EVALUACIÓN NUTRICIONAL DEL ALGA Macrocystis pyrifera COMO ADITIVO ALIMENTARIO PARA JUVENILES DEL CAMARÓN Litopenaeus vannamei NUTRITIONAL EVALUATION OF SEAWEED Macrocystis pyrifera AS FEED ADDITIVE FOR JUVENILE SHRIMP Litopenaeus vannamei

^{II}Gutiérrez-Leyva Ranferi¹, Civera-Cerecedo Roberto², Rocha-Meza Sonia², Rondero-Astorga Dolores², Ramírez-Ramírez Carmen¹, Casas-Valdez Margarita³

¹Universidad Autónoma de Nayarit. Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Nayarit, México. ²Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste.Baja California Sur, México. ³Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Baja California Sur, México.

RESUMEN

Las algas marinas se han evaluado como aditivos alimentarios para organismos acuáticos con resultados positivos en las variables productivas y en la resistencia a enfermedades. En la presente investigación se evaluó un extracto líquido de *Macrocystis pyrifera* (Kelproidan^{MR}) al 4% de inclusión (K4%) en alimento balanceado (33.6% proteína y 7.3% lípidos) para juveniles de *Litopenaeus vannamei*. Se realizó un bioensayo de crecimiento durante 45 días en condiciones controladas. Comparado con el tratamiento testigo, los resultados indican que la inclusión de Kelproidan^{MR} no afectó la supervivencia, crecimiento, consumo de alimento y la respuesta alimentaria de los camarones, el tratamiento K4% mejoró la conversión alimenticia y la eficiencia proteica (*P*<0.05). Además, incrementó el contenido de proteína y disminuyó el contenido de lípidos del músculo en los camarones (*P*<0.05). Las conclusiones obtenidas en el experimento indican que el producto comercial Kelproidan^{MR} podría utilizarse como aditivo alimentario en alimentos para juveniles de camarón patiblanco del Pacífico.

Palabras clave: camarón patiblanco, alimento balanceado, crecimiento, Kelproidan^{MR}

Recibido: 16/01/2015. Aceptado: 05/02/2015. Identificación del artículo: abanicoveterinario5(1):26-34/000058

Sistema Superior Editorial sisupe.org

^{II} Casas-Valdez Margarita. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Av. Instituto Politécnico Nacional s/n, Colonia Playa Palo de Santa Rita, C.P. 23096, La Paz, Baja California Sur, México. Gutiérrez-Leyva Ranferi. Universidad Autónoma de Nayarit. Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, carretera a Chapalilla km 3.5, C.P. 63700, Compostela, Nayarit, México. granferi@hotmail.com mcasasv@hotmail.com

ABSTRACT

Seaweeds have been evaluated as feed ingredients or additives for aquatic organisms with positive results on growth performance and disease resistance. To evaluate the response of growth and feed utilization using a seaweed liquid extract (Kelproidan^{MR}), obtained from *Macrocystis pyrifera* as a feed additive 4% inclusion (K4%) in balanced feed (33.6% protein and 7.3% lipids) for juvenile *Litopenaeus vannamei*, a 45 days growth bioassay, under controlled conditions was conducted. Compared to the control treatment, the results indicate that the inclusion of Kelproidan^{MR} did not affect the zootechnical parameters of survival, growth, feed intake nor the feeding response of shrimp. In terms of feed utilization, K4% treatment significantly improved feed conversion rate, and protein efficiency (P<0.05). It was also revealed that Kelproidan^{MR} allowed two different responses in proximate composition of shrimp muscle, first increased protein content and otherwise decreased lipid content (P<0.05). In conclusion, Kelproidan^{MR} could be used as a feed additive for juvenile *L. vannamei*.

