



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS  
DEL NOROESTE, S.C.

---

---

Programa de Estudios de Posgrado

**REQUERIMIENTOS DE PROTEÍNA Y ENERGÍA  
EN JUVENILES DE LANGOSTINO DE RÍO**  
*Macrobrachium americanum* (Bate, 1868)

**TESIS**

Que para obtener el grado de

**Doctor en Ciencias**

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales  
(Orientación en Acuicultura)

P r e s e n t a

**Yuniel Méndez Martínez**

La Paz, Baja California Sur, marzo 2017.

### **Comité Tutorial**

Dr. Edilmar Cortés Jacinto  
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C  
Director de Tesis

Dra. María Concepción Lora Vilchis  
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C  
Co-tutor

Dra. Guadalupe Fabiola Arcos Ortega  
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C  
Co-tutor

Dr. Luis Rafael Martínez Córdova  
Universidad de Sonora  
Co-tutor

Dr. Marcelo Ulises García Guerrero  
Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional,  
Unidad Oaxaca-IPN  
Co-tutor

### **Comité Revisor de Tesis**

Dr. Edilmar Cortés Jacinto  
Dra. María Concepción Lora Vilchis  
Dra. Guadalupe Fabiola Arcos Ortega  
Dr. Luis Rafael Martínez Córdova  
Dr. Marcelo Ulises García Guerrero

### **Jurado de Examen**

Dr. Edilmar Cortés Jacinto  
Dra. María Concepción Lora Vilchis  
Dra. Guadalupe Fabiola Arcos Ortega  
Dr. Luis Rafael Martínez Córdova  
Dr. Marcelo Ulises García Guerrero

### **Suplentes**

Dr. Stig Yamasaki Granados  
Dr. Ángel Isidro Campa Córdova

## ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 10:00 horas del día 10 del Mes de febrero del 2017, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

**"Requerimientos de proteína y energía en juveniles de langostino de río *Macrobrachium americanum* (Bate, 1868)"**

Presentada por el alumno:

**Yuniel Méndez Martínez**

Aspirante al Grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN **ACUICULTURA**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA



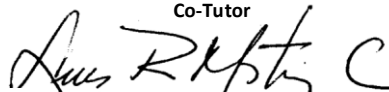
Dr. Edilmar Cortés Jacinto  
Director de Tesis



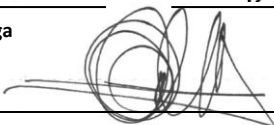
Dra. María Concepción Lora Vilchis  
Co-Tutor



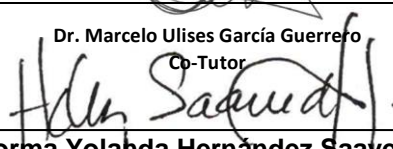
Dra. Guadalupe Fabiola Arcos Ortega  
Co-Tutor



Dr. Luis Rafael Martínez Córdova  
Co-Tutor



Dr. Marcelo Ulises García Guerrero  
Co-Tutor

  
Dra. Norma Yolanda Hernández Saavedra,  
Directora de Estudios de Posgrado y  
Formación de Recursos Humanos

**Dedicatoria**

A mi querida madre Virgen Martínez, por su gran corazón, por el cariño y apoyo que me ha brindado para alcanzar sueños.

A mi amada esposa Silvia Rivas, que siempre confió en mí y me estimuló en los momentos más difíciles.

## **Agradecimientos**

La confección de este epígrafe no es puro formalismo, pues siempre en el corazón existe un espacio reservado, donde se encuentra la huella del que da su ayuda con amor y cariño sin esperar nada a cambio, a ellos mi sincero respeto.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR) por permitirme realizar mis estudios de Doctorado en sus instalaciones.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca 2021420084 y apoyo financiero otorgados para la realización de la presente investigación (proyecto: CONACYT CB2010/156252 y CIBNOR AC0.8), sin lo cual no hubiera sido posible.

Un agradecimiento muy especial a mi director de tesis, Dr. Edilmar Cortés Jacinto por su apoyo, conocimientos, optimismo y paciencia al guiarme durante la presente investigación científica.

Mi más sincero agradecimiento a los miembros del comité tutorial y de revisión de tesis, por su valioso tiempo, apoyo, asesoramiento, interés y enseñanza, para mejorar la calidad de los artículos científicos, y del presente manuscrito de tesis, Dra. Guadalupe Fabiola Arcos Ortega, Dra. María Concepción Lora, Dr. Luis Rafael Martínez y Dr. Marcelo Ulises García.

Al Comité de Evaluación Pre-Doctoral, quienes hicieron una crítica constructiva al trabajo de tesis en desarrollo.

Al Dr. Stig Yamasaki Granados, por su apoyo incondicional durante la investigación, y por sus consejos.

A todo el personal técnico de los laboratorios que intervinieron apoyando en las evaluaciones y análisis realizados mi sincero agradecimiento, del CIBNOR: Pablo Monsalvo y Gabriel Robles (Aclimatación de organismos), Ernesto Goitortua (Nutrición), Dolores Rondero (Bromatología) y Roberto Herrera (Bioquímica Fisiológica), Sandra de la Paz (Cultivo de organismos), Adriana Greene, Gabriela Mendoza, Julian Garzon (Cultivo de microalgas), Carmen Rodríguez, Eulalia Mesa

(Histología) así como a Marta E. Rivas y Anselmo Miranda de la Universidad Estatal de Sonora, Unidad Académica Navojoa por análisis de perfil de aminoácidos.

Por la edición de las publicaciones y conocimientos compartidos, mi gratitud y respeto a los editores Diana Dorantes, Ira Fogel y Ingrid Mascher Gramlich.

Al Dr. Juan José Reyes Pérez, por brindarme su sincera amistad, y sabios consejos.

A los compañeros y amigos de mi generación del programa de posgrado del CIBNOR, por brindarme su amistad y compartir buenos y malos momentos.

Al personal de posgrado y la biblioteca por todo su apoyo, Dra. Norma Hernández, Lic. Osvelia Ibarra, Lic. Claudia Olachea, Lic. Leticia Rubio, Tania Nuñez y Lic. Horacio Sandoval, Lic. Maria Esther Ojeda, Susana Luna, Lic. Ana Maria Talamantes, Elizabeth Sanchez.

A mis compañeros y amigos cubanos del programa de posgrado, Daulemis Batista, Yuneisi Agüero, Carlos M. Ojeda e Idael Ruiz.

A todos los que han publicado investigaciones relacionadas al tema de tesis, lo cual ha contribuido en el conocimiento adquirido para poder generar el presente producto científico.

A mis compañeros y colaboradores Maritza Soberanes, Yeshua Martínez, Esmeralda Posos, Cesar Flores, Paulino Cruz y Juan Carlos.

A un ser muy especial: Mi esposa Silvia Rivas por su bondad y apoyarme e involucrándose directa e indirectamente en la investigación.

A mi familia por siempre alentarme y apoyarme a luchar por mis sueños y metas.

A Dios por haberme dado la vida y este privilegio.

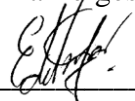
A todos los que brindaron su ayuda para la realización de este trabajo:

Muchas gracias!!

## Resumen

El langostino de río *Macrobrachium americanum*, ha despertado el interés, debido a sus características biológicas y a la necesidad de considerar especies alternativas para la acuicultura. Uno de los principales obstáculos que dificulta su tecnología de producción, es la falta de conocimiento y estudios en el cultivo larvario y juvenil en los aspectos nutricionales, pues aún no se conocen los requerimientos de proteína y energía. Así pues, la presente investigación busca generar conocimientos y resultados útiles sobre el uso de dietas formuladas para el langostino de río *M. americanum*. Se realizaron tres experimentos. Las larvas y juveniles de *M. americanum* empleados fueron obtenidos en condiciones de laboratorio a partir del desove de hembras silvestres. El *Experimento I*, consistió en evaluar el efecto del valor nutricional de nauplios de *Artemia* enriquecida con microalgas sobre el crecimiento y supervivencia en larvas de langostino. Se emplearon tres dietas diferentes, consistentes en nauplio de *Artemia* (D<sub>1</sub>), metanauplios I *Artemia* enriquecida con *Tetraselmis suecica* (D<sub>2</sub>) y metanauplios I *Artemia* enriquecida con *Chaetoceros calcitrans* (D<sub>3</sub>). Las larvas de langostinos alimentadas con la dieta D<sub>3</sub> alcanzaron la mayor supervivencia, crecimiento y tasa de crecimiento, siendo la más efectiva de las tres dietas en estas condiciones experimentales. En el *Experimento II*, se determinó el efecto de cuatro concentraciones de proteína cruda 30.7, 37.2, 41.8 y 46.8% en dieta, sobre la respuesta productiva, composición proximal y aminoacídica corporal de juveniles de *M. americanum*. Langostinos alimentados con 37.2% de proteína cruda alcanzaron un peso final de 0.58 g (factor de conversión alimenticia de 2.15), que fue significativamente mejor. La supervivencia fue del 100% en todos los tratamientos. El contenido de proteína en las dietas tuvo efecto significativo en la composición proximal y el perfil de aminoácidos del cuerpo entero. Se ajustó la tasa de crecimiento a la línea discontinua de dos pendientes y estos resultados demostraron que la dieta a base de proteínas al 37.2% es óptima para juvenil de *M. americanum*. En el *Experimento III*, se evaluó el efecto de niveles de proteína (35 y 40%) y lípidos (6, 10 y 14 %) en dieta con arreglo factorial (3×2) para seis relaciones proteína/energía: 17, 18, 19, 20, 21 y 22 mg PC kJ<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup>, sobre variables productivas, nutricionales, histológicas y bioquímicas de juveniles de langostino de río. Los indicadores productivos y nutricionales fueron significativamente influenciados por la relación P/E, sin embargo no se encontró diferencia en la variable supervivencia. La actividad enzimática fue estadísticamente comparable entre diferentes relaciones P/E. La actividad proteasa total aumentó significativamente con el aumento de la proteína dietética. La histología del hepatopáncreas para una relación P/E 18:1, 19:1 y 22:1 fue normal, con los túbulos bien dispuestos. Diferentes tipos de células en estos grupos fueron identificados, uniformes en forma y tamaño. Las concentraciones de colesterol total y de glucosa en la hemolinfa se vieron afectadas significativamente por las diferentes relaciones de P/E y los niveles de lípidos. Estos resultados demuestran que la dieta que contiene un nivel de proteína 35% y lípidos de 10% con relación P/E de 18 mg PC kJ<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> mostró tendencia a ser óptima para los juveniles.

Palabras claves: Dietas, crecimiento, composición química, sistema digestivo, langostino de río.

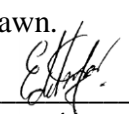
Vo Bo.   
Dr. Edilmar Cortés Jacinto

## Abstract

The caucue river prawn, *M. americanum* has aroused the interest due biological characteristics and the need to consider alternative species for aquaculture. One of the main obstacles from the production technology of *M. americanum* is the deficiency of knowledge and studies in nutritional aspects in larval and juvenile. In *M. americanum* do not yet known the requirements of protein and energy. Thus, this research proposal seeks to generate knowledge and useful results on the use of diets formulated for the *M. americanum*. Three experiments were performed. The larvae and juveniles of *M. americanum* were obtained under laboratory conditions from the spawning of wild females. The *Experiment I*, consisted of evaluating the effect of the nutritional value of *Artemia* nauplii enriched with microalgae on the growth and survival of *M. americanum* larvae. Were used three different diets consisting in *Artemia* nauplii (D<sub>1</sub>), *Artemia* methanauplii I enriched with *Tetraselmis suecica* (D<sub>2</sub>) and *Artemia* methanauplii I enriched with *Chaetoceros calcitrans* (D<sub>3</sub>). The larvae of prawns fed with the diet D<sub>3</sub> reached the highest survival, growth and growth rate significantly, being the most effective of the three diets in the experimental conditions of this study. In the *Experiment II*, we determined the effect of four concentrations of dietary crude protein, 30.7, 37.2, 41.8 and 46.8% on growth rate, survival and body composition of the *M. americanum* juvenile. The effect of four concentrations of crude protein 30.7, 37.2, 41.8 and 46.8% on diet, on the productive response, proximal composition and body aminoacid composition of juveniles of *M. americanum* were determined. Survival was 100% in all treatments. Prawns consuming 37.2% crude protein reached a final weight of 0.58 g (feed conversion ratio of 2.15) which was significantly better. Protein content in the diets had a significant effect on whole body proximate composition and amino acid profile. Specific growth rate was adjusted to the two-slope broken-line to estimate the optimal protein requirement. These results demonstrated that the 37.2% protein level diet is optimal for juvenile caucue. In the *Experiment III*, six diets were formulated to contain two crude protein levels (35 and 40% diet) and three lipid levels (6, 10 and 14% diet) in a factorial manner (3×2) to provided six different dietary P/E ratio: 17, 18, 19, 20, 21 and 22 mg CP kJ<sup>-1</sup> GE g<sup>-1</sup>, on nutritional, growth performance, biochemistry, and histology of the *M. americanum* juvenile, The indicators of growth performance and nutritional were significantly influenced by the dietary P/E ratio, however, no significant differences survival were observed among all treatments. The lipid content throughout the body increased significantly when the dietary lipid level increased to 14%. The enzymatic activity was statistically comparable between different P/E ratios. Total protease activity increased significantly with increasing dietary protein. The hepatopancreas histology for an 18:1, 19:1 and 22:1 P/E ratio was normal, with well-arranged tubules. Different cell types in these groups were well recognized and uniform in shape and size. Concentrations of total cholesterol and serum glucose were significantly affected by the different P/E ratios and lipid levels. These results demonstrate that the diet containing a 35% protein level and 10% lipids with P/E ratio of 18 mg PC kJ<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> showed a tendency to be optimal for juveniles.

Key words: Diets, growth, chemical composition, digestive system, river prawn.

Vo Bo.

