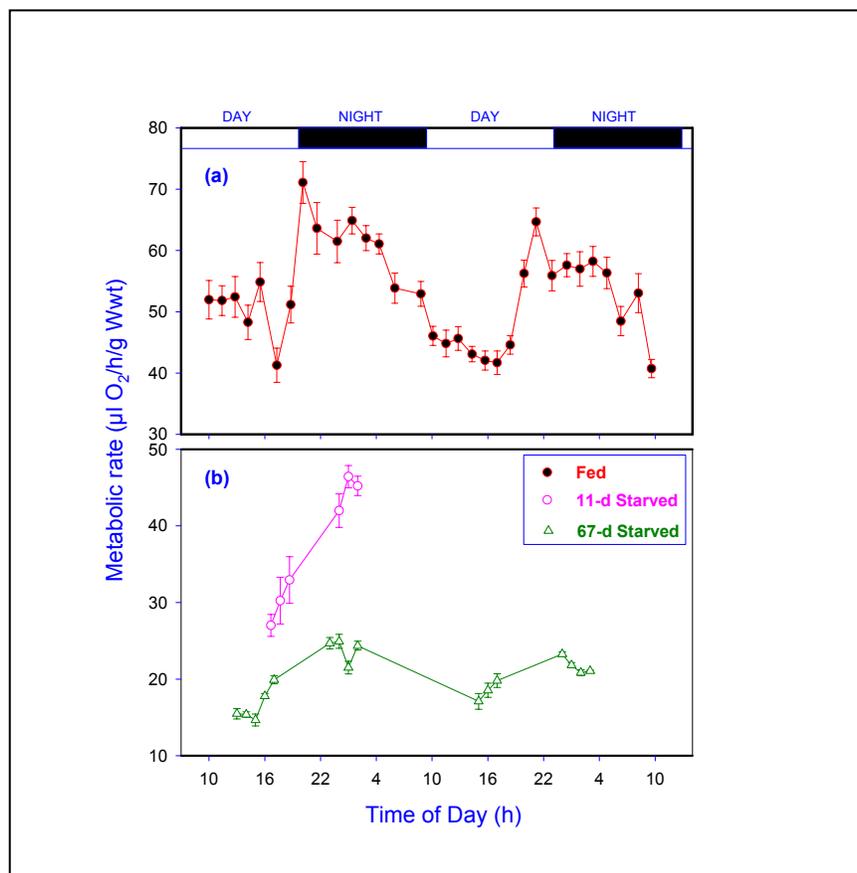


Figura 1. Ciclo circadiano del abulón *Haliotis fulgens* en condiciones normales y a los 11 y 67 días de inanición. Tomado de Chacón *et al.* (Enviado a publicar).

Sin embargo, en un estudio reciente (en proceso Silvia Montes) se observó que efectivamente, los abulones presentan una mayor tasa de crecimiento cuando se les mantiene a completa obscuridad. Sin embargo, curiosamente, cuando son mantenidos las 24 horas con luz también presentaron mejores tasas de crecimiento que con un foto periodo de 12hL:12hO. Aún falta sin embargo, medir su tasa metabólica para poder concluir si el

crecimiento obedece a una mayor tasa de consumo durante la noche o a una menor tasa metabólica durante el día.

AGRADECIMIENTOS

El esfuerzo y resultados obtenidos en nuestro laboratorio se deben al apoyo brindado a través de diversos fondos como IFS y varios proyectos CONACyT (Actualmente G28119B), así como a 16 estudiantes titulados a todos los niveles y de diversas Instituciones a los cuales les estoy agradecida por haber contribuido.