Keywords: Whiteleg shrimp, balanced feed, growth, Kelproidan^{MR}

INTRODUCCIÓN

En México el cultivo del camarón blanco en el 2012 alcanzó un volumen de producción de 100,321 t, y el 87% se cosechó en Sinaloa, Sonora y Nayarit (CONAPESCA, 2012). En el cultivo del camarón el alimento puede llegar a representar hasta el 60% de los costos totales de producción, dependiendo de la especie y el tipo de alimentación. Las principales investigaciones con el alga marina Kelp (*Macrocystis pyrifera*) en alimentos para camarones peneidos, se han enfocado en evaluar su uso en forma de harina, en niveles de inclusión desde el 1 hasta el 20%; con el propósito de establecer primordialmente su potencial sobre la ingesta alimenticia, el crecimiento y la digestibilidad de los nutrientes (Cruz-Suárez *et al.*, 2000; Rivera *et al.*, 2002; Gutiérrez-Leyva, 2006; Suárez-García, 2006; Cruz-Suárez *et al.*, 2009).

Sin embargo, otras investigaciones han demostrado que las algas contienen una importante composición de cenizas (31-45%), fibra cruda (4.1-8.1%) y alginatos (18-26%) (Rodríguez-Montesinos y Hernández-Carmona, 1991; Cruz-Suárez *et al.*, 2000), los cuales potencialmente en función del nivel de inclusión pueden interferir en la digestibilidad de los nutrimentos del alimento (Storebakken y Austreng, 1987); por lo tanto es recomendable su uso preferentemente como aditivos alimentarios para mantener la calidad nutricional del alimento. Kelproidan^{MR} es un líquido comercial concentrado 100% de algas *M. pyrifera* que permite su inclusión directa en el alimento, manteniendo las propiedades nutrimentales de proteínas, lípidos, carbohidratos

complejos (laminaran, fucoidan y manitol), minerales y vitaminas del alga para un adecuado aprovechamiento.

En la presente investigación se evaluó el líquido de Kelproidan al 4%, en el alimento sobre el crecimiento y en la composición proximal de juveniles de *L. vannamei* bajo condiciones controladas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Dos alimentos fueron formulados con el software Mixit-Win (Agricultural Software Consultants, Inc., San Diego, CA, USA), el primero testigo y el segundo al 4% de inclusión de Kelproidan^{MR} para cubrir 32% de proteína y 8% de lípidos; de acuerdo a los criterios descritos en Civera *et al.* (2010). Los pellets se fabricaron con un diámetro de 2.7 mm, con el método descrito por Civera & Guillaume (1989). Los ingredientes del alimento testigo se mezclaron con agua a temperatura ambiente (28±1°C), y los ingredientes del alimento con Kelproidan^{MR} se mezclaron con el líquido de Kelp. Los pellets producidos fueron secados a temperatura ambiente (25±3 °C) por 36 h, y se les determinó la estabilidad en agua de mar con el método de Obaldo *et al.* (2002), mediante la estimación de la materia seca retenida (%) = (peso final del alimento seco) / (peso inicial del alimento seco) x 100.

El sistema experimental consistió de 6 tanques rectangulares de 60 L (34 x 55 x 38 cm), equipados con sistema de drenaje, manguera de aireación, calentador sumergible de 250 W, cubiertos con malla mosquitera plástica e iluminación con focos de 60 W, controlados por un timer a un fotoperiodo de 12 h luz: 12 h obscuridad (fotofase 06:00-18:00 h). El agua de mar fue filtrada a 70 micras, después pasó por un filtro cartucho de 10 micras acoplado a un esterilizador de luz ultravioleta, y posteriormente bombeada a los tanques para realizar 80% de recambio diario del agua.

La composición proximal de los ingredientes de los alimentos y los tejidos musculares de *L. vannamei*, se determinaron de acuerdo a los métodos de la AOAC (1995): para proteína microKjeldahl (%Nitrógeno x 6.25); para extracto etéreo, método Soxhtec, usando como solvente éter de petróleo; para humedad, la determinación fue por diferencia de peso a 70°C por 24 h; para las cenizas, las determinación fue por diferencia de peso mediante la calcinación de la muestra a 500°C por 24 h; para fibra cruda su utilizó el método de hidrólisis sucesiva (ácido/base); y para el extracto libre de nitrógeno, la determinación por diferencia de peso (%ELN = proteína + extracto etéreo + cenizas + proteína cruda). La energía bruta se cuantificó mediante un calorímetro adiabático.

Para el experimento se utilizaron 60 camarones de la especie *L. vannamei*, con un peso inicial de 1.05±0.01 g; los cuales fueron trasladados desde la granja Acuacultores de la península ubicada a 7.8 km de La Paz, B.C.S., México; y aclimatados en el Laboratorio de Nutrición Experimental del CIBNOR-La Paz (26.7±0.5 °C, salinidad 39±1.5 g/L, O₂ disuelto 7±0.4 mg/L) por 10 días en 2 tanques con capacidad de 800 L; con una ración alimenticia diaria correspondiente al 4% de la biomasa por tanque de un alimento comercial Malta-Cleyton, para camarón con 40% de proteína. Los alimentos se evaluaron por triplicado y se suministraron a saciedad aparente dos veces al día (09:00 y 18:30 h), con una ración inicial del 6%, misma que se ajustó diariamente de acuerdo al alimento consumido.

Durante 45 días (08:00 h), se determinó el alimento residual, la supervivencia y los parámetros de temperatura (27±0.2 °C) con un termómetro de mercurio, de oxígeno disuelto (5.5±0.4 mg/L), con un oxímetro portátil YSI 550A, y de salinidad (39.7±0.15 g/L) con un refractómetro. Semanalmente se midió la concentración de nitritos y amonio total, utilizando los métodos para agua marina de Bendschneider y Robinson (1952), y de Solórzano (1969) respectivamente. Se realizaron biometrías quincenales y se determinaron los parámetros zootécnicos con las siguientes fórmulas: Supervivencia (%) = 100 x (número final de camarones/número inicial de camarones); ganancia de peso (%) = (Pf – Pi / Pi) x 100, donde Pf y Pi representan el peso inicial y final de los camarones; alimento consumido (mg/camarón/día) = alimento total consumido / (número de camarones x días de experimento); factor de conversión alimenticia = alimento total consumido / IPC, donde IPC es el incremento de peso corregido con la fórmula descrita por Kitayabashi *et al.* (1971), donde IPC = Biomasa final + 0.5 x (Pf promedio + Pi promedio x camarones muertos) – Biomasa inicial; eficiencia proteica = IPC / proteína ingerida.

La retención de nitrógeno en músculo de los camarones, se calculó a partir de la composición proximal muscular de los animales con la fórmula RN (%) = (Pf - Pi) x %materia seca x %nitrógeno; y la retención de energía se determinó como RE (%) = (Pf - Pi) x %materia seca x kJ/g materia seca de acuerdo con Jover (2000). Se verificó la normalidad de los datos con el test de Kolmogorov y la homogeneidad de varianzas con el test F-Snedecor. La diferencia entre los tratamientos se determinó mediante la prueba t de student (Sokal y Rolhf, 1995), y los cálculos se determinaron con el software Statistica 7.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Kelproidan^{MR} en forma líquida aportó al alimento principalmente agua (84%), proteína (4.1%), fibra cruda (0.8%), materia orgánica (10±1%), carbohidratos (33.6%) y lípidos (0.08%). Los alimentos fueron similares en su composición proteica, lipídica y

energética; además la inclusión de Kelproidan^{MR} no afectó en la pérdida de materia seca del alimento en la prueba de hidroestabilidad (Tabla 1). Los tratamientos testigo y K4% registraron valores de amonio total (0.29±0.06 *vs* 0.25±0.17 mg/L), nitritos (0.06±0.03 *vs* 0.05±0.02 mg/L) y nitratos (0.06±0.05 *vs* 0.03±0.02 mg/L); que están dentro de los intervalos óptimos para *L. vannamei*, para salinidades promedio de 35 g/L de acuerdo con Lin & Chen (2003).

Los resultados de la Tabla 2, indican que los camarones alimentados con el tratamiento K4%, tuvieron crecimientos similares respecto al testigo y la misma tasa de consumo de alimento; sin embargo, en términos de eficiencia de utilización del alimento, el tratamiento con Kelp mejoró el factor de conversión alimenticia (P=0.043) y la eficiencia proteica (P=0.012). La retención de nitrógeno y de energía en el músculo de los camarones no se afectó por la inclusión de Kelproidan^{MR} y su incorporación en el alimento tuvo dos respuestas diferentes; por una parte incrementó el contenido de proteína (P=0.001) y por otra disminuyó el contenido de lípidos (P=0.049) Tabla 2. La composición energética muscular de L. vannamei fue similar para ambos tratamientos experimentales, lo que se sugiere que los alimentos cubrieron el requerimiento de proteína y energía descrito para juveniles de esta especie, en las condiciones evaluadas.

Diversos estudios han evaluado el uso de harinas de Kelp como aditivos alimentarios a bajos niveles de inclusión (4–6%), buscando promover el crecimiento y la digestibilidad de los nutrimentos del alimento (Cruz-Suárez et al., 2000; Rivera et al., 2002; Gutiérrez-Leyva, 2006; Suárez-García, 2006; Cruz-Suárez et al., 2009); concluyéndose en estas investigaciones que la inclusión de Kelp mejora la textura del alimento, lo cual permite resultados positivos en la ingestión de alimento, en el crecimiento y en la digestibilidad de los nutrimentos. Adicionalmente las algas marinas son alimentos funcionales, ya que poseen elementos activos como fucoidinas, que incrementan la resistencia contra enfermedades bacterianas como *Vibrio harveyi*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* a concentraciones en el alimento de 12.0, 12.0 y 6.0 mg/mL respectivamente; y también aumentan la supervivencia (46-96%) en enfermedades virales como la mancha blanca (WSSV), cuando el fucoidan crudo se incorpora en el alimento a niveles de 100 y 200 mg/kg biomasa por día, después de 10 días de infección (Chotigeat et al., 2004).

Tabla 1. Composición de ingredientes, análisis proximal e hidroestabilidad de los alimentos experimentales.

Table 1. Composition of ingredients, proximal analysis and water stability of the experimental feeds.

-	Alimentos							
Ingredientes (g/kg) en base húmeda	Testigo	K4%						
Harina integral de trigo ^A	49.03	44.04						
Harina de sardina ^A	23.00	23.30						
Pasta de soya ^A	18.17	18.87						
Aceite de sardina ^A	4.00	4.00						
Lecitina de soya ^B	2.00	2.00						
Fosfato dibásico de sodio ^C	1.20	1.20						
Premezcla de vitaminas ^D	1.80	1.80						
Premezcla de minerales ^E	0.50	0.50						
Cloruro de colina (62% agente activo) ^A	0.20	0.20						
Vitamina C (35% agente activo) ^F	0.09	0.09						
Butilhidroxitolueno ^G	0.004	0.004						
Kelproidan líquido ^H	0.0	4.00						
Composición proximal en base seca, excepto humedad								
Materia seca (%)	91.5 ± 0.05	93.0 ± 0.02						
Proteína cruda (%)	33.6 ± 0.11	33.6 ± 0.06						
Extracto etéreo (%)	7.3 ± 0.13	7.3 ± 0.30						
Fibra cruda (%)	1.7 ± 0.04	0.6 ± 0.04						
Cenizas (%)	7.3 ± 0.03	7.5 ± 0.02						
Extracto libre de nitrógeno (%)	50.1 ± 0.19	51.1 ± 0.33						
Energía bruta (kJ/g)	18.6 ± 0.03	17.6 ± 0.03						
Relación P/E (g/proteína MJ)	18.1± 0.3	19.0 ± 0.3						
Hidroestabilidad (% materia seca retenida)	86.3 ± 1.9	88.0 ± 1.0						

^APromotora Industrial Acuasistemas, S.A., La Paz, B.C.S., México. ^BODONAJI, Distribuidora de Alimentos Naturales y Nutricionales, S.A. de C.V., México, DF. ^CSigma-Aldrich No. S-0876. ^DPremezcla de vitaminas (mg/kg de premezcla): A acetato, 5; D₃, 0.001; E, 8; K₃, 2; B₁, 0.5; B₂, 3; B₆, 1; ácido pantótenico, 5; niacina, 5; biotina, 0.05; inositol, 5; ácido fólico, 0.18; cianocabalamina, 0.002; alfa celulosa, 965.26 (como vehículo). ^EPremezcla mineral (g/kg de premezcla): CoCl₂, 0.04; CuSO₄·5H₂O, 2.5; FeSO₄·7H2O, 40; MgSO₄·7H₂O, 283.98; MnSO₄·H2O, 6.5; KI, 0.67; Na₂SeO₃, 0.1; ZnSO₄·7H2O, 131.93; alfa-celulosa, 534.28 (como vehículo). ^FStay-C, Roche, D.F., México. ^GICN-Valeant Pharmaceuticals No. 101162. ^HProductos del Pacífico, S.A. de C.V., Ensenada, B.C., México.

Tabla 2. Parámetros zootécnicos y composición proximal muscular (en base seca) de juveniles de Litopenaeus vannamei al final del bioensayo de crecimiento.

Table 2. Zootechnical parameters and muscle proximate composition (in dry basis) of juvenile Litopenaeus vannamei at the end of the growth trial.

Alimento	PF		AC			RN	RE	PC	EE	EB
	(g)	GP (%)	(mg/camarón/día)	FCA	EP	(%)	(%)	(%)	(%)	(kJ/g)
Testigo	5.2	418	191.9	2.1ª	1.4 ^b	13.0	16.1	83.8 ^b	2.6a	16.6
	$\pm~0.6$	± 55	\pm 5.9	$\pm~0.22$	± 0.1	± 1.7	$\pm \ 2.1$	$\pm~0.03$	$\pm \ 0.07$	$\pm~0.3$
K4%	5.4	436	166.0	1.7 ^b	1.8a	13.7	17.8	84.9a	1.5 ^b	17.6
	$\pm \ 0.5$	± 52	\pm 24.7	$\pm \ 0.06$	$\pm\ 0.06$	$\pm~1.6$	± 2.1	$\pm \ 0.2$	$\pm~0.4$	$\pm~0.3$

Abreviaturas: PF = peso final, GP = ganancia de peso, AC = Alimento aparentemente consumido, FCA = Factor de conversión alimenticia, EP = eficiencia proteica, RN = retención de nitrógeno, RE = retención de energía, PC = proteína cruda, EE = extracto etéreo, y EB = energía bruta. Letras diferentes en las columnas indican diferencias significativas (*P*<0.05).

CONCLUSIÓN

Los resultados sugieren que Kelproidan^{MR} podría utilizarse al 4% de inclusión, para mejorar la utilización de los nutrimentos del alimento para juveniles de *Litopenaeus vannamei;* sin embargo, son indispensables más investigaciones sobre su efecto en unidades de producción comerciales y en presencia de enfermedades para conocer su funcionalidad y nivel de inclusión.

LITERATURA CITADA

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis (16th ed.). Arlington, VA, USA: Association of Analytical Chemists. 1995

BENDSCHNEIDER K, Robinson R. Determination of nitrites. En: Strickland JD, Parson TR. A practical handbook of seawater analysis. Fisheries Research Board of Canada. Bulletin 167, 2nd. Edition Ottawa. 1952:7-78.

CIVERA R, Guillaume J. Effect of sodium phytate on growth and tissue mineralisation of *Penaeus japonicus* and *Penaeus vannamei* juveniles. Aquaculture. 1989; 77:145-156.

CIVERA R, Galicia A, Nolasco H, Goytortúa E, Cruz LE, Ricque D. Uso del cártamo (*Carthamus tinctorius*) como ingrediente en alimentos para juveniles del camarón *Litopenaeus vannamei*. En: Cruz SLE, Ricque MD, Tapia SM, Nieto LMG, Villarreal CDA, Gamboa DJ. Avances en Nutrición Acuícola X - Memorias del X Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, 8-10 de noviembre, San Nicolás de los Garza, N. L., México. ISBN 978-607-433-546-0. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México. 2010:393-466.

CIVERA CR, Guillaume JC. Effect of sodium phytate on growth and tissue mineralisation of *Penaeus japonicus* and *Penaeus vannamei* juveniles. Aquaculture. 1989; 77:145-156.

CONAPESCA. Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca de México. [http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/anuario_2012_zip]. 2012. Accesado: 25 abril 2014.

CRUZ SLE., Ricque MD, Tapia SM, Guajardo BC. Uso de harina de kelp (*Macrocystis pyrifera*) en alimentos para camarón. En: Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 noviembre, 2000. Cruz SLE., Ricque MD, Tapia SM, Olvera NMA, Civera CR. Mérida, Yucatán, México. 2000:227-265.

CRUZ SLE, Tapia SM., Nieto LMG, & Ricque MD. A review of the effects of macroalgae in shrimp feeds and in co-culture. En: Avances en Nutrición Acuícola IX. IX Simposio Internacional de Nutrición Acuícola. 24-27 noviembre 2008. Cruz SLE, Ricque MD, Tapia SM., Nieto LMG, Villarreal CDA, Lazo JP, Viana MT. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México. 2008:304-333.

CHOTIGEAT W, Tongsupa S, Supamataya K, Phongdara A. Effect of fucoidan on disease resistance of black tiger shrimp. Aquaculture. 2004; 233:23-30.

FAO. Fisheries and Aquaculture Report No. 1053. FAO/MARD Technical Workshop on Early Mortality Syndrome (EMS) or Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome (AHPNS) of Cultured Shrimp (under TCP/VIE/3304). Hanoi, Viet Nam, 25–27 June 2013.

GUTIÉRREZ R, Uriarte I., Yany G, Farías A. Productive performance of juvenile Patagonian red octopus (*Enteroctopus megalocyathus*) fed with fresh preys: are relevant the quantity of protein and energy on diets? Aquaculture Research, doi: 10.1111/are.12585. 2014.

JOVER CM. Estimación del Crecimiento, Tasa de Alimentación y Producción de Desechos en Piscicultura Mediante un Modelo Bioenergético. [http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=&c=82]. 2000. Revisado: 30 marzo 2014.

KITAYABASHI KH, Kurata H, Shudo KN, Isikawa S. Studies of formula feed for kuruma prawn I: on the relationship among glucosamine, phosphorus and calcium. Bulletin of Takai Regional Fisheries Research Laboratory. 1971; 65:91-107.

LIN YC, Chen JC. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. Aquaculture. 2003; 224:193-201.

OBALDO LG, Divakaran S, Tacon GA. Method for determining the physical stability of shrimp feeds in water. Aquaculture Research. 2002; 33:369-377.

RIVERA G, Yoong F, Roofrío G, Reinoso B, Hurtado F, Massuh P. Inclusión de harina de kelp (*Macrocystis pyrifera*) en alimentos balanceados para el camarón. I Congreso

Iberoamericano Virtual de Acuicultura. CIVA 2002 (http://www.civa2002.org). 2002:244-252.

RODRÍGUEZ MYF, Hernández CG. Variación estacional y geográfica de la composición química de *Macrocystis pyrifera* en la costa occidental de Baja California. Ciencias Marinas. 1991; 17:91-107.

SOKAL RR, Rohlf FJ. Biometry. The Principles and Practice of Statistics In Biological Research (3rd ed.), W.H. Freeman and Company, New York. 1995. 419 p.

SOLÓRZANO L. Determination of ammonia in natural waters by the phenylhypochlorite method. Limnol. Oceanogr. 1969; 14:799-800.

STOREBAKKEN T, Austreng E. Binders in fish feeds. Effects of different alginates on the digestibility of macronutrients en rainbow trout. Aquaculture. 1987; 60:121-131.

SUÁREZ GHA. Efecto de la inclusión de alginato y harina de algas *Sargassum* sp y *Macrocystis pyrifera*, sobre la estabilidad en agua, digestibilidad del alimento y sobre el crecimiento del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Tesis de Licenciatura en Ciencia de los Alimentos. Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, N. L., México. 2006.

AGRADECIMIENTOS: Agradecemos a la empresa Productos del Pacífico S.A. de C.V., por aportar el producto Kelproidan^{MR} para su evaluación. También a la Dra. Ruth Noemí Águila Ramírez del CICIMAR-IPN, y a Sandra de la Paz Reyes del Laboratorio de Nutrición Experimental del CIBNOR por su apoyo técnico en el sistema de cultivo. Margarita Casas agradece al Instituto Politécnico Nacional las becas EDI y COFAA.