  
Dr. Edilmar Cortés Jacinto



## Contenido

<b>Dedicatoria</b> .....	<b>i</b>
<b>Agradecimientos</b> .....	<b>ii</b>
<b>Resumen</b> .....	<b>iv</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>v</b>
<b>Contenido</b> .....	<b>vi</b>
<b>Lista de figuras</b> .....	<b>ix</b>
<b>Lista de tablas</b> .....	<b>xi</b>
<b>Abreviaciones</b> .....	<b>xiii</b>
<b>1. Introducción</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Antecedentes</b> .....	<b>6</b>
2.1 Distribución natural <i>Macrobrachium</i> spp. ....	6
2.2 Ciclo biológico .....	7
2.3 Morfología externa .....	8
2.4 Sistema digestivo .....	8
2.5 Nutrición .....	9
2.6 Requerimientos de proteína y energía en crustáceos decápodos.....	10
2.7 Producción pesquera de langostinos <i>Macrobrachium</i> spp.....	13
2.8 Historia del cultivo de <i>Macrobrachium</i> spp.....	14
2.9 Estudios relacionados con el cultivo de larvas y juveniles de <i>M. americanum</i> ....	15
2.10 Tipos de alimento utilizados en el cultivo de <i>Macrobrachium</i> spp. ....	18
2.10.1 Alimento vivo .....	18
2.10.2 Alimento peletizado .....	20
<b>3. Justificación</b> .....	<b>23</b>
<b>4. Hipótesis</b> .....	<b>24</b>
<b>5. Objetivos</b> .....	<b>25</b>
5.1 Objetivo general .....	25
5.2 Objetivos particulares .....	25
<b>6. Material y métodos</b> .....	<b>26</b>
6.1 Obtención y aclimatación de reproductores .....	26
6.2 <i>Experimento I.</i> Cultivo larvario de <i>M. americanum</i> alimentados con <i>Artemia</i> enriquecida .....	27
6.3 <i>Experimento II.</i> Bioensayo con juveniles de <i>M. americanum</i> empleando diferentes niveles de proteína en dieta. ....	28

6.4	<i>Experimento III</i> . Bioensayo con juveniles de <i>M. americanum</i> alimentados con diferentes niveles de proteína en dieta y energía .....	29
6.5	Dietas experimentales .....	30
6.5.1	Alimento vivo .....	30
6.5.2	Alimento balanceado.....	31
6.6	Crecimiento e índices de producción evaluados .....	36
6.7	Análisis bioquímicos .....	37
6.7.1	Proteínas .....	38
6.7.2	Carbohidratos.....	38
6.7.3	Lípidos.....	38
6.8	Perfil de ácidos grasos .....	39
6.9	Perfil de aminoácidos.....	39
6.10	Actividad enzimática digestiva.....	39
6.10.1	Proteasas .....	40
6.10.2	Lipasas.....	40
6.10.3	Amilasas .....	40
6.11	Análisis hematológicos .....	41
6.11.1	Triglicéridos.....	41
6.11.2	Glucosa.....	41
6.11.3	Colesterol.....	41
6.12	Análisis histológicos .....	42
6.13	Parámetros de calidad del agua .....	42
6.14	Análisis estadísticos .....	44
<b>7.</b>	<b>Resultados .....</b>	<b>45</b>
7.1	<i>Experimento I</i> . Cultivo larvario de <i>M. americanum</i> alimentados con <i>Artemia enriquecida</i> .....	45
7.2	<i>Experimento II</i> . Bioensayo con juveniles de <i>M. americanum</i> empleando diferentes niveles de proteína en dieta.....	52
7.3	<i>Experimento III</i> . Bioensayo con juveniles de <i>M. americanum</i> empleando diferentes niveles de proteína y energía en dieta .....	58
<b>8.</b>	<b>Discusión .....</b>	<b>69</b>
8.1	<i>Experimento I</i> . Cultivo larvario de <i>M. americanum</i> alimentados con <i>Artemia enriquecida</i> .....	69
8.2	<i>Experimento II</i> . Bioensayo con juveniles de <i>M. americanum</i> empleando diferentes niveles de proteína en dieta.....	72
8.3	<i>Experimento III</i> . Bioensayo con juveniles de <i>M. americanum</i> empleando diferentes niveles de proteína y energía en dieta .....	78

<b>9. Conclusiones .....</b>	<b>88</b>
<b>10. Literatura citada.....</b>	<b>89</b>
<b>11. Anexos .....</b>	<b>111</b>

- A** Méndez-Martínez, Y., S. Yamasaki-Granados, M. U. García-Guerrero, L.R. Martínez-Córdova, M.E. Rivas-Vega, F. G. Arcos-Ortega, E. Cortés-Jacinto (2016) Effect of dietary protein content on growth rate, survival and body composition of juvenile cauque river prawn, *Macrobrachium americanum* (Bate 1868). *Aquaculture Research* doi:10.1111/are.13193. (Publicado).
- B** Méndez-Martínez, Y., M. U. García-Guerrero, M, C. Lora-Vilchis, L. R. Martínez-Córdova, F. G. Arcos-Ortega, E. Cortés-Jacinto (2016) Effect of nutritional value of *Artemia* nauplii enriched with *Tetraselmis suecica* and *Chaetoceros calcitrans* microalgae on growth and survival of the prawn *Macrobrachium americanum* larvae. *Aquaculture International* (Sometido).

## Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> Distribución del langostino de río <i>M. americanum</i> (IUCN, 2014).....	6
<b>Figura 2.</b> Aspectos generales del ciclo de vida de langostinos <i>Macrobrachium</i> (modificada de Vega-Villasante <i>et al.</i> , 2011a).....	7
<b>Figura 3.</b> Morfología externa de <i>M. americanum</i> (Modificado de Hernández-Valencia, 2010).....	8
<b>Figura 4.</b> Tracto digestivo del Langostino <i>Macrobrachium</i> (A) Boca, (B) Estómago, (C) Hepatopáncreas, (D) Intestino, (E) Ano, (F) Estómago gástrico, (G) Molino gástrico, (H) Estómago pilórico, (I) Filtro (Modificado de Méndez-Martínez, 2009).....	9
<b>Figura 5.</b> Trampas para la captura de reproductores. (A) Cajas de alambre. (B) Garrafones. (C) Atarraya.....	26
<b>Figura 6.</b> Mantenimiento de reproductores. (A) Tanques de mantenimiento de reproductores. (B) Cajas de malla como refugio de reproductores.....	27
<b>Figura 7.</b> Diseño (A) y sistema experimental (B) para cultivo larvario de <i>M. americanum</i> .....	28
<b>Figura 8.</b> Diseño “nivel de proteína en dieta (%)” (A) y sistema experimental (B) utilizado en el <i>Experimento II</i> de cultivo de juveniles de <i>M. americanum</i> .....	29
<b>Figura 9.</b> Diseño “relación P/E en dieta (mg PC Kj <sup>-1</sup> EG g <sup>-1</sup> )” (A) y sistema experimental (B) utilizado en el <i>Experimento III</i> de cultivo de juveniles de <i>M. americanum</i> .....	30
<b>Figura 10.</b> (A) Batidora industrial para mezcla de ingredientes. (B) Molino de carne para elaboración de los pelets.....	32
<b>Figura 11.</b> Crecimiento (medias ± DE) en larvas de <i>M. americanum</i> alimentadas con <i>Artemia</i> enriquecida con microalgas. D <sub>1</sub> = Nauplio de <i>Artemia</i> (en negro), D <sub>2</sub> = <i>Artemia</i> enriquecida con <i>T. suecia</i> (en gris), D <sub>3</sub> = <i>Artemia</i> enriquecida con <i>C. calcitrans</i> (en blanco).....	49
<b>Figure 12.</b> Supervivencia (medias ± DE) en larvas de <i>M. americanum</i> alimentadas con <i>Artemia</i> enriquecida con microalgas, D <sub>1</sub> = Nauplio de <i>Artemia</i> (en negro), D <sub>2</sub> = <i>Artemia</i> enriquecida con <i>T. suecia</i> (en gris), D <sub>3</sub> = <i>Artemia</i> enriquecida con <i>C. calcitrans</i> (en blanco).....	50
<b>Figura 13.</b> Efecto del nivel de proteína en dieta sobre la TCE (medias ± DE) de juveniles de <i>M. americanum</i> . El requerimiento fue estimado mediante la aplicación del modelo cuadrático con 0.95 de confianza.....	55
<b>Figura 14.</b> Sección transversal de los túbulos de la glándula digestiva de <i>M. americanum</i> alimentados con (A) 17:1 (35:14%), (B) 18:1 (35:10%), (C) 19:1 (35:10%), (D) 20:1 (40:14%) (E) 21:1 (40:10%) y (F) 22:1 (40:6%) relación P/E (mg PC Kj <sup>-1</sup> EB g <sup>-1</sup> ) (PC/L), dietas durante 60 días (20x). Hc, hemocitos, Hs, espacio de hemolinfa, Lu, lumen de los túbulos.....	64
<b>Figura 15.</b> Prueba de multiplicadores de los dos primeros componentes principales del análisis de PCA de respuesta productiva, nutricional, composición química, hematológica, enzimas digestivas e histología del	

hepatopáncreas de juveniles de *M. americanum* después de 60 días cultivados. N=3, (rombo negro) 17:1 (35:14%), (rombo gris) 18:1 (35:10%), (rombo blanco) 19:1 (35:10%), (círculo negro) 20:1 (40:14%) (círculo gris) 21:1 (40:10%) y (círculo blanco) 22:1 (40:6%) relación P/E (mg PC kJ<sup>-1</sup> EB g<sup>-1</sup>) (PC/L).....

## Lista de tablas

<b>Tabla I.</b> Composición de aminoácidos esenciales del músculo de juveniles de langostino ( <i>Macrobrachium</i> spp.) y el camarón ( <i>Litopenaeus</i> spp.).....	11
<b>Tabla II.</b> Serie histórica de la producción de langostino (peso vivo en toneladas, 2002-2011) en México.....	14
<b>Tabla III.</b> Ingredientes y formulación de dietas para juveniles ( <i>Experimento II y III</i> ).....	33
<b>Tabla IV.</b> Composición proximal de los principales ingredientes empleados en la formulación de las dietas experimentales para juveniles.....	35
<b>Tabla V.</b> Salinidad durante el <i>Experimento</i> larval de <i>M. americanum</i> ( <i>Experimento I</i> ).....	43
<b>Tabla VI.</b> Ácidos grasos (medias $\pm$ DE) en microalgas <i>T. suecia</i> y <i>C. calcitrans</i> .....	46
<b>Tabla VII.</b> Ácidos grasos (media $\pm$ DE) de dietas experimentales (D <sub>1</sub> , nauplio <i>Artemia</i> , D <sub>2</sub> , <i>Artemia</i> enriquecida con <i>T. suecia</i> , D <sub>3</sub> , <i>Artemia</i> enriquecida con <i>C. calcitrans</i> ) para larvas <i>M. americanum</i> .....	47
<b>Tabla VIII.</b> Análisis bioquímico (media $\pm$ DE) de las dietas experimentales (D <sub>1</sub> , nauplio <i>Artemia</i> , D <sub>2</sub> , <i>Artemia</i> enriquecido con <i>T. suecia</i> , D <sub>3</sub> , <i>Artemia</i> enriquecido con <i>C. calcitrans</i> ) para larvas de <i>M. americanum</i> .....	48
<b>Tabla IX.</b> Tasa de crecimiento (medias $\pm$ DE) en larvas de langostinos de río <i>M. americanum</i> alimentados con dietas experimentales (D <sub>1</sub> , nauplio <i>Artemia</i> , D <sub>2</sub> , <i>Artemia</i> enriquecida con <i>T. suecia</i> , D <sub>3</sub> , <i>Artemia</i> enriquecida con <i>C. calcitrans</i> ).....	50
<b>Tabla X.</b> Estadios de desarrollo de las larvas de langostino de río <i>M. americanum</i> durante el cultivo.....	51
<b>Tabla XI.</b> Análisis proximal (medias $\pm$ DE) y energía de las dietas experimentales para juveniles de <i>M. americanum</i> .....	52
<b>Tabla XII.</b> Perfil de aminoácidos (% medias $\pm$ DE) en las diferentes dietas empleadas en la alimentación de juveniles de <i>M. americanum</i> .....	53
<b>Tabla XIII.</b> Hidroestabilidad de la materia seca (% $\pm$ DE) de las cuatro diferentes dietas experimentales.....	54
<b>Tabla XIV.</b> Valores (medias $\pm$ DE) de los parámetros de producción en juveniles de <i>M. americanum</i> , alimentados con cuatro dietas con diferente nivel de proteína.....	54
<b>Tabla XV.</b> Composición proximal (% medias $\pm$ DE) en juveniles de <i>M. americanum</i> con respecto a las diferentes dietas empleadas.....	56
<b>Tabla XVI.</b> Perfil de aminoácidos (% medias $\pm$ DE) en juveniles enteros de <i>M. americanum</i> con respecto a las diferentes dietas empleadas.....	57
<b>Tabla XVII.</b> Análisis proximal (medias $\pm$ DE) y energía de las dietas experimentales con diferentes niveles de proteína: energía para juveniles de <i>M. americanum</i> .....	58
<b>Tabla XVIII.</b> Respuesta productiva de juveniles de langostino de río ( <i>M. americanum</i> ) alimentados con dietas experimentales conteniendo diferentes niveles de relaciones P/E.....	60

<b>Tabla XIX.</b> Índices de eficiencia alimentaria de juveniles de langostinos de río ( <i>M. americanum</i> ) alimentados con dietas experimentales conteniendo diferente relación de P/E.....	61
<b>Tabla XX.</b> Composición de juveniles enteros de langostinos de río ( <i>M. americanum</i> ) (% base seca) alimentados con dietas experimentales con diferentes niveles de P/E.....	62
<b>Tabla XXI.</b> Actividad de enzimas digestivas de juveniles de langostino de río ( <i>M. americanum</i> ) alimentados con dietas con diferentes niveles de P/E.....	65
<b>Tabla XXII.</b> Características hematológicas de juveniles de langostino de río ( <i>M. americanum</i> ) alimentados con dietas con diferente relación de P/E.....	66

## Abreviaciones

AA	=	Ácido araquidónico
AAE	=	Aminoácidos esenciales
AA NE	=	Aminoácidos no esenciales
AGPI	=	Ácidos grasos poliinsaturados
D <sub>1</sub>	=	nauplio de <i>Artemia</i>
D <sub>2</sub>	=	<i>Artemia</i> enriquecido con <i>Tetraselmis suecia</i>
D <sub>3</sub>	=	<i>Artemia</i> enriquecido con <i>Chaetoceros calcitrans</i>
DHA	=	Ácido decosaheptaenoico
DE	=	Desviación Estándar
EB	=	Energía bruta
EE	=	Extracto etereo
ELN	=	Extracto libre nitrógeno
EPA	=	Ácido eicosapentaenoico
FC	=	Factor de condición
FCA	=	Factor de conversión alimenticia
GL	=	Ganancia en longitud
GP	=	Ganancia en peso
HUFA	=	Ácidos grasos altamente insaturados
IHS	=	Índice hepatosomático
LP	=	Lípidos
L	=	Litros
LF	=	Longitud final
m.s.	=	Materia seca
MSR	=	Materia seca retenida, o hidroestabilidad de la materia seca
P/E	=	Proteína / Energía
PC	=	Proteína cruda
PC1	=	Componente principal 1
PC2	=	Componente principal 2
PCA	=	Análisis de componentes principales
PF	=	Peso final
PI	=	Peso inicial
RL	=	Retención de lípidos
RP	=	Retención de proteína
TCE	=	Tasa de Crecimiento Específico
TE	=	Tanque Experimental
TEP	=	Tasa de Eficiencia Proteica
TS	=	Tasa de Supervivencia



## 1. Introducción

La producción de alimentos por acuicultura en el mundo se ha incrementado a una tasa promedio anual de 6.7%, con una producción de más de 90.4 millones de toneladas (Tacon y Metian, 2015; FAO, 2016). El crecimiento de la industria acuícola se basa en la selección de especies con características adecuadas para su producción comercial (Martínez-Córdova *et al.*, 2009). Una de ellas es la especie asiática de langostino malayo *Macrobrachium rosenbergii*, la cual ha sido exitosamente cultivada (D'Abramo, 2015; Sundaravadivel *et al.*, 2015), con una producción anual de 215 mil toneladas (Pillai *et al.*, 2014). Sin embargo, existen otras especies del mismo género con potencial acuícola (Vega-Villasante *et al.*, 2015). Tal es el caso del langostino de río *M. americanum*, que por sus características biológicas ha resultado de interés para su cultivo (García-Guerrero *et al.*, 2011; Cebreros *et al.*, 2013; Yamasaki-Granados *et al.*, 2013). Entre sus principales ventajas esta lo atractivo de su talla (máximo de 500 g de peso vivo y 290 mm de longitud total) (Méndez-Martínez *et al.*, 2016). Los langostinos son conocidos como un alimento alto en proteínas y bajo en grasa, que contiene un 16-19 % y 1.0-2.2 % respectivamente (Benítez-Mandujano y Ponce-Palafox, 2012; 2014). Considerados como un manjar, y por lo tanto son un producto con una alta demanda, aceptado en el mercado y con un costo de 350.00 a 450.00 pesos / kg, trayendo consigo que sus poblaciones silvestres hayan disminuido, incidiendo la captura indiscriminada de hembras ovadas (Pérez-Chi, 1991; Méndez-Martínez *et al.*, 2016). Se suman además los efectos perjudiciales que las introducciones de especies exóticas o invasoras empleadas en la acuicultura tienen en la biodiversidad, incidiendo en la alteración del hábitat de especies nativas, la introducción de patógenos y parásitos, la competencia o desplazamiento con especies nativas a través de los escapes y la hibridación con especies locales (Ross *et al.*, 2008).

Según Mantellato y Barbosa (2005) y Vega-Villasante *et al.* (2011a, 2014) las especies nativas pueden proporcionar un buen rendimiento cuando se cultivan en su lugar de origen. El cultivo de especies autóctonas favorece la acuicultura sustentable en base a los tres criterios principales a ser considerados para el desarrollo para la misma: económico, biotécnico y ambiental (Ross y Beveridge, 1995; Ross *et al.*, 2008; Martínez-Córdova *et al.*, 2009). Uno de los principales obstáculos que dificulta la tecnología de producción de

*M. americanum*, es la falta de conocimiento y estudios en su ciclo larvario (Yamasaki-Granados *et al.*, 2013). Esto se debe primordialmente a la fragilidad de los organismos en esta etapa y a la dificultad de alimentarlos adecuadamente, lo que puede afectar seriamente la supervivencia (Barros y Valenti, 2003; Yamasaki-Granados, 2012). La supervivencia, así como el crecimiento son los principales parámetros utilizados para determinar la calidad larvaria (Racotta *et al.*, 2004; Maciel *et al.*, 2012; Morales y Meruane, 2012). Las investigaciones sobre hábitos alimenticios y selección alimentarias sugieren que las larvas de *Macrobrachium* spp. prefieren alimento vivo y móvil. Una posibilidad inmediata son los nauplios de *Artemia* (Kovalenko *et al.*, 2002; Benítez-Mandujano y Ponce-Palafox 2012; Lal *et al.*, 2014).

En un cultivo de langostinos, la alimentación es clave no solo por ser indispensable para el buen desempeño del cultivo, sino porque además constituye del 40 al 60% de los costos de producción y de ella depende la respuesta productiva de los organismos (Tacon, 1987; Vega-Villasante *et al.*, 2014). La proteína es el nutriente de mayor costo en los alimentos peletizados, por lo debe ser utilizada de manera óptima para lograr un mejor crecimiento en los organismos (Goda, 2008; NRC, 2011), por tal motivo la formulación de un alimento bien balanceado y de bajo costo es indispensable para el éxito el cultivo (Cortés-Jacinto *et al.*, 2005; Benítez-Mandujano y Ponce-Palafox, 2014). De acuerdo con Cortés-Jacinto *et al.* (2005), Ding *et al.* (2015) y Ettefaghdoost (2015), el tipo de alimento y la estrategia de alimentación representan factores de vital importancia en el aporte de la energía y nutrientes necesarios para el adecuado desarrollo, crecimiento, supervivencia y eficiencia alimenticia en langostinos.

Los langostinos en su medio natural se alimentan tanto de fuentes de origen animal como vegetal, incluyendo insectos acuáticos, peces, moluscos, otros crustáceos, algas, hojas y tallos de plantas acuáticas y semillas de plantas de diversos tipos (Benítez-Mandujano y Ponce-Palafox, 2012; Vega-Villasante *et al.*, 2014). Se ha documentado, sin embargo, que estos organismos muestran una cierta preferencia por alimentos de origen animal (Benítez-Mandujano y Ponce-Palafox, 2012).

Los requerimientos de proteínas en crustáceos se han centrado principalmente en camarones peneidos. Estas investigaciones sugieren que es recomendable una inclusión de

entre el 30% y 50% de proteína cruda en la dieta (Tacon, 1987; NRC, 2011), el mismo rango de proteína cruda (PC) es requerido por *M. rosenbergii* (D'Abramo y New, 2000), dado a que ambas especies poseen desarrollo larvario extendido, es muy probable que *M. americanum* tenga requerimientos similares. Sin embargo, estudios específicos deben hacerse dadas algunas diferencias, tales como, fisiológicas (velocidad de crecimiento), etológicas (agresividad) y anatómicas (tamaño de quelas) (Arana-Magallón y Ortega-Salas, 2004). La comprensión de los requerimientos proteicos y energéticos de *M. americanum* es imprescindible para el desarrollo de una fórmula balanceada y una dieta óptima. Para ello deben ser considerados todos los factores inherentes a la especie, siendo uno de los más importantes la etapa de desarrollo en que se encuentre, dado que esta es un buen indicador de sus capacidades para alimentarse.

Conociendo la fracción proteica y el aporte energético de los ingredientes, se pueden formular dietas eficientes (Cortés-Jacinto *et al.*, 2009; Sundaravadivel *et al.*, 2015). El valor nutricional de la proteína es producto de su contenido de aminoácidos y de las proporciones entre ellos (Cortés-Jacinto *et al.*, 2004; Portella *et al.*, 2013; Abdel-Salam, 2014), máximo cuando estas proporciones son necesarias para satisfacer las demandas aminoacídicas para el crecimiento y reparación tisular de los organismos (Mambrini y Guillaume, 2011).

Cuando la proteína suministrada es limitada, se puede presentar un inadecuado balance en aminoácidos y el alimento no será efectivo, dado a que no suple los requerimientos de los organismos (Zhang *et al.*, 2008; Jin *et al.*, 2013). Por otra parte, la inclusión excesiva de proteínas en la dieta puede ser perjudicial, dado que sólo una parte puede ser utilizado para generar nuevas proteínas, el exceso será utilizado para producir energía e incrementarla producción de amoníaco (NH<sub>3</sub>), todo ello hace que la dieta sea, no solamente más costosa sino que pueda tener un mayor impacto en el deterioro de la calidad del agua (Zhou *et al.*, 2007; Goda, 2008).

D'Abramo y New (2000) dan lineamientos generales de los niveles de proteína y energía recomendadas para el cultivo comercial de langostinos. Varios estudios han evaluado la respuesta de juveniles de *M. rosenbergii* con diferentes niveles de PC, llegando a la conclusión que los requerimientos se encuentran entre 35 y 40% PC (D'Abramo y New

2000; Felix y Prince-Jayaseelan, 2006; Teshima *et al.*, 2006; Al-Hafedh, 2007; Kabir-Chowdhury *et al.*, 2008; Davassi, 2011). Los estudios de los requerimientos nutricionales, la evaluación de la digestibilidad, selección de ingredientes con valor nutritivo potencial y la adecuada formulación de las dietas son esenciales (Hajen *et al.*, 1993; Hasanuzzaman *et al.*, 2009; Ding *et al.*, 2015). Es fundamental estudiar aspectos del proceso fisiológico digestivo, ya que afecta la capacidad de consumo y aprovechamiento del alimento (Tacon, 1987; Ribeiro *et al.*, 2016). 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 una serie integrada de procesos, entre los que se incluyen la secreción de enzimas, la digestión y la absorción de nutrientes, la disposición de productos de desecho y el almacenamiento de nutrientes (Cuartas *et al.*, 2002; Silva-Santos *et al.*, 2014; Radhakrishnan *et al.*, 2015).

Los crustáceos poseen células especializadas en su hepatopáncreas, como las reabsortivas (R) que son capaces de almacenar lípidos e hidratos de carbono con la finalidad de usarlos para producir energía (Icely y Nott, 1992; Jones y Obst, 2000; Ribeiro *et al.*, 2016). El estado de estas células es un indicador del estado nutricional en los crustáceos el cual puede cambiar notablemente con la dieta (Johnston *et al.*, 2003); por tanto el estudio de estas células puede ser utilizado para evaluar el valor nutricional del alimento mediante la histología (Vogt *et al.*, 1985; Johnston *et al.*, 2003; Ribeiro *et al.*, 2016; Silva-Santos *et al.*, 2014).

Debido a que en el hepatopáncreas también se secretan y actúan las enzimas digestivas que ayudan en la digestibilidad de alimento para que los nutrientes sean absorbidos (D'Abramo y New, 2000; Ribeiro *et al.*, 2016; Seenivasan *et al.*, 2014; Muralisankar *et al.*, 2015), se han realizados estudios sobre la actividad enzimática en condiciones controladas que han permitido inferir resultados sobre la eficiencia del uso y asimilación de una dieta específica, así como su efecto potencial en el crecimiento (López-López *et al.*, 2003; Sagar *et al.*, 2009; Keshavanath *et al.*, 2011; Radhakrishnan *et al.*, 2015). La actividad de estas enzimas controla los procesos de digestión y varía por factores endógenos y exógenos (Sriket *et al.*, 2011; Espinosa-Chaurand *et al.*, 2012; Jayanthi *et al.*, 2015). Por tanto, el

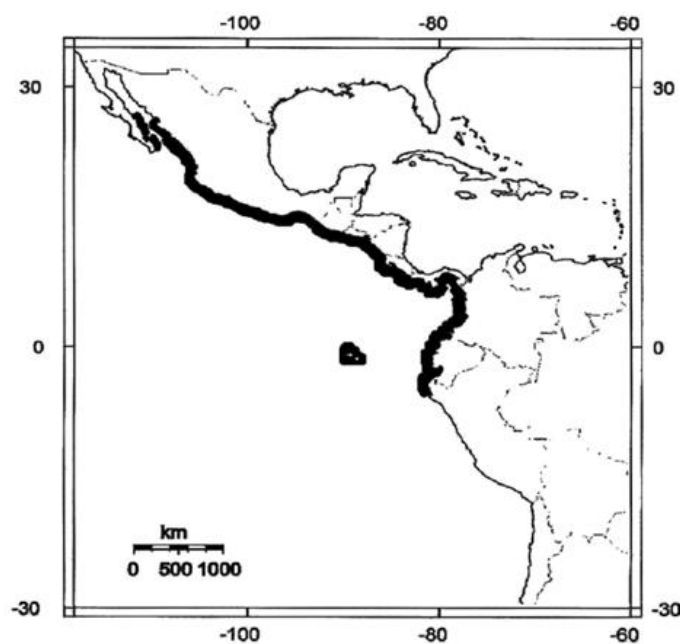
estudio de estas variables nos permite conocer las capacidades de estos organismos para contrarrestar estos efectos.

En *M. americanum* aún no se conocen los requerimientos de proteína y energía. Así pues, el presente trabajo de investigación busca generar conocimiento y resultados útiles sobre el uso de dietas formuladas para el langostino de río. Con ello se pretende entender la relación existente entre la respuesta productiva e interna del organismo así como contribuir a la optimización del uso de la proteína y energía de una especie nativa importante en la biodiversidad de cuerpos de aguas continentales del Pacífico tropical y subtropical.

## 2. Antecedentes

### 2.1 Distribución natural *Macrobrachium* spp.

Los langostinos de la familia Palaemonidae (Rafinesque) son los crustáceos más diversos dentro del orden Decápoda (Latreille); tienen una amplia distribución geográfica y batimétrica, y están representados por alrededor de 200 especies en los sistemas marinos, estuarinos y dulceacuícolas (Hernández-Sandoval, 2008; Espinosa-Chaurand *et al.*, 2011). El género *Macrobrachium* es de temperaturas tropicales, subtropicales y templadas (Vega-Villasante *et al.*, 2011b; 2014); con una temperatura anual mínima de 16° C y máxima de 32° C en zonas donde la precipitación total que fluctúa entre los 400 y 1350 mm anuales (Vega-Villasante *et al.*, 2011b). Son organismos bentónicos (excepto en sus etapas larvarias) y en la fase adulta en sustratos variados (*vgr.* rocas, arena, fango, grava conchífera). En su fase adulta son de hábitos preferentemente nocturnos (Vega-Villasante *et al.*, 2014).



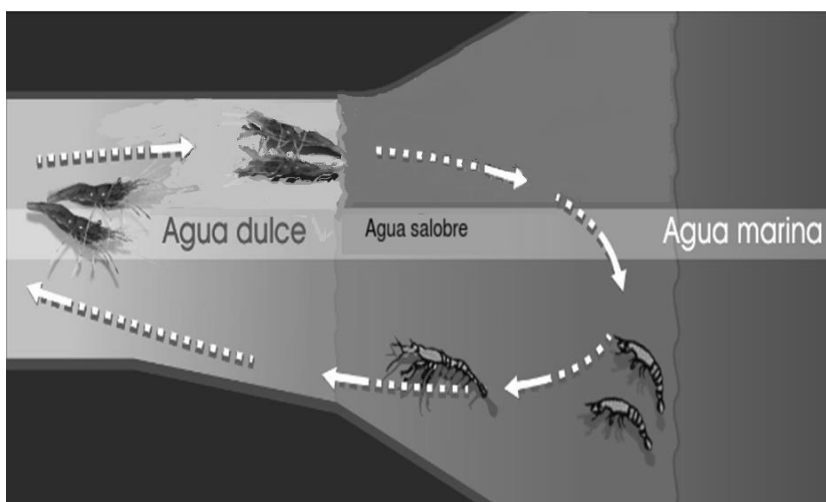
**Figura 1.** Distribución del langostino de río *M. americanum* (IUCN, 2014).

La distribución general de *M. americanum* (Fig. 1) abarca desde la Península de Baja California, México a Perú; Isla Cocos, Costa Rica; e Islas Galápagos, Ecuador (Holtzman, 1988; Wicksten y Hendrickx, 2003).

El langostino de río, *M. americanum* requiere de agua salobre durante su desarrollo larvario. Se distribuye en cuerpos de agua dulce continentales y en los sistemas lagunares y estuarinos, ocupando los medios acuáticos lóticos (de agua corriente como ríos, arroyos y manantiales) y lénticos (de agua quieta o de escaso caudal como los lagos, estanques, pantanos, oasis y embalses) (Wicksten y Hendrickx, 2003).

## 2.2 Ciclo biológico

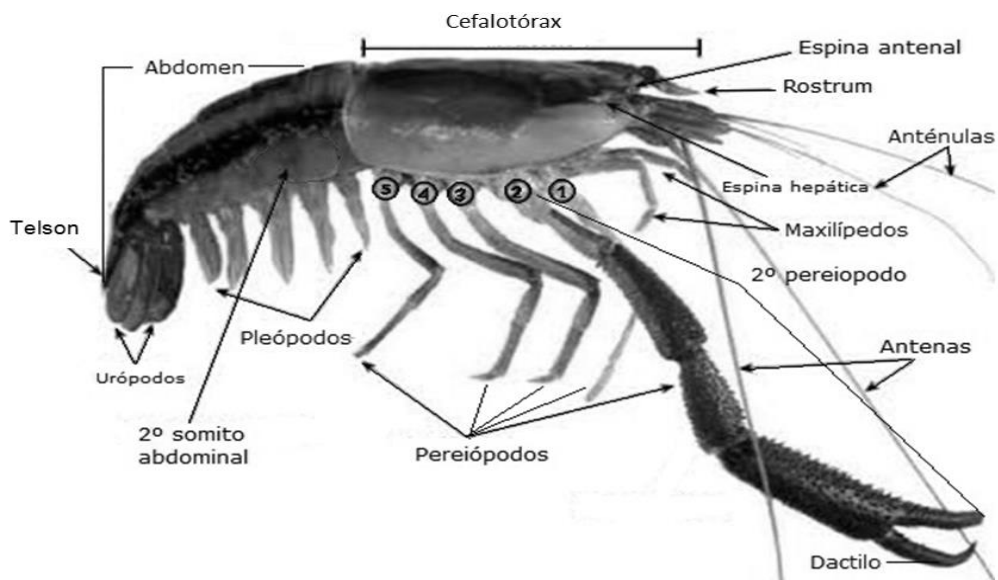
Su ciclo biológico lo lleva a realizar migraciones reproductivas (Fig. 2) durante los ciclos de lluvias en el año, los cuales determinan el aumento de la corriente de ríos y arroyos, concentrándose en las partes bajas para su reproducción (Arana-Magallón, 1974; Vega-Villasante *et al.*, 2014), ya que las larvas requieren de salinidad entre 15 y 30 UPS. Con frecuencia el langostino de río, abandona el medio acuático para librar obstáculos que impiden sus migraciones por el agua, sobre todo cuando se dirigen a áreas de reclutamiento (Rodríguez-Uribe *et al.*, 2014).



**Figura 2.** Aspectos generales del ciclo de vida de langostinos *Macrobrachium* (modificada de Vega-Villasante *et al.*, 2011a).

### 2.3 Morfología externa

La figura 3 presenta algunas de las características principales de la morfología de *M. americanum*.



**Figura 3.** Morfología externa de *M. americanum* (Modificado de Hernández-Valencia, 2010).

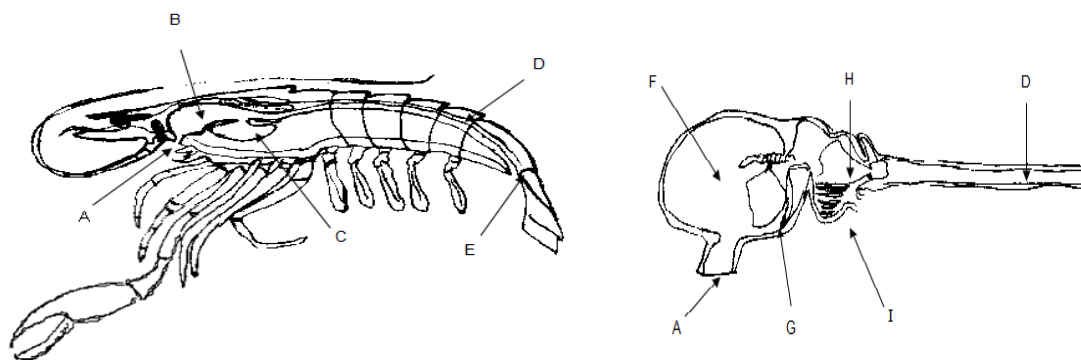
### 2.4 Sistema digestivo

Como la mayoría de crustáceos la digestión comienza al acercar el alimento a la boca, continua por el estómago, pasando a la glándula digestiva o hepatopáncreas donde la digestión se hace más activa y que desemboca en la parte posterior del estómago (D'Abramo y Conklin, 1995; Ribeiro *et al.*, 2016). El aparato digestivo consiste básicamente en una estructura tubular que se extiende a lo largo del cuerpo, dividida en tres partes: una región anterior formada por el esófago y un estómago de dos cámaras; una región media con ciegos, divertículos y una región posterior, que corresponde al intestino (Fig. 4) (D'Abramo y Conklin, 1995; Ribeiro *et al.*, 2016; Silva-Santos *et al.*, 2014). En varias especies de crustáceos, el hepatopáncreas o la glándula digestiva se utiliza para monitorear la salud, enfermedades del cultivo y sirve como un indicador sensible para el



metabolismo, la síntesis y la secreción de enzimas digestivas, la fase de ecdisis y el estado nutricional (Rose *et al.*, 1995; 1999; Ribeiro *et al.*, 2016).

Cuando el alimento es digerido en el intestino, el quimo y las partículas finas son digeridos y absorbidos en el lumen a las porciones internas de los túbulos del hepatopáncreas a través de la difusión, esto en el inicio de la acumulación de reservas (Gimenez *et al.*, 2004; 2014).



**Figura 4.** Tracto digestivo del langostino *Macrobrachium* (A) Boca, (B) Estómago, (C) Hepatopáncreas, (D) Intestino, (E) Ano, (F) Estómago gástrico, (G) Molino gástrico, (H) Estómago pilórico, (I) Filtro (Modificado de Méndez-Martínez, 2009).

## 2.5 Nutrición

La nutrición comprende los procesos químicos y fisiológicos en los que el organismo asimila los alimentos y los líquidos necesarios para el crecimiento y el mantenimiento de sus funciones vitales. La nutrición por lo tanto, involucra la ingestión, digestión, absorción, transporte de nutrientes y la eliminación de desechos (Ribeiro *et al.*, 2016). Las proteínas, carbohidratos, lípidos, minerales, vitaminas, deben estar presentes en la dieta con la finalidad de que exista energía e ingredientes para sintetizar tejidos (Campaña *et al.*, 2006; Goda, 2008; NRC, 2011). Los langostinos tienen la capacidad de detectar el alimento por quimio recepción (mediante antenas y anténulas) (Vega-Villasante *et al.*, 2014).

Existe considerable información concerniente sobre los requerimientos nutricionales, tanto cuantitativamente como cualitativamente, de *M. rosenbergii*. El tema ha sido sujeto a varias revisiones (D'Abramo, 1998; Goda, 2008; Kabir Chowdhury *et al.*, 2008; Davassi,

2011; D`Abramo, 2015). La mayoría de la información, derivada de las investigaciones de los requerimientos nutricionales clásicos, ha sido aplicada al desarrollo de dietas comerciales prácticas para cultivos de engorda en camarón en estanques al exterior. Esta condición refleja el hecho de que los sistemas de crecimiento al exterior para estas especies están basados predominantemente en cultivo semintensivo en estanques rústico (D`Abramo y New, 2000; Davassi, 2011). Estos sistemas de cultivo basados en estanques de tierra, permiten a la productividad secundaria contribuir sustancialmente a satisfacer sus requerimientos nutricionales; sin embargo, como la biomasa de los langostinos incrementa los niveles normales de la productividad secundaria no pueden sostener las necesidades nutricionales para un crecimiento máximo, por lo que son necesarias las fuentes adicionales de alimento (Davassi, 2011; D`Abramo, 2015). Las dietas comerciales son usadas para compensación de las deficiencias nutricionales, como una fuente suplementaria directa de nutrientes o como una fuente indirecta para enriquecer la productividad natural en el estanque (D`Abramo y New, 2000).

Las limitaciones en el conocimiento de la nutrición de crustáceos y en particular para el langostino de río, acentúan la necesidad de estudiar los requerimientos nutricionales de la especie *M. americanum* (Arana-Magallón y Ortega-Salas, 2004).

## **2.6 Requerimientos de proteína y energía en crustáceos decápodos**

Las proteínas destacan como el componente más importantes del material orgánico en el tejido muscular de los crustáceos (Sundaravadivel *et al.*, 2015). Hacia estas complejas moléculas, constituidas por aminoácidos se han dirigido muchas investigaciones para determinar los requerimientos de este nutriente en diferentes crustáceos (Luna *et al.*, 2007; Langer *et al.*, 2011). Ello se debe a que la proteína es utilizada por el organismo con dos fines fundamentales: crecimiento y aporte energético, teniendo participación como fuente de aminoácidos esenciales y estructurales, en la formación de hormonas, enzimas, tejido muscular, reparación y mantenimiento (Guillaume, 1997; Kureshy y Davis, 2002; Saravana-Bhavan *et al.*, 2010). Los requerimientos proteicos han sido analizados por numerosos investigadores para diversas especies de crustáceos mayormente en peneidos mediante la evaluación de dietas prácticas utilizando una amplia gama de materias primas

(Ettfaghdoost, 2015). Se ha encontrado que aunque los langostinos poseen hábitos alimenticios carnívoros/omnívoros, admiten en su dieta una alta proporción de proteína de origen vegetal (Hari y Kurp, 2003; Ding *et al.*, 2015).

La calidad proteica de una dieta está dada, en gran medida, por su composición en aminoácidos esenciales (AAE). Estos no pueden ser sintetizados por el organismo y deben ser suministrados en el alimento (Kabir-Chowdhury *et al.*, 2008). Los aminoácidos considerados esenciales para los crustáceos son: metionina, arginina, treonina, triptófano, histidina isoleucina, leucina, lisina, valina y fenilalanina (D'Abramo y New, 2000; Cortés-Jacinto *et al.*, 2003, Ding *et al.*, 2015). En la tabla I se presenta la composición de AAE del músculo de juveniles de langostino (*Macrobrachium spp.*).

**Tabla I.** Composición de aminoácidos esenciales del músculo de juveniles de langostino (*Macrobrachium spp.*) y el camarón (*Penaeus spp.*).

Aminoácidos Esenciales	(%)	
	<i>Macrobrachium spp.</i>	<i>Penaeus spp.</i>
Arginina	10.9	7.5
Histidina	2.4	1.9
Isoleucina	3.8	3.6
Leucina	7.8	6.5
Lisina	9.1	6.4
Metionina	3.4	2.6
Fenilalanina	3	3.6
Treonina	3.9	3.4
Triptófano	-	1.1
Valina	3.8	3.8

*Fuente:* D'Abramo y Sheen (1996); Tsvetnenko *et al.* (1995); Guillaume (1997); D'Abramo y New, 2000 y Portella *et al.* (2013).

Los aminoácidos no esenciales (AANE), aunque pueden ser sintetizados por los tejidos corporales, son importantes desde el punto de vista fisiológico y para la formulación de dietas; la cistina y tirosina, pueden ser sintetizados a partir de AAE como la metionina y la fenilalanina respectivamente y en consecuencia los requerimientos dietéticos de esos AAE estarán en función de la concentración de sus AANE correspondientes en la dieta (Tacon, 1987; Mukhopadhyay *et al.*, 2003).

En la elaboración de las dietas, se busca una similitud entre el requerimiento aminoacídico de la especie y el perfil de aminoácidos de los componentes proteicos del alimento suministrado (Abdel-Salam, 2014; Etefaghdoost, 2015). Los estudios para cuantificar los requerimientos de AAE en decápodos han tropezado con la incapacidad que éstos muestran para utilizar aminoácidos cristalinos en la dieta, lo que puede ser atribuido a que son asimilados mucho más rápidamente que aquellos aminoácidos unidos por enlaces peptídicos en la proteína dietética o a pérdidas en el agua al suministrar el alimento (D'Abramo y Conklin, 1995; Jin *et al.*, 2013).

En términos de la termodinámica la vida se concibe como un estado inestable, el cual mantiene su continuidad si se conserva el equilibrio de la cantidad de alimento ingerido y la producción de calor. Por lo que, la energía no es un nutriente sino más bien el producto terminal del metabolismo de los componentes nutricionales absorbidos de la dieta, donde la cantidad de energía requerida depende de la composición y digestibilidad de los ingredientes alimenticios utilizados, régimen de alimentación, temperatura del agua, edad y estado fisiológico del animal (Pezzato *et al.*, 2003; Cruz-Suárez *et al.*, 2006). La utilización de los componentes dietéticos es afectada por sus niveles en la dieta, la capacidad del animal de catabolizar el sustrato y la disponibilidad de otras fuentes de energía (Goda, 2008; Huo *et al.*, 2014). Los lípidos, carbohidratos y proteínas pueden ser utilizados por los crustáceos como fuente de energía (Habashy, 2009; Jin *et al.*, 2013). Sin embargo, estos organismos, son capaces de obtener con mayor preferencia energía neta de catabolismo de proteína ya que no necesitan mantener constante su temperatura corporal, requiriendo menos energía para su mantenimiento (Chen y Lee, 1997; Zhou *et al.*, 2007; Goda, 2008). En el proceso de crecimiento el organismo dedica energía adicional para la formación de estructuras y tejidos solamente bajo condiciones óptimas internas y externas (Zhang *et al.*, 2008; Martínez-Porchas *et al.*, 2009).

La información sobre la utilización de los carbohidratos en langostinos es limitada, sin embargo, la inclusión de niveles adecuados en la dieta permite un ahorro de proteínas al evitar que éstas se desvíen hacia la producción de energía. Se ha demostrado que los tipos y niveles de los hidratos de carbono en la dieta afectan el crecimiento (Johnston *et al.*, 2003). Esta relación entre proteína y carbohidratos ha sido referida como efecto de

liberación por carbohidratos (Akiyama *et al.*, 1991). Por otro lado, en el langostino malayo *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) los niveles de celulosa de hasta 30% no tienen efecto negativo en el crecimiento (D'Abramo y Sheen, 1996).

El exceso o insuficiencia en los niveles de energía en la dieta reduce la tasa de crecimiento. Por ello, el balance entre proteína y energía en la dieta debe ser mantenido (New, 1997; Goda, 2008). El crecimiento refleja el resultado neto de la interacción entre energía disponible y la eficiencia de utilización y almacenamiento de esa energía en el organismo (Pezzato *et al.*, 2003).

La mayor eficiencia de la utilización de la energía está en función de la relación P/E debido a que la cantidad de energía no proteica afecta el consumo de la dieta (D'Abramo y New, 2000; Teshima *et al.*, 2006). Si la proporción de energía total a proteína es muy alta, el consumo de proteína puede ser restringido y el crecimiento retardado, mientras que una dieta baja en energía podría tener un efecto negativo en el catabolismo de sustratos bioquímicos que resulta en un bajo nivel de eficiencia proteica, así como un crecimiento limitado (Cuzon y Guillaume, 1997; Goda, 2008). Por otra parte, el exceso de energía puede conducir a resultados zootécnicos aún peores, ya que el animal puede satisfacer sus requerimientos de energía sin satisfacer el requerimiento de otros nutrientes esenciales para su desarrollo y salud (Pezzato *et al.*, 2003; Huo *et al.*, 2014).

## **2.7 Producción pesquera de langostinos *Macrobrachium* spp.**

Según estadísticas de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), de la producción pesquera total en México en el 2013, la captura de langostino por volumen se encuentra posicionada en el lugar 36, alcanzando una producción anual cercana a las 3,000 toneladas; sin embargo, por su valor, se encuentra ubicado en el lugar 18 de la producción pesquera nacional con un valor de poco más de 150 millones de pesos, siendo los estados de Tabasco y Veracruz, los principales productores del litoral del Golfo, mientras que Guerrero, Colima y Nayarit lo son en el Litoral del Pacífico (SAGARPA, 2015). En la tabla II. se muestra la serie histórica de producción de langostino en México.

**Tabla II.** Serie histórica de la producción de langostino (peso vivo en toneladas 2004-2013), en México.

Estado	Año									
	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Veracruz	1814	1856	1616	1585	1511	1219	1210	1091	1036	1216
Tabasco	1330	1301	1262	1003	1065	565	887	1509	880	785
Tamaulipas	75	52	41	35	58	27	27	9	51	142
Guerrero	173	242	239	218	174	268	265	185	161	138
Jalisco	35	27	22	24	17	6	15	12	14	57
Nayarit	63	46	28	3	106	30	37	23	131	47
Campeche	70	60	56	60	60	40	76	57	71	46
Colima	217	27	12	17	17	17	34	23	22	32
Michoacan	25	20	21	23	17	13	8	4	5	14
Otros*	231	47	20	260	21	29	245	32	118	5
<b>TOTAL</b>	<b>4033</b>	<b>3678</b>	<b>3316</b>	<b>3227</b>	<b>3046</b>	<b>2214</b>	<b>2804</b>	<b>2944</b>	<b>2487</b>	<b>2483</b>

\* Baja California, Chiapas, Michoacán, Morelos, Oaxaca, San Luis Potosi y Sonora. Fuente: SAGARPA (2015).

La pesquería de langostino se caracteriza por ser ribereña y artesanal, la cual se realiza con trampas o redes tipo atarraya, que se colocan en los cursos de las corrientes de los ríos y arroyos, en profundidades inferiores a los dos metros, los organismos son comercializados frescos enteros en mercados locales, regionales y nacionales (CONAPESCA, 2011).

## 2.8 Historia del cultivo de *Macrobrachium* spp.

Los primeros estudios y desarrollo de tecnología inicio con el langostino malayo, *M. rosenbergii*, una especie Asiática. Ling (1969), dio a conocer que las larvas necesitaban de la salinidad en el agua para completar su desarrollo larvario; después de algunos años de trabajo y numerosas fallas, logró desarrollar métodos y técnicas para el cultivo larvario y la producción de juveniles hasta engorda. Los procesos y métodos se mejoraron en Hawái por el Dr. Fujimura obteniendo mayor volúmen de producción (Fujimura y Okamoto, 1970) y posteriormente la tecnología y la especie fueron introducidas en países como: USA, Corea,

Japón, Taiwán, Filipinas, Indonesia, Singapur, Pakistán, India, Ceilán y México (D`Abramo y New, 2000).

El langostino malayo se introdujo a México en 1973, procedente de la India; posteriormente se hicieron importaciones de Honduras, Hawái y Estados Unidos (Arana-Magallón, 1977). En el país se inició el cultivo de *M. americanum* en el marco del “Programa General de Investigación de los Langostinos del género *Macrobrachium* en México: Parte I. Especies del Pacífico” (Arana-Magallón, 1974 y 1977).

En 1983 se iniciaron operaciones para el cultivo larvario del langostino malayo en un laboratorio comercial (El Carrizal, Coyuca de Benítez, Gro), con una primera producción de 18,000 postlarvas. En 1987 ya se operaban laboratorios y granjas de engorda en el país (Ponce-Palafox *et al.*, 2002).

## **2.9 Estudios relacionados con el cultivo de larvas y juveniles de *M. americanum***

Arana-Magallón (1974) realizó la caracterización de los 11 estadios del desarrollo larvario, empleo diferentes ingredientes en las dieta, alimentados en dos raciones diarias alcanzando a obtener poslarvas en dos lotes diferentes a los 50 y 72 días, en baja supervivencia.

Monaco (1975), a partir de reproductores de *M. americanum* capturados en Mazatlán, Sinaloa, reporta eclosión de 80 mil larvas, las cuales fueron cultivadas en condiciones de laboratorio empleando alimento precocido (pescado) y vivo (*Artemia*), pudiendo obtener poslarvas a los 54 días.

Cabrera-Jiménez *et al.* (1979), clasificaron de acuerdo a sus fecundidades a las especies más importantes de *Macrobrachium* spp. en México, situando a *M. americanum* dentro de las de más alta en fecundidad (promedio de 150.000 huevos, con una producción de 900.000 huevos producidos / año).

Holtschmit y Pfeiler (1984), evaluaron el cultivo larvario de *M. americanum* con diferentes salinidades y alimento vivo (nauplio de *Artemia* en “agua verde”); la especie alcanzó los mejores resultados de supervivencia a una salinidad entre 15 y 20 UPS, alcanzando obtener larvas hasta de Z<sub>XI</sub> con supervivencia de 20%.

Román-Contreras (1991), documentó especies de *Macrobrachium* colectadas en la parte baja del Río Coyuca. Encontrando que de las especies de *Macrobrachium* registradas en el

área, solamente *M. tenellum* es habitante permanente de la laguna y las restantes son habituales en el ambiente fluvial. En un reporte de SEMARNAT de 1999, se presentan fuentes de obtención de crías de langostinos en el “Carrizal-Lagartero”, Gro., Méx.

Díaz-Monge *et al.* (2001) realizaron esfuerzos para producir larvas de *M. americanum*, provenientes de las vertientes del Pacífico de Guatemala. Reportan que con las hembras capturadas (tallas de 12-16 cm y pesos 50-130 g) habían obtenido excelentes eclosiones, encontraron que la muda en las hembras se presentó aproximadamente a los 15 días post-eclosión.

Reyes-Marchán e Hidalgo-Mogollón (2001), evaluaron el cultivo larvario de *M. americanum* a 12, 14 y 16 UPS, compararon a esas salinidades el efecto de las dietas de rotífero *Brachionus plicatilis* y *Artemia*, sobre su supervivencia. Mencionan que no es viable cultivar larvas de *M. americanum* con esos alimentos y salinidades ya que después del Z<sub>II</sub> se presentó mortalidad de 100%.

Ponce-Palafox *et al.* (2002), hicieron una revisión de los estudios en los aspectos básicos sobre biología y ecología de *M. americanum*; antecedentes de cultivo; y avances en su reproducción; producción de larvas y de poslarvas; así como del cultivo en estanques. Arana-Magallón y Ortega-Salas (2004), realizaron pruebas de crecimiento con poslarvas de *M. americanum* con alimento comercial (40% Proteína) y adición de *Artemia* a dos temperaturas (20 y 33°C), encontrando el mayor crecimiento a 33°C, aunque no se presentaron diferencias significativas.

García-Guerrero y Apún-Molina (2008), evaluaron el potencial productivo de juveniles silvestres de *M. americanum* (peso inicial 0.06-0.10 g) provenientes de la costa Oeste de México a dos densidades con y sin refugio respectivamente por 84 días. Concluyeron que los juveniles de cauque pueden cultivarse con éxito en cautiverio, pero deben utilizarse las densidades más bajas para ese tipo de sistemas.

García-Guerrero (2009), evaluó la composición bioquímica de los huevos de hembras de *M. americanum* por 15 días con el fin de adaptar la alimentación de los reproductores a los requerimientos de proteínas, lípidos e hidratos de carbono del embrión. Encontró que las proteínas fueron el componente más abundante, seguido de lípidos e hidratos de carbono, siendo similar a la de otros crustáceos, en particular de *M. rosenbergii*.



García-Guerrero y Hendrickx (2009) describieron e ilustraron 10 periodos del desarrollo embrionario del langostino *M. americanum*, tomando como criterio el método de estadios fijos basado en porcentajes. Concluyeron que la descripción externa de la embriología de *M. americanum* podría ser útil para futuros estudios que se ocupan de su ontogenia. García-Guerrero (2010), evaluó el efecto de la temperatura sobre el desarrollo embrionario y composición proximal en huevos de *M. americanum*, encontrando que la duración del desarrollo disminuyó con el aumento de la temperatura y que las temperaturas óptimas para el mantenimiento de huevos son cerca de 26° C.

García-Guerrero *et al.* (2011), estudiaron el efecto de la temperatura (18-30° C) sobre el consumo de oxígeno de cuatro grupos (4.5±0.7g, 22±2.3g, 42±6.1g y 80 ± 9.7 g) de langostino *M. americanum* obtenidos del medio natural, encontrando que el consumo de oxígeno no es un problema para la especie cuando la temperatura se mantiene entre 20° C y 30° C y las concentraciones de oxígeno disuelto se encuentran por encima de 3.5 mgL<sup>-1</sup>.

Cebberos *et al.* (2013) en policultivo de *M. americanum* con tilapia evaluaron tres densidades (4/5, 9/5 y 14/5 m<sup>2</sup>; tilapia / langostinos) durante 112 días y aunque no se encontraron diferencia significativa los resultados revelaron que el policultivo en tanques mejora la producción de langostinos y aumenta la biomasa.

Uno de los trabajos más recientes fue realizado por Yamasaki-Granados *et al.* (2013), quienes emplearon diferentes fuentes de alimento (*Chirotopa* sp., *Artemia salina*, *Copepodos*, *Sarda* sp.), alcanzando a obtener poslarvas hasta los 84 días, mostrándose los mejores valores (aunque muy bajos) de supervivencia cuando se emplea *Artemia* como alimento.

A pesar de que se han desarrollado algunos estudios aún quedan muchas cuestiones por elucidar para conocer aspectos de gran interés para el desarrollo del cultivo en la especie *M. americanum*.

## **2.10 Tipos de alimento utilizados en el cultivo de *Macrobrachium* spp.**

### **2.10.1 Alimento vivo**

Este tipo de alimento es fundamental en el cultivo larvario de especies de *Macrobrachium* spp. (Valenti y Daniels, 2000; Barros y Valenti, 2003). En las últimas décadas se ha tratado de sustituir los alimentos vivos por dietas micro encapsuladas con resultados poco alentadores en muchas de las especies de crustáceos; así mismo se ha tratado de implementar técnicas que permitan el almacenamiento mediante congelación o liofilización por tiempo indefinido de estos alimentos y en términos generales resultan incosteables y no resuelven el problema real que es la demanda constante de alimento vivo (Lora, 2004).

#### **2.10.1.1 *Artemia*, enriquecimiento con microalgas**

La *Artemia* es a escala global, el alimento vivo con más demanda en la acuicultura (Lavens *et al.*, 2000; Kovalenko *et al.*, 2002; Dhont y Van Stappen, 2003). Una de las características que la hacen tener esa gran demanda es que sus huevos se pueden enquistar y de esta manera permanecer viables durante varios años (Castro *et al.*, 2006; Anh *et al.*, 2009; Nguyen, 2014). La mayoría de las cepas de *Artemia* poseen adecuada reserva energética y perfil de ácidos grasos polinsaturados (Lal *et al.*, 2014) pudiendo mejorar cuando es enriquecida con alimentos adecuados (Dhont y Van Stappen, 2003). El contenido de proteínas varía de 41% a 66% en nauplios de diferente origen, mientras que el intervalo del contenido proteico varía de 58% a 64% en los adultos de *Artemia* en dependencia del alimento (Castro *et al.*, 1995).

El contenido de aminoácidos es más estable, debido probablemente a que es una característica controlada genéticamente (Castro y Gallardo, 1993). Este organismo se alimenta de manera, continua y no es selectivo, por lo menos en lo que se refiere a la naturaleza de las partículas en suspensión, aunque en realidad sí parece haber una selección por tamaño (partículas menores a 60 micras) (Lora, 2004 y Pérez-Castro *et al.*, 2014). Debido a su baja selectividad puede ser alimentada con todas las microalgas que tienen un

tamaño adecuado, incluyendo las que se emplean comúnmente en acuicultura (Lavens *et al.*, 2000; Abatzopoulos *et al.*, 2006; Pérez-Castro *et al.*, 2014).

Las investigaciones sobre alimentos alternativos altamente energéticos, de fácil digestión son prioritarias y el desarrollo de sus tecnologías de cultivo es indispensable para que se desarrolle la larvicultura del langostino *M. americanum* y posteriormente su engorda. Para ello la provisión de alimentos adecuados son necesarios, lo cual se verá reflejado al lograr crecimientos buenos y alta supervivencia en estadios tempranos de desarrollo (Dhont *et al.*, 2010; Lal *et al.*, 2014).

La *Artemia* es el alimento principal que se ha utilizado en diversas formas y para la mayoría de las especies de langostinos como *M. rosenbergii* (Uno y Kwon 1969; Lavens *et al.*, 2000; Velu y Munuswamy, 2008), *M. vollenhovenii* (Willführ-Nast *et al.*, 1993), *M. carcinus* (Choudhury 1971a; 1971b), *M. novaehollandiae* (Greenwood *et al.*, 1976), *M. equidens* (Ngoc-Ho, 1976), *M. acanthurus* (Choudhury, 1970; 1971c), *M. lar* (Atkinson, 1977; Nandlal, 2010), *M. amazonicum* (Anger y Hayd, 2009; Barros y Valenti, 2003; Hayd *et al.*, 2014) y *M. americanum* (Mónaco, 1975; Holtschmit y Pfeiler, 1984; Yamasaki-Granados *et al.*, 2013), sin embargo, los resultados son muy diversos inclusive dentro de la misma especie, sobre todo cuando no se tiene una tecnología de cultivo estandarizada para cada una de ellas.

En *M. rosenbergii* se han observado cambios en la composición de los ácidos grasos de las larvas de durante los diferentes estadios larvales (Roustaian *et al.*, 1999). En el Estadio Z<sub>1</sub>, antes de que puedan alimentarse con fuentes exógenas, aparentemente el desarrollo es dependiente del uso de ácidos grasos monosaturados (18:1 y 16:1) y saturados (16:0 y 14:0) derivados de sus reservas lipídicas, como fuentes de energía: 18:2 n-6 (ácido linoleico). Deru *et al.* (1989) demostró el requerimiento dietético para los ácidos grasos altamente insaturados (HUFA); las larvas alimentadas con nauplios de *Artemia* que contenían niveles altos (6%) de n-3 HUFA tuvieron supervivencias y crecimientos significativamente mayores que las larvas alimentadas con *Artemia* que contenían niveles bajos (0.3%). Devresse *et al.* (1990) mencionaron que las larvas de langostinos alimentados con *Artemia* enriquecidas con n-3 HUFA exhibieron metamorfosis más

sincronizadas y tempranas, dos características que redujeron los costos operacionales totales del cultivo larvario.

Bhavan *et al.* (2010) encontraron mejor respuesta productiva en poslarvas de *M. rosenbergii* al emplear *Artemia* enriquecida con microalgas. Neigel (1999) y Lavens *et al.* (2000), reportan que se obtiene un alimento vivo enriquecido con microalgas con adecuado valor nutritivo; dado a que estas últimas se destacan por poseer aproximadamente del 90-95% del peso seco los componentes orgánicos primarios (proteína, lípidos y carbohidratos) y minerales (Voltolina y López-Elias, 2002).

Las proteínas pueden representar hasta el 60% del peso seco de las microalgas (Arredondo-Vega y Voltolina, 2007; Lora-Vilchis *et al.*, 2004; Kotrbacek *et al.*, 2015), siendo componentes esenciales y su valor nutricional está determinado por el contenido y disponibilidad de los aminoácidos y ácidos grasos (Muller-Feuga *et al.*, 2003a; Roychoudhury y Mukherjee, 2013).

Estudios realizados sobre aminoácidos presentes en las microalgas muestran que en general contienen los diez aminoácidos considerados esenciales para peces y crustáceos (Uriarte y Farías, 1999; Farías y Uriarte, 2001; Uriarte *et al.*, 2004). Destacándose además por aportar ácidos grasos como el ácido ecosapentanoico (EPA 20:5n-3), ácido araquidónico (AA, 20:4n-6) y ácido decosahexanoico (DHA, 22:6n-3), principales compuestos necesarios para el desarrollo larvario (Sargent *et al.*, 1997; Muller-Feuga *et al.*, 2003b) y que son transferidos al ser consumidos (Hemaiswarya *et al.*, 2011).

### **2.10.2 Alimento peletizado**

La calidad de las harinas utilizadas en la elaboración de alimento peletizado depende de las condiciones de manufactura, conservación y calidad de materia prima utilizada (Rivas-Vega *et al.*, 2006).

### **2.10.2.1 Principales insumos de alimento balanceados**

#### ***2.10.2.1.1 Harina de pescado***

La harina de pescado es el ingrediente con mayor demanda en el mercado de dietas balanceadas (FAO, 2016). El valor nutritivo va a depender en primer lugar del tipo de pescado seleccionado, así como los procesos y cuidados en la elaboración (New, 1997; Graü, 2006a; 2006b). Por su origen estas harinas son ricas en ácidos grasos poliinsaturados (Tacon y Metian, 2015), sirviendo como un attractante y a la vez altamente palatable y digestible por crustáceos (D'Abramo y Conklin, 1995). Generalmente contiene entre 60 y 67% de proteína. El nivel de inclusión de harina de pescado en dietas varía de un 10 a 40% (Graü, 2006a).

#### ***2.10.2.1.2 Harina de calamar***

Dentro de las harinas de origen animal, la de calamar es probablemente el mejor ingrediente para dietas de crustáceo (New, 1997). Al calamar, se le ha identificado un péptido que actúa como factor de crecimiento, incrementando la eficiencia digestiva del organismo (Cruz-Suárez *et al.*, 2006). La harina de calamar funciona como attractante natural en las dietas, contiene altos niveles de colesterol, fosfolípidos y ácidos grasos (20:5n3 y 22:6n3) (Akiyama *et al.*, 1991). Posee aproximadamente 75% de proteína y 5% de lípidos; el nivel de inclusión de esta harina en las dietas comerciales oscila entre 2 y 10% (Akiyama *et al.*, 1991; Tacon y Akiyama, 1997).

#### ***2.10.2.1.3 Pasta de soya***

La soya ha resultado la mejor fuente de proteína de origen vegetal debido a su calidad nutricional, bajo costo y de una disponibilidad consistente (Ding *et al.*, 2015). Esta harina es de alta calidad y contiene aproximadamente 44% de proteína (Reigh *et al.*, 1993; D'Abramo y Sheen, 1994), y los niveles de inclusión en las dietas comerciales varían de 10 a 25% (Akiyama *et al.*, 1991). Las proteínas de la soya son, generalmente, deficientes en

histidina (1.43) y metionina (0.67) (D'Abramo y Sheen, 1996), una buena fuente de aminoácidos esenciales (New, 1997; Hasanuzzaman *et al.*, 2009; Ding *et al.*, 2015).

#### ***2.10.2.1.4 Harina de trigo***

La harina de trigo se destaca por la capacidad de formar una masa viscoelástica cuando es mezclada con agua, por lo que es el estabilizador comúnmente usado en las dietas para crustáceos por su magnífica eficacia. Entre los componentes más importantes posee las proteínas (mínimo 12%) (Akiyama *et al.*, 1991). Los niveles de harina y de gluten de trigo en las dietas comerciales varían entre 20 - 30% y 0 - 5%, respectivamente (Zendejas, 1991).

### 3. Justificación

Las capturas de langostinos de río han disminuido significativamente debido a la sobrepesca, la contaminación del agua, urbanización y la invasión humana, amenazando así la salud del ecosistema fluvial y el futuro de la pesca artesanal de langostinos nativos. El langostino de río *M. americanum* tiene un enorme potencial socioeconómico al representar una alternativa para la obtención de proteína de alta calidad y bajo costo para las comunidades rurales, así como una oportunidad altamente viable para la industria de productos alimentarios acuáticos de alto valor agregado. Sin embargo, existe poca información concerniente a su nutrición y a los factores que la afectan. La falta de esta información se refleja más concretamente en el desconocimiento del funcionamiento digestivo del organismo y de sus requerimientos nutricionales (proteicos y energía). Por lo anterior, el interés del presente trabajo es contribuir al conocimiento requerimientos nutricionales (proteicos y energía) de juveniles del langostino *M. americanum* y la relación existente entre la composición bioquímica, actividad enzimática digestiva, hematología e histología digestiva con la respuesta zootécnica y nutricional.

#### 4. Hipótesis

##### **Alimento: *Artemia* enriquecida con microalga para larvas**

- Si la *Artemia* es enriquecida con microalga se aumentará su nivel proteico y energético, entonces, al ser suministrada como alimento a las larvas de *M. americanum*, estas alcanzaran un mayor desempeño productivo que aquellas que solo fueron alimentadas con *Artemia*.

##### **Alimento formulado con variación en nivel de PC para juveniles**

- Si se varía el nivel de proteína cruda en dietas formuladas para juveniles de *M. americanum* en el intervalo propuesto, entonces, será posible una aproximación a los requerimientos óptimos de proteína cruda, por lo que habrá mejor calidad nutritiva que permitirá un mejor desempeño productivo en juveniles de *M. americanum*.

##### **Alimento formulado con variación en la relación de PC/E para juveniles**

- Si se varía la relación de Proteína cruda / Energía en dietas formuladas para juveniles de *M. americanum* en el intervalo propuesto, entonces, será posible una aproximación a los requerimientos óptimos (relación Proteína cruda / Energía), por lo que habrá mejor calidad nutricional lo cual que permitirá un mejor desempeño productivo en juveniles de *M. americanum*.



## 5. Objetivos

### 5.1 Objetivo general

Conocer los requerimientos nutricionales de proteína y energía en larvas y juveniles del langostino de río (*M. americanum*) en condiciones de cultivo en laboratorio, alimentados con diferentes dietas.

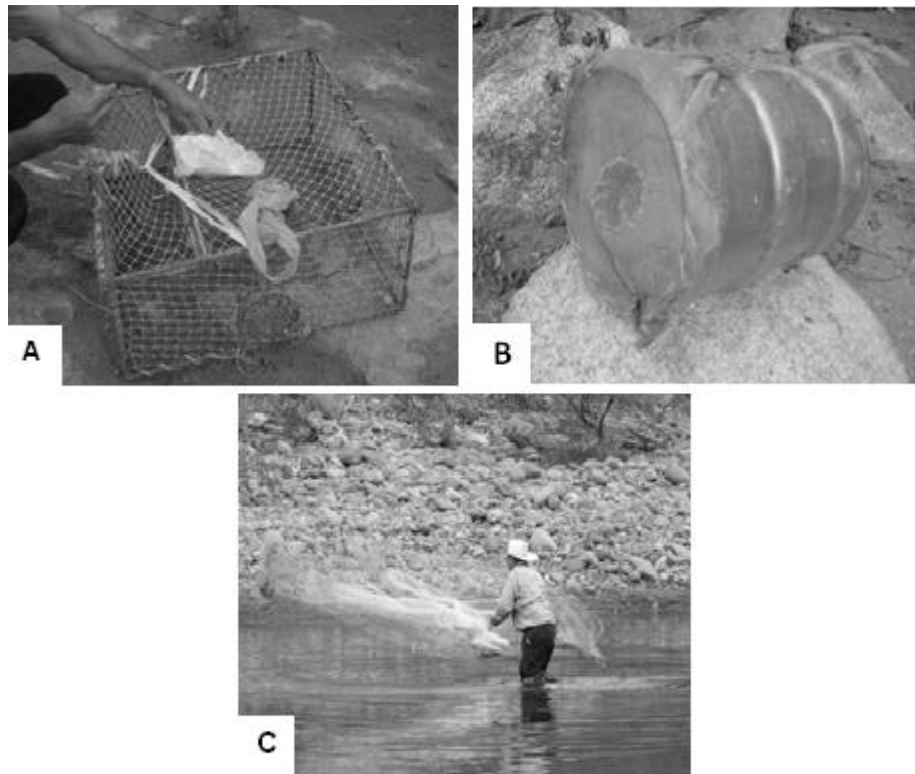
### 5.2 Objetivos particulares

- Evaluar el efecto nutricional y energético de dietas compuestas por *Artemia* spp. enriquecida con microalgas, en larvas de *M. americanum*, usando la supervivencia y crecimiento como criterios.
- Evaluar el efecto de dietas de diferentes niveles de proteína y energía en juveniles *M. americanum* mediante la respuesta productiva.
- Determinar la composición proximal y el perfil aminoacídico en juveniles de *M. americanum* alimentado con dietas de diferentes niveles de proteína y energía.
- Evaluar el efecto de dietas con diferente nivel de proteína y energía sobre la actividad enzimática digestiva de proteasas, lipasas y amilasas en juveniles de *M. americanum*.
- Evaluar histológicamente el hepatopáncreas en juveniles de *M. americanum* alimentados con dietas de diferente nivel de proteína y energía.
- Evaluar hematológicamente (glucosa, triglicéridos y colesterol) en juveniles de *M. americanum* alimentados con dietas de diferente nivel de proteína y energía.

## 6. Material y métodos

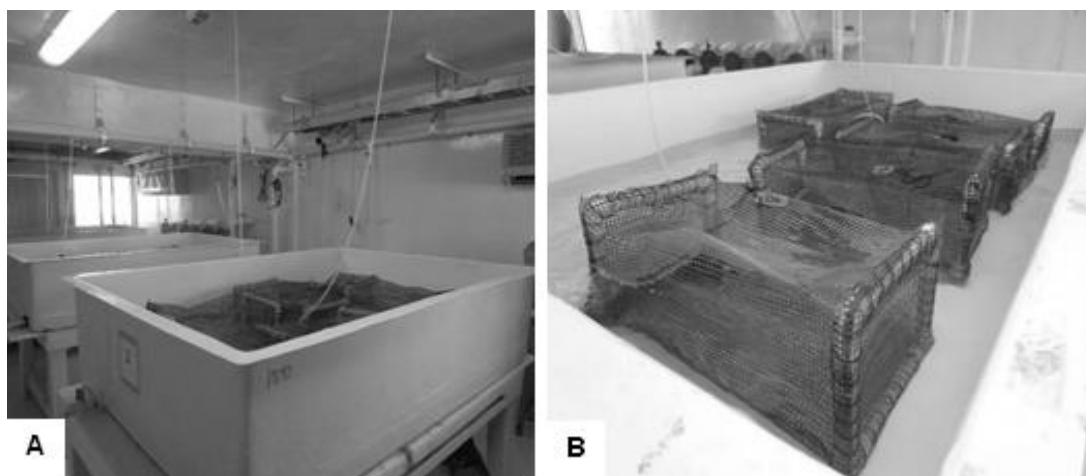
### 6.1 Obtención y aclimatación de reproductores

Los reproductores libres de patógenos (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, Jiutepec Morelos, MX) fueron obtenidos del medio natural (*Oasis*) durante época de lluvias (junio-agosto) en San Pedro de la Presa ( $17^{\circ}03'36.14''N$ ,  $100^{\circ}01'35.03''O$ , 69-132 m.s.n.m.) B.C.S. Fueron capturados con atarrayas, trampas hechas con cajas y garrafones de 19 L (Fig. 5), en estos últimos se usaron como carnadas pescado o vísceras de pollos.



**Figura 5.** Trampas para la captura de reproductores. (A) Cajas de alambre. (B) Garrafones plasticos. (C) Atarraya.

Los reproductores fueron trasladados en hieleras con capacidad de 100 L al Laboratorio de Aclimatación Acuícola del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR), colocados individualmente en cajas de malla. Las cajas con el reproductor dentro se pusieron en tanques con capacidad para 1 500 L (Fig. 6) y se le suministro agua dulce filtrada, la temperatura fue mantenida a  $28 \pm 0.5^\circ \text{C}$  con aireación constante por medio de piedra difusoras (niveles de OD  $> 6 \text{ mg/L}$ ), y fueron alimentados con *Architeuthis* y *Sardina* sp. (60 y 40%, respectivamente), en dos raciones, correspondiente al 5% de su peso vivo. Durante el periodo de gravidez de las hembras los huevos fueron monitoreados según lo sugerido por García-Guerrero y Hendrickx (2009).



**Figura 6.** Mantenimiento de reproductores. (A) Tanques de mantenimiento de reproductores. (B) Cajas de malla como refugio de reproductores.

### **6.2 Experimento I. Cultivo larvario de *M. americanum* alimentados con *Artemia* enriquecida**

Las larvas de langostinos *M. americanum* ( $0.16 \pm 0.01 \text{ mm}$ ) obtenidas en condiciones de laboratorio, fueron provenientes de una sola hembra (peso 260 g). Las larvas de langostinos eclosionadas fueron atraídas por su fototactismo positivo y colectadas hacia una cubeta (20 L). Se realizaron conteos y posteriormente fueron llevadas a los tanques experimentales (TE); este experimento tuvo una duración de once semanas.

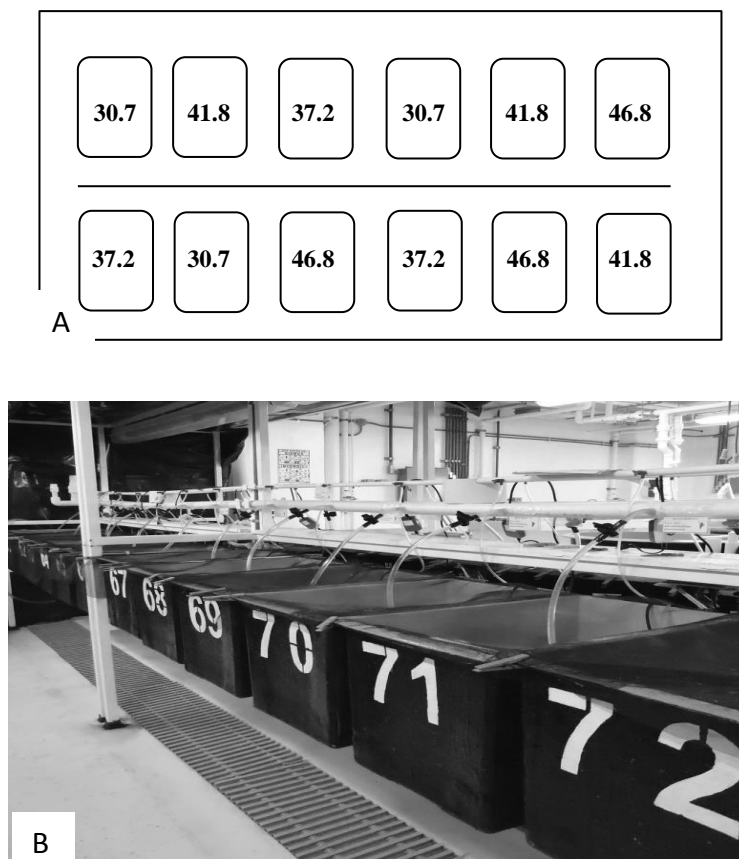
Se emplearon tres tratamientos por triplicado, los TE consistieron en garrafones de plástico (15 L) (Fig. 7). La densidad de larvas en este bioensayo fue de 50/L (Yamasaki-Granados *et al.*, 2013). Se mantuvo un sistema de recirculación de agua con flujo constante de 4.5 mL/seg/TE.



**Figura 7.** Diseño (A) y sistema experimental (B) para cultivo larvario de *M. americanum*.

### 6.3 Experimento II. Bioensayo con juveniles de *M. americanum* empleando diferentes niveles de proteína en dieta.

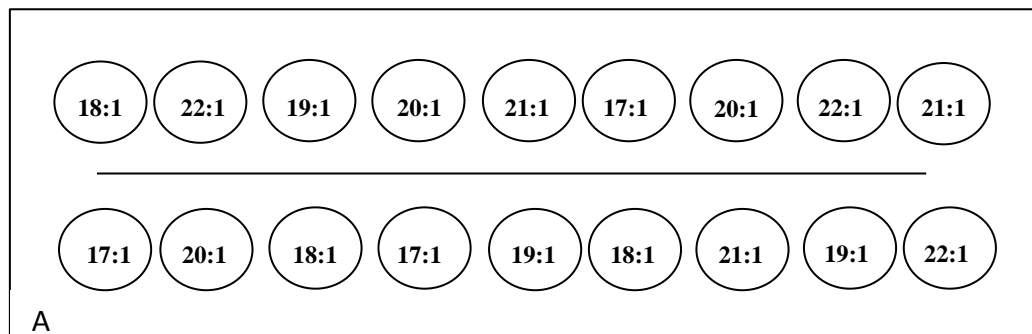
Para evaluar el efecto del nivel de proteína en dieta de cuatro tratamientos (30.7, 37.2, 41.8 y 46.8 %) en *M. americanum*, se emplearon juveniles del langostino de río ( $0.16 \pm 0.03\text{g}$ ), provenientes de un mismo desove. Se sometieron a aclimatación durante una semana con el alimento experimental para evitar el efecto por el cambio de alimento. Los animales fueron distribuidos al azar en 12 TE (49 x 40 x 35 cm) (Fig. 8), con 3 repeticiones por tratamiento, conteniendo 20 L de agua cada uno. Se empleó una densidad de 50 juveniles/m<sup>2</sup>.



**Figura 8.** Diseño “nivel de proteína en dieta (%)” (A) y sistema experimental (B) utilizado en el *Experimento II* de cultivo de juveniles de *M. americanum*.

#### **6.4 Experimento III. Bioensayo con juveniles de *M. americanum* alimentados con diferentes niveles de proteína en dieta y energía**

Teniendo en cuenta los resultados del *Experimento II*, para el *Experimento III* se empleó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial de 2 (PC) x 3 (Energía), teniendo seis tratamientos con tres réplicas para un total de 18 TE (Fig. 9), con una densidad de 15 juveniles ( $0.22 \pm 0.04$  g) por TE, cultivando los organismos por un periodo de 60 días. Los langostinos fueron alimentados dos veces al día (9:00 h y 17:00 h) a razón del 5% diario de su peso vivo el cual se fue ajustando durante el periodo de cultivo (Cortés-Jacinto *et al.*, 2003; 2005).



**Figura 9.** Diseño “relación P/E en dieta ( $\text{mg PC KJ}^{-1} \text{EG g}^{-1}$ )” (A) y sistema experimental (B) utilizado en el *Experimento III* de cultivo de juveniles de *M. americanum*.

## 6.5 Dietas experimentales

### 6.5.1 Alimento vivo

Las larvas de *M. americanum* (*Experimento I*) fueron alimentadas diariamente con las siguientes dietas (D): D<sub>1</sub>, *Artemia* (1 nauplios/mL/día); D<sub>2</sub>, *Artemia* (1 metanauplios I/mL/día) enriquecida con *T. suecia*; D<sub>3</sub>, *Artemia* (1 metanauplios I/mL/día) enriquecida con *C. calcitrans*, fraccionadas en dos raciones iguales por día.

Los nauplios de *Artemia* se obtuvieron en el laboratorio a partir de quistes (INVE®, Great Salt Lake, UT, USA), eclosionados según Van-Stappen (1996), en una concentración

salina de 20 UPS; temperatura de 28° C. Se suministró aireación constante al recipiente eclosionador de *Artemia* las 24 horas y luz artificial en la noche. Para extraer los nauplios, se procedió a suspender la aireación del recipiente, las cáscaras de los huevos y los quistes no eclosionados, flotaron a la superficie y se extrajo el agua del fondo con los nauplios del recipiente de eclosión, estos se filtraron con una malla y se eliminó el agua y restos de quistes no eclosionados, se lavaron con agua dulce y los restos después de este proceso fueron eliminados por sifoneo.

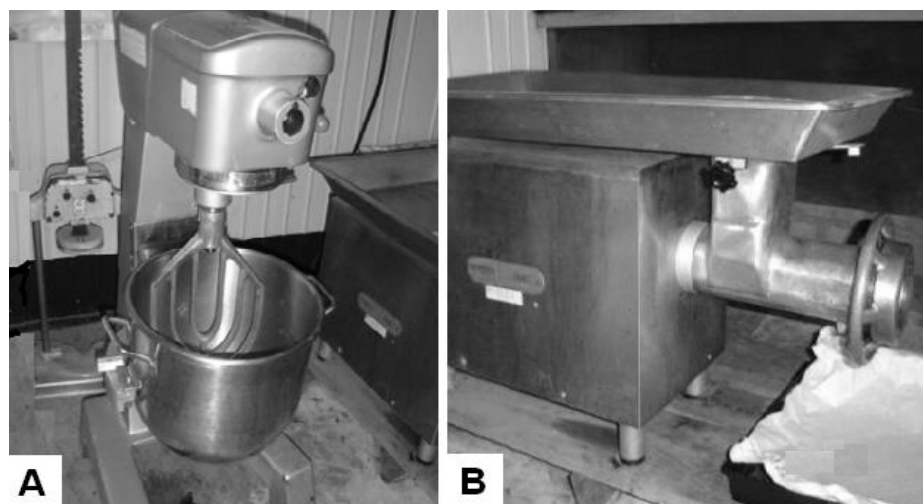
Para el enriquecimiento de la *Artemia* se emplearon dos tanques (T) con un volumen de 10 L c/u, se depositaron  $45 \times 10^3$  nauplios de *Artemia*/tanque diariamente, estos fueron enriquecidos con *C. calcitrans* (35 pg peso de célula) y *T. suecica* (20 pg peso de célula) con densidad de  $14 \times 10^4$  y  $25 \times 10^4$  (5 - 10  $\mu\text{m}$  de diámetro) respectivamente. Ambas especies nanoplanctónicas fueron cultivadas previamente en matraces en el Laboratorio de Microalgas del CIBNOR. Las dos cepas se cultivaron según Guillard y Ryther (1962), la iluminación fue constante con lámparas fluorescentes (luz de día de 75 watts) a 24° C, partiendo de cultivos puros con el medio f/ 2, que se encontraban en fase exponencial, tratando de mantener una concentración de  $12 \times 10^6$  cél  $\text{mL}^{-1}$ . Para conocer la densidad de las microalgas se realizó conteo empleando el hemacitómetro de 0.1 mm de profundidad.

### 6.5.2 Alimento balanceado

Se elaboraron cuatro dietas prácticas (*Experimento II*) conteniendo 30.7, 37.2, 41.8 y 46.8% de proteína cruda (PC) (Tabla III), tomando como criterio estudios realizados en *Macrobrachium* spp. (Al-Hafedh, 2007; Kabir-Chowdhury *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2008; Sundaravadivel *et al.*, 2015).

Para el *Experimento III* se formularon y fabricaron seis dietas experimentales, con dos niveles de proteína: 35 y 40% y tres niveles de lípidos (6, 10 y 14 %) para una relación de P/E de 17, 18, 19, 20, 21 y 22 mg PC  $\text{kJ}^{-1}$  EB  $\text{g}^{-1}$ ). Todos los alimentos fueron formulados con el programa Nutrion (5 Pro®, Guadalajara, MX), siguiendo la metodología de elaboración descrita por Cortés-Jacinto *et al.* (2003). Para ello los macro-ingredientes a utilizar fueron tamizados a 250  $\mu\text{m}$  y mezclados en una batidora industrial (HOBART® 20 L, USA) hasta obtener un homogenizado (Fig. 10 A). Los micro-ingredientes se mezclaron

en un recipiente plástico, antes de ser adicionados a los macro-ingredientes. El aceite de pescado (PIASA® La Paz, BCS, MX) y la lecitina de soya (ODONAJI®, DF, MX) se homogenizaron hasta obtener una emulsión antes de ser incorporados a la mezcla anterior; posteriormente se agregó agua en un equivalente a 30% del peso de los ingredientes.



**Figura 10.** (A) Batidora industrial para mezcla de ingredientes. (B) Molino de carne para elaboración de los pelets.

El alimento se pasó por un molino de carne (Tor-Rey™ Monterrey, NL, MX) utilizando un dado con orificio de 2 mm (Fig. 10 B). Las dietas elaboradas se secaron en horno eléctrico (Hafo Series 1600, Sheldon Manufacturing Cornelius, OR, USA) a 45° C por 8 h. Una vez secas se empaclaron en bolsas plásticas (Ziplock® DF, MX) y fueron mantenidas en refrigeración a una temperatura de - 4° C.



**Tabla III.** Ingredientes y formulación de dietas para juveniles de langostinos de río (*Experimento II y III*).

*Experimento II.*

<b>Ingredientes</b>	<b>Nivel de Proteína Cruda (PC) (%)</b>			
	<b>30.7</b>	<b>37.2</b>	<b>41.8</b>	<b>46.8</b>
Harina integral de trigo <sup>1</sup>	48.72	40.08	31.43	22.79
Pasta de soya <sup>1</sup>	20.02	20.02	20.02	20.02
Harina de pescado <sup>1</sup>	15.22	24.58	33.95	43.32
Harina de calamar <sup>1</sup>	5.01	5.01	5.01	5.01
Aceite de hígado de bacalao <sup>1</sup>	3.31	2.59	1.87	1.14
Ácido algínico <sup>2</sup>	2.00	2.00	2.00	2.00
Premezcla vitamina crustáceos <sup>3</sup>	1.80	1.80	1.80	1.80
Fosfato dibásico de sodio	1.20	1.20	1.20	1.20
Lecitina de soya <sup>4</sup>	1.00	1.00	1.00	1.00
Carbonato de Calcio <sup>5</sup>	1.00	1.00	1.00	1.00
Premezcla mineral crustáceos <sup>6</sup>	0.50	0.50	0.50	0.50
Cloruro de colina <sup>7</sup>	0.20	0.20	0.20	0.20
Vitamina C <sup>8</sup>	0.10	0.10	0.10	0.10
Antioxidante BHT	0.02	0.02	0.02	0.02

## Experimento III.

Dietas						
Relación P/E (mg CP K <sup>j</sup> <sup>-1</sup> GE g <sup>-1</sup> )	17	18	19	20	21	22
Proteína (%)	35	35	35	40	40	40
Lípido (%)	14	10	6	14	10	6
Ingredientes (%)						
Harina de sardina <sup>1</sup>	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0
Harina de soja <sup>1</sup>	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
Harina integral de trigo <sup>1</sup>	17.3	17.7	16.6	5.3	4.4	3.2
Celulosa	3.8	9.9	16.4	6.5	12.5	19.0
Aceite de hígado de bacalao <sup>1</sup>	5.8	2.4	3.7	6.0	2.3	2.7
Gluten de maíz <sup>1</sup>	5.1	5.0	5.3	15.5	15.8	16.1
Almidón de maíz <sup>1</sup>	2.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Ácido algínico <sup>2</sup>	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Lecitina de soja <sup>4</sup>	10.0	8.0	1.0	9.7	8.0	2.0
Premezcla vitamina crustáceos <sup>3</sup>	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Cloruro de calcio <sup>5</sup>	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Premezcla minerales crustáceos <sup>6</sup>	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Cloruro de colina <sup>7</sup>	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Vitamina C <sup>8</sup>	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

<sup>1</sup> PIASA®, La Paz, B.C.S. MX. <sup>2</sup> SIGMA-ALDRICH® Co. St. Louis, E.U.A. <sup>3</sup> g/900g premezcla de vitaminas: Vitamina A acetato, 100000 UI; Vitamina D3, 850 UI; Acetato di-alfatocoferol 2000 UI; menadiona, 2; tiamina-HCl, 0.5; rivotravina (B2), 3; piridoxina HCl (B6), 1; DL-Capantotenato, 5; ácido nicotínico, 5; biotina, 0.05; inositol, 5; Vitamina B12, 0.002; ácido fólico, 0.18. SIGMA-ALDRICH® Co. St. Louis, U.S.A. <sup>4</sup> ODONAJI®, D.F. MX. <sup>5</sup> Reactivo ACS, SIGMA-ALDRICH® Co. St. Louis, U.S.A. <sup>6</sup> g/200g premezcla mineral: KCl, 28.57; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 28.57; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 5.14; MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 1.34; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 0.29; KI, 0.29; CoCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0.14; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 135.43. SIGMA-ALDRICH® Co. St. Louis, E.U.A. <sup>7</sup> 62% agente activo. <sup>8</sup> 35% agente activo estable, ROCHE®, D.F., MX.

### 6.5.2.1 Análisis físico de las dietas experimentales

A cada una de las dietas experimentales, se le realizó una prueba de lixiviación, para determinar la pérdida de materia seca siguiendo la metodología descrita por Obaldo *et al.* (2002). Para ello, se pesaron dos gramos de alimento (de humedad conocida), se colocaron en un matraz de 250 mL conteniendo 200 mL de agua. Después de 1 h de inmersión con agitación constante a 100 r.p.m. y 27° C en un agitador horizontal (Lab-lineMR -Melrose Park, Illinois, USA) el contenido del matraz se filtró a través de papel filtro Whatman No.3. Las determinaciones fueron realizadas por triplicado. El papel filtro con el alimento

residual se secó en una estufa con flujo de aire a 105° C por 24 h. La materia seca retenida o estabilidad de la muestra en el agua fue calculada por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{MSR (\%)} = (\text{Peso seco del alimento residual} / \text{Peso seco del alimento inicial}) \times 100 \quad (1)$$

### 6.5.2.2 Composición proximal de dietas peletizadas experimentales

La composición proximal de las dietas experimentales (*Experimento II y III*) fueron analizadas por triplicado, incluida la materia seca, la proteína bruta, la ceniza, la fibra bruta, el extracto etéreo y el extracto libre de nitrógeno se determinaron según los métodos de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC, 2000). El contenido de humedad se determinó secando las muestras hasta un peso constante a 105° C. La proteína bruta ( $N \times 6.25$ ) se determinó usando el método de Dumas o análisis de nitrógeno de combustión (FP 2000 Leco - Corporation, Saint Joseph, MI, EUA). El contenido de cenizas se determinó usando un horno de mufla a 550 ° C durante 8 h. El contenido de extracto etéreo se determinó usando el método de extracción de éter con Soxtec System (HT6, Tecator, Suecia, UK, EUA). Se midió la energía total de las dietas, utilizando un calorímetro automático de isoperibol (6400, Parr Instrument, Moline, IL, EUA), haciendo la quema de materia orgánica por oxidación. En la tabla IV. se muestra la composición proximal de los principales ingredientes empleados en la formulación de las dietas.

**Tabla IV.** Composición proximal de los principales ingredientes empleados en la formulación de las dietas experimentales para juveniles de langostinos de río.

Ingredientes	Composición proximal (%)					
	Materia Seca	PC	Extracto Etéreo	Fibra Cruda	Cenizas	ELN
Harina integral trigo	94.45	12.17	2.22	1.4	1.57	82.65
Harina de calamar	91.74	80.41	2.88	1.15	11.72	3.84
Harina de sardina	95.82	64.71	9.70	0.01	19.96	5.62
Pasta de soya	93.65	50.55	1.20	1.00	7.51	39.74
Aceite hígado bacalao	99.00	0.00	99.00	0.00	0.00	0.00
Lecitina de soya	99.46	3.80	89.24	0.00	6.96	0.00

## 6.6 Crecimiento e índices de producción evaluados

El crecimiento de las larvas de langostinos (*Experimento I*) fue evaluado semanalmente, empleando un microscopio (Modelo 1839, Southern Precision Instrument CO, OH, USA), con el objetivo 3X y la TCE se determinó por medio de la ecuación 2. La supervivencia (TS) se estimó por medio de la siguiente ecuación.

$$TS (\%) = (\text{No. de organismos al inicio} - \text{No. de organismos al final} / \text{No. de organismos al inicio}) * 100 \quad (2)$$

$$TCE = [(\ln \text{ talla final} - \ln \text{ talla inicial}) / \text{días bioensayo}] * 100 \quad (3)$$

El rendimiento de los juveniles (*Experimento II*) se evaluó por medio del peso vivo (PV), incremento en peso (IP), tasa de crecimiento específico (TCE), factor de conversión alimenticia (FCA), tasa de eficiencia proteica (TEP) y supervivencia. El peso vivo se obtuvo pesando los juveniles individualmente en una balanza digital (Mettler PE 3600, Delta Range Washington, DC, USA) con precisión de 0.01 g. El peso promedio se calculó sumando todos los pesos obtenidos y dividiéndolos entre el total de organismos. Los parámetros de producción se calcularán de la siguiente manera:

$$IP (\text{g/org}) = \text{peso final} - \text{peso inicial} \quad (4)$$

$$TCE = [(\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{días bioensayo}] * 100 \quad (5)$$

$$FCA = \text{alimento consumido} / \text{biomasa ganada} \quad (6)$$

$$TEP = \text{incremento en peso} / \text{proteína consumida} \quad (7)$$

El rendimiento de los juveniles (*Experimento III*) se evaluó por medio de los parámetros indicados (*Experimento I y II*), además la ganancia de peso (GP), ganancia de longitud (GL), factor de condición (FC), índice hepatosomático (HIS), retención de proteínas (RP), retención de lípidos (RL):

$$GP (\%) = 100 \times (W_x - W_i) \quad (8)$$

$$GL (\%) = 100 \times (L_x - L_i) \quad (9)$$

$$FC (\%) = 100 \times W_x / L_x^3 \quad (10)$$

$$HIS (\%) = 100 \times \text{peso de hepatopáncreas} / W_x \quad (11)$$

$$RP (\%) = 100 \times (W_x \times P_x - W_i \times P_i) / (W_d \times P_d) \quad (12)$$

$$RL (\%) = 100 \times (W_x \times F_x - W_i \times F_i) / (W_d \times F_d) \quad (13)$$

En estas ecuaciones,  $W_x$  es el peso corporal final (g),  $W_i$  es el peso corporal inicial (g), y  $t$  es el periodo de tiempo del experimento (días).  $L_x$  es la longitud final del cuerpo (cm),  $L_i$  es la longitud inicial del cuerpo (cm).  $W$  es el peso de la dieta consumida por los langostinos,  $P_x$  es la proteína corporal final,  $P_i$  es la proteína corporal inicial,  $P_d$  es el contenido de proteína de la dieta,  $F_x$  es el lípido corporal final,  $F_i$  es el lípido corporal inicial y  $F_d$  Es el contenido de lípidos de la dieta.

### 6.7 Análisis bioquímicos

A las dietas (*Experimento I*) y juveniles de *M. americanum* enteros (*Experimento II y III*) se les realizó análisis bioquímico del contenido de proteínas, carbohidrato y lípidos. Las determinaciones fueron realizadas por triplicado.

### 6.7.1 Proteínas

El contenido de proteína fue determinado según Fujimoto *et al.* (1985), usando solución reactiva comercial de Sigma (solución de ácido bicinónico B9643 y solución de sulfato de cobre II C2284). Se usó una alícuota de 10  $\mu$ L del homogeneizado que se pone a digerir en 100 $\mu$ L de NaOH 0.1N durante 120 minutos, posteriormente se tomaron 25  $\mu$ L de la muestra diluida, se puso en el fondo de una microplaca y se le agregó el reactivo preparado de BCA. Se incubó a 60° C durante 15 min y lectura de su absorbancia en un espectrofotómetro de placas (Termo, Multiskan spectrum, Vantaa, FL, USA) a 562 nm.

### 6.7.2 Carbohidratos

Para determinar la concentración de carbohidratos totales se utilizó el método basado en Roe *et al.* (1961). 0.1mL de sobrenadante se colocaron en un tubo de vidrio, se le agregó 1mL de solución de antrona 0.1% diluida en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 72%. Se calentaron a baño maría a 90 ° C durante 5 min y se enfriaron en baño de hielo. Se leyó su absorbancia en un espectrofotómetro de placas (Termo, Multiskan spectrum, Vantaa, FL, USA) a 620 nm.

### 6.7.3 Lípidos

Los lípidos totales de juveniles de *M. americanum* enteros (*Experimento II y III*) fueron determinados según el método de la sulfafosfovainillina según Barnes y Balckstock (1973). Una alícuota de 0.025 mL (25  $\mu$ L) de cada muestra, se puso en tubos de vidrio, se agregó 0.25 mL de ácido sulfúrico concentrado y se incubaron a baño maría a 90° C, por 10 minutos. Los tubos se enfriaron en baño de hielo, posteriormente se tomaron 20  $\mu$ L de cada tubo y se colocaron en el fondo del pozo de una microplaca (placa lisa) de 96 pozos, se le agregó solución reactiva para lípidos (fosfovainillina al 0.2% en ácido sulfúrico al 80%), se dejó incubar la placa por 40 minutos a temperatura ambiente y se tomó la lectura de la placa en un espectrofotómetro de placas (Termo, Multiskan spectrum, Vantaa, FL, USA) a 540 nm. Al mismo tiempo que las muestras se hicieron reaccionar en una curva de

calibración. Los lípidos totales de dietas (*Experimento I*), fueron determinados según el método Folch *et al.* (1956).

### **6.8 Perfil de ácidos grasos**

Los análisis de los ácidos grasos (*Experimento I*) fueron realizados a las dietas por cromatografía de gases (Rivero-Rodríguez *et al.*, 2007). Se analizaron en un Agilent 7820 GC, equipado con un detector de ionización de llama y una columna capilar J & W DB®-23 122- 2332 (250° C: 30 m, 0.25 mm, 0.25 µm); helio fue el gas portador, los gradientes de temperatura de 50° C por 1 min de 175° C a 25° C/min durante 3 min y de 220° C a 1.9° C/min durante 10 min, con 10 min de lectura a 230° C. La interpretación de los cromatogramas se realizó mediante la comparación con los tiempos de retención del estándar comercial y los factores de corrección previamente determinados. Las determinaciones fueron realizadas por triplicado.

### **6.9 Perfil de aminoácidos**

Se determinó el perfil de aminoácidos (Unidad de Navjoa, UNISON) de las dietas y organismos (*Experimento II*). Previamente las muestras fueron congeladas (-20° C), desgrasadas y liofilizadas. Posteriormente se procedió con la hidrólisis de las muestras (dietas y tejidos) en HCl 6 N durante 6 h a 150° C. Entonces, las muestras se secaron usando un evaporador rotatorio (Yamato, RE301) y se resuspendieron en 2 mL de HCl 6N. La separación e identificación de los aminoácidos de las muestras o solución estándar de aminoácidos fue mediante cromatografía líquida de alta eficacia HPLC (Hitachi L-8900 analizador de aminoácidos) usando una columna de intercambio iónico (HITACHI # 2622SC-PH) a la velocidad de flujo de 1 ml min<sup>-1</sup> con detector de fluorescencia (Gandolfi *et al.*, 1981; Umagat *et al.*, 1982). Las determinaciones fueron realizadas por triplicado.

### **6.10 Actividad enzimática digestiva**

Los análisis de actividad enzimática fueron realizados para el *Experimento III*. Los organismos fueron sacrificados por congelación (- 20° C) a una misma hora hasta su uso.

Posteriormente, a los organismos completos se les añadió agua destilada en una proporción 1:3 (1 parte de organismo: 3 volúmenes de agua destilada) y se homogenizaran usando un homogenizador de tejidos Potter PRO 250®.

El extracto resultante se clarificó por doble centrifugación a 6440 ×g por 10 min a 4° C. La fracción lipídica fue eliminada, el sobrenadante se recuperó y conservó a -20° C, la fracción recuperada se consideró como el extracto enzimático, al cual se le determina la proteína soluble y la actividad de la amilasa, lipasa, proteasa digestiva en cada caso (Nolasco-Soria y Vega-Villasante, 2000; López - López *et al.*, 2003). Las determinaciones fueron realizadas por triplicado, de acuerdo con Casillas-Hernández *et al.* (2002).

### **6.10.1 Proteasas**

En los análisis de actividad de proteasas totales, se empleó azocaseína (1% en Tris-HCl 50mM, pH 7.5) como sustrato, expresada como el número de unidades de proteasa por mg de proteína, por el método de Vega-Villasante *et al.* (1995). La lectura de absorbancia en un espectrofotómetro (Termo, Multiskan spectrum, Vantaa, FL, USA) fue a 440 nm.

### **6.10.2 Lipasas**

Para el análisis de lipasas se usó β-naftil caprilato como sustrato y se expresó como el número de unidades de lipasa por mg de proteína, se analizó por el método de Versaw *et al.* (1989). La lectura de absorbancia en un espectrofotómetro (Termo, Multiskan spectrum, Vantaa, FL, USA) fue a 540 nm.

### **6.10.3 Amilasas**

La actividad de amilasas se evaluó utilizando una solución de almidón (1%) como sustrato, por el método de Nolasco y Vega-Villasante (1992). La actividad de amilasa se expresó como el número de unidades de amilasa por mg de proteína. La lectura de absorbancia en un espectrofotómetro (Termo, Multiskan spectrum, Vantaa, FL, USA) fue a 550 nm.



## 6.11 Análisis hematológicos

Al final del experimento, los langostinos (*Experimento III*) fueron examinados hematológicamente, a través de triglicéridos, colesterol y glucosa, excepto langostinos recogidas para el análisis de la composición química de todo el cuerpo.

### 6.11.1 Triglicéridos

Para determinar los triglicéridos se utilizó una prueba colorimétrica (kit RANDOX, n° catálogo TR 1 697). Se tomaron 20  $\mu\text{L}$  de cada muestra de homogeneizado y se colocaron en el interior de la microplaca, se añadieron 200  $\mu\text{L}$  de solución reactiva, y se incubaron durante 10 min y se leyeron en un espectrofotómetro de microplaca (Termo, Multiskan spectrum, Vantaa, FL, USA) a una absorbancia de 540 nm.

### 6.11.2 Glucosa

Para medir glucosa, se utilizó una prueba enzimática colorimétrica (kit de RANDOX método GOD-PAP, No. catalogo AY 891), Se tomó una alícuota muestra de 20 $\mu\text{L}$  y se puso en el fondo de una microplaca, se le agregaron 200 $\mu\text{L}$  de solución reactiva, se incubaron 20 min y se leyó en un espectrofotómetro de microplacas (Termo Multiskan spectrum, Vantaa, FL, USA) a una absorbancia de 540 nm. La solución estándar de glucosa contenía 100mg/dL, de ésta se prepararon diluciones en proporción 1:2, en 1mL de solución diluyente, quedando concentraciones de 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.03125 y 0.015625 mg/mL de Glucosa. Se utilizó solución diluyente como blanco (agua destilada).

### 6.11.3 Colesterol

Para determinar **colesterol** total, se utilizó una prueba enzimática colorimétrica (kit de RANDOX, No. catalogo CH 200). El colesterol se determinó después de una hidrólisis enzimática y oxidación. Se tomó una alícuota de plasma de 20 $\mu\text{L}$  y se puso en el fondo de una microplaca, se le agregan 200 $\mu\text{L}$  de solución reactiva, se incuban 10 minutos y se leyó

en un espectrofotómetro de microplacas (Termo, Multiskan spectrum, Vantaa, FL, USA) a una absorbancia de 540 nm. Para la curva tipo, la solución estándar de colesterol contenía 200mg/dL, de ésta se prepararon diluciones en proporción 1:2, en 1mL de solución diluyente, quedando concentraciones de 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 y 3.125 mg/dL de colesterol. Se utilizó solución diluyente como blanco (agua destilada).

### **6.12 Análisis histológicos**

Se disectaron los organismos en la etapa de intermuda (C) para tomar porciones del hepatopáncreas de juveniles al terminar el *Experimento III*, las cuales fueron fijadas en solución solución de Davidson. durante 24 h y se deshidrataron en una serie graduada de etanol (70 - 100%), incluidas en Paraplast- TX y cortadas a 4 µm en micrótopo de rotación (Leica RM 2155, San Diego, CA, USA) y teñidas por contraste con hematoxilina-eosina (Howard y Smit, 1983) las muestras fueron observadas microscopio óptico (Olympus BX50, New Hyde Park, NY, USA) y se digitalizaron a alta resolución (3 600 ppt: 3 465 × 5 184 píxeles) utilizando una cámara digital de color (CoolSNAP-Pro, Media Cybernetics, Silver Springs, MD, USA) adjunta al microscopio y a un ordenador con el software Image Pro Plus 7.0 (Media Cybernetics, Bethesda, MD, USA). Se seleccionó con el cursor del ratón el área y diámetro de los túbulos, área de la luz del túbulo, área y diámetro de las células B.

### **6.13 Parámetros de calidad del agua**

Todos los TE se mantuvieron bajo condiciones controladas, con aguas claras [filtrada (<10 µ) y esterilizada (UV)] y a 0 UPS para los *Experimentos II y III*. Para el *Experimento I* se usó agua marina, la salinidad se manejó a 6 UPS durante las primeras 24 h y luego fue incrementada hasta 30 UPS como se muestra en la tabla V, en base a los resultados de Hernández-Valencia (2010) y Yamasaki-Granados *et al.* (2013).

Se realizó un muestro sistemático de los parámetros fisicoquímicos de calidad del agua. Para regular el oxígeno se utilizaron sopladores de 5 HP (Sweetwater®, Apopka, FL, USA) a través de piedras difusoras, la temperatura fue regulada con termostatos sumergibles de 300 Watts en los tres experimentos y se mantuvieron con fotoperiodo

natural (12:12 luz: oscuridad). El pH fue determinado con un potenciómetro (American Marine Model, Ridgefield, CT, USA); el oxígeno disuelto, temperatura y salinidad (*Experimento I*) fue monitoreado con un medidor de oxígeno (YSI® Modelo 55, Springfield, OH, USA). El nitrógeno amoniacal total se determinó por medio de un espectrofotómetro programable (Hach DREL model, Loveland, CO, USA). Para el *Experimento III* se empleó el equipo multiparámetros (Aqua Troll 400, In-Situ, Fort Collins, CO, USA). Diariamente se retiraron las heces y alimento no consumido mediante sifoneo, posteriormente se restablecía el volumen del agua.

El agua (*Experimento I*) fue tratada diariamente con yodo (2 mg. L<sup>-1</sup>, Argent Chemical Laboratories®) y trimetoprima-sulfametoxazol a una concentración en el agua de cultivo de 0.125-2.375 mg. L<sup>-1</sup> respectivamente de acuerdo a Yamasaki-Granados *et al.* (2013), usando producto de grado farmacéutico en presentación de: 1250 mg + 23 750 mg, respectivamente (Laganà *et al.*, 2011; Banerjee *et al.*, 2012), para prevenir enfermedades, parásitos o mala calidad del agua (Yamasaki-Granados *et al.*, 2013).

**Tabla V.** Salinidad durante el experimento larval de *M. americanum* (*Experimento I*).

<b>Día</b>	<b>Salinidad (UPS)</b>	<b>Estadio</b>
0	6	I
1	12	II
2	18	II
3	24	III
4-77	30	III-PL

Durante el estudio en los tres experimentos, la temperatura se mantuvo en un promedio de  $28.7 \pm 0.4^\circ \text{C}$  y  $28.5 \pm 0.65^\circ \text{C}$ ; el oxígeno disuelto en  $6 \pm 0.63 \text{ mg L}^{-1}$  y  $6.35 \pm 0.38 \text{ mg L}^{-1}$ ; el pH, en  $7.26 \pm 0.22$  y  $7.40 \pm 0.30$  y el nitrógeno amoniacal total, en  $0.15 \pm 0.03 \text{ mg L}^{-1}$  y  $0.10 \pm 0.05 \text{ mg L}^{-1}$  respectivamente. Con respecto a la salinidad del agua (*Experimento I*) se manejó de 6 – 30 UPS (Tabla V).

#### 6.14 Análisis estadísticos

Los datos del *Experimento I* se analizaron a través del General Linear Models (GLM), con la prueba de comparación de medias Fisher LSD ( $P = 0.05$ ), adaptado al arreglo factorial, donde se obtuvieron los efectos de las fuentes de variación en el experimento (alimento y tiempo), con relación a las variables dependientes.

A los datos generados (*Experimentos II y III*) se les aplicó una prueba de Kolmogorov-Smirnov ( $\alpha=0.05$ ) y Bartlett ( $\alpha=0.05$ ) para análisis de normalidad y homocedasticidad, respectivamente. Para verificar las diferencias de los datos (*Experimento II*) se empleó un ANOVA de una sola vía y una prueba a posteriori de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). Para determinar el requerimiento óptimo de proteína, se ajustó la TCE (tres repeticiones/tratamiento) a un modelo de análisis de regresión de línea discontinua inclinada. Para verificar las diferencias de *Experimento III*, se aplicó un ANOVA de dos factores con dos niveles de proteína y tres niveles de energía y una prueba a posteriori de Duncan ( $\alpha = 0.05$ ) y se desarrolló un análisis de componentes principales (PCA) utilizando la matriz de covarianza. Para el procesamiento de los datos se empleó el programa Statistica Versión 10.0 (StatSoft, Tulsa, OK, USA). Antes de las pruebas referidas a los datos expresados en porcentaje se les realizó la transformación del arcoseno a su raíz cuadrada y a los no expresados en porcentaje se transformaron por medio del logaritmo natural según fuera requerido (Zar 1984).

## 7. Resultados

### **7.1 Experimento I. Cultivo larvario de *M. americanum* alimentados con *Artemia* enriquecida**

Las tablas VI y VII muestran los ácidos grasos de *T. Suecia*, *C. calcitrans*, y tres dietas experimentales (nauplios de *Artemia* (D<sub>1</sub>), metanauplