

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS



**Estudio del crecimiento, preferencia alimentaria y digestibilidad de ingredientes
vegetales y animales del langostino *Macrobrachium americanum* (Decapoda: Caridea:
Palaemonidae)**

M. en C. ANA MARÍA PARRA FLORES

Tesis presentada como requisito parcial para la obtención del grado de:

Doctora en Ciencias en el Área de Ciencias Pesqueras

Xalisco, Nayarit. Enero del 2020



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS

Xalisco, Nayarit; 16 de diciembre de 2019

M.C. GLORIA MACHAIN IBARRA
DIRECTORA DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
NIVEL SUPERIOR Y POSGRADO

Con base al oficio de fecha 10 de diciembre del presente, enviado por los **CC. Dr. Jesús Trinidad Ponce Palafox, Dr. Sergio G. Castillo Vargasmachuca, Dr. Milton Spanopoulos Hernández y Dr. Dagoberto Puga López**, donde se indica que el trabajo de tesis cumple con lo establecido en forma y contenido, y debido a que ha finalizado con los demás requisitos que establece nuestra institución, se autoriza a la **M.C. Ana María Parra Flores**, continúe con los tramites necesarios para la presentación del examen de grado de Doctorado en Ciencias Biológico Agropecuarias en el Área de Ciencias Pesqueras.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente
"Por lo nuestro a la Universal"


Dr. J. Diego García Paredes
Coordinador del Posgrado en Ciencias Biológico Agropecuarias



C.c.p.- Expediente

Unidad Académica de Agricultura. Carretera Tepic-Compostela Km. 9. C.P. 63780. Xalisco, Nayarit.
Tels. (311)2-11-01-28 y 2-11-11-63 Posgrado (CBAP) 2-11-24 78.

Xalisco, Nayarit., Diciembre de 2019

Dr. Juan Diego García Paredes
Coordinador del posgrado en Ciencias Biológico Agropecuarias
Universidad Autónoma de Nayarit
PRESENTE

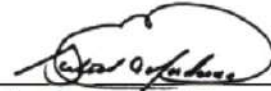
Los suscritos integrantes del Comité Tutorial para asesorar la Tesis titulada: **Estudio del crecimiento, preferencia alimentaria y digestibilidad de ingredientes vegetales y animales del langostino *Macrobrachium americanum* (Decapoda: Caridea: Palaemonidae)**, que presenta la M. en C. **Ana María Parra Flores** para obtener el Grado de Doctora en Ciencias con opción terminal en Ciencias Pesqueras, damos nuestra aprobación para que continúe con los trámites correspondientes para la obtención del grado.

Sin otro asunto que tratar, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"Por lo nuestro a lo universal"



Dr. Jesús Trinidad Ponce Palafox
Director de Tesis



Dr. Sergio G. Castillo Vargasmachuca
Co-director



Dr. Milton Spenopulos Hernández
Asesor



Dr. Dagoberto Puga López
Asesor

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Jesús Trinidad Ponce Palafox, por la dirección de esta tesis, sugerencias y consideraciones durante el desarrollo de la investigación.

A mis asesores de tesis, Dr. Milton Spanoupolus Hernández, Dr. Sergio Castillo Vargasmachuca, Dr. Dagoberto Puga, les agradezco su tiempo y dedicación en el mejoramiento de la tesis.

A la Dra. Martha Gabriela Gaxiola Cortés y al personal técnico, por su apoyo durante las estancias de investigación realizadas en la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación de la UNAM en Sisal, Yucatán.

Al M. en C. Álvaro Barreto Altamirano por las asesorías y colaboración durante las estancias de investigación en la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación de la UNAM en Sisal, Yucatán, así como en el trabajo de campo.

Al Dr. Javier Germán Rodríguez Carpena y M. en C. María Elena Luna, por las facilidades prestadas en el Laboratorio de Calidad de Productos Cárnicos en el Centro Nayarita De Innovación y Transferencia De Tecnología A.C. (CENIT).

Al Dr. Milton Spanoupolus Hernández y Dra. Angélica Vianey Carvajal García, por su colaboración con el análisis bromatológico en Laboratorio de Acuicultura en el Instituto Tecnológico de Mazatlán.

A la Dra. Mónica Leticia Sánchez Herrera, Ing. Nancy Dinora Ruelas Hernández y M. en C. Gibran López Nahuatt por haberme asesorado en el Laboratorio de Tecnología de Alimentos de la Universidad Autónoma de Nayarit.

Al Dr. Carlos Martínez Palacios y BQM. Guadalupe Pámanes por su colaboración en el procesamiento de muestras para análisis de digestibilidad en el Laboratorio de Biotecnología Acuícola y Acuicultura, LANMDA, del Sistema de Laboratorios Nacionales del CONACyT,

con sede en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales en la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

A la Ing. María Lourdes Bernal Acosta, Directora del Departamento de Pesca de la Secretaría de Desarrollo Rural y Medio Ambiente del Estado de Nayarit y al personal técnico del Centro Acuícola de San Cayetano, por las facilidades brindadas durante el desarrollo experimental de esta tesis, en especial al Sr. Daniel López, a los Ing. Rivas y Pedro.

Agradezco su colaboración y apoyo técnico en el trabajo de campo a: M. en C. Fermín López Uriostegui, los biólogos Israel Torres Fuentes, Horacio Pérez Carrillo y Jorge Manuel Huerta, y Jesús Kaleb Ponce Sosa.

En especial agradezco a M. en C. Andrés Concepción Brindis por su ayuda constante y edición de la tesis, gracias por la compañía y el apoyo.

A mis amigos y compañeros del posgrado por su ayuda durante el trabajo de investigación: Karla Isela Arroyo Zúñiga y Gibran López Nahuatt, gracias por la motivación para lograr terminar el doctorado.

AGRADECIMIENTO A FUENTES DE FINANCIAMIENTO

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca de manutención autorizada durante el periodo Agosto del 2016 a Julio de 2019, correspondiente al plan de estudios de doctorado.

Al Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Nayarit COCYTEN, por otorgar la beca para realización de tesis.

A la familia Parra Flores por su apoyo económico durante la realización del doctorado, especialmente a Ángel Parra Gudiño y Adriana Parra Flores, gracias a su trabajo he logrado terminar mis estudios.

DEDICATORIA

A las mujeres

Mi deseo para todas mujeres es que continúen y mantengan para su ambición la determinación de llegar a resultados extraordinarios.

A Edy Alondra, Piadora Lissel y Melissa

*“Había una vez una chica que
~~se casó con un príncipe~~
viajó a Marte y cambió el mundo.”*

Cuento de buenas noches para niñas rebeldes por Elena Favilli y Francesca Cavallo

A Gustavo Parra Flores

CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiii
RESUMEN GENERAL	1
INTRODUCCIÓN GENERAL	3
Características de <i>Macrobrachium</i>	3
Producción	4
Comportamiento alimentario.....	5
Digestibilidad	6
Ingredientes no convencionales en la elaboración de dietas	6
LITERATURA CITADA.....	10
HIPÓTESIS	13
OBJETIVO GENERAL	13
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
CAPÍTULO 1. COMPORTAMIENTO Y PREFERENCIA ALIMENTARIA DE <i>M. americanum</i> CON INGREDIENTES DE ORIGEN ANIMAL Y VEGETAL	14
1.1 RESUMEN.....	14
1.2 INTRODUCCIÓN.....	15
1.3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
1.3.1 Evaluación del comportamiento y preferencia alimentaria	17
1.3.2 Medición de las respuestas conductuales	18
1.3.4 Diseño experimental	19
1.3.5 Análisis estadístico	20
1.4 RESULTADOS	21

1.4.1 Fases de comportamiento y preferencia alimentaria	21
1.4.2 Selectividad alimenticia en pares	22
1.5 DISCUSIÓN.....	23
1.6 CONCLUSIONES.....	26
1.7 LITERATURA CITADA.....	27
CAPÍTULO 2. DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i> DE PROTEÍNA DE INGREDIENTES NO CONVENCIONALES EN DIETAS PARA EL LANGOSTINO <i>Macrobrachium americanum</i>	29
2.1 RESUMEN.....	29
2.2 INTRODUCCIÓN.....	30
2.3 MATERIAL Y MÉTODOS	32
2.3.1 Obtención de adultos	32
2.3.2 Obtención de extracto multienzimático.....	32
2.3.3 Determinación de proteínas y actividad enzimática.....	33
2.3.4 Materias primas	34
2.3.5 Digestibilidad <i>in vitro</i> en el pH-Stat.....	34
2.3.6 Análisis proximales de los ingredientes de prueba.....	35
2.3.7 Análisis estadístico	35
2.4 RESULTADOS	36
2.4.1 Actividad enzimática digestiva y determinación del grado de hidrólisis	36
2.4.2 Análisis proximales de los ingredientes de prueba.....	37
2.5 DISCUSIÓN.....	39
CAPÍTULO 3. DIGESTIBILIDAD APARENTE, CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA DE LANGOSTINO <i>M. americanum</i> EN UN CULTIVO EXPERIMENTAL.....	43
3.1 RESUMEN.....	43

3.2 INTRODUCCIÓN.....	44
3.3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	46
3.3.1 Captura de los langostinos y lugar de bioensayo.....	46
3.3.2 Elaboración de dietas experimentales	46
3.3.3 Sistema experimental.....	48
3.3.4 Determinación de los coeficientes de digestibilidad aparente.....	48
3.3.5 Evaluación de crecimiento y supervivencia	50
3.3.6 Análisis costo beneficio de las dietas experimentales	51
3.3.7 Análisis estadístico	51
3.4 RESULTADOS	52
3.4.1 Composición proximal de las dietas experimentales y de referencia.....	52
3.4.2 Digestibilidad aparente de ingredientes y dietas experimentales	52
3.4.3 Condiciones de cultivo	53
3.4.4 Crecimiento y sobrevivencia	54
3.4.5 Análisis de costo de las dietas experimentales	55
3.5 DISCUSIÓN.....	57
3.6 CONCLUSIONES.....	61
3.7 LITERATURA CITADA.....	62
CONCLUSIONES GENERALES	65
RECOMENDACIONES	66
APENDICE 1	67
COMPORTAMIENTO ALIMENTARIO Y TASA DE INGESTIÓN DE CAMARONES JUVENILES DEL GÉNERO PENAEUS (CRUSTACEA: DECAPODA).....	67
RESUMEN.....	67
INTRODUCCIÓN.....	68

RESULTADOS Y DISCUSIÓN	69
CONCLUSIONES	73
LITERATURA CITADA.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Esquema del dispositivo de video grabación de las fases de comportamiento alimentario de <i>M. americanum</i> en el tanque experimental. Se grabaron imágenes de 360° durante 60 minutos.....	9
Figura 1.2. Descriptores para analizar las respuestas de comportamiento de <i>M. americanum</i> a los alimentos.....	30
Figura 2.1. Preparación de extractos multienzimáticos: A) Extracción de hepatopáncreas; B) Liofilizado; C) Hepatopáncreas; D) Homogenizado y centrifugado de tejido.....	44
Figura 2.2. Grado de hidrólisis de las fuentes proteicas utilizadas con extracto multienzimático de hepatopáncreas del langostino de agua dulce <i>M. americanum</i>	49
Figura 3.1. Elaboración de dietas experimentales para análisis de digestibilidad aparente....	58
Figura 3.2. Protocolo de colecta de heces para análisis de digestibilidad aparente.....	61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Condiciones experimentales estandarizadas para evaluación de las respuestas de los langostinos a los estímulos de la alimentación.....	17
Tabla 1.2. Promedio de tiempo (segundos) obtenido durante las diferentes fases del comportamiento alimenticio observado durante 60 minutos a temperatura de 22 y 30°C.....	21
Tabla 1.3. Número de comparaciones y porcentajes de respuestas positivas y rechazo de seis alimentos para <i>M. americanum</i>	22
Tabla 2.1. Comparación del grado de hidrólisis (GH) y porcentaje de digestibilidad <i>in vitro</i> de los ingredientes de prueba, utilizando los extractos multienzimáticos de <i>M. americanum</i>	36
Tabla 2.2. Composición proximal (% de materia seca) de los ingredientes de prueba para analizar digestibilidad <i>in vitro</i> del langostino <i>M. americanum</i>	38
Tabla 3.1. Composición de la dieta de referencia utilizada en la formulación de la dieta experimentales.....	48
Tabla 3.2. Composición proximal (g/kg en peso seco) de la dieta de referencia y dietas experimentales utilizadas en la determinación del coeficiente de digestibilidad aparente y crecimiento de <i>M. americanum</i>	53
Tabla 3.3. Coeficiente de digestibilidad de materia seca (%DAMS), proteína (%DAP) y energía (%DAE) en las dietas; y digestibilidad de materia seca (%DAMSI) proteína (%DAPI) y energía (%DAEI) de <i>Macrobrachium americanum</i> (media \pm desviación estándar).....	54
Tabla 3.4. Valores promedio de parámetros fisicoquímicos del agua durante el cultivo utilizado en el bioensayo de digestibilidad <i>in vivo</i> de dietas experimentales para <i>M. americanum</i>	55
Tabla 3.5. Parámetros de crecimiento y supervivencia (media \pm desviación estándar) de <i>M. americanum</i> alimentados con las dietas experimentales.....	56
Tabla 3.6. Costo de las dietas experimentales y de referencia, valores en pesos mexicanos (\$MX).....	56
Tabla 3.7. Evaluación costo-beneficio (pesos mexicanos) de las dietas experimentales y de referencia, usadas para el crecimiento de <i>M. americanum</i>	57

RESUMEN GENERAL

En el cultivo comercial de *M. americanum* se ha observado un lento desarrollo, ya que actualmente no se dispone de un alimento balanceado que contenga los ingredientes apropiados para el crecimiento de esta especie. Para mejorar la eficiencia de los alimentos se ha propuesto el uso de ingredientes que sean atractantes y contengan buena digestibilidad, con el fin de maximizar la ingestión y así contribuir a mejorar la tasa de conversión alimenticia. El presente estudio fue diseñado para evaluar en bioensayos independientes la preferencia y digestibilidad de seis alimentos de origen animal y vegetal, como posibles fuentes de proteína alternativas en dietas para el langostino *M. americanum*. La metodología se dividió en tres experimentos, 1) bioensayos de selectividad y preferencia alimentaria, 2) un bioensayo de digestibilidad *in vitro*, de ingredientes de origen animal y vegetal, con el método de pH-Stat, utilizando extractos multienzimáticos de hepatopáncreas; y 3) un bioensayo de digestibilidad *in vivo* de dietas con la inclusión de ingredientes de origen animal y vegetal. Los ingredientes que presentaron mejores resultados de preferencia alimentaria fueron los alimentos de origen animal. Los valores de mayor grado de hidrólisis (GH) fueron harina de pescado y yaca (*Artocarpus heterophyllus*) (3.32%), alimento comercial con 35% de proteína (2.83%), y de menor GH la harina de soya (1.18%) comparados con el GH de la caseína como control. Se elaboraron seis dietas utilizando como marcador zeolita, dos con inclusión de ingredientes de origen animal: harina de calamar y subproducto avícola; de origen vegetal fue harina de coco, yaca y soya; y una dieta de referencia a base de harina de pescado. Los coeficientes de digestibilidad aparente de proteína en la dieta (DAPD) variaron de 97.47 a 93.43% entre los ingredientes de origen animal, y de 95.72 a 94.67% en los de origen vegetal. Los máximos

coeficientes de digestibilidad de materia seca (CDAMS) variaron entre 96.82 y 95.48% y fueron observados en la dieta de referencia, harina de soya y subproducto avícola. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el peso final (32.8-27.4g), la tasa de crecimiento específico (0.85-0.61%/día) y la supervivencia (86.7-70.0%) en las dietas experimentales para el langostino. Los resultados de digestibilidad *in vitro* e *in vivo* muestran que los adultos de *M. americanum* tienen la capacidad de digerir la proteína de ingredientes animales y vegetales, por lo tanto los ingredientes probados pueden ser utilizados como suplemento dietético.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Características de *Macrobrachium*

La pesquería mexicana del langostino de río se basa actualmente en la explotación de las especies del género *Macrobrachium*. Se han descrito más de 100 especies de las cuales 26 han sido registradas como nativas de México, América Central y Sudamérica. *Macrobrachium americanum* es una de las especies de langostino para México, Guatemala, El Salvador, Costa Rica, Panamá y Colombia con mayor potencial acuícola debido a que alcanza tallas más grandes dentro del género *Macrobrachium* (Hernández *et al.*, 2007). Por ello tiene importancia económica en México, desde Sinaloa hasta Guerrero, y también se han reportado registros hacia el sureste (Kensler *et al.*, 1974; Laguna-Nataren, 2019).

La familia Palemonidae, la cual incluye a los langostinos del género *Macrobrachium*, se distribuyen en los sistemas dulceacuícolas, marinos y estuarinos donde migran a la desembocadura de los ríos en temporada de reproducción (Hernández-Sandoval, 2008). Son bentónicos (en especial como juveniles y adultos), suelen ocupar cuevas, resquicios bajo piedras y raíces sumergidas (Montoya, 2003). Consumen detritos, algas, restos de animales muertos y además son depredadores de macroinvertebrados acuáticos, caracterizados como omnívoros y detritívoros (Albertoni *et al.*, 2003).

Macrobrachium americanum crece hasta alcanzar gran tamaño, en México se han reportado machos de 450g y hembras de 225g, razón por la cual es altamente cotizado como alimento para consumo humano (Méndez-Martínez *et al.*, 2016). Actualmente la demanda en el mercado no puede satisfacerse fácilmente con la producción natural, ya que es bastante limitada. La captura de esta especie no se registra formalmente por su nombre científico en las

oficinas de pesca a nivel nacional, sino con los nombres comunes que le dan en cada Estado. El uso de los nombres comunes no permite saber exactamente a cuál especie se refiere cada anotación, ya que en la parte norte del país *M. americanum* recibe el nombre de cauque o chacal y en el sur el de pigua, acamaya y a veces langostino; y en otros lugares como camarón de río o muchlillá, algunas veces refiriéndose con el mismo nombre común a *M. acanthurus* y *M. carcinus* que se distribuyen en el sureste y Golfo de México.

Producción

De acuerdo al anuario estadístico de acuicultura y pesca (CONAPESCA, 2013), el langostino por su volumen se encuentra en el lugar 41 de la producción pesquera en México; sin embargo, por su valor, lo encontramos en el lugar 23, la captura se reporta de 2,483 toneladas en peso vivo, en promedio por año. La tasa media de crecimiento de la producción en los últimos 10 años es de -4.73% lo cual se debe a la falta de infraestructura en los centros acuícolas y laboratorios. Es importante señalar que no están disponibles datos actualizados de la explotación pesquera por especie de *Macrobrachium* en México, pues en todos los Estados del país la pesca de este género es principalmente artesanal o de subsistencia por parte de las comunidades asentadas en los márgenes de los ríos; con frecuencia ejercida de manera informal o ilegal, y en la mayoría de los casos, su captura no es reportada o documentada oficialmente (García-Guerrero *et al.*, 2013).

En países de América Latina se ha intentado cultivarlo y producirlo bajo un esquema económicamente productivo y sin que exista alguna técnica ya establecida. Los primeros intentos para el cultivo de *M. americanum* en el país, se llevaron a cabo por Arana-Magallón, en El Rosario, Sinaloa, desde el año de 1977 para establecer una granja de cultivo de bagre de

canal (*Ictalurus punctatus*) y de langostino nativo (*M. americanum*), a nivel comercial, con apoyo de la iniciativa privada. De esta forma, durante algunos años se realizaron investigaciones sobre esta especie de langostino, principalmente enfocadas a su ciclo de vida, reproducción, incubación, desarrollo larvario, crecimiento y alimentación, con el fin de establecer las bases biológicas y técnicas para su cultivo (Lizarraga, 1974; Granados, 1980; Ponce-Palafox *et al.*, 2002; García-Guerrero y Apun, 2008; García-Guerrero, 2010). Se ha señalado el potencial que tiene la especie para ser cultivada en forma extensiva con resultados prometedores en cuerpos de agua temporales en sistemas de monocultivo o con especies de peces no carnívoros, realizando algunas introducciones en bordos temporales del estado de Morelos (Martínez-Palacios *et al.*, 1980).

Dada la importancia ecológica y comercial del langostino *M. americanum* se sugiere que para abordar los problemas asociados con la eficiencia alimenticia es necesario conocer los mecanismos que intervienen en la alimentación, y posteriormente vincular la fisiología digestiva de los langostinos con el comportamiento alimentario.

Comportamiento alimentario

En el proceso de comportamiento alimentario cabe mencionar que la habilidad para detectar a distancia el alimento confiere a los crustáceos la ventaja de maximizar la ganancia de energía y nutrientes consumidos (Montemayor-Leal, 2000). En el caso de los crustáceos decápodos, existen tres diferentes vías de detección para localizar una fuente de alimento: visual, mecánica y por quimiorreceptores que están presentes en la mayoría de los apéndices de los camarones, dando como respuesta la aceptación o el rechazo del mismo (Antimo-Pérez, 2000; Méndez-Martínez *et al.*, 2016).

Digestibilidad

Desde hace tiempo se ha planteado la necesidad de buscar nuevas fuentes proteicas a través de la evaluación experimental de ingredientes de origen animal y vegetal con el propósito de incorporarlos en la alimentación de peces y crustáceos. Sin embargo, la nutrición se ve afectada por la calidad de los alimentos acuícolas, la cantidad de ingredientes y por la cantidad de nutrientes que digieren absorben y utilizan para los procesos metabólicos. La digestibilidad indica la cantidad de un ingrediente que es digerido y absorbido por el organismo y no es excretado en las heces; por lo que la calidad de un ingrediente en dietas puede evaluarse por medio del coeficiente de digestibilidad de materia seca, proteína y energía. De esta manera, los análisis del coeficiente de digestibilidad de nutrientes de las materias primas, permiten la elaboración de dietas a partir de la actividad enzimática presente en el sistema digestivo de las especies, prefiriéndose las que exhiben los mejores indicadores de digestibilidad (Cho y Kaushik, 1990); así mismo se puede maximizar la utilización de diversos ingredientes en las dietas y a su vez evitar la posible eutrofización de las aguas de cultivo.

Ingredientes no convencionales en la elaboración de dietas

En estudios recientes se ha experimentado con ingredientes de origen animal y vegetal no convencionales en la formulación de dietas para organismos acuáticos. Se han probado cuales son los más adecuados de acuerdo a la respuesta alimentaria y fisiología digestiva de las especies, con el fin de disminuir y optimizar los costos relacionados con la alimentación. Por esta razón, en diversas investigaciones ha surgido el interés de mejorar la eficacia de los alimentos, que no incluyan o disminuyan el uso de harinas y aceites de origen marino. Dentro de los alimentos no convencionales están los productos de origen animal como los

subproductos de la industrialización de éstos como las cabezas de camarón, vísceras, escamas, huesos y aceites, todos ellos ricos en nutrientes que podrían ser utilizados en forma de harina de pastas o ensilados para el desarrollo de productos acuícolas (Calvo *et al.*, 2016).

Algunos de estos alimentos son la harina de calamar gigante (*Dosidiscus gigas*), que al ser un alimento de origen marino su valor nutrimental se considera bueno destacándose el contenido de proteínas, además funciona como attractante natural en las dietas (Tacon y Akiyama, 1997). Su uso en alimentos para peneidos: *Penaeus setiferus*, *P. stylirostris*, *P. vannamei*, favoreció el crecimiento y la digestibilidad (Fenucci *et al.*, 1980; Dokken y Lawrence, 1985; Ezquerra-Brauer *et al.*, 2003).

La harina de subproducto avícola es considerada una fuente de proteína con alto valor biológico, un coeficiente de digestibilidad del 82% y composición química adecuada, además de proporcionar minerales y vitaminas (Wisman *et al.*, 1958). Considerando sus características nutricionales, su reducido costo y su disponibilidad en gran cantidad, la inclusión de esta fuente de proteína en dietas comerciales para camarones en distintas etapas de cultivo contribuye a una reducción significativa del precio de producción (Davis y Arnold, 2000).

La soya es considerada una de las fuentes principales de proteína de origen vegetal, debido a la calidad nutricional, bajo costo y disponibilidad, es la proteína de origen vegetal más utilizadas en la elaboración de alimentos comerciales para peces y camarones (Ding *et al.*, 2015).

Se han realizado diversos trabajos sobre la utilización de la harina de coco o pasta de coco (pulpa seca de *Cocos nucifera*), en la alimentación animal. Se han elaborado dietas a base de coco, pescado y glucosa, encontrando que la suplementación con estos ingredientes aumenta la tasa metabólica. En otras investigaciones se hizo la sustitución de pastos por dietas a base de

pasta de coco y harina de pescado en la alimentación de ganado, registraron una mejor digestibilidad al usar la combinación de harina de pescado y pasta de coco (Moorthy y Viswanathan, 2006). Así mismo, se ha descrito el uso de la harina de coco como fuente de lípidos y proteínas, en la elaboración de dietas para la producción de tilapias (*Oreochromis niloticus*), carpas (*Cyprinus carpio*) y camarón (*Penaeus vannamei*) debido a la capacidad que tienen para digerirla; los resultados destacaron que la harina de coco enriquecida con proteínas podría ser utilizada como reemplazo del 50% de harina de soya en dietas acuícolas sin comprometer el crecimiento, la producción y la eficiencia de la alimentación (Martínez-Palacios, *et al.*, 1996; García-Hernández *et al.*, 2015). De igual manera, se ha reportado el uso de pulpa fresca de coco como carnada en las trampas para captura de langostinos en diferentes países incluyendo México, debido a esto, se desarrolló una composición a base de coco con un índice de atractabilidad mejorado, para su uso como ingrediente en la elaboración de carnadas para la captura de organismos acuáticos, entre los que se incluyen crustáceos y otros animales de agua dulce y de ambientes estuarinos (Nolasco-Soria, *et al.*, 2014).

La harina del fruto de yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) contiene abundantes nutrientes como son vitamina A, vitamina C, tiamina, riboflavina, calcio, potasio, hierro, sodio, zinc, niacina, y antioxidantes, es de bajo contenido de proteína bruta (5.8%); debido a sus aportes en carbohidratos solubles se puede obtener un alimento de gran valor nutritivo. Se ha utilizado como sustituto alternativo en las dietas para aves y cerdos (Leyva, 2010; Kharisma *et al.*, 2014). En alimento para peces (bagre, tilapia y cachama) se han hecho inclusiones de harina de semilla de yaca (Olaifa *et al.*, 2013; Nyamweha *et al.*, 2017), se demostró que es una fuente de energía rica en almidón, sacarosa, glucosa y fructosa.

A pesar de la importancia comercial que tiene el langostino *M. americanum* para ser cultivado, no hay información sobre digestibilidad de ingredientes para su alimentación y nutrición. En México aún no se cultiva comercialmente en estanques, sin embargo, en las investigaciones enfocadas al crecimiento se recurre al uso de dietas comerciales diseñadas para otras especies de crustáceos. Estas dietas no permiten al langostino expresar todo su potencial de crecimiento, ya que no están formulados con base en la capacidad digestiva de la especie. Por lo anterior, el interés del presente trabajo es contribuir al conocimiento de la alimentación y actividad digestiva de *M. americanum*, con ingredientes alternativos a la harina de pescado y a las dietas comerciales, con el propósito de diseñar dietas prácticas eficientes que cubran con los requerimientos nutricionales y que permitan alcanzar la talla comercial con menor gasto de inversión.

LITERATURA CITADA

- Albertoni, E., Palma, C. y Esteves, F. 2003. Natural diet of three species of shrimp in a tropical coastal lagoon. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 46: 395-403.
- Antimo-Pérez, J. S. 2000. Determinación de la relación proteína/energía, para el crecimiento de *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson, 1874), utilizando dos proporciones de proteína vegetal/animal. Tesis de maestría en ciencias en recursos alimenticios y producción acuícola, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Nuevo León.
- Arana-Magallón, F. 1977. Experiencias sobre el cultivo del langostino *Macrobrachium americanum* Bate, en el noroeste de México. Actas del Simposio sobre Acuicultura en America Latina.; FAO Fish. Rep., Publ. Por: FAO, Roma (Italia). 1:139-147.
- Calvo, M., Carranco, M., Salinas, C. A., y Carrillo, S. 2016. Composición química de harina de calamar gigante *Dosidicus gigas*. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 66(1), 074-081.
- Cho, C.Y., y Kaushik, S. J. 1990. Nutritional energetic in fish: energy and protein utilization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *World Review of Nutrition and Dietetics*. 61:132-172
- CONAPESCA, 2013. Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2013. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. México. 299p.
- Davis, D. A. y Arnold, C. R. 2000. Replacement of fish meal in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 185: 291-298.
- Ding, Z. Zhang, Y. Ye, J. Du, Z. y Kong, Y. 2015. An evaluation of replacing fish meal with fermented soybean meal in the diet of *Macrobrachium nipponense*: Growth, nonspecific immunity, and resistance to *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*. 44: 295-301.
- Dokken, Q. R. y Lawrence, A. L. 1985. Growth response of *Penaeus vannamei* to feeding frequency and dietary ingredients. Soybean meal, a wheat meal mixture, squid meal and squid puree. Abstract meeting World Mariculture Society. Orlando, Florida, USA.
- Ezquerro-Brauer, J. M., Salazar-Leyva, J. A., Bringas-Alvarado, L. y Rouzaud-Sundez O. 2003. Effect of dietary protein on muscle collagen, collagenase and shear force of farmed white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *European Food Research and Technology*. 217(4): 277-280.
- Fenucci, J. L., Zein-Eldin, Z. P. y Lawrence, A. L. 1980. The nutritional response of two penaeid species to various levels of squid meal in a prepared feed. *Proceedings World Mariculture Society*. 11: 403-409.
- García-Guerrero, M. U. 2010. Effect of temperature on consumption rate of main yolk components during the embryo development of the prawn *Macrobrachium americanum* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae). *Journal of the World Aquaculture Society*. 41(1): 84-92.
- García-Guerrero, M. U. y Apun-Molina, P. 2008. Density and shelter influence the adaptation to wild juvenile cauque prawns *Macrobrachium americanum* to culture conditions. *Journal North American Journal of Aquaculture*. 70(3): 343-346.

- García-Guerrero, M. U., Becerril-Morales, F., Vega-Villasante, F. y Espinosa-Chaurand, L. D. 2013. Los langostinos del género *Macrobrachium* con importancia económica y pesquera en América Latina: conocimiento actual, rol ecológico y conservación. *Latin american journal of aquatic research*. 41(4): 651-675.
- García-Hernández, B., Hernández-Urquín, Y., Álvarez-González, C. A., Martínez-García, R., Contreras-Sánchez, W. M., Civera-Cerecedo, R. y Nolasco-Soria, H. G. 2015. Pasta de coco en dietas prácticas para juveniles de tilapia del Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.) (*Percoidei: Cichlidae*). *Acta agrícola y pecuaria*. 1(1): 43-50.
- Granados, A. A. 1980. Biología y aspectos poblacionales del “langostino de río” *Macrobrachium americanum* (Bate, 1868) (Decapoda: Palaemonidae) en algunas áreas de los estados de Michoacán y Guerrero. Tesis Profesional Facultad de Ciencias Universidad Nacional Autónoma de México. 119 p.
- Hernández, L., Murugan, G., Ruiz-Campos, G. y Maeda-Martínez, A. M. 2007. Freshwater shrimp of the genus *Macrobrachium* (Decapoda Paleamonidae) from the Baja California Peninsula, Mexico. *Journal of Crustacean Biology*. 27(2): 351-369.
- Hernández-Sandoval, P. 2008. Efecto de la temperatura en el crecimiento y sobrevivencia del langostino *Macrobrachium* occidentale y del acocil *Cherax quadricarinatus*. Tesis de maestría. Departamento de Acuicultura, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Instituto Politécnico Nacional, Sinaloa.
- Kensler, C. B., Restori, A. W. y Grande-Vidal, J. M. 1974. El desarrollo y cultivo del langostino de río en Michoacán y Guerrero, México y pesquería de langosta en Michoacán, México contribución al estudio de las pesquerías en México. Programa De Investigación Y Fomento Pesqueros México/PNUD/FAO.
- Kharisma, A., Gofur, A. y Witjoro, A. 2014. The Effect of Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) Seeds Flour as Supplementary Feed to the Meat Quality of Broiler Chickens Strain Cobb. *Proceeding international conference on global Resource conservation*.
- Laguna-Nataren, V. M. 2019. Caracterización de enzimas digestivas en piguas (*Macrobrachium americanum*, bate, 1868). Tesis doctoral, Instituto de Ciencias Biológicas-Licenciatura en Biología Marina y Manejo Integral de Cuencas-UNICACH.
- Leyva, C. 2010. Caracterización química de harinas de frutos y hojas del árbol del pan (*Artocarpus altilis*) y su empleo en la alimentación de pollos, conejos y ovinos de ceba. Tesis de doctorado en ciencias veterinarias. Instituto de Ciencia Animal, La Habana. 127p.
- Lizarraga, M. 1974. Bases técnicas del proyecto de granja acuícola múltiple de El Rosario, Sinaloa, México. Food and Agriculture Organization of the United States.
- Martínez-Palacios, C. A., Chávez, C., y Palomo, G. 1980. Avance sobre el semicultivo del langostino *Macrobrachium tenellum* (Smith). In *Memorias del Segundo Simposio Latinoamericano de Acuicultura* (pp. 643-662).
- Martínez-Palacios, C. A., Harfush-Meléndez, M., Chávez-Sánchez, C. y Ross L. G. 1996. The optimum dietary protein level for the Mexican cichlid *Cichlasoma urophthalmus* (Günther): A comparison of estimates derived from experiments using fixed-rate feeding and ad-libitum feeding. *Aquaculture Nutrition*. 2:11-20.
- Méndez-Martínez, Y., Yamasaki-Granados, S., García-Guerrero, M. U., Martínez-Córdova, L. R., Rivas-Vega, M. E., Arcos-Ortega, F. G. y Cortés-Jacinto, E. 2016. Effect of dietary protein content on growth rate, survival and body composition of juvenile cauque river

- prawn, *Macrobrachium americanum* (Bate 1868). *Aquaculture Research*, 48(3): 741-751.
- Montemayor-Leal, J. 2000. Moléculas sintéticas y extractos animales y vegetales como atractantes alimenticios en dietas para crustáceos de interés comercial. Tesis de doctorado en ciencias biológicas con especialidad en acuicultura. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Montoya, J. V. 2003. Freshwater shrimps of the genus *Macrobrachium* associated with roots of *Eichhornia crassipes* (Water Hyacinth) in the Orinoco Delta (Venezuela). *Caribbean Journal of Science*. 39(1): 155-159.
- Moorthy, M. P. y Viswanathan, K. 2006. Feeding Value of Extracted Coconut Meal for White Leghorn Layers. *International Journal of Poultry Science*. 5-11.
- Nolasco-Soria, H. G., Vega-Villasante, F. y Álvarez-Gonzalez, C. A. 2014. Composición a base de coco, método de preparación y uso de la misma como carnada para la captura de organismos acuáticos. MX2014015122.
- Nyamweha, B. R., Benedict, A., Geoffrey, C. y Alexis, K. T. 2016. Response of Chia (*Salvia hispanica*) to different plant densities and the ecological conditions of Kabarole district.
- Olaifa, F. E., Ajayi, I. A. y Raji, I. O. 2013. Chemical Analysis and Nutritional Assessment of *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Jack Fruit) Defatted Seeds used as Additive in Feed for *Clarias gariepinus* post juveniles. *Journal of American Science*. 9(8): 128-135.
- Ponce-Palafox, J. T., Arana-Magallón, F. C., Cabanillas-Beltrán, H., Esparza-Leal, H., y de Blas, I. 2002. Bases biológicas y técnicas para el cultivo de los camarones de agua dulce nativos del Pacífico Americano *Macrobrachium tenellum* (Smith, 1871) y *M. americanum* (Bate, 1968). In Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura. 534-546.
- Tacon, A. G. J. y Akiyama, D. 1997. Feed Ingredients in: *Crustacean Nutrition, Advances in World Aquaculture*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA. 6: 411-472.
- Wisman, E. L., Holmes, C. E. y Engel, R. W. 1958. Utilization of poultry by-products in poultry rations. *Poultry Science*. 37: 834-838.

HIPÓTESIS

Macrobrachium americanum es un animal omnívoro, con alta capacidad de recepción sensorial a distancia, mediante el uso de quimiorreceptores y sistema enzimático desarrollado para digerir ingredientes de origen vegetal y animal, que pueden ser incluidos en dietas para potencializar el crecimiento, la engorda y cultivo de la especie.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el comportamiento, digestibilidad y crecimiento en *Macrobrachium americanum* alimentados con dietas con la inclusión de ingredientes vegetales y animales.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Describir el comportamiento y preferencia alimentaria de *M. americanum* con ingredientes de origen animal y vegetal.
2. Evaluar la digestibilidad *in vitro* de ingredientes de origen animal y vegetal en *M. americanum*.
3. Evaluar la digestibilidad aparente de dietas con inclusión de ingredientes de origen animal y vegetal en *M. americanum*.
4. Evaluar el crecimiento y supervivencia de langostino *M. americanum* en un cultivo experimental.

CAPÍTULO 1. COMPORTAMIENTO Y PREFERENCIA ALIMENTARIA DE *M. americanum* CON INGREDIENTES DE ORIGEN ANIMAL Y VEGETAL

1.1 RESUMEN

El presente estudio tuvo por objetivo explorar el comportamiento y selectividad alimentaria de *M. americanum*, asumiendo que esta especie presenta preferencias alimentarias específicas. Para ello, se realizaron dos bioensayos a 22 y 30°C, se diseñaron acuarios en los cuales se ofrecieron a los langostinos, tres alimentos de tipo animal: calamar, subproducto avícola, subproducto de pescado; dos vegetales: coco (*Cocos nucifera*) y yaca (*Artocarpus heterophyllus*), y un alimento comercial con 35% de proteína, de manera individual y posteriormente en pares para registrar la preferencia de los langostinos. El factor medido fue el tiempo (en segundos) en que los langostinos respondieron al estímulo de los alimentos. Cada tratamiento se evaluó por triplicado. Las observaciones del comportamiento no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos. Sin embargo, cuando se alimentaron con calamar, subproducto avícola, coco y yaca se registró menor tiempo en desarrollar las etapas de comportamiento. En el bioensayo de selectividad por pares se observó mayor preferencia por los alimentos de origen animal. Por lo tanto, *M. americanum* en condiciones de laboratorio muestra tendencias carnívoras, con comportamiento poco agresivo al consumir el alimento.

1.2 INTRODUCCIÓN

El alimento de los crustáceos consiste básicamente de una dieta animal, que es capturada tanto por depredadores activos como por individuos pasivos. Dado sus hábitos alimentarios, los crustáceos pueden ser divididos en varias clases: filtradores, depredadores, carroñeros y parásitos (Waterman, 1960). En el caso de adultos de *M. americanum*, estos permanecen en agua dulce, migrando hacia las aguas estuarinas para su reproducción. Se caracterizan por ser bentónicos de hábitos omnívoros, se alimentan principalmente de zooplancton, detritos, algas, macroinvertebrados acuáticos, restos de animales muertos y pueden recurrir al canibalismo si no existe comida disponible (Rodríguez de la Cruz, 1967). Sin embargo, se ha documentado que muestran preferencia por alimentos de origen animal (Benítez-Mandujano y Ponce-Palafox, 2012).

Los langostinos tienden a moverse en las corrientes de agua caminando sobre el fondo; generalmente por zonas de densa vegetación, orillas sombreadas o entre piedras, raíces sumergidas y troncos que forman parte de su refugio, donde capturan su alimento. La alimentación incluye la búsqueda de alimento, detección, orientación, captura, manipulación y finalmente la ingesta del alimento. Existen tres diferentes vías de detección para localizar una fuente de alimento: visual, mecánica y por quimiorrecepción, aunque la localización de las fuentes de alimento de los decápodos se debe en gran medida a la quimiorrecepción, más que a la mecanorrecepción o a la visión. Los quimiorreceptores están presentes en todas las partes del cuerpo del crustáceo, incluyendo los pereópodos (Kalpana y Meena, 2016). Asimismo, apéndices como las mandíbulas, maxílulas, maxilas y los tres pares de maxilípedos, actúan en actividades como la masticación, manipulación del alimento, limpieza de las superficies de

otros apéndices, filtración de partículas en suspensión y creación de corrientes de alimento (Holdich y Lowery, 1988). La información sobre la base sensorial, el comportamiento y alimentación de los langostinos proporciona los medios para evaluar la eficacia de los alimentos en términos de olor, sabor, tamaño, aceptación o rechazo del alimento (Antimo-Pérez, 2000; Méndez-Martínez *et al.*, 2016, Kawamura *et al.*, 2018a).

A medida que disminuye la inclusión de la harina de pescado en los alimentos comerciales para camarones, el papel de los quimioattractantes se vuelve crucial para preservar la atractabilidad de los alimentos. Por lo que identificar los estímulos quimiosensoriales puede ayudar a mejorar la ingestión de dietas formuladas, así como minimizar la lixiviación de los nutrientes causada por la lentitud del comportamiento alimentario (Nunes *et al.*, 2006).

Harpaz y Steiner (1990), realizaron un experimento con videograbaciones para investigar el comportamiento alimentario inducido con betaína en *M. rosenbergii*, registraron aumento en el crecimiento. Aréchiga *et al.*, (2015), analizaron el efecto de la pigmentación, crecimiento y supervivencia mediante la inclusión de pigmentos de *Hibiscus sadariffa*, en alimentos para *M. tenellum*. Kawamura *et al.*, (2017), documentaron el comportamiento alimentario de *M. rosenbergii* y *Litopenaeus vannamei* mediante técnicas de selectividad sensorial, en donde explican la importancia de los diferentes apéndices para la detección y búsqueda del alimento. En investigaciones recientes han demostrado que no existe diferencia significativa en la atractabilidad y palatabilidad de harinas de cerdo, pluma y camarón con la harina de pescado, probados en bioensayos de comportamiento de *M. tenellum* (Montoya-Martínez *et al.*, 2018). Debido a la importancia económica y el interés de cultivo en *M. americanum*, este trabajo tiene como objetivo describir el comportamiento y preferencia alimentaria de *M. americanum* con ingredientes de origen animal y vegetal.

1.3 MATERIALES Y MÉTODOS

1.3.1 Evaluación del comportamiento y preferencia alimentaria

Los bioensayos de comportamiento y preferencia alimentaria se realizaron con la metodología propuesta por Costero y Meyers (1993) (Tabla 1.1). Se utilizaron organismos de *M. americanum* de 20 ± 2.47 g. Fueron mantenidos en tanques circulares de 100L equipados con aireación continua, durante 5 días para adaptarse a las condiciones de cautiverio; en este periodo los animales fueron alimentados *ad libitum* con alimento comercial (Malta-Cleyton® 35% de proteína).

Tabla 1.1. Condiciones experimentales estandarizadas para evaluación de las respuestas de los langostinos a los estímulos de la alimentación.

-
- (1) Los camarones se acondicionaron durante 5 días bajo condiciones de calidad del agua comparables a las condiciones de prueba.
 - (2) Las pruebas fueron realizadas con una cámara sumergible con visión de 360° en una sala semioscura (con suficiente luz para discernir las respuestas).
 - (3) Los tiempos de observación se estandarizaron, para todas las observaciones con duración de 60 minutos para cada tratamiento.
 - (4) Se detuvo el flujo de agua para evitar la corriente unidireccional sobre la fuente de alimentación.
 - (5) Los alimentos fueron asignados aleatoriamente a posiciones para minimizar la preferencia de los animales por los lados del acuario (en experimentos de dos opciones).
 - (6) No se proporcionó aireación durante la prueba
 - (7) El acuario se vació completamente y se limpió después de cada uno de ellos.
-

Fuente: Costero y Meyers (1993), con modificaciones.

Para estimular las respuestas de alimentación los animales se tuvieron en ayuno durante 24 horas antes de realizar las observaciones de comportamiento. Se colocó un animal a la vez con una opción de alimento y posteriormente con dos opciones de alimento en un tanque circular con dimensiones de 70cm × 60cm (diámetro×alto).

El tanque fue equipado con una cámara de video (PanoView 360°) para grabar el tiempo que utilizan en la respuesta y preferencia de la fuente de alimento, cada video grabación fue de 60 minutos. (Fig. 1.1). Para cada observación los alimentos se ofrecieron en cantidades similares (4g), se utilizó un animal diferente, y después de cada sesión se realizaron recambios de agua del 100%.

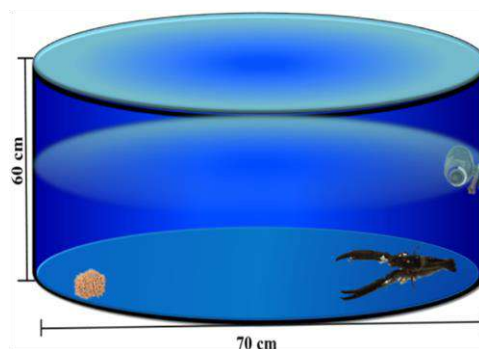


Figura 1.1. Esquema del dispositivo de video grabación de las fases de comportamiento alimentario de *M. americanum* en el tanque experimental. Se grabaron imágenes de 360° durante 60 minutos.

1.3.2 Medición de las respuestas conductuales

El comportamiento alimentario fue categorizado de acuerdo a las siguientes propuestas por Lee y Meyers (1997) con modificaciones: (1) detección: tiempo transcurrido entre la inmersión de los alimentos y el inicio de la percepción por parte del langostino, como el movimiento de las antenas, las partes bucales y los pereiópodos; (2) orientación: el tiempo transcurrido en el que los langostinos se dirigen hacia el alimento; (3) locomoción, el tiempo que los langostinos se pasan buscando el ingrediente escogido después de la detección, los langostinos empiezan a moverse hacia adelante o hacia atrás en el alimento, caminando o moviéndose rápidamente de un lugar a otro, y buscando de forma calmada o intensiva el alimento; (4) movimiento de huida o errante: tiempo que pasan los langostinos moviéndose

activamente de un lado a otro después de encontrar el alimento; y (5) actividad alimentaria: tiempo en el que ingieren el alimento después de haberlo detectado (Fig. 1.2).

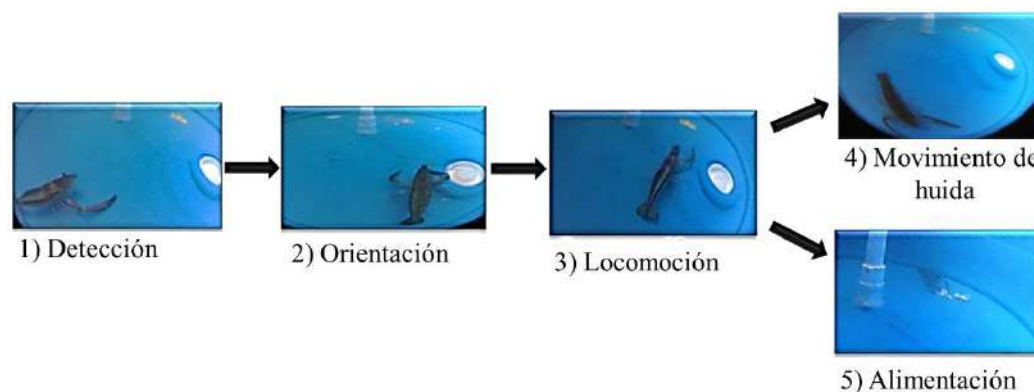


Figura 1.2. Descriptores para analizar las respuestas de comportamiento de *M. americanum* a los alimentos.

Cuando el alimento seleccionado fue consumido se calificó como una respuesta positiva. Después de la orientación y locomoción si no hubo consumo de alimento se contabilizó como respuesta de rechazo. El porcentaje de respuestas positivas y rechazos para cada ingrediente probado se calcularon con las siguientes ecuaciones (Nunes *et al.*, 2006):

$$\% \text{ de elección positiva} = (\text{número total de opciones} / \text{número total de comparaciones}) \times 100$$

$$\% \text{ de rechazo} = (\text{número total de rechazos} / \text{número total de opciones}) \times 100$$

1.3.4 Diseño experimental

El estudio se dividió en tres fases, la fase inicial (Fase I) se realizó para validar la metodología y el sistema utilizado. Para la Fase I y II, se comparó el comportamiento y preferencia alimentaria a temperatura de 22 y 30°C respectivamente. Los alimentos de prueba fueron: alimento comercial (Malta-Cleyton® 35% de proteína), tres de origen animal, subproducto de

pescado, subproducto avícola y calamar; y dos de origen vegetal: pulpa de yaca y coco. Cada ingrediente se probó con un langostino diferente de *M. americanum*. En la fase III, los ingredientes se compararon entre sí, se colocaron dos opciones de alimento y un langostino.

1.3.5 Análisis estadístico

Para la fase I y II, los tiempos de detección, orientación, locomoción, movimiento de huida y alimentación los resultados se sometieron a un análisis de varianza para determinar diferencias entre los distintos tratamientos. Al encontrarse diferencias significativas, los tratamientos fueron separados utilizando una prueba de comparación de medias de Tukey (Zar, 1982). Para la fase III, los datos positivos y de rechazo de las comparaciones realizadas entre los ingredientes se sometieron al análisis de ji cuadrada. Se realizaron comparaciones entre pares con la prueba de z cuando las diferencias fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

1.4 RESULTADOS

1.4.1 Fases de comportamiento y preferencia alimentaria

La calidad del agua durante las pruebas de comportamiento con *M. americanum* fue mantenida en 5.6 ± 0.41 mg/L de oxígeno disuelto, 22 ± 0.4 y 30 ± 0.2 °C de temperatura y 8 ± 0.5 de pH. En la tabla 1.2 se presenta la respuesta de comportamiento frente a los alimentos suministrados. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos cuando se realizó el experimento a 22°C, mientras que a temperatura de 30°C se encontraron diferencias entre los tratamientos en el tiempo de inactividad y detección. Los langostinos invirtieron menor tiempo cuando se les ofreció calamar, coco y subproducto avícola después de la detección hasta el momento en que comienzan a consumir el alimento; este comportamiento se observó en ambas temperaturas. Para el subproducto de pescado y fruto de yaca se observó una respuesta similar en todas las etapas de comportamiento.

Tabla 1.2. Promedio de tiempo (segundos) obtenido durante las diferentes fases del comportamiento alimenticio observado durante 60 minutos a temperatura de 22 y 30°C

Ingrediente	Inactividad		Detección		Orientación		Locomoción		Movimiento errante		Alimentación	
	22°C	30°C	22°C	30°C	22°C	30°C	22°C	30°C	22°C	30°C	22°C	30°C
Alimento comercial	1451	1481 ^{ab}	158	377 ^a	188	390	230	408	329	442	349	491
Calamar	1427	1854 ^a	144	421 ^a	205	428	219	432	198	245	511	90
Coco	1022	734 ^b	129	115 ^{bc}	165	122	175	128	660	264	205	298
Subproducto avícola	1006	876 ^{ab}	370	111 ^c	413	185	420	185	356	655	505	265
Subproducto de pescado	1146	1367 ^{ab}	563	283 ^{abc}	657	221	660	233	395	717	674	189
Fruto de yaca	834	1022 ^{ab}	394	125 ^{bc}	438	218	457	255	335	794	630	64

Las medias con diferente superíndice indican diferencias significativas entre los ingredientes. (F= 1.50; g. l. 11; p> 0.05).

Los langostinos fueron más activos (tiempo de movimiento errante o de huida) cuando se les ofreció el coco, yaca, subproducto avícola y subproducto de pescado; mientras que el

tratamiento con menor respuesta alimentaria fue el alimento balanceado para ambas temperaturas.

1.4.2 Selectividad alimenticia en pares

El alimento balanceado no fue elegido por los langostinos, mientras que el ingrediente de mayor porcentaje de respuestas positivas se observó en el subproducto de pescado, subproducto avícola y calamar, sin diferencias significativas entre los tratamientos (tabla 1.3; $p < 0.05$). Estos valores fueron significativamente diferentes a los valores determinados para coco y yaca, los cuales presentaron los porcentajes de mayor rechazo.

Tabla 1.3. Número de comparaciones y porcentajes de respuestas positivas y rechazo de seis alimentos para *M. americanum*.

Ingrediente	Número de comparaciones	Respuesta positiva (%)	Rechazo (%)
Subproducto de pescado	15	31.11 ^c	2.22
Calamar	15	22.22 ^{bc}	11.11
Subproducto avícola	15	20 ^{bc}	13.33
Coco	15	17.78 ^b	15.56
Yaca	15	8.89 ^b	24.44
Alimento comercial 35% de proteína	15	0.00 ^a	33.33

Chi- cuadrada <0.001

1.5 DISCUSIÓN

Los resultados reportados aquí señalan la importancia de caracterizar las respuestas de alimentación de los langostinos en términos de descriptores del comportamiento. A través de los diferentes bioensayos, permiten seleccionar aquellos con posibilidades de ser usados en condiciones de cultivo comercial. Las fases de comportamiento registradas para *M. americanum* correspondieron a las detectadas por otros autores como Harpaz *et al.*, (1987) y Costero y Meyers (1993).

Para los bioensayos y el mantenimiento de los organismos, fue implementado un sistema en el cual se utilizaron acuarios circulares sin aireación durante la video grabación del comportamiento, el cual proporcionó buenos resultados al evitar el movimiento del organismo en contra o a favor de la corriente del agua. En experimentos de atracción realizados con *M. rosenbergii* se han utilizado sistemas rectangulares, en los que el alimento se coloca en un extremo, mientras que el organismo se coloca en el extremo opuesto; en las observaciones realizadas los autores encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (Harpaz *et al.*, 1987; Mendoza *et al.*, 1997). Mientras que Montoya-Martínez *et al.*, (2018) en la evaluación de sistemas “Y” y rectangulares no encontraron diferencias significativas en el comportamiento alimentario para *M. tenellum*. De acuerdo con Costero y Meyer (1993), la interpretación adecuada de las observaciones y las diferencias encontradas entre los ingredientes utilizados como atrayentes depende del uso del sistema de bioensayo en el que se cuantifique el comportamiento.

Mediante los bioensayos de selectividad alimentaria se identificaron los alimentos de mayor preferencia para los langostinos, por consiguiente cuando se utilizan los ingredientes adecuados en la elaboración de dietas balanceadas se garantiza la eficiencia alimenticia de los

mismos. En investigaciones anteriores los principales ingredientes utilizados como estimulantes alimenticios han sido compuestos químicos solubles en agua como los aminoácidos, principalmente taurina, glicina, arginina, ácido glutámico y alanina; péptidos pequeños como aminos, nucleótidos y nucleósidos y bases amino como la betaína (Lee y Meyers, 1997, Montemayor-Leal *et al.*, 2005 y Nunes, 2006). Por lo tanto, las respuestas de comportamiento y preferencia de los langostinos con los ingredientes de origen animal y vegetal utilizados en este estudio confirman la capacidad de atractabilidad que tienen estos para estimular los quimiorreceptores de *M. americanum*.

Con respecto a los resultados obtenidos con el alimento comercial, esto indica la poca cantidad y/o calidad de los atractantes en la formulación, lo que coincide con lo reportado por Montemayor-Leal *et al.*, (2005). El mayor porcentaje de respuestas positivas en la selectividad que se observó en este estudio fueron los ingredientes de origen animal: el subproducto de pescado y el calamar, los cuales son utilizados de manera convencional como atractantes y alimentos en las dietas para animales acuáticos. Estas observaciones concuerdan con lo reportado en otras investigaciones de comportamiento con *L. vannamei* en donde registran mayor preferencia alimentaria por el calamar (Akiyama, 1989, Nunes *et al.*, 2006). En contraste, Kawamura *et al.*, (2018 b), reportan que adultos de *M. rosenbergii* aceptaron bien el calamar al principio del experimento, pero respondieron negativamente después de las primeras experiencias de alimentación.

Por otro lado, con respecto a los ingredientes de origen vegetal, el coco y la yaca en las pruebas de comportamiento el tiempo de respuesta alimentaria de los langostinos fue similar en comparación con ingredientes de origen animal, lo que se sugiere que tienen potencial para ser usados en las dietas como atractantes. Resultados similares con el coco fueron encontrados

en estudios con *Litopenaeus vannamei* y *Oreochromis niloticus*, los cuales fueron alimentados con pasta de coco para sustituir el uso de la harina de pescado, mostrando un gran potencial como attractante e ingrediente suplementario (Montemayor-Leal *et al.*, 2005; García-Hernández *et al.*, 2015).

Las diferencias en las pruebas de selectividad sugieren que los langostinos de la especie *M. americanum*, aunque son omnívoros tienden a ser más carnívoros, esto puede deberse a los aminoácidos, lípidos y carbohidratos que tienen cada una de las fuentes utilizadas (Nunes *et al.*, 2006). Sin embargo, es necesario realizar varias pruebas en diferentes condiciones y tipos de acuarios, para evitar interpretaciones erróneas y mejorar la metodología.

1.6 CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos revelan que la selección o preferencia alimentaria en juveniles de langostino *M. americanum* son los alimentos de origen animal. Por lo tanto de acuerdo a estos resultados, el subproducto de pescado, subproducto avícola y el calamar son una fuente de proteína que se puede utilizar en dietas para esta especie.

El coco y la yaca, fueron en menor porcentaje seleccionados por los langostinos, sin embargo, se obtuvieron resultados favorables en el tiempo invertido en cada una de las fases de comportamiento. Esto indica que tienen gran potencial como ingredientes atractantes en la elaboración de dietas comerciales para esta especie.

1.7 LITERATURA CITADA

- Akiyama, D. M., Coelho S. R., Lawrence, A. L. y Robinson E. H. 1989. Apparent digestibility of feedstuffs by marine shrimp *Penaeus vannamei* Boone. Nipon Suisan Gakkaishi. 55(1): 91-98.
- Antimo-Pérez, J. S. 2000. Determinación de la relación proteína/energía, para el crecimiento de *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson, 1874), utilizando dos proporciones de proteína vegetal/animal. Tesis de maestría en ciencias en recursos alimenticios y producción acuícola, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Nuevo León.
- Aréchiga, P. M. A., Moreno, L. A. D., Gil, R. G. L., Montoya, M. C. E., Chong, C. O., Vargas, C. M. A. y Vega-Villasante, F. 2015. Inclusión de *Hibiscus sabdariffa* en alimentos experimentales para *Macrobrachium tenellum*: efectos en la pigmentación, crecimiento y supervivencia. 13: 1-14
- Benítez-Mandujano M. A. y Ponce-Palafox J. T. 2012. Biología, ecología e investigación sobre el langostino de río *Macrobrachium carcinus* Linnaeus, 1958. Bloomington. USA: Palibros.
- Costero, M. C. y Meyers, S. P. 1993. Evaluation of chemoreception by *Penaeus vannamei* under experimental conditions. Journal The Progressive Fish-Culturist. 55: 157-162.
- García-Hernández, B., Hernández-Urquín, Y., Álvarez-González, C. A., Martínez-García, R., Contreras-Sánchez, W. M., Civera-Cerecedo, R. y Nolasco-Soria, H. G. 2015. Pasta de coco en dietas prácticas para juveniles de tilapia del Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.) (*Percoidei: Cichlidae*). Acta agrícola y pecuaria. 1(1): 43-50.
- Harpaz, S., Kahan, D. Galun, R. y Moore, I. 1987. Responses of fresh water prawn *Macrobrachium rosenbergii*, to chemical attractants. Journal of Chemical Ecology. 13: 1957-1965.
- Harpaz, S. y Steiner, J. E. 1990. Analysis of betaine-induced feeding behavior in the prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) (Decapoda, Caridea). Crustaceana. 58(2): 175-185.
- Holdich, D. M. y Lowery, R. S. 1988. Freshwater crayfish: biology, management and exploitation. New Biological Books Reviews and Brief Notices. 498p.
- Kalpana, P. y Meena, P. 2016. Role of Appendages In feeding behavior in freshwater crab *Barytelphusa cunicularis* and prawn *Macrobrachium kistnensis*, (Decapoda, Crustacea). International Journal of Recent Scientific Research. 7(3): 9327-9330.
- Kawamura, G., Bagarinao, T. U. y Yong, A. S. K. 2017. Sensory systems and feeding behaviour of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, and the marine whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Borneo Journal of Marine Science and Aquaculture. 1: 80-91.
- Kawamura, G., Bagarinao, T. U., Yong, A. S. K., Faisal, A. B., y Lim, L. S. 2018a. Limit of colour vision in dim light in larvae of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Fisheries science. 84(2): 365-371.
- Kawamura, G., Bagarinao, T. U., Binti Seniman, N. S., Yong, A. S. K. y Lim, L. S. 2018b. Comparative morphology and function of feeding appendages in food intake behaviour of the whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, and the giant freshwater

- prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Borneo Journal of Marine Science and Aquaculture. 2: 26-39.
- Lee, P.G. y Meyers, S. P. 1997. Chemoattraction and feeding stimulation. In: D'Abramo, L.R., Conklin, D.E., Akiyama, D.M. (Eds.), Crustacean Nutrition. Advances in World Aquaculture. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA. 6: 292-352.
- Méndez-Martínez, Y., Yamasaki-Granados, S., García-Guerrero, M. U., Martínez-Córdova, L. R., Rivas-Vega, M. E., Arcos-Ortega, F. G. y Cortés-Jacinto, E. 2016. Effect of dietary protein content on growth rate, survival and body composition of juvenile caucue river prawn, *Macrobrachium americanum* (Bate 1868). Aquaculture Research, 48(3): 741-751.
- Mendoza, R., Montemayor, J. y Verde, J. 1997. Biogenic amines and pheromones as feed attractants for the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture Nutrition. 3(3): 167-173.
- Montemayor-Leal, J., Mendoza-Alfaro, R., Aguilera-González, C., y Rodríguez-Almaraz, G. 2005. Moléculas sintéticas y extractos animales y vegetales como atrayentes alimenticios para el camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Revista Aquatic. 22: 1-10.
- Montoya-Martínez, C., Nolasco-Soria, H. G., Vega-Villasante, F., Carrillo-Farnés, O., Álvarez-González, A. y Civera-Cerecedo, R. 2018. Attractability and palatability of ingredients in long arm river prawn *Macrobrachium tenellum* feed. Latin american journal of aquatic research. 46(3): 615-620.
- Nunes, A. J., Sá, M. V., Andriola-Neto, F. F. y Lemos, D. 2006. Behavioral response to selected feed attractants and stimulants in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture. 260(4): 244-254.
- Rodríguez de la Cruz, C. 1967. Contribución al conocimiento de los palemónidos de México. Palemónidos del Golfo de California con notas sobre la biología de *Macrobrachium americanum*, Bate. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Waterman, T. H. 1960. Physiology of Crustacea. Academic Press, New York.
- Zar. J. H. 1982. Bioestadistical Analysis. Prentice-Hall. 960p.

CAPÍTULO 2. DIGESTIBILIDAD *in vitro* DE PROTEÍNA DE INGREDIENTES NO CONVENCIONALES EN DIETAS PARA EL LANGOSTINO *Macrobrachium americanum*

2.1 RESUMEN

Actualmente no se dispone de un alimento balanceado que contenga los ingredientes apropiados para el crecimiento de *Macrobrachium americanum*. En este estudio se determinó el grado de hidrólisis (GH%) de siete ingredientes proteicos de origen animal y vegetal, mediante el método pH-Stat, utilizando extractos multienzimáticos de hepatopáncreas de adultos de *M. americanum*. De todos los ingredientes probados, los de mayor GH fueron harina de pescado y yaca (3.32%), y alimento comercial (2.83%); y de menor GH fue la harina de soya (1.18%) respecto al GH de la caseína, como ingrediente de referencia. Se concluye que los ingredientes de prueba mencionados pueden ser fuentes potenciales de proteína, para la elaboración de dietas para *M. americanum*.

2.2 INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la demanda de productos de origen marino, principalmente pescado y aceite de pescado como fuente de proteína, es cada vez mayor. Por otro lado, la acuicultura se ha desarrollado a un ritmo acelerado en los últimos años, ocasionando con esto una gran demanda de alimentos balanceados para cubrir las necesidades en los cultivos. Por lo que es necesario buscar otras fuentes de energía y proteína que ayuden a sostener este crecimiento. Entre las estrategias para disminuir el uso de harinas de origen marino en la elaboración de alimentos comerciales, es la inclusión de materias primas no convencionales provenientes de diferentes industrias como: subproductos agrícolas, avícolas o pesqueros (De la Higuera y Cardente, 1993). Sin embargo, es necesaria la valoración de los diferentes tipos de ingredientes a utilizar, dado que se ha señalado diferencias entre ellos en la calidad de proteína y el efecto que tienen en el crecimiento de los organismos. Las proteínas de origen animal son las más usadas en la alimentación debido a que son muy atractantes y ricas en aminoácidos esenciales, mientras que las proteínas vegetales son usadas en menor proporción (Tacon, 1994). Recientemente se realizan investigaciones en la elaboración de alimentos con ingredientes proteínicos alternativos con el fin de disminuir y optimizar los costos relacionados con la alimentación.

La selección de los ingredientes con mayor digestibilidad posibilita la elaboración de dietas fisiológicamente adecuadas y obtener una mejor nutrición (Tacon y Akiyama, 1997). La digestibilidad es uno de los parámetros utilizados para medir el valor nutricional de los distintos insumos destinados a alimentación acuícola, debido a que no es suficiente que la proteína u otro elemento se encuentre en altos porcentajes en el alimento sino que deber ser

digestible para que pueda ser asimilado, y de esta manera, aprovechado por el organismo que lo recibe. El conocimiento de los coeficientes de digestibilidad constituye una excelente medida de calidad, por lo tanto, hace viable la inclusión de una gran variedad de productos y subproductos en dietas para peces y crustáceos. Actualmente se realizan estudios de digestibilidad *in vitro* usando enzimas de hepatopáncreas del camarón, utilizando el sistema pH-Stat, como una alternativa rápida y rentable para la elaboración de alimentos, ya que permite examinar un gran número de fuentes de proteínas en menor tiempo (Moyano *et al.*, 2014). Este método consiste en someter las proteínas a una digestión artificial, donde se evalúa el porcentaje de enlaces peptídicos hidrolizados por acción de las diferentes proteasas (Ezquerro- Brauer *et al.*, 1997; Alarcon *et al.*, 2002). Respecto a la digestibilidad de ingredientes en dietas comerciales para langostinos del género *Macrobrachium* en las investigaciones de Espinosa-Chaurand (2017), Santos-Romero *et al.*, (2017) y Montoya-Martínez *et al.*, (2018), se describen la actividad enzimática y digestibilidad de ingredientes proteínicos en *M. tenellum*. Manríquez-Santos *et al.*, (2011), realizaron la caracterización de enzimas digestivas y evaluaron *in vitro* la digestibilidad de extractos multienzimáticos de adultos de *M. carcinus*, con el fin de contribuir al diseño de dietas adecuadas para la reproducción y cultivo intensivo de la especie.

Aunque se dispone de información sobre los requisitos nutricionales y crecimiento de *M. americanum* (Yamasaki-Granados *et al.*, 2013; Méndez-Martínez *et al.*, 2018; Pérez-Rodríguez *et al.*, 2018), la alimentación es uno de los principales limitantes para la reproducción y obtención de larvas de esta especie. Es por ello que el objetivo en este estudio fue evaluar la digestibilidad *in vitro* de ingredientes de origen animal y vegetal, con fines de contribuir en el diseño de dietas para el crecimiento de *M. americanum*.

2.3 MATERIAL Y MÉTODOS

2.3.1 Obtención de adultos

Para este estudio se utilizaron adultos de *M. americanum* ($38 \pm 3.80\text{g}$ y $10.56 \pm 1.78\text{cm}$), obtenidos del medio silvestre con técnicas de pesca artesanal, en el río Ameca, municipio de Bahía de Banderas, Nayarit. Los organismos se mantuvieron en estanques de concreto de 2.8 m^3 , en ayuno por 24 horas, para vaciar el tracto gastrointestinal antes de su procesamiento.

2.3.2 Obtención de extracto multienzimático

Los langostinos fueron pesados y medidos de manera individual utilizando una balanza OHAUS, para calcular el peso promedio. La glándula digestiva o hepatopáncreas (HP) fue extirpada por medio de una disección cefálica y pesada. El conjunto de HP se liofilizó ($-63 \text{ }^\circ\text{C}$, durante 72 horas) y almacenaron en tubos tipo Falcon (Fig. 2.1). Las disecciones y liofilizado de los HP se realizaron en el Laboratorio de Calidad de Productos Cárnicos en el Centro Nayarita De Innovación y Transferencia De Tecnología A.C. (CENIT).

Para la obtención del extracto enzimático, el liofilizado del tejido del HP se pesó y fue repartido en dos pool, rehidratado con agua destilada (1:9, p/v) en frío y homogenizados (Ultra Turrax® Ika T18 Basic). Posteriormente se centrifugó a 13 200 rpm por 20min y 4°C (Eppendorf 5430-R), la fracción de lípidos fue removida y el sobrenadante se recuperó. Inmediatamente el extracto multienzimático se almacenó a -20°C , hasta ser usado para el análisis de contenido de proteasa y actividad enzimática.

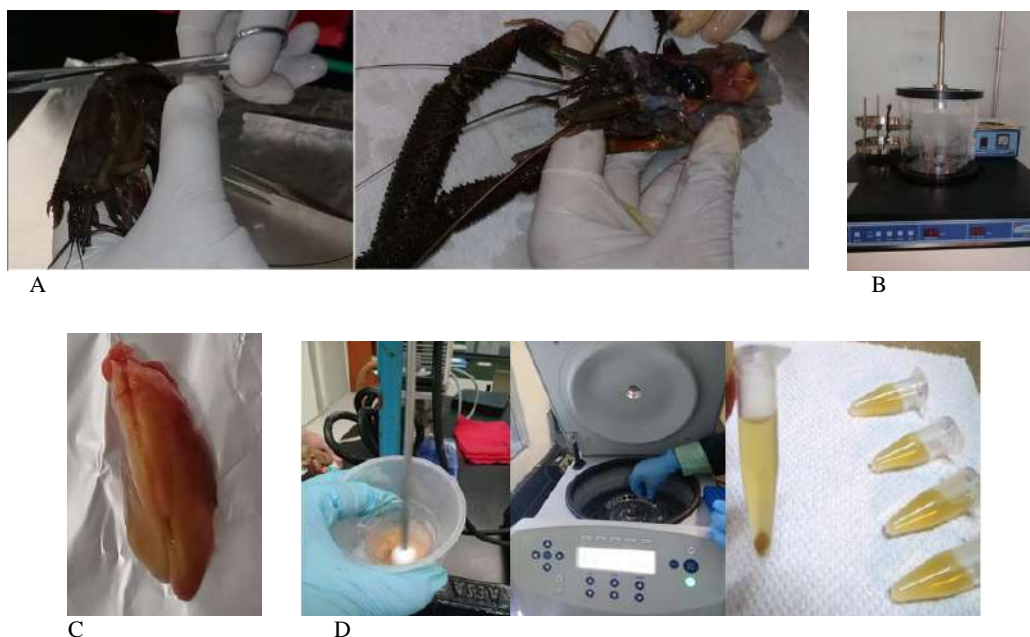


Figura 2.1. Preparación de extractos multienzimáticos: A) Extracción de hepatopáncreas; B) Liofilizado; C) Hepatopáncreas; D) Homogenizado y centrifugado de tejido.

2.3.3 Determinación de proteínas y actividad enzimática

La concentración de proteína en el extracto enzimático, se determinó con el método de Bradford (1976), con una curva estándar de albúmina bovina. Todas las reacciones se realizaron por triplicado. La actividad de las proteasas totales se evaluó por el método propuesto de Vega-Villasante *et al.*, (1995), usando azocoll, (2.4% en sodio fosfato 10 mM, pH 7; Sigma A4341) como sustrato, expresada en U proteasa/ml proteína. Los valores de actividad específica se tomaron como base para el cálculo del volumen de extractos multienzimáticos para la hidrólisis alcalina, de ingredientes proteínicos.

2.3.4 Materias primas

Se probaron los siguientes ingredientes como fuente de proteína: las harinas de soya, calamar, pescado y subproducto avícola, las cuales fueron obtenidas de la empresa Proteínas Marinas y Agropecuarias S.A. de C.V., Guadalajara, Jalisco, México. La harina de coco fue obtenida de la empresa Coco Colima, S.A. de C.V., Colima, México, y la harina de yaca (*Artocarpus heterophyllus*) fue elaborada mediante la deshidratación y pulverización de la pulpa en el Laboratorio de Tecnología de Alimentos de la Universidad Autónoma de Nayarit.

2.3.5 Digestibilidad *in vitro* en el pH-Stat

El grado de hidrólisis (GH%) de las proteínas utilizadas fue evaluada por el método pH-Stat (Metrohm 718 Titranto, Herisan, Suiza), de acuerdo con Saunders *et al.*, (1972), modificado por Dimes y Haard (1994). La digestión se inició con la adición de 1ml del extracto multienzimático de hepatopáncreas de langostino *M. americanum*, con actividad proteolítica de 6.0 Umg^{-1} y caseína como ingrediente de referencia, ajustando el pH a 8.0 con hidróxido de sodio NaOH 0.1N. A partir del gasto de NaOH se determinó el grado de hidrólisis (GH), el cual se expresa como porcentaje del número de enlaces peptídicos hidrolizados con respecto al total de la proteína. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. El grado de hidrólisis, se determinó con la ecuación de Dimes y Haar (1994).

$$DH\% = [(B \times Nb \times 1.5 / M \times (S\% / 100)) / 8] \times 100$$

Dónde: B= ml de NaOH 0.1N utilizados para mantener el pH en 8; Nb= Normalidad del NaOH 1.5 factores de calibración a pH 8 y 28°C, M= gramos de la mezcla, S= concentración

de proteína en la mezcla (%) y 8 es el contenido total de enlaces peptídicos (meq/g) para la proteína caseína (Adler-Nissen, 1986).

La obtención del extracto multienzimático, determinación de proteínas y grado de hidrólisis se realizó en el Laboratorio Central de la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación de la Universidad Nacional Autónoma de México (UMDI-UNAM).

2.3.6 Análisis proximales de los ingredientes de prueba

Las muestras de los ingredientes fueron analizadas siguiendo los métodos recomendados por la A.O.A.C (1990). La humedad se determinó secando a 105°C por 2h, cenizas por incineración a 550°C por 4h, lípidos por el método de extracción de lípidos en un equipo Soxhlet, proteína por el método Kjeldahl y energía por diferencia.

2.3.7 Análisis estadístico

Los datos de las diferentes variables se sometieron a una prueba de normalidad de Shapiro Wilk ($p < 0.05$) y de homocedasticidad de Levene ($p < 0.05$). Se realizó un Análisis de Varianza de una vía (ANOVA, $p < 0.05$) para identificar diferencias entre tratamientos. Cuando se presentaron diferencias significativas, se utilizó la prueba de Tukey ($p < 0.05$) para identificar la naturaleza de estas diferencias (Zar, 1996). Se analizaron dos pools de extracto enzimático de hepatopáncreas con tres replicas para cada ingrediente (siete tratamientos), con un total de 42 digestiones. Para los análisis estadísticos se utilizó el paquete Statistica 13 Soft, Inc.

2.4 RESULTADOS

2.4.1 Actividad enzimática digestiva y determinación del grado de hidrólisis

La actividad específica de proteasas del hepatopáncreas fue de 9.1U/ml proteína y de proteínas totales fue de 31.48µg/ml. El valor de actividad específica se tomó como base para el cálculo del volumen de extractos multienzimáticos, en la hidrólisis de ingredientes proteínicos. En cuanto a la digestibilidad *in vitro*, hubo diferencias en el GH entre los siete ingredientes probados ($p < 0.05$). Se obtuvieron tres grupos diferentes de ingredientes según su GH, En la tabla 2.1 se indican los valores de GH para los siete ingredientes proteínicos y el de referencia (caseína). La caseína muestra un GH de 6.50 ± 0.24 . El grado de hidrólisis de la harina de yaca y de pescado fueron los más altos 3.32 ± 0.85 y 3.20 ± 0.37 , respectivamente. Mientras que el GH de la harina de soya fue el más bajo con 1.18 ± 0.42 .

Tabla 2.1. Comparación del grado de hidrólisis (GH) y porcentaje de digestibilidad *in vitro* de los ingredientes de prueba, utilizando los extractos multienzimáticos de *M. americanum*.

Ingrediente	GH	Digestibilidad %
Caseína	6.50 ± 0.24^d	100
HC	1.69 ± 0.18^{ab}	26.00
HY	3.32 ± 0.85^c	51.13
HS	1.18 ± 0.42^a	18.15
HSA	1.30 ± 0.84^a	20.04
HSQ	2.22 ± 0.67^b	34.09
HP	3.20 ± 0.37^c	49.29
AC	2.83 ± 0.50^b	43.53

HC, Harina de coco; HY, Harina de yaca; HS, Harina de soya; HSA, Harina de subproducto avícola; HSQ, Harina de calamar; HP, Harina de pescado. Los valores con diferente letra para cada columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

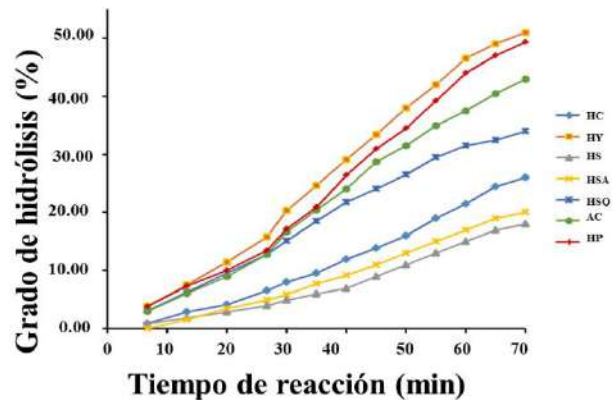


Figura 2.2. Grado de hidrólisis de las fuentes proteicas utilizadas con extracto multienzimático de hepatopáncreas del langostino de agua dulce *M. americanum*. HC, harina de coco; HY, harina de yaca; HS, harina de soja; HSA, harina de subproducto avícola; HSQ, harina de calamar; AC, alimento comercial; HP, harina de pescado.

2.4.2 Análisis proximales de los ingredientes de prueba

Los resultados de la composición química de los ingredientes utilizados en este estudio se presentan en la tabla 2.2 (A.O.A.C, 1984). Se observa que el contenido de proteína cruda en los ingredientes de origen vegetal es menor comparado con los valores de los ingredientes de origen animal. La composición proximal de los ingredientes fue de materia seca (90.57 - 91.25% y 88.90 - 90.39%), proteína (4.52 - 40.40% y 52.51 - 71.07%), lípidos (7.20 - 12.40% y 3.10 - 15.56%), cenizas (6.30 - 9.00% y 13.89 - 22.66%) y energía bruta (15.42 - 16.80kJ/kg y 13.56 - 14.41kJ/kg) para los ingredientes de origen vegetal y animal, respectivamente. El valor obtenido de proteína cruda en la harina de calamar fue el más alto, con 710.7g/kg. La concentración de PC para la harina del fruto de yaca fue el más bajo (45.2g/kg) comparado con el resto de los ingredientes.

Tabla 2.2. Composición proximal (% de materia seca) de los ingredientes de prueba para analizar digestibilidad *in vitro* del langostino *M. americanum*

Ingredientes	Materia seca (%)	Proteína cruda (%)	Extracto etéreo (%)	Ceniza (%)	Energía (kJ/kg)
HC	91.00	16.50	12.40	6.30	16.80
HY	90.57	4.52	7.30	5.91	16.37
HS	91.25	40.40	7.20	9.00	15.42
HSA	90.30	52.51	15.56	22.66	14.41
HSQ	90.00	71.07	3.10	13.89	13.56
HP	88.90	59.45	7.79	17.08	13.77
AC	88.00	35.00	10.00	13.00	14.75

HC, Harina de coco: Coco Colima S.A. de C.V., Ciudad Armería Del Edo. de Colima. HY, Harina de yaca; HS, Harina de soya; HSA, Harina de subproducto avícola; HSQ, Harina de calamar; HP, Harina de pescado: Proteínas Marinas y Agropecuarias S.A. de C.V., Guadalajara, Jalisco, México. AC, Alimento comercial: Malta Cleyton por Malta Texo de México S.A. de C.V. y/o Grupo Neovia.

2.5 DISCUSIÓN

La actividad enzimática se ha descrito las especies de crustáceos principalmente del genero *Penaeus*, ayudando a comprender su fisiología digestiva y mejorar su nutrición. Se han realizado estudios con el fin de determinar las enzimas digestivas presentes en camarones, la gran mayoría se han centrado en las especies del género *Penaeus* (Vega-Villasante *et al.*, 1995; Casillas-Hernández *et al.*, 2002) pero pocos trabajos han evaluado la actividad enzimática en especies del género *Macrobrachium*. La actividad de proteasas de *M. americanum* fue similar comparada con los valores reportados por Laguna-Nataren, (2019) y Manríquez-Santos *et al.*, (2011) en *M. carcinus*, es decir que estas dos especies coinciden con la actividad enzimática digestiva en el hepatopáncreas. A su vez esto es similar a los valores reportados en las especies de los cangrejos, *Callinectes bellicosus* y *C. arcuatus* (Díaz-Tenorio *et al.*, 2006). Esto está relacionado con la forma en que los crustáceos tienden a alimentarse al permanecer largo tiempo triturando y digiriendo el alimento, de tal modo que les permite maximizar la capacidad de hidrolizar y asimilar los nutrientes dentro del hepatopáncreas.

El método de digestibilidad *in vitro* para evaluar GH en crustáceos dulceacuícolas, permiten completar técnicas convencionales de digestibilidad *in vivo*, por lo que tienen importancia cada vez mayor en el estudio de la capacidad digestiva de los crustáceos cultivados. Este método permite una evaluación más precisa del porcentaje de enlaces peptídicos totales hidrolizados de fuentes de proteínas, utilizando cantidades mínimas de materiales crudos, y el valor nutritivo del alimento o de sus ingredientes por separado, a un coste y tiempo inferiores a los ensayos *in vivo*, y en condiciones controladas, (Ezquerro- Brauer *et al.*, 1997; Cuenca-Soria *et al.*, 2013).

En el presente trabajo se aplicó el método pH-Stat para evaluar la digestibilidad *in vitro* de diferentes opciones de ingredientes para *M. americanum*, el grado de hidrólisis (GH) fue menor en los ingredientes de origen vegetal: harina de coco y de soya, y en ingredientes de origen animal: harina de subproducto avícola, comparados con el grado de hidrólisis de la caseína. Los ingredientes con mayor GH fueron la harina de yaca y de pescado, con respecto al GH y porcentaje de digestibilidad de los otros ingredientes de prueba. Manríquez-Santos *et al.*, (2011) evaluaron la digestibilidad *in vitro* de nueve ingredientes por el método pH-Stat, utilizando un extracto multienzimático de *M. carcinus*, y caseína como proteína de referencia. Encontraron los valores más altos en levadura, harina de sangre de res y harina de cerdo; en contraste, los valores más bajos de digestibilidad se encontraron en la pasta de soya (30.9%), harina de pescado (27.8%) e hidrolizado de pescado (28.1%). Montoya-Martínez *et al.*, (2018) registraron el mayor porcentaje de digestibilidad para las harinas vegetales: espirulina (52.6%), seguida de la harina de coco (30%) y la harina de soya (17%); y menor porcentaje en la harina de pescado (11.6%) para *M. tenellum*. A pesar de que la especie de estudio es un langostino omnívoro, los resultados muestran que las enzimas digestivas de *M. americanum* tienen una capacidad significativa para digerir principalmente fuentes de proteínas animal y en menor porcentaje la proteína de origen vegetal. Sin embargo, los ingredientes de origen vegetal que se utilizaron en este estudio no han sido probados como la principal fuente de proteína en dietas para langostinos.

Es necesario realizar ensayos *in vivo*, para evaluar el efecto del alimento peletizado sobre el crecimiento y capacidad digestiva de estos langostinos. Si se diseña una dieta beneficiosa, se espera mejores condiciones alimentarias, comparadas con los alimentos convencionales diseñadas para peces o crustáceos.

2.6 LITERATURA CITADA

- Adler-Nissen, J. 1986. Enzymic Hydrolysis of Food Protein. Elsevier Applied Science, London.
- Alarcon, F. J., Moyano, F. J. y Díaz, M. 2002. Evaluation of different protein sources for aquafeeds by an optimised pH-Stat system. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 82(7): 697-704.
- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 14th Edition, AOAC, Arlington.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72(2): 248-254.
- Casillas-Hernández, R., Magallón, F., Portillo, G., Carrillo, O., Nolasco, H., y Vega-Villasante, F. 2002. La actividad de proteasa, amilasa y lipasa durante los estadios de muda del camarón azul *Litopenaeus stylirostris*. *Revista de investigaciones marinas*. 23(1): 35-40.
- Cuenca-Soria, C. A., Álvarez-González, C. A., Ortiz-Galindo, J. L., Guerrero-Zárate, R., Perera-García, M. A., Hernández-Gómez, R. E. y Nolasco-Soria, H. G. 2013. Digestibilidad *in vitro* de ingredientes proteínicos en la mojarra castarrica *Cichlasoma urophthalmus*. *Universidad y ciencia*, 29(3): 263-275.
- De la Higuera, M. y Cardenete, G. 1993. La proteína en la nutrición de los peces. *Acuicultura marina: fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. 195-225.
- Santos-Romero, R. B., García-Guerrero, M., Vega-Villasante, F. y Nolasco-Soria, H. G. 2017. Effect of dietary chitin on digestive enzyme activity, growth and survival of *Macrobrachium tenellum* juvenile prawns. *Latin american journal of aquatic research*. 45(1): 130-138.
- Díaz-Tenorio, L. M., García-Carreño, F. L., y Navarrete del Toro, M. Á. 2006. Characterization and comparison of digestive proteinases of the Cortez swimming crab, *Callinectes bellicosus*, and the arched swimming crab, *Callinectes arcuatus*. *Invertebrate Biology*. 125(2): 125-135.
- Dimes, L. E. y Haard, N. F. 1994. Estimation of protein digestibility -I. Development of an *in vitro* method for estimating protein digestibility in salmonids (*Salmo gairdneri*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 108(3): 349-362.
- Espinosa-Chaurand, D., Vega-Villasante, F., Carrillo-Farnés, O. y Nolasco-Soria, H. G. 2017. Effect of circadian rhythm, photoperiod, and molt cycle on digestive enzymatic activity of *Macrobrachium tenellum* juveniles. *Aquaculture*. 479: 225-232.
- Ezquerro-Brauer, J. M., García-Carreño, F. L., Civera, R., y Haard, N. F. 1997. pH-Stat method to predict protein digestibility in white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture*. 157(4): 251-262.
- Laguna-Nataren, V. M. 2019. Caracterización de enzimas digestivas en piguas (*Macrobrachium americanum*, bate, 1868). Tesis doctoral, Instituto de Ciencias Biológicas-Licenciatura en Biología Marina y Manejo Integral de Cuencas-UNICACH.
- Manríquez-Santos, T., Álvarez-González, C. A., Arias-Rodríguez, L., Guerrero-Olazarán, M., Viader-Salvado, J. M., Aguilar-Briseño, J. A. 2011. Caracterización de enzimas digestivas, digestibilidad *in vitro* y síntesis de ADNc del gen de tripsina en adultos

- de la pigua *Macrobrachium carcinus*. Avances en Nutrición Acuícola XI - Memorias del Décimo Primer Simposio Internacional de Nutrición Acuícola. 143-171
- Méndez-Martínez, Y., García-Guerrero, M., Arcos-Ortega, F., Martínez-Cordova, L. R., Yamasaki-Granados, S., Pérez-Rodríguez, J. y Cortes-Jacinto, E. 2018. Effect of different ratios of dietary protein-energy on growth, body proximal composition, digestive enzyme activity, and hepatopancreas histology in *Macrobrachium americanum* (Bate, 1868) prawn juveniles. *Aquaculture*. 485.
- Montoya-Martínez, C., Nolasco-Soria, H. G., Vega-Villasante, F., Carrillo-Farnés, O., Álvarez-González, A. y Civera-Cerecedo, R. 2018. Attractability and palatability of ingredients in long arm river prawn *Macrobrachium tenellum* feed. *Latin American journal of aquatic research*. 46(3): 615-620.
- Moyano, F. J., Saenz de Rodriganez, M. A., Díaz, M. y Tacon, A. G. 2014. Application of *in vitro* digestibility methods in aquaculture: constraints and perspectives. *Reviews in Aquaculture*. 7(4): 223-242.
- Pérez-Rodríguez, J. C., Gómez-Gutiérrez, J., López-Greco, L. S., y Cortés-Jacinto, E. Spermatophore production and sperm quality of the river prawn *Macrobrachium americanum* Spence Bate, 1868 fed with different diets. *Aquaculture Research*.
- Saunders R. M., Conner M. A., Booth A. N., Bickoff E. M. y Kohler G. O. 1972. Measurement of digestibility of alfalfa concentrates by *in vivo* and *in vitro* methods. *Journal of Nutrition*. 103: 530-535.
- Tacon, A. G. J. 1994. Feed ingredients for carnivorous fish species: alternatives to fishmeal and other fishery resources. *FAO Fisheries Circular*.
- Tacon, A. G. J. y Akiyama, D. 1997. Feed Ingredients in: *Crustacean Nutrition, Advances in World Aquaculture*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA. 6: 411-472.
- Vega-Villasante, F., Nolasco, H. y Civera, R. 1995. The digestive enzymes of the Pacific brown shrimp *Penaeus californiensis* II. Properties of protease activity in the whole digestive tract. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 112(1): 123-129.
- Yamasaki-Granados, S., García-Guerrero, M., Vega-Villasante, F., Castellanos-León, F., Cavalli, R. O. y Cortés-Jacinto, E. 2013. Experimental culture of the river prawn *Macrobrachium americanum* larvae (Bate, 1868), with emphasis on feeding and stocking density effect on survival. *Latin American Journal of Aquatic Research*. 41(4): 793-800.
- Zar. J. H. 1982. *Bioestatistical Analysis*. Prentice-Hall. 960p.

**CAPÍTULO 3. DIGESTIBILIDAD APARENTE, CRECIMIENTO Y
SUPERVIVENCIA DE LANGOSTINO *M. americanum* EN UN CULTIVO
EXPERIMENTAL**

3.1 RESUMEN

Se determinó la digestibilidad aparente de la materia seca (DAMS), la digestibilidad aparente de proteínas (DAP) y la digestibilidad aparente de energía (DAE) de ingredientes utilizados para dietas de *Macrobrachium americanum*. Los alimentos evaluados fueron harina de coco, yaca, soya, calamar, subproductos avícolas y una dieta de referencia. Cada dieta se realizó con el 75% de la dieta de referencia y 25% del ingrediente de prueba. Los valores de DAMS oscilaron entre 96.82 y 94.31%. El ingrediente con la mejor digestibilidad de proteína (DAPI) fue la harina de soya (90.95%), mientras que la harina de yaca (40.38%) tuvo el valor de digestibilidad aparente más bajo. Sin embargo, se obtuvo mejor crecimiento y supervivencia con las dietas de harina de coco, yaca y calamar. Se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en el peso final (32.8 - 27.4g), la tasa de crecimiento específico (0.85 - 0.61%/día), la supervivencia (86.7 - 70.0%) en ninguna de las dietas experimentales de langostino. Estos resultados muestran que los ingredientes tienen muy buen potencial como fuente de proteína alternativa para el crecimiento de *M. americanum*.

3.2 INTRODUCCIÓN

La proteína es un nutrimento importante en la alimentación de los crustáceos Peneidos, ya que la velocidad de crecimiento en cultivo, depende de la cantidad de aminoácidos esenciales contenidos en los alimentos balanceados fabricados para su engorde (Tacon *et al.*, 2002). Existe información que indica la factibilidad del reemplazo total o parcial de la harina de pescado por otros ingredientes de origen animal como vegetal, tal es el caso de las harinas de: sangre, plumas, subproductos avícolas, carne y hueso; o cereales como la pasta y harina de soya. Estos ingredientes son generalmente fuentes de proteínas económicas que se han utilizado en dietas formuladas para camarones durante décadas. Sin embargo, en los últimos años, las investigaciones la formulación de las dietas es una combinación de las fuentes de proteína y de energía en busca de obtener los nutrientes esenciales para los organismos acuáticos (Bureau *et al.*, 1999; Tacon *et al.*, 2002).

Los parámetros para determinar el valor nutricional de los insumos y las dietas empleadas en la alimentación acuícola son, entre otros, la composición química del ingrediente, las necesidades de la especie y la digestibilidad. La determinación de los coeficientes de digestibilidad de materia seca, proteína y aminoácidos en los ingredientes permite obtener mayor precisión en el proceso de formulación, ya que considera qué porción de proteína está siendo digerida y potencialmente se encuentra disponible para el crecimiento (Terrazas *et al.*, 2010). Para comprender mejor esto es importante saber que la principal función del hepatopáncreas en los crustáceos, es el procesamiento del alimento que se lleva a cabo mediante la secreción de enzimas, la digestión y la absorción de nutrientes, la disposición de productos de desecho y el almacenamiento de nutrientes (Da Silva-Santos *et al.*, 2014).

En la determinación de requerimientos nutricionales, así como en las pruebas para medir digestibilidad, se utilizan como base de las dietas experimentales una dieta de referencia (DR), de preferencia desarrollada para una especie en particular o grupo de peces con hábitos alimenticios similares. Tales DR son elaboradas con ingredientes semipurificados para posibilitar mayor control sobre su composición química; para el caso de los experimentos de digestibilidad de ingredientes de prueba (IP), la DR es sustituida en un determinado porcentaje por el IP permitiendo de esta manera evaluar su digestibilidad en diferentes niveles de inclusión (Vásquez-Torres *et al.*, 2002).

Existen algunos estudios sobre la digestibilidad de los ingredientes, pero la mayoría de ellos se han centrado en otros crustáceos como *Penaeus vannamei* (Cruz-Suárez *et al.*, 2009). Se requieren de coeficientes de proteína y energía digerible precisos para formular alimentos balanceados que cubran los requerimientos nutricionales, así como para permitir la sustitución efectiva de ingredientes con base en su costo y para reducir la producción de desperdicios. Las formulaciones que se basan exclusivamente en la composición dietética bruta, y no en la composición digerible, pueden producir alimentos sobre-formulados, incrementando su costo y los niveles de contaminantes, ya que la proteína es el componente más costoso en alimentos balanceados (Siccardi *et al.*, 2006).

El objetivo del presente trabajo fue determinar la digestibilidad aparente de materia seca, proteína y energía de ingredientes de origen animal y vegetal, y dietas experimentales para *M. americanum*.

3.3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.3.1 Captura de los langostinos y lugar de bioensayo

Se obtuvieron organismos de *M. americanum* de 20g, del río Ameca en el municipio de Bahía de Banderas, Nayarit. El bioensayo de digestibilidad y crecimiento se realizó en las instalaciones del Centro Acuícola de San Cayetano, departamento de Pesca del Estado de Nayarit.

3.3.2 Elaboración de dietas experimentales

Las dietas utilizadas en este experimento para determinar el coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) de cada ingrediente de prueba (Vease 2.3.4), fueron elaboradas con base a una dieta de referencia (DR) (Tabla 3.1) y se mezcló en proporción 75:25; como marcador inerte se utilizó zeolita en una razón de 1% de la dieta (Fig. 3.1), en el Laboratorio de Nutrición y Elaboración de Alimentos Balanceados de la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación de la Universidad Autónoma de México (UMDI-UNAM).



Figura 3.1 Elaboración de dietas experimentales para análisis de digestibilidad aparente.

Tabla 3.1 Composición de la dieta de referencia utilizada en la formulación de la dieta experimentales.

Ingredientes	g/kg
Harina de trigo ¹	350
Harina de pescado ²	320
Aceite de pescado ²	30
Almidón de maíz ³	190
Harina de avena ¹	70
Premezcla de vitaminas ⁴	14
Premezcla de minerales ⁴	6
Grenetina ³	10
Zeolita ¹	10
Total	1000

¹Grupo Trimex, Ciudad de México, México; ²Proteínas Marinas y Agropecuarias S.A. de C.V, Guadalajara, Jalisco, México; ³Productora de Alimentos Mexicanos, S.A. de C.V. Mérida, Yucatán, México; ⁴Rovimix Vitamins Ò Lab. Roche S.A: Vit A 8.0*106 UI, Vit D3, 1.8*106UI, Vit E 66.66g Vit B1 6.66g, Vit B2 13.33g, Vit B6 6.66g, Ca 33g Pantothenate.33g, Biotin 533.3mg, Folic acid 2.66g, Ascorbic acid 400.0g, Nicotinic acid 100.0g, Vit B12 20.0mg, Vit K3 6.66g, Sp. Vehicle 1.0kg. Premix microminerals Ò Lab. Roche S.A.: Composition per 100g: Magnesium 1.0, Zinc 16.0, Ferro 4.0, Copper 1.0, Iodine 0.5, Selenium 0.05. Cobalt 0.01.

De acuerdo a la metodología descrita por García-Pérez *et al.*, (2013), todos los ingredientes solidos de la dieta de referencia y el marcador (zeolita) se mezclaron durante 10 minutos en una mezcladora Kitchen Aid; se agregaron los ingredientes líquidos y agua (30%) y se continuó mezclando durante 15 minutos para obtener una consistencia apropiada. La mezcla húmeda se pasó por un molino de carne (Torrey) con un dado con perforaciones de 2.5 mm de diámetro. El tiempo de secado de las dietas fue de 12 h a temperatura de 40°C en un horno de convección hasta obtener un contenido de humedad de 8 a 10%, permanecieron a temperatura ambiente antes de ser empacados al vacío y se almacenaron hasta el momento de su utilización. Posteriormente se enviaron muestras de cada dieta para realizar el análisis químico proximal en el Laboratorio de Acuicultura en el Instituto Tecnológico de Mazatlán (Tabla 3.2).

3.3.3 Sistema experimental

El sistema experimental consistió de 18 tanques circulares de 100 L, distribuidos al azar, en un sistema de cultivo cerrado con tasa de recambio de agua diario de 60%, se colocaron en cada tanque cuatro langostinos de 20 ± 0.6 g. Cada tanque fue equipado con una malla mosquitero para evitar la fuga de organismos, un calentador sumergible de 100w (Aqua-Kril® Caliente 2403) ajustable, y aireación continua con mangueras alimentadas por un soplador de 5HP. Con fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de obscuridad. Se monitoreo diariamente la temperatura y oxígeno (YSI Pro20®), y pH (pH10A®). Las concentraciones de nitrógeno amoniacal, NO₂-N y NO₃-N se midieron semanalmente (*Api Master Kit Test Para Acuario Agua Dulce*).

3.3.4 Determinación de los coeficientes de digestibilidad aparente

Una vez que los langostinos se distribuyeron en los tanques, se alimentaron con la dieta de referencia (DR) durante cinco días y luego en cada tanque se suministraron las dietas experimentales, la alimentación se hizo correspondiente al 3% de la biomasa de los langostinos por un periodo de 75 días. Para determinar la digestibilidad, los langostinos fueron alimentados dos veces al día, dos horas después de cada la alimentación se llevó a cabo la recolecta de las heces al sifonear con la ayuda de una manguera de plástico (0.5cm de diámetro), monitoreando constantemente para evitar que las heces permanecieran en el agua por más tiempo. Las heces colectadas de cada tanque, se enjuagaron suavemente en agua destilada para eliminar restos de alimento no consumido y se mantuvieron en congelación en tubos tipo Falcon, hasta recolectar un total de 10g de heces en peso húmedo (Fig. 3.2).



Figura 3.2. Protocolo de colecta de heces para análisis de digestibilidad aparente.

Posteriormente, las muestras de heces fueron secadas en una estufa a temperatura de 40°C por 24 horas. Una vez que las muestras estuvieron secas, se pulverizaron y analizaron por duplicado para determinar el contenido de proteína, energía, lípidos, carbohidratos y zeolita, según los métodos recomendados por la A.O.A.C. (2005) en el Laboratorio de Biotecnología Acuícola y Acuicultura, del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF-UMICH). La determinación de la proteína se llevó a cabo con el método de Dumas, de lípidos por Soxhlet, carbohidratos y valor energético fueron calculados por diferencia. Se realizó la técnica de AIA (Ceniza Insoluble en Ácido) para determinar la cantidad del marcador en las muestras de heces, en el Laboratorio de Calidad de Productos Cárnicos en el Centro Nayarita De Innovación y Transferencia De Tecnología A.C. (CENIT).

La digestibilidad de materia seca y proteína fue determinada siguiendo la metodología descrita por Cho (1979). Los valores de los coeficientes de digestibilidad aparente (CDA) para las dietas experimentales y la dieta de referencia se calcularon mediante las siguientes ecuaciones, de acuerdo con Bureau y Hua (2006); y Cruz-Suárez *et al.*, (2009).

$$\%DAP = 100 \times [1 - (\% \text{ zeolita en la dieta} / \% \text{ zeolita en heces}) \times (\% \text{ proteína en heces} / \% \text{ proteína en la dieta})]$$

$$\%DAMS = 100 \times [1 - (\% \text{ zeolita en la dieta} / \% \text{ zeolita en las heces})]$$

$$\% DAE = 100 \times [1 - (\% \text{ zeolita en la dieta} / \% \text{ zeolita en las heces}) \times (\text{energía en heces} / \text{energía en la dieta})]$$

$$CDA_{\text{ingrediente}} = CDA_{\text{dieta prueba}} + [(CDA_{\text{dieta de prueba}} - CDA_{\text{dieta de referencia}}) \times (0.75 \times D_{\text{ref}} / 0.25 \times D_{\text{ingr}})]$$

Dónde: D_{ref} = % nutriente (o kJ/g energía bruta) de la dieta de referencia; D_{ingr} = % nutriente (o kJ/g energía bruta) del ingrediente de prueba

3.3.5 Evaluación de crecimiento y supervivencia

Al finalizar el experimento, se evaluaron el crecimiento en peso y longitud total de todos los langostinos en una balanza con precisión de 0.01g (OHAUS). Durante el bioensayo se realizaron cuatro biometrías, al inicio y cada 15 días, adicionalmente se determinó la supervivencia mediante el conteo directo de los langostinos. Se calcularon los índices de crecimiento: factor de conversión alimenticia (FCA), tasa específica de crecimiento (TCE), tasa de eficiencia proteica (TEP), consumo diario de alimento (CDA), ganancia en peso y supervivencia.

$$\text{Peso ganado: } PG = \text{Peso promedio final} - \text{Peso promedio inicial}$$

$$\text{Tasa de Crecimiento Específico: } TCE = [(\text{Peso final}) - (\text{Peso inicial}) / \text{Número de días}] \times 100$$

$$\text{Supervivencia: } S = [\text{No. final} / \text{No. inicial}] \times 100$$

$$\text{Tasa de Conversión Alimenticia: } TCA = \text{Alimento consumido} / \text{Peso ganado}$$

$$\text{Índice de Eficiencia Proteica: } IEP = \text{Incremento de peso} / \text{Consumo de proteína}$$

3.3.6 Análisis costo beneficio de las dietas experimentales

Para el análisis económico de las dietas, se tomó en cuenta el precio de los ingredientes utilizados en la formulación para cada dieta experimental, de acuerdo a Bob-Manuel y Erondu (2010).

Incidencia de costos (IC) = costo del alimento consumido/peso de la producción

También se empleó un segundo método de comparación propuesto por Miller (1976).

Índice de utilidades (IU) = peso o valor de la producción/costo del alimento consumido.

Utilidad neta = precio de venta – gastos de producción

Relación costo-beneficio (RCB) = venta total/costos de producción

El valor biológico (VB) se calculó con la utilización de proteína neta aparente (UPNA) y la digestibilidad aparente de proteína (DAP) propuesto por Thonney (1981) y Thonney *et al.* (1984).

$$VB = UPNA/DAP$$

3.3.7 Análisis estadístico

Para los coeficientes de digestibilidad y parámetros de crecimiento, así como el análisis de costo de las dietas se utilizó el análisis de varianza de una vía (ANOVA), con el fin de determinar diferencias significativas entre los tratamientos y una posterior comparación de medias de Tukey con nivel de confianza de 95%. Para el procesamiento de los datos se utilizó el software de estadística STATISTICA 5.5 (1984-2000 Statsoft, Tulsa, OK, USA).

3.4 RESULTADOS

3.4.1 Composición proximal de las dietas experimentales y de referencia

La composición proximal de las dietas experimentales se presentan en la tabla 3.2. Los niveles de proteína y energía fueron de 35.12 – 36.30g/kg y 16.9 – 17.2kJ/g respectivamente. El mayor nivel de proteínas y energía se encontró en la dieta HSQ, con respecto a los lípidos en la dieta, las cantidades encontradas fueron de 10.10 – 10.90 g/kg, y las dieta HC presenta los niveles de lípidos más bajos.

Tabla 3.2. Composición proximal (g/kg en peso seco) de la dieta de referencia y dietas experimentales utilizadas en la determinación del coeficiente de digestibilidad aparente y crecimiento de *M. americanum*.

Dietas	Materia seca (g/kg)	Proteína (g/kg)	Lípidos (g/kg)	Ceniza (g/kg)	Energía bruta (kJ/g)
HC	87.40	35.12	10.10	11.30	17.0
HY	87.60	35.58	10.70	11.90	17.0
HS	87.20	36.10	10.80	11.60	16.9
HSA	87.70	36.20	10.90	11.60	16.9
HSQ	87.70	36.30	10.30	11.90	17.2
DR	87.40	35.50	10.20	10.90	17.1

HC, Harina de coco. HY, Harina de yaca: *Artocarpus heterophyllus*,. HS, Harina de soya; HSA, Harina de subproducto avícola; HSQ, Harina de calamar; DR, Dieta de referencia.

3.4.2 Digestibilidad aparente de ingredientes y dietas experimentales

Los resultados de digestibilidad aparente de proteína (DAPD), materia seca (DAMSD) y energía (DAED) en las dietas, se presentan en la tabla 3.3. Los valores de digestibilidad para todas las dietas fueron mayores a 90%, los coeficientes de digestibilidad (DAMS) para materia seca fueron significativamente mayores para la dieta de referencia (96.82%) y con harina de soya (96.23%), seguido de la harina de subproducto avícola (95.48%), y de menor digestibilidad comparado con la dieta comercial fueron la harina de yaca, harina de coco y harina de calamar. La digestibilidad de proteína en los ingredientes de prueba fue más alta

para la harina de soya y harina de subproducto avícola (90.95 y 89.60%), y la menor digestibilidad de proteína cruda fue en la harina de yaca (40.38%). Las dietas con harinas de coco y de yaca presentaron CDA de energía más bajos, y la diferencia fue altamente significativa comparada con las harinas de subproducto avícola y soya que presentaron mejor digestibilidad.

Tabla 3.3. Coeficiente de digestibilidad de materia seca (%DAMS), proteína (%DAP) y energía (%DAE) en las dietas; y digestibilidad de materia seca (%DAMSI) proteína (%DAPI) y energía (%DAEI) de *Macrobrachium americanum* (media \pm desviación estándar).

	DAMSD	DAPD	DAED	DAMSI	DAPI	DAEI
HC	94.98 \pm 0.10 ^a	95.30 \pm 0.09 ^a	96.68 \pm 0.07 ^a	89.48 \pm 0.12 ^b	81.29 \pm 0.70 ^b	77.95 \pm 1.17 ^d
HY	94.31 \pm 0.14 ^a	94.67 \pm 0.13 ^a	96.05 \pm 0.09 ^a	86.00 \pm 0.56 ^b	40.38 \pm 2.59 ^c	81.09 \pm 0.90 ^c
HS	96.23 \pm 0.35 ^a	95.72 \pm 0.40 ^a	97.21 \pm 0.26 ^a	95.34 \pm 0.23 ^a	90.95 \pm 1.48 ^a	93.19 \pm 1.99 ^a
HSA	95.48 \pm 0.46 ^a	94.53 \pm 0.56 ^a	96.80 \pm 0.33 ^a	92.82 \pm 0.12 ^a	89.60 \pm 1.49 ^a	92.24 \pm 1.79 ^a
HSQ	94.99 \pm 0.40 ^a	93.43 \pm 0.53 ^b	96.40 \pm 0.29 ^a	88.54 \pm 0.15 ^b	87.78 \pm 1.26 ^a	90.85 \pm 1.42 ^b
DR	96.82 \pm 0.06 ^a	97.47 \pm 0.05 ^a	97.79 \pm 0.04 ^a			

HC, Harina de coco; HY, Harina de yaca; HS, Harina de soya; HSA, Harina de subproducto avícola; HSQ, Harina de calamar; DR, Dieta de referencia. Los valores de cada tratamiento son la media y la desviación estándar de los tanques por triplicado. Los valores dentro de la columna diferentes superíndices son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

3.4.3 Condiciones de cultivo

Los intervalos de los parámetros de calidad del agua registrados durante el experimento fueron: temperatura $26 \pm 0.9^{\circ}\text{C}$, oxígeno disuelto $6.6 \pm 0.8\text{mg/L}$, amonio $0.11 \pm 0.02\text{mg/L}$, nitritos $0.05 \pm 0.02\text{mg/L}$ y nitratos $0.35 \pm 0.4\text{mg/L}$ y pH (Tabla 3.4).

Tabla 3.4. Valores promedio de parámetros fisicoquímicos del agua durante el cultivo utilizado en el bioensayo de digestibilidad *in vivo* de dietas experimentales para *M. americanum*.

Parámetros/ Dietas experimentales	HC	HY	HS	HSA	HSQ	DR
Temperatura (°C)	26.3±0.6	26.6±0.9	26.8±0.4	26.2±0.8	26.6±0.9	26 ±0.8
pH	8.3±0.6	8.4±0.07	8.4±0.13	8.4±0.05	8.3±0.2	8.4±0.18
OD (mg/L)	6.6±0.8	6.8±0.33	6.6±0.41	6.36±0.4	6.6±0.8	6.35±0.7
ATN (mg/L)	0.10±0.02	0.11±0.01	0.09±0.01	0.11±0.02	0.10±0.02	0.11±0.01
N-NO ₂ (mg/L)	0.05±0.01	0.04±0.02	0.05±0.01	0.05±0.01	0.04±0.01	0.04±0.02
N-NO ₃ (mg/L)	0.35±0.01	0.31±0.04	0.33±0.02	0.35±0.03	0.32±0.01	0.34±0.02

OD, oxígeno disuelto; ATN, Amonio total; N-NO₃⁻, nitratos; N-NO₂⁻, nitritos. Los valores representan la media y la desviación estándar. HC, Harina de coco; HY, Harina de yaca; HS, Harina de soya; HSA, Harina de subproducto avícola; HSQ, Harina de calamar; DR, Dieta de referencia.

3.4.4 Crecimiento y sobrevivencia

Después de 75 días de cultivo experimental los valores de crecimiento de *M. americanum* se reportan en peso (g), donde según el análisis de varianza (ANOVA) de las dietas experimentales y la dieta de referencia muestran diferencia significativa ($p > 0.05$). En la tabla 3.5 se muestra el rendimiento de crecimiento, los langostinos que mayor crecimiento tuvieron, fueron alimentados con la dieta de harina de yaca, con un peso ganado de 11.84 ± 2.46 g con respecto a las demás dietas experimentales y la dieta de referencia. Los valores de TCA, TCE, IP y Supervivencia, fueron significativamente más altos para las dietas de HY y HC comparadas con el resto de las dietas ($p < 0.05$). La TCA fue menor en las dietas de HY y HC, y la más alta en la HSQ. Con respecto a la supervivencia se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de HS, HSA y HSQ. Las dietas con ingredientes vegetales tuvieron mejor crecimiento y supervivencia que el resto de las dietas.

Tabla 3.5. Parámetros de crecimiento y supervivencia (media \pm desviación estándar) de *M. americanum* alimentados con las dietas experimentales.

Parámetros/dietas experimentales	HC	HY	HS	HSA	HSQ	DR
Peso inicial (g)*	20.06 \pm 3.52 ^a	20.16 \pm 2.53 ^a	20.62 \pm 2.51 ^a	20.08 \pm 2.83 ^a	20.62 \pm 1.77 ^a	20.62 \pm 2.12 ^a
Peso final (g)*	36.9 \pm 2.46 ^a	37.8 \pm 2.08 ^a	33.4 \pm 2.12 ^b	33.9 \pm 3.74 ^b	35.4 \pm 2.47 ^a	32.4 \pm 2.21 ^b
TCE (%/día)	0.82 \pm 0.06 ^a	0.85 \pm 0.02 ^a	0.65 \pm 0.02 ^b	0.71 \pm 0.08 ^b	0.73 \pm 0.06 ^b	0.61 \pm 0.04 ^c
TCA (g/día)	0.23 \pm 0.05 ^a	0.24 \pm 0.01 ^a	0.17 \pm 0.01 ^b	0.19 \pm 0.07 ^b	0.20 \pm 0.05 ^a	0.16 \pm 0.04 ^c
FCA	1.3 \pm 0.2 ^a	1.1 \pm 0.2 ^a	2.1 \pm 0.4 ^c	1.65 \pm 0.5 ^b	1.80 \pm 0.6 ^b	2.5 \pm 0.8 ^c
EP	2.08 \pm 0.57 ^a	2.49 \pm 0.68 ^a	1.31 \pm 0.21 ^c	1.65 \pm 0.28 ^b	1.54 \pm 0.36 ^b	1.11 \pm 0.18 ^c
Supervivencia (%)	86.7 \pm 11.7 ^a	86.7 \pm 11.2 ^a	70.0 \pm 12.0 ^b	70.0 \pm 13.5 ^b	82.5 \pm 10.3 ^a	70.0 \pm 12.9 ^b

Nota. Los valores son la media \pm SD de los tanques por triplicado. Las medias en la misma fila con diferentes superíndices son significativamente diferentes ($p < 0.05$). TCE, tasa de crecimiento específico; TCA, tasa de conversión alimenticia; FCA, factor de conversión alimenticia; EP; eficiencia proteica. HC, Harina de coco; HY, Harina de yaca; HS, Harina de soya; HSA, Harina de subproducto avícola; HSQ, Harina de calamar; DR, Dieta de referencia. *peso promedio por langostino.

3.4.5 Análisis de costo de las dietas experimentales

El costo de las dietas experimentales basado en los precios actuales de mercado de los ingredientes utilizados se muestra en la tabla 3.6. El costo de la dieta de yaca es de \$52.56 siendo esta la dietas más costosa y las dietas de subproducto avícola y calamar las menos costosas (\$17.78 y \$17.83 respectivamente).

La evaluación de la relación costo-beneficio de las dietas muestra que la dieta HY tuvo mayor incidencia de costos, basada en el precio actual de mercado de los ingredientes de las dietas (Tabla 3.6).

El menor índice de utilidades se registró en la dieta HY (11.63) mientras que el mayor índice de utilidades se registró en la dieta HSA (42.02). El costo-beneficio fue más alto con la dieta de referencia (4.53), mientras que los valores más bajos se observaron con la dieta HY (3.69).

Tabla 3.6. Costo de las dietas experimentales y de referencia, valores en pesos mexicanos (\$MX).

Ingredientes	HC	HY	HS	HSA	HSQ	DR
Harina de pescado	6.14	6.14	6.14	6.14	6.14	8.41
Harina de trigo	2.70	2.70	2.70	2.70	2.70	3.70
Almidón de maíz	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	3.42
Harina de avena	1.99	1.99	1.99	1.99	1.99	2.73
Aceite de pescado	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Premezcla de minerales y vitaminas	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.16
Grenetina	1.87	1.87	1.87	1.87	1.87	1.87
Zeolita (marcador)	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Ingrediente de prueba	37.04	42.34	18.52	2.26	2.32	20.33
Costo total de la dieta (\$/kg)	52.56	57.86	34.04	17.78	17.83	40.82

HC, Harina de coco; HY, Harina de yaca; HS, Harina de soya; HSA, Harina de subproducto avícola; HSQ, Harina de calamar; DR, Dieta de referencia.

De acuerdo al análisis estadístico no se existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$), sin embargo se observa que con la inclusión de los ingredientes de prueba el costo de alimentación aumenta comparado con el costo de la dieta de referencia.

Tabla 3.7. Evaluación costo-beneficio (pesos mexicanos) de las dietas experimentales y de referencia, usadas para el crecimiento de *M. americanum*.

Variables	HC	HY	HS	HSA	HSQ	DR
Alimento consumido (g)	495.24	520.26	464.18	468.37	492.09	457.53
Costo del alimento consumido	26.03	30.10	15.80	8.33	8.78	18.68
Incidencia de costos (IC)	0.10	0.11	0.08	0.04	0.04	0.10
Índice de Utilidades (IU)	13.45	11.63	22.15	42.02	39.88	18.74
Utilidad neta	258.64	255.13	269.18	269.18	262.16	272.70
Relación costo-beneficio	3.83	3.69	4.33	4.33	3.98	4.53
Valor biológico	0.38	0.38	0.40	0.44	0.49	0.37

3.5 DISCUSIÓN

La calidad del agua se mantuvo dentro de los valores considerados adecuados para el cultivo de langostinos del género *Macrobrachium* a lo largo del estudio (Ponce-Palafox *et al.*, 2013; y Méndez-Martínez *et al.*, 2016). Los resultados del coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) calculados para la mayoría de los alimentos en este estudio fueron muy similares a los de otros estudios sobre *M. rosenbergii* y *Litopenaeus vannamei* (Taechanuruk y Stickney, 1982; Ashmore *et al.*, 1985; Lee y Lawrence, 1997; Lemos *et al.*, 2009; Qiu *et al.*, 2018). La digestibilidad aparente de materia seca (DAMS) y la digestibilidad aparente de proteína (DAP) son parámetros indicativos de la cantidad de materia seca y proteína del alimento que son digeridos y absorbidos por los organismos (Terrazas *et al.*, 2010). Las dietas fueron utilizadas eficientemente por el langostino, como lo demuestran los altos valores de la DAMSD (96.82 a 94.31%). El coeficiente de DAMSI más bajo registrado en las dietas con harina de coco y yaca, mostró que hay una mayor cantidad de materiales no digeribles en estas dietas (Li *et al.*, 2013), por el contrario, el coeficiente de DAMS en los ingredientes de proteína animal fue más alto. Debido a que la yaca es rica en vitamina C (12.6 ± 0.20) y potasio (2.60 ± 0.25) principalmente (Mzengereza *et al.*, 2014), es necesario hacer otras evaluaciones para realizar la inclusión adecuada de este insumo en la formulación de las dietas; de acuerdo a lo reportado en otros estudios con peces y camarones (Li *et al.*, 2013; Zhou *et al.*, 2008). Por otro lado, los resultados de digestibilidad de estos ingredientes de origen vegetal podría estar relacionada con altos niveles de fibra o factores antinutricionales, entre otros (Chen *et al.*, 2016; Chi *et al.*, 2017). Entre los productos de origen vegetal estudiados en este trabajo, la alta digestibilidad de harina de soya en *M. americanum* se debió a la alta concentración de proteínas, baja en

fibra y antinutrientes en comparación con la harina de coco y de yaca, de acuerdo con Carvalho *et al.* (2016).

Es importante estudiar la digestibilidad aparente de los carbohidratos, ya que estos son utilizados como fuente de energía y ayudan a soportar el crecimiento de los organismos, aunque los camarones Peneidos tienen una capacidad limitada para metabolizar los carbohidratos que las proteínas y lípidos (Rosas *et al.*, 2001, Catacutan *et al.*, 2003; Jannathulla *et al.*, 2019). La DAPI de yaca fue mayor que el registrado para la tilapia con semilla de yaca (Díaz-Vázquez *et al.*, 2019), por lo que la pulpa tiene un mayor valor nutricional para el *M. americanum*. Dichos resultados sugieren la importancia puede tener la proteína vegetal en el remplazo de la harina de pescado en las dietas de langostinos.

El valor de digestibilidad aparente de materia seca (DAMSI) de harina de calamar con relación a otros ingredientes podría ser explicada por el contenido aminoácidos. La DAPD de la harina de clamar se obtuvo de forma similar con *M. rosenbergii* de 96.0% (Ellis *et al.*, 1987). En *P. vannamei*, la harina de calamar mejoró su crecimiento cuando se usó en cantidades bajas, pero las altas concentraciones llevaron a una disminución del crecimiento (Córdoba-Murueta y García Carreño, 2002).

Sin embargo, un alto coeficiente de DAP por si solo no puede predecir las prioridades de los ingredientes para promover el crecimiento, pues la proteína de origen vegetal es deficiente en aminoácidos esenciales como lisina y metionina. Para lograr la substitución efectiva de las costosas harinas de pescado con harinas de origen vegetal de bajo costo, además de los coeficientes de DAP, será necesario también determinar digestibilidad aparente de aminoácidos y carbohidratos, y combinar esta información para tomar la mejor decisión en cuanto al uso de nuevos insumos en la elaboración de dietas (Siccardi *et al.*, 2006).

Los resultados de crecimiento del langostino de río *M. americanum* en este trabajo utilizando ingredientes de origen animal y vegetal muestran diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre las dietas utilizadas, se resalta que los langostinos tuvieron un mayor crecimiento (TCE) que el obtenido en el cultivo en jaula (Ponce-Palafox *et al.*, 2013) con organismos de tamaños similares (15 a 25g). Además, la TCA fue menor en las dietas con harina de coco y harina de yaca, y la supervivencia fue mayor en los tratamientos de harina de coco, yaca y calamar. Los resultados de crecimiento y supervivencia mostraron que la harina de coco puede ser incluida en niveles de hasta 25% en dietas para *M. americanum*, un resultado similar ha sido reportado para tilapia (*Oreochromis mossambicus*), carpa (*Cyprinus carpio*) y camarón (*P. monodon*) sin afectar el crecimiento, alimentación y supervivencia (Jackson y Capper, 1982; Hasan *et al.*, 1997; Apines-Amar *et al.*, 2016).

El crecimiento de los langostinos alimentados con la dieta de harina de yaca es aceptable comparado con otros estudios en los que se ha incluido semillas de yaca en un nivel del 5% en las dietas para *M. rosenbergii* (Wasave *et al.*, 2011), lo que indica que el alimento formulado con yaca es una alternativa para el crecimiento y supervivencia en *M. americanum*. Los resultados indicaron que la relación proteína/lípido (36,83%/10,5%) utilizada en este trabajo fue adecuada para la elaboración de dietas prácticas, ya que esta relación ha demostrado mejorar la resistencia al estrés (Soberanes-Yepiz *et al.*, 2018).

No se encontraron referencias de otros autores, en cuanto a la medición de la digestibilidad y crecimiento con los ingredientes de probado en este estudio en *M. americanum*; sin embargo, los valores de los parámetros de crecimiento de las dietas con haría de coco y de yaca se comportaron de manera muy similar a otros ingredientes de origen vegetal utilizados en la formulación de alimentos para peces y crustáceos, como el caso de la harina de soya. Mientras

que el subproducto avícola y calamar, arrojaron valores por debajo de lo esperado de un insumo proteico de origen animal.

La evaluación económica de las dietas experimentales para *M. americanum* mostró que la dieta de referencia a base de harina de pescado registró la mayor relación costo-beneficio que las dietas experimentales, sin embargo, no se obtuvo el mejor crecimiento.

Los resultados de este estudio muestran que *M. americanum* puede digerir la proteína de ingredientes no convencionales de origen vegetal y animal según el recurso alimenticio disponible, por lo tanto indican la posibilidad de cultivar langostinos de esta especie con dietas en la que la harina de pescado podría ser sustituida por fuentes de proteína alternativa, aunque es necesario considerar los costos de producción y el tiempo de cultivo para alcanzar la talla comercial. Estos datos pueden ser utilizados no sólo para definir mejor las necesidades de nutrientes y de energía, sino también para el uso ingredientes disponibles localmente, para desarrollar dietas prácticas de mejor calidad.

3.6 CONCLUSIONES

M. americanum tiene alta capacidad digestiva para aprovechar nutrientes contenidos en dietas elaboradas con ingredientes de origen animal y vegetal.

Los coeficientes de digestibilidad de la materia seca son más altos para los ingredientes de origen animal (DR y HSA).

La alta digestibilidad de proteína de los ingredientes indica que pueden ser considerados una excelente fuente proteína en dietas para langostinos.

El análisis *in vivo* o digestibilidad aparente y el grado de hidrólisis *in vitro* de proteínas, combinados con el rendimiento del crecimiento, pueden proporcionar una estimación adecuada de la calidad nutricional de las proteínas en las dietas para *M. americanum*.

3.7 LITERATURA CITADA

- AOAC. 2005. Official Method of Analysis. Association of Officiating Analytical Chemists. 18th Edition. Washington DC.
- Apines-Amar, M. J. S., Andrino-Felarca, K. G. S., Cadiz, R. E., Corre, J. V. L. y Calpe, A. T. 2016. Effects of partial replacement of fish meal by fermented copra meal on the growth and feed efficiency in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*. (63): 1-6.
- Ashmore, S. B., Stanley, R. W., Moore, L. B. y Malecha, S. R. 1985. Effect on growth and apparent digestibility of diets varying in grain source and protein level in *Macrobrachium rosenbergii*. *The World Mariculture Society*. (16): 205-216.
- Bob-Manuel, F.G. y Erondu, E. S. 2010. Yeast single cell protein in the diet of *Oreochromis niloticus* (L) fingerlings: an economic evaluation. *African Journal of Biotechnology*. 10(80): 18581-18584.
- Bureau, D. P., Harris, A. M., y Cho, C. Y. 1999. Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 180(4): 345-358.
- Bureau, D. y Hua, K. 2006. Letter to the editor of *Aquaculture*. *Aquaculture*. (252): 103-105.
- Catacutan, M. R., Eusebio, P. S. y Teshima, S. 2003. Apparent digestibility of selected feedstuffs by mud crab, *Scylla serrata*. *Aquaculture*. (216): 253-261.
- Carvalho, R. D., Ota, R. H., Kadry, V. O., Tacon, A. G. J. y Lemos, D., 2016. Apparent digestibility of protein, energy and amino acids of six protein sources included at three levels in diets for juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in high performance conditions. *Aquaculture*. (465): 223-234.
- Chen, X., Liu, Q., Xie, J., Zhang, Y. y Niu, J. 2016. Nutritional value and apparent digestibility for dry matter, protein, energy and essential amino acid in ten selected feedstuffs for juvenile *Penaeus monodon*. *Journal of Aquaculture Research and Development*. (7): 10-18.
- Chi, S. Y., Wang, W. J., Tan, B. P., Dong, X. H., Yang, Q. H., Liu, H. Y. y Zhang, S. 2017. The apparent digestibility coefficients of 13 selected Animal Feedstuff for Cobia, *Rachycentron canadum*. *The World Aquaculture Society*. (48): 280-289.
- Cho, C. Y. 1979. Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout. In *Proc. World Symp. Finfish Nutrition and Fishfeed Technology*. (2): 239-247.
- Córdova-Murueta, J. H. y García-Carreño, F. L. 2002. Nutritive value of squid and hydrolyzed protein supplement in shrimp feed. *Aquaculture*. 210(4): 371-384.
- Cruz-Suárez, L. E., Tapia-Salazar, M., Villarreal-Cavazos, D., Beltran-Rocha, J., Nieto-López, M. G., Lemme, A. y Ricque-Marie, D. 2009. Apparent dry matter, energy, protein and amino acid digestibility of four soybean ingredients in white shrimp *Litopenaeus vannamei juveniles*. *Aquaculture*. 292(2): 87-94.
- Díaz-Vázquez, I. E., Zavala-Leal, O. I., Pacheco-Vega, J. M., Cuevas-Rodríguez, B. L., Ruiz-Velazco, J. M., Gutiérrez-Dorado, R. y Cordero-Ramírez, J. D. 2019. The effect of dehulling and extrusion of jackfruit *Artocarpus heterophyllus* seeds on digestibility and antinutrients, in tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets. *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgah*.

- Ellis, R. W., Long, J., Leitner, L. y Parsons, J. 1987. Estimation of Crude Protein, Energy, and Amino Acid Digestibilities in Freshwater Prawns (*Macrobrachium rosenbergii*) and Crayfish (*Pacifastacus leniusculus*) with a Fecal Collection System. *The Progressive Fish-Culturist*. 49(4): 303-305.
- García-Pérez, O. D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M. G., Villarreal-Cavazos, D., Cruz-Suárez, L. E. y Ricque-Marie, D. 2013. Effectiveness of aluminosilicate-based products for detoxification of aflatoxin-contaminated diets for juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Ciencias marinas*. 39(1): 1-13.
- Hasan, M. R., Macintosh, D. J. y Jauncey, K. 1997. Evaluation of some plant ingredients as dietary protein sources for common carp (*Cyprinus carpio* L.) fry. *Aquaculture*. 151(4): 55-70.
- Jackson, A. J. y Capper, B. S. 1982. Investigations into the requirements of the tilapia (*Sarotherodon mossambicus*) for dietary methionine, lysine and arginine in semi-synthetic diets. *Aquaculture*. 29(4): 289-297.
- Jannathulla, R., Daya, J. S., Vasanthakumar, D., Ambasankar, K., Panigrahi, A. y Muralidhar, M. 2019. Apparent digestibility coefficients of fungal fermented plant proteins in two different penaeid shrimps - A comparative study. *Aquaculture Research*. 1-10.
- Lee, G. P. y Lawrence, A. 1997. Digestibility. In: D'Abramo, L., Conklin, D., Akiyama, D. *Crustacean Nutrition Advances in World Aquaculture*. World Aquaculture Society. (4): 194-260.
- Lemos, D., Lawrence, A. L. y Siccardi, A. J. 2009. Prediction of apparent protein digestibility of ingredients and diets by in vitro pH-stat degree of protein hydrolysis with species-specific enzymes for juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. (295): 89-98.
- Li, M. H., Oberle, D. F. y Lucas, P. M. 2013. Apparent digestibility of alternative plant protein feedstuffs for channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *Aquaculture Research*. (44): 282-288.
- Méndez-Martínez, Y., Yamasaki-Granados, S., García-Guerrero, M. U., Martínez-Córdova, L. R., Rivas-Vega, M. E., Arcos-Ortega, F. G. y Cortés-Jacinto, E. 2016. Effect of dietary protein content on growth rate, survival and body composition of juvenile cauque river prawn, *Macrobrachium americanum* (Bate 1868). *Aquaculture Research*. 48(3): 741-751.
- Mzengereza, K., Msiska, O. V., Kapute, F., Kangombe, J., Singini, W. y Kamangira, A. 2014. Nutritional value of locally available plants with potential for diets of *Tilapia rendalli* in pond aquaculture in Nkhata Bay, Malawi. *Journal Aquaculture Research Development*.
- Ponce-Palafox, J. T., Ruíz-Luna, A., Gómez, M. G. U., Esparza-Leal, H. M., Arredondo-Figueroa, J. L., Martínez-Palacios, C. A. y Ross, L. G. 2013. A response-surface analysis of the relative importance of the temperature, salinity and body weight on the respiratory metabolism of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Marine and freshwater behaviour and physiology*. 46(6): 399-417.
- Qiu, X., Nguyen, L. y Davis, D. A. 2018. Apparent digestibility of animal, plant and microbial ingredients for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*. (24): 930-939.
- Rosas, C., Cuzon, G., Taboada, G., Pascual, C., Gaxiola, G., y Van Wormhoudt, A. 2001. Effect of dietary protein and energy levels on growth, oxygen consumption,

- haemolymph and digestive gland carbohydrates, nitrogen excretion and osmotic pressure of *Litopenaeus vannamei* (Boone) and *L. setiferus* (Linne) juveniles (Crustacea, Decapoda; Penaeidae). *Aquaculture Research*. 32(7): 531-547.
- Da Silva-Santos, F. M., Ribeiro, K., de Freitas, A. C. V., de Carvalho, L. B., Valenti, W. C. y de Souza-Bezerra, R. 2016. Digestive proteases from wild and farmed male morphotypes of the Amazon river prawn (*Macrobrachium amazonicum*). *Journal of Crustacean Biology*. 34(2): 189-198.
- Siccardi III, A. J., Lawrence, A. L., Gatlin III, D. M., Fox, J. M., Castille, F. L., Perez-Velazquez, M. y González-Félix, M. L. 2006. Digestibilidad aparente de energía, proteína y materia seca de ingredientes utilizados en alimentos balanceados para el camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei*. *Symposium Internacional de Nutrición Acuicola*. 213-237.
- Soberanes-Yepiz, M. L., Méndez-Martínez, Y., García-Guerrero, M. U., Ascencio, F., Violante-González, J., García-Ibañez, S. y Cortés-Jacinto, E. 2018. Superoxide dismutase activity in tissues of juvenile cauque river prawn (*Macrobrachium americanum* bate, 1868) fed with different levels of protein and lipid. *Latin American Journal of Aquatic Research*. 543-550.
- Tacon, A. G. J., Cody, J. J., Conquest, L. D., Divakaran, S., Forster, I. P. y Decamp, O. E. 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquaculture nutrition*. 8(2): 121-137.
- Taechanuruk, S. y Stickney, R. R. 1982. Effects of feeding rate and feeding frequency on protein digestibility in the freshwater shrimp (*Macrobrachium rosenbergii*). *The World Mariculture Society*. (13): 63-72.
- Terrazas, M., Civera, R., Ibarra, L., y Goytortúa, E. 2010. Coeficientes de utilización digestiva aparente de materia seca, proteína y aminoácidos esenciales de ingredientes terrestres para el camarón del Pacífico *Litopenaeus vannamei* (Decapoda: Penaeidae). *Revista de Biología Tropical*. 58(4): 1561-1576.
- Vásquez-Torres, W., Pereira-Filho, M. y Arias-Castellanos, J. A. 2002. Estudos para composição de uma dieta referência semipurificada para avaliação de exigências nutricionais em juvenis de pirapitinga, *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818). *Revista Brasileira de Zootecnia*. 31(1): 283-292.
- Wasave, S. S., Singh H. y Wasave, S. M. 2011. Bioenergetics parameters of the diet designed for post larvae of *Macrobrachium rosenbergii* (deman 1879) by partial replacement of fishmeal with jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) seed powder. *Journal Aquaculture Tropical*. 26(2): 71-78.
- Zhou, Z., Ren, Z., Zeng, H. y Yao, B. 2008. Apparent digestibility of various feedstuffs for bluntnose black bream *Megalobrama amblycephala* Yih. *Aquaculture Nutrition*. (14): 153-165.

CONCLUSIONES GENERALES

Los experimentos que se llevaron a cabo para cumplir con los objetivos planteados evidenciaron resultados que aportan nuevos conocimientos sobre la alimentación y la fisiología digestiva, lo que contribuye a ampliar la información disponible sobre la biología y cultivo de *M. americanum*.

Los ingredientes que presentaron el mejor tiempo de respuesta en comportamiento funcionaron como atractantes para *M. americanum* y por lo tanto se pueden incluir en la formulación de alimentos, sin embargo es necesario evaluar las concentraciones adecuadas de inclusión.

De acuerdo con los valores de digestibilidad *in vitro* y aparente de proteína de los ingredientes probados en este estudio, es posible considerarlos como insumos para la formulación de dietas para de *M. americanum*.

Los langostinos alimentados con las dietas experimentales con inclusión de ingredientes vegetales, aunque presentaron baja digestibilidad, esta información contribuye sobre la alimentación de *M. americanum* con dietas formulado con ingredientes locales.

Los langostinos tuvieron un buen desempeño en el crecimiento alimentados con las dietas con inclusión de ingredientes de origen vegetal. De esta forma, se demuestra la capacidad que tienen de aprovechar nutricionalmente diversos ingredientes de origen vegetal en sustitución de la proteína animal. Por lo que, desde la perspectiva del costo-beneficio, es necesario realizar investigaciones con otros ingredientes que sean digestibles por la especie y que permitan reducir los costos de producción.

RECOMENDACIONES

Es importante realizar bioensayos en campo para demostrar la efectividad real de los ingredientes como atractantes o estimulantes de la alimentación al ponerlos a competir con los estímulos que se encuentran en el medio en que se cultivan estos organismos.

Durante todas las fases experimentales se debe tener especial cuidado en utilizar organismos con los apéndices completos, ya que es en éstos órganos en donde se localizan los receptores responsables de la detección de los estímulos, por lo cual la ausencia o daño de los mismos puede interferir directamente en el proceso de alimentación.

Cada ejemplar fue utilizado una sola vez, con la finalidad de evitar que se presente un acondicionamiento al tipo de bioensayo.

Otro aspecto importante dentro de la metodología que se debe aplicar es registrar su comportamiento por medio de filmación a distancia, ya que de otra manera se puede ocasionar ciertas alteraciones en el comportamiento.

Es necesario analizar un número adicional de ingredientes alternativos cuya energía provenga de los carbohidratos, con lo cual se podría evaluar la capacidad de *M. americanum* para utilizar esta fuente de energía y determinar los coeficientes de digestibilidad aparente.

Se recomienda realizar formulaciones con diferente nivel de inclusión de los ingredientes de prueba, así como periodos más largos de cultivo, para evidenciar los cambios adaptativos a los ingredientes, y se cuente con la información adecuada para la alimentación de la especie.

APENDICE 1

COMPORTAMIENTO ALIMENTARIO Y TASA DE INGESTIÓN DE CAMARONES JUVENILES DEL GÉNERO PENAEUS (CRUSTACEA: DECAPODA)

RESUMEN

Se describen el comportamiento de alimentación y los factores que influyen en la tasa de ingestión en camarones. Los principales factores que influyen en la tasa de ingestión de alimentos en el camarón son principalmente: la selección de los alimentos, la estabilidad de los alimentos, la saciedad, la frecuencia de la alimentación, la densidad y dispersión de los alimentos, el tamaño del camarón, la etapa de muda, la temperatura, el oxígeno disuelto en el agua, el fotoperíodo, los factores antinutricionales y las sustancias tóxicas. Estos factores pueden influir en la tasa de ingestión de forma individual o sinérgica durante el crecimiento del camarón. Es necesario conocer las estructuras orales, el proceso de alimentación y combinar el efecto de los factores bioquímicos, fisiológicos, nutricionales y ambientales del camarón para optimizar las tasas de ingestión en el camarón nativo principalmente.

INTRODUCCIÓN

La determinación de las tasas de ingestión alimenticia y el tiempo requerido para consumir una ración de saciedad es necesaria para determinar la tasa y duración óptimas de la alimentación, en el cultivo de camarones y langostinos (Talbot, 1993). Los camarones son organismos que detectan los alimentos a través de receptores químicos asociados al sentido del olfato (receptores de distancia) y receptores sensitivos o de contacto que funcionan como el sentido del gusto (Mendoza *et al.*, 1999). El objetivo es describir el comportamiento alimentario y los factores que influyen en la tasa de ingestión de camarones y langostinos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En general, los camarones pasan gran parte de su tiempo en el fondo transportando partículas orgánicas e inorgánicas a su boca (Alexande y Hindley, 1980). La búsqueda de alimento es una actividad que le lleva mucho tiempo a los camarones, con tendencia a seleccionar tamaños grandes, y cesa cuando los quimiorreceptores detectan la presencia de los alimentos en a través de los quimiorreceptores. Las partículas de comida son manipuladas por pereiópodos quelados que las pasan a las partes bucales. Las partículas de comida son recogidas por los pereiópodos quelados y son pasadas a las partes orales, comenzando su paso con una cavidad preoral compuesta de setas que se encuentran en los dos primeros pares de maxilípedos y maxilares (Hindley, 1975). Estos los pasan a las mandíbulas que cortan y aplastan las partículas de comida, las setas las empujan hacia el esófago, y el labrum y los paragnaths impiden que salgan de la boca. Las partículas no alimenticias son expulsadas hacia abajo por los apéndices de la cavidad (Alexande y Hindley, 1980). El tercer maxilípedo es de gran importancia en el proceso de alimentación de los camarones, ya que junto con los pereiópodos pueden retener partículas de gran tamaño en las partes de la boca. Tiene endopoditos que se utilizan en la alimentación, limpieza y recepción de feromonas. En los bordes internos de la isquia hay espinas que ayudan a retener las partículas de alimento para que sean ingeridas o desechadas. Todos los segmentos distales tienen setas alargadas, que se utilizan para limpiar los pereiópodos quelados y las antenas. Se han identificado cuatro fases en la ingestión de alimentos en los camarones, que pueden presentarse por separado o en conjunto: a. Introducción en la cavidad preoral; b. Paso de los alimentos por la cavidad preoral; c. Inserción de los alimentos en la región mandibular; y d. Trituración y deglución (Alexande y Hindley, 1980).

El estudio de la tasa de ingesta es necesario para diseñar y evaluar dietas prácticas y ha sido necesario para llevar a cabo un mejor estudio nutricional. La tasa de ingestión en camarones está influenciada por a). La selección de los alimentos; b). Estabilidad alimentaria; c). Saciedad; d). Frecuencia de alimentación; e). Densidad y dispersión del alimento; f). Tamaño de los camarones; g). Etapa de muda; h). Temperatura; i). Concentración de oxígeno disuelto en el agua; j). Fotoperíodo; k). Factores antinutricionales y sustancias tóxicas.

La tasa de ingestión de materia seca en gramos/hora se ha calculado a partir de la siguiente ecuación (Sick *et al.*, 1973):

$$I = (M_i - M_f - M_p) / T$$

Dónde: I = tasa de ingestión de materia seca en gramos por hora, M_i = peso inicial de la materia seca en gramos colocada en cada unidad experimental; M_f = peso final de la materia seca en gramos; M_p = pérdida de materia seca y T = tiempo de residencia de la ración en la unidad experimental.

Se identificaron los factores que influyen en la tasa de ingesta de alimentos en los camarones.

a) La preferencia por un alimento en los camarones está determinada en parte por el estímulo preestacional o la palatabilidad del alimento (sabor, forma, tamaño, color y textura) (Lee y Lawrence, 1977) Se ha determinado que los L-aminoácidos, los amino-betaína, los ácidos grasos, y también, los compuestos lipídicos, así como también, los extractos de los productos marinos incluyendo las harinas de camarón, acelera la detección y la ingestión de alimentos e indirectamente mejora la eficiencia de la nutrición de los animales acuáticos (Métallier y Guillaume, 2001).

b). Las dietas artificiales tienen una estabilidad limitada en el agua, por lo que se produce una disminución en la tasa de ingestión de camarones, que es inversamente proporcional al tiempo de inmersión de las dietas en el agua. Por lo tanto, un aumento en la frecuencia de la alimentación podría ser una técnica muy efectiva para prevenir la pérdida de nutrientes solubles en agua. c) La saciedad en los camarones ocurre una vez que el proventrículo está lleno, la alimentación continúa sólo después de que el alimento ingerido es transportado al intestino (Condrey *et al.*, 1972). Algunos estudios indican que las especies de camarones pueden llenar su proventrículo durante la alimentación en 1-10 minutos y vaciarlo en 1-4 horas (Hentshel y Feller, 1990). En general, el llenado y vaciado del proventriculus determina la tasa de ingestión del camarón (Lee y Lawrence, 1977); d) La tasa de ingestión del camarón se modifica con la frecuencia con que es alimentado, siendo que una frecuencia de dos veces al día resulta en el aumento de la tasa de consumo de alimentos de este organismo, en comparación con las frecuencias de una y tres veces al día (Taechanuruk y Stickney, 1982); e) La tasa de ingestión disminuye con el aumento de la densidad de camarones en los estanques, pero este efecto se modifica si el alimento se dispersa por el estanque (Raheed y Bull, 1992). Nunes y Parsons (1999) encontraron que al comparar el método de dispersión de los alimentos en toda la zona, con un sistema de concentración de alimentos en bandejas en los dos extremos del estanque, los camarones tenían niveles significativamente más altos de ingestión y su actividad forrajera era más eficiente; f) Se observó que la tasa de ingestión de alimentos aumentaba progresivamente a medida que aumentaba el tamaño de los camarones, pero disminuía progresivamente cuando la tasa de ingestión se estandarizaba con respecto al peso corporal del individuo. Aunque los camarones preadultos y adultos ingerían mayores cantidades absolutas de alimento que los camarones juveniles, los juveniles tenían mayores

tasas de ingestión por gramo de peso corporal que los adultos. g) El camarón en las etapas de pro ecdisis y ecdisis puede disminuir, o dejar de alimentarse completamente (Drach y Tchemigovtzeff, 1967). En estudios con juveniles (15 a 25 g) de camarón, se observó que la tasa de ingestión de camarón disminuyó considerablemente (de 2,7 g/día a 1,2 g/día) en los dos días previos al cambio y durante el mismo (Rothlisberg, 1998). También se ha observado que la mayoría de los camarones en ecdisis, emergieron por menos tiempo y no se alimentaron durante la noche, en comparación con los individuos en período intermuda (5 mg/L) son menores y se reduce la ingesta de alimentos (Lee y Lawrence, 1977); j) En los camarones hay un aumento en la ingesta de alimentos asociado con los períodos de luz. Durante el día *L. vannamei* consume al menos la mitad de todos los alimentos que se ofrecen, el camarón tigre prefiere alimentarse cuando hay luz; y las tasas máximas de ingestión de pellets ocurrieron cuando el camarón rosado estaba bajo intensidades de luz relativamente altas (Arias, 2006); k) La tasa de ingestión en el camarón se ve afectada negativamente por la exposición a sustancias tóxicas, como el cromo, el cobre, el zinc, el níquel y las saponinas, entre otras, (Chen y Lin, 2001).

CONCLUSIONES

Se han identificado cuatro fases en la ingestión de alimentos en el camarón. El comportamiento de alimentación comienza con la manipulación de las partículas del sedimento con los pereópodos quelatados y la detección del alimento por medio de quimiorreceptores. Así, las partículas son transferidas a las partes orales, donde son rechazadas o consumidas dependiendo de su naturaleza. Todo ello a través de una tasa de ingestión que viene determinada por el efecto de al menos once factores.

LITERATURA CITADA

- Alexandre, C., G. y Hindley, J., P., R. 1980. The mechanism of food ingestion by the banana prawn, *Penaeus Merquiensis*. Marine Behaviour and Physiology. 12:33-46.
- Arias P. 2006. Factores que afectan la tasa de ingestión de camarones peneidos: comparación de dos especies (*Litopenaeus setiferus* Linnaeus, 1767 y *L. vannamei* Boone, 1931). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 105 pp.
- Chen, J., C. y Lin, C., H. 2001. Toxicity of copper sulfate for survival, growth, molting and feeding of juveniles of the tiger shrimp, *Penaeus monodon*. Aquaculture. 192: 55-65.
- Condrey, R., E., Gosselink, J., G. y Bennett, H., J. 1972. Comparison of the assimilation of different diets by *Penaeus setiferus* and *P. aztecus*. Fishery Bulletin. 70: 1281-1292.
- Drach, P. y Tchernigovtzeff, C. 1967. Sur la méthode de détermination des stades d'intermue et son application générale aux Crustacés. Vie Milieu. 18: 595-609.
- Hentshel, B., T. y Feller, R., J. 1990. Quantitative immunoassay of the proventricular contents of white shrimp *Penaeus setiferus* Linnaeus: a laboratory study. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 139: 85-99.
- Hindley, J., P., R. 1975. The detection, location and recognition of food by juvenile banana prawns, *Penaeus merguensis* de Man. Journal Marine Behaviour and Physiology. 3:193-210.
- Lee, P., G. y Lawrence, A., L. 1977. Digestibility. In: D'Abramo L. R., Conklin D. E., Akiyama D. M. (Eds.). Crustacean Nutrition. World Aquaculture Society. EUA. 194-247.
- Mendoza, R., Montemayor, J., Verde, J. y Aguilera, C. 1999. Quimioatracción en crustáceos: Papel de moléculas homólogas. Avances en Nutrición Acuícola III. Memorias del Tercer Simposio Internacional de Nutrición Acuícola. Monterrey, Nuevo León. México. 365-401.
- Métallier, R. y Guillaume, J. 2001. Feeding of fish: Applications, raw materials and additives used in fish foods. In: Nutrition and Feeding of Fish and Crustaceans. Praxis Publishing. 279-295.
- Nunes, A., J., P. y Parsosns, G., J. 1999. Feeding Levels of the Southern Brown Shrimp *Penaeus subtilis* in response to food dispersal. Journal of the World Aquaculture Society. 30: 331-348.
- Raheed, M., A. y Bull, C., M. 1992. Behaviour of the western king prawn, *Penaeus latisulcatus* Kishinouye: effect of food dispersion and crowding. Australian Journal of Marine and Freshwater Research. 43: 745-752.
- Rothlisberg, P., C. 1998. Aspects of penaeid biology and ecology of relevance to aquaculture: a review. Aquaculture. 164: 49-65.
- Sick, L., V., White, D. y Baptist, G. 1973. The effect of duration of feeding, amount of food, light intensity, and animal size on rate of ingestion of pelleted food by juvenile penaeid shrimp. The Progressive Fish-Culturist. 35: 22-26.
- Taechanuruk, S. y Stickney, R., R. 1982. Effects of feeding rate and feeding frequency on protein digestibility in the freshwater shrimp (*Macrobrachium rosenbergii*). Journal of the World Mariculture Society. 13: 63-72.
- Talbot, C. 1993. Some aspect on the biology of feeding and growth in fish. Proceedings of Nutrition Society. 52: 403-416.

CURRICULUM VITAE

Ana María Parra Flores, es licenciada en Biología, graduada de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos en el 2006. Realizó la maestría en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural en el Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), unidad Chetumal en el Estado de Quintana Roo durante Enero de 2007 a Diciembre de 2008.

Ha participado en de proyectos de investigación enfocados en el análisis productivo sustentable de cuerpos de agua temporales en el Estado de Morelos; en la estructura y función del zooplancton, manejo de recursos acuáticos, y actualización de bases de datos de la colección científica de zooplancton en el Colegio de la Frontera Sur. Cuenta con experiencia docente en el área de ciencias biológicas a nivel licenciatura en universidades del estado de Morelos.

Ha asistido a diferentes congresos y cursos nacionales e internacionales, en el área de acuicultura, manejo de recursos naturales, y ecología de plancton marino y dulceacuícola. Ha publicado artículos científicos en revistas especializadas y de divulgación científica. Recibió un reconocimiento por haber resultado finalista en el Certamen Nacional Juvenil de Proyectos de Desarrollo Rural y Sustentable, en Expo Nacional Juvenil Poder Joven en la ciudad de San Luis Potosí.

Teléfono celular: 735 211 0386

Correo electrónico: pfloresmh@yahoo.com.mx