LITERATURA CITADA

- Arroyo, E., Flores-Aguilar, R., Vázquez, E., 1996. Producción de diatomeas utilizadas como alimento de postlarvas de abulón rojo (*Haliotis rufescens*). Resúmenes Taller sobre Biología, Pesquería y Cultivo de Abulón en México, 21-14 octubre, Ensenada, B.C., p. 1.
- Britz, P. J., Hecht, T., Knauer, J., Dixon, M. G., 1994. The development of an artificial feed for abalone farming. *South Afr. J. Sci.* 90: 7-8.
- Britz, P. J., 1996a. Effect of dietary protein level on growth performance of South African abalone *Haliotis midae*, fed fishmeal based semipurified diets. *Aquaculture* 140: 55-61.
- Britz, P. J., 1996b. The suitability of selected protein sources for inclusion in formulated diets for the South African abalone, *Haliotis midae*. *Aquaculture* 140:63-73.
- Britz, P. J., Hetch, T., 1997. Effect of dietary protein and energy level on growth and body composition of South African abalone, *Haliotis midae*. *Aquaculture* 156, 195-210.
- Brown, M. R., Jeffrey, S. W., Volkman, J. K., Dunstan, G. A., 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151: 315-331.
- Caers, M., Coutteau, P., Lombeida, P., Sorgeloos, P., 1998. The effect of lipid supplementation on growth and fatty acid composition of *Tapes philippinarum* spat. *Aquaculture* 162:287-299.
- Caers, M., Coutteau, P., Sorgeloos, P., 1999. Dietary impact of algal and artificial diets, fed at different feeding rations, on the growth and fatty acid composition of *Tapes philippinarum* (L.) spat. *Aquaculture* 170:307-322.
- Chu, F.-L. E., Greaves, J., 1991. Metabolism of palmitic, linoleic, and linolenic acid in adult oysters, *Crassostrea virginica*. *Marine Biology* 110:229-236.
- Clark, A. G., Jowett, D. A., 1978. Hydrolytic enzymes of the paua *Haliotis iris*, a marine gastropod. *NZJ Mar. Freshwater Res.*, 12:221-222.
- Coote, T. A., Hone, P.W., Van Barneveld, R. J., Maguire, G. B., 2000. Optimal protein level in a semipurified diet for juvenile greenlip abalone *Haliotis laevigata*. *Aquaculture Nutrition*, 6(4):213-220.
- D'Abramo, L. R., Castell, J. D., 1997. Research methodology. In: L.R. D'Abramo; D.E. Conklin and D.M. Akiyama (Editors). *Crustacean Nutrition. Advances in World Aquaculture.* World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA pp 3-25.
- Delaunay, F., Marty, Y., Moal, Y., Samain J.-F., 1993. The effect of monospecific algal diets on growth and fatty acid composition of *Pecten maximus* (L.) larvae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 173: 163-179.
- Dunstan, G. A., Baillie, H. J., Barrett, S. M., Volkman, J. K., 1996. Effect of diet on the lipid composition of wild and cultured abalone. *Aquaculture* 140: 115-127.
- Erasmus, J. H., Cook, P. A., Coyne, V. E., 1997. The role of bacteria in the digestion of seaweed by the abalone *Haliotis midae*. *Aquaculture*, 155:377-386.
- Farias, A., García Esquivel, Z., Viana, M. T., Respiration curve and energetic cost for the blue abalone *Haliotis fulgens* at different sizes. In preparation,
- D'Abramo, L. R., 1991. *Aquaculture Research Needs for the year 2000: Fish and Crustacean Nutrition.* *World Aquaculture* 22(2)57-62.
- Fleming, A. E., Van Barneveld, R. J., Hone, P. W., 1996. The development of artificial dietas for abalone: A review and future directions. *Aquaculture* 140: 5-63.

- Floreto, E. A. T., Teshima, S.-I., Koshio, S., 1996. The effect of seaweed diets on the lipid and fatty acids of the Japanese disc abalone *Haliotis discus hannai*. *Fish. Science*. 62(4): 582-588.
- Gorfine, H. K., 1991. An artificial diet for hatchery-reared abalone *Haliotis rubra*. Internal Report No. 190, Marine Science Laboratories, Queenscliff, Victoria, Australia, 34 pp.
- Guzman, J. M., Viana, M. T., 1998. Growth of abalone *Haliotis fulgens* fed diets with and without fish meal, compared to a commercial diet. *Aquaculture*, en prensa.
- Hahn, K. O., 1989. Nutrition and growth of abalone. In: K.O. Hahn (Ed.), *CRC Handbook of Culture of Abalone and other Gastropods*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 135-156.
- Holland, D. L., 1978. Lipid reserves and energy metabolism in the larvae of benthic marine invertebrates. En: D.C., Malins and J.R. Sargent (Eds.), *Biochemical and Biophysical Perspectives in Marine Biology*, vol. 4. Academic Press, London, pp. 85-123.
- Jaekle, W. B., Manahan, D. T., 1989a. Growth and energy imbalance during development of a lecithropic molluscan larva (*Haliotis rufescens*). *Biological Bulletin* 177: 237-246.
- Jaekle, W. B., Manahan, D.T., 1989b. Feeding by a "nonfeeding" larvae: uptake of dissolved amino acids from seawater by lecithophilic larvae of the gastropod *Haliotis rufescens*. *Marine Biology* 103: 87-94.
- Kawamura, T., Roberts, R. D., Takami, H., 1998. A review of the feeding and growth of postlarval abalone. *Journal of Shellfish Research*. 17(3):615-625.
- Knauer, J., Southgate, P. C., 1997. Growth and fatty acid composition of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) spat fed a microalga and microcapsules containing varying amounts of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid. *J. Shellfish Res.* 16(2):447-453.
- Langdon, C. J., Waldock, M. J., 1981. The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* spat. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 61:431-448.
- Leighton, D. L., 1968. A comparative study of food selection and nutrition in the abalone, *Haliotis rufescens* Swainson, and the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus* (stimpson). Thesis for the degree of Ph D., at the University of California, San Diego. Microfilmed 68-15, 685.
- Livingston, D. R., de Zwaan, A., 1983. Carbohydrate Metabolism of Gastropods. In: P.W. Hochachka (Editor), *The Mollusca, Metabolic Biochemistry and Molecular Biomechanics*. Vol. 1, 5:177-242.
- López, L. M., Viana, M. T., 1995. Determinación de la calidad del alimento elaborado con ensilaje de pescado crudo y cocido, para abulones juveniles de *Haliotis fulgens*. *Ciencias Marinas*, 21(3):331-342.
- Mai, K., Mercer, J. P., Donlon, J., 1994. Comparative studies on the nutrition of two species of abalone, *Haliotis tuberculata* L. and *Haliotis discus hannai* Ino. II. Aminoacid composition of abalone and six species of macroalgae with an assessment of their nutritional value. *Aquaculture* 128: 115-130.
- Mai, K., Mercer, J. P., Donlon, J., 1995a. Comparative studies on the nutrition of two species of abalone, *Haliotis tuberculata* L. and *Haliotis discus hannai* Ino. III. Response of abalone to various levels of dietary lipid. *Aquaculture* 134: 65-80.
- Mai, K., Mercer, J. P., Donlon, J., 1995b. Comparative studies on the nutrition of two species of abalone, *Haliotis tuberculata* L. and *Haliotis discus hannai* Ino. IV. Optimum dietary protein level for growth. *Aquaculture* 136: 165-180.
- Manahan, D. T., 1989. Amino acid fluxes to and from seawater in axenic veliger larvae of a bivalve (*Crassostrea gigas*). *Marine Ecology Progress Series* 53: 247-255.
- Manahan, D. T., 1983. The uptake and metabolism of dissolved amino acids by bivalve larvae. *Biological Bulletin* 164: 236-250.
- Manahan, D. T., 1990. Adaptations by invertebrate larvae for nutrient acquisition from seawater. *American Zoologist* 30: 147-160.
- Manahan, D. T., Jaekle, W. B., 1992. Implications of dissolved organic material in sea water for the energetics of abalone larvae *Haliotis rufescens*: a review. In: Shepherd, S.A., Tegner, M.J. Guzmán-del Proo, S.A. (Eds.), *Abalone of the World: Biology, Fisheries and Culture*. Fishing News Books, Oxford, pp 95-106.
- McLean, N., 1970. Digestion in *Haliotis rufescens* Swainson (Gastropoda: Prosobranchia). *J. Exp. Zool.*, 173: 303-318.
- Mercer, J.P., Mai, K., Donlon, J., 1993. Comparative studies on the nutrition of two species of abalone, *Haliotis tuberculata* Linnaeus and *Haliotis discus hannai* Ino. I. Effects of algal diets on growth and biochemical composition. *Inv. Reprod. Dev.* 23: 75-88.

- Merchen, N. R., Bourquin, L. D., 1994. Processes of digestion and factors influencing digestion of forage-based diets by ruminants. In: G.C. Fahey Jr., (ed.) Forage Quality, Evaluation, and Utilization. Am. Soc. Agron., Inc., Crop Sci. Soc. Am., Inc., Soil Sci. Soc. Am., Inc. Madison, Wisconsin.
- Mody, K., Chauhan, V. D., 1993. Alginase from marine bacterium. *Botanica Marina*, 36(6): 477 - 480.
- Monje, H., Viana, M.T., (en revisión) The effect of cellulose on the growth and cellulolytic activity of the abalone *Haliotis fulgens* when used as an ingredient in artificial diets. Submitted to the J. of Shellfish Research.
- Nakada, I. H., Sweeny, P. C., 1967. Alginic Acid Degradation by Eliminases from Abalone Hepatopancreas. *The Journal of Biological Chemistry*, 212 (5): 845 - 851.
- Oshima, K., 1931. Digestive enzymes appeared in abalone viscera. *J. Agric. Chem.*, 7,328 - 31.
- Napolitano, G. E., Ackman, R. G., Ratnayake, W. M. N., 1990. Fatty acid composition of three cultured algal species (*Isochrysis galbana*, *Chaetoceros gracilis* and *Chaetoceros calcitrans*) used as food for bivalve larvae. *J. World Aquac. Soc.*, 21: 122-130.
- Ogino, C., Kato, N., 1964. Studies on the nutrition of abalone. II. Protein requirements for growth of abalone, *Haliotis discus*. *Bull. Jpn. Soc. Fish.*, 30:523-526.
- Ogino, C., Kato, N., 1963. Studies on the nutrition of abalone. I. Feeding trials of abalone *Haliotis discus* Reeve, with artificial diets. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 29:691-694.
- Plante, C. J., Jumars, P. A., Baross, J. A., 1990. Digestive associations between marine detritivores and bacteria. *Annu Rev Ecol Syst.*, 21:93-127.
- Rivero, L. E., Viana, M. T., 1996. Palatability effect of the pH, water stability and texture in artificial diets used for juvenile abalone *Haliotis fulgens* (Phillips, 1845). *Aquaculture*, 144:353-362.
- Rodríguez, C., Pérez, J. A., Izquierdo, M. S., Mora, J., Lorenzo, A., Fernández-Palacios, H., 1993. Essential fatty acid requirements of larval gilthead sea bream, *Sparus aurata* (L.). *Aquac. Fish. Manage.* 24:295-304.
- Rodríguez-Montesinos, Y. E., Hernández-Carmona, G., 1991. Variación estacional y geográfica de la composición química de *Macrocystis pyrifera* en la costa occidental de Baja California. *Ciencias Marinas* 17 (3), 91-107.
- Sargent, J. R., 1976. The structure, metabolism and function of lipids in marine organisms. En: D.C., Malins and J.R. Sargent (Eds.), *Biochemical and Biophysical Perspectives in Marine Biology*, vol. 3. Academic Press, London, pp. 149-212.
- Sargent, J. R., 1995. Origins and functions of egg lipids nutritional implications. En: N.R. Bromage and R.J. Roberts (Eds.), *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*, chapt. 14. Blackwell Science Ltd., Oxford, pp. 353-372.
- Sargent, J. R., Bell, J. G., Bell, M. V., Henderson, R. J., Tocher, D. R., 1993. The metabolism of phospholipids and polyunsaturated fatty acids in fish. En: B. Lahlou and P. Vitiello (Eds.), *Aquaculture: Fundamental and Applied Research. Coastal and Estuarine Studies* 43:103-124. American Geophysical Union. Washington DC.
- Shepherd, S.A., Steinberg, P. D., 1992. Food preferences of three Australian abalone species with a review of the algal food of abalone. In: S.A. Shepherd, M.J. Tegner & S.A. Guzmán del Prío (Editors), *Abalone of the World. Biology, Fisheries and Culture*. Fishing News Books, Oxford, pp. 169-181.
- Shiau, S.-Y., 1998. Nutrient requirements of penaeid shrimps. *Aquaculture* 164:77-93.
- Shilling, F. M., Hoegh-Guldberg, O., Manahan, D. T., 1996. Sources of energy for increased metabolic demand during metamorphosis of the abalone *Haliotis rufescens* (Mollusca). *Biol. Bull.*, 191: 402-412.
- Shpigel, M., Ragg, N. L., Lupatsch, I., Neori, A., 1999. Protein content determines the nutritional value of the seaweed *Ulva lactuca* L. for the abalone *Haliotis tuberculata* L. and *H. discus hannai* Ino. *J. of Shellfish Research*, 18(1):227-233.
- Shimma, Y., Taguchi, H., 1964. A comparative study on fatty acid composition of shellfish. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 30:153-160.
- Siqueiros-Beltrones, D. A., Voltolina, D., 2000. Grazing Selectivity of Red Abalone *Haliotis rufescens* Postlarvae on Benthic Diatom Films under Culture Conditions. *Journal of the World Aquaculture Society*. 31(2):239-246.
- Tuncer, H., Harrell, R.M., Chai, T.-j., 1993. Beneficial effects of n-3 HUFA enriched *Artemia* as food for larvae palmeto bass (*Morone saxatilis* x *M. chrysops*). *Aquaculture* 110: 341-359.

- Uki, N., 1981. Food value of marine algae of order Laminariales for growth of the abalone, *Haliotis discus hannai*. Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab. 42:19-29.
- Uki, N., Kemuyama, A., Watanabe, T., 1985. Development of semipurified test diet for abalone. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 51: 1825-1833.
- Uki, N., Sagiura, M., Watanabe, T., 1986. Requirement of essential fatty acids in abalone *Haliotis discus hannai*. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 52: 1013-1023.
- Uki, N., Watanabe, T., 1992. Review of the nutritional requirements of abalone (*Haliotis* spp.) and development of more efficient diets. En: Shepherd, S.A., Tegner, M.J. Guzmán-del Proo, S.A. (Eds.), Abalone of the World: Biology, Fisheries and Culture. Fishing News Books, Oxford, pp. 504-517.
- Van Soest, P. J., 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2nd ed. Comstock Publishing Associates. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA.
- Viana, M. T., Bernal-Castro, R.M., 1996. Chemical composition of abalone viscera from *Haliotis fulgens*, *H. corrugata* and *H. cracherodii* during catching season. J. of Marine Biotechnology, 4:210-214.
- Viana, M. T., López, L. M., Salas, A., 1993a. Diet development for juvenile abalone, *Abalone fulgens*, evaluation of two artificial diets and macroalgae. Aquaculture, 117: 149-156.
- Viana, M. T., Nava, C., 1993b. Ensilajes ácidos de pescado. Efecto de precalentamiento y de la adición de los ácidos fosfórico y cítrico sobre su calidad bioquímica. Ciencias Marinas, 19(4):415-433.
- Viana, M. T., Trujano, M., Solana-Sansores, R., 1994. Palatability and attraction activities in juveniles of abalone *Haliotis fulgens*. Nine ingredients used in artificial diets. Aquaculture, 127:19-28.
- Viana, M. T., Lopez, L. M., Garcia-Esquivel, Z., Mendez, E., 1996. The use of silage from fish and abalone viscera as an ingredient for abalone feed. Aquaculture, 140:87-98.
- Viana, M.T., Jarayapananda, P., Menasveta, P. (1996) Artificial diets for the tropical abalone. ARRI Newsletter, 3(2):13-16.
- Voogt, P. A., 1983. Lipids: Their distribution and metabolism. En: Hochachka, P.W. (Ed.), The Mollusca, Vol. 1: Metabolic Biochemistry and Molecular Biomechanics. Academic Press, New York, pp. 329-370.
- Watanabe, T., Takeguchi, M., 1989. Implications of marine oils and lipids in aquaculture. En: R.G., Ackman (Ed.), Marine Biogenic Lipids, Fats and Oils, vol. II. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 457-479.
- Worthington, C. C., 1999. Cellulase. Worthington-biochem.com/manual/C/CEL.html.
- Wright, S. H., Ahearn, G. A., 1997. Nutrient absorption in invertebrates. In: W.H. Dantzler (ed.), Comparative Physiology, Vol. II, Sect. 13. Oxford Univ. Press., pp.1137-1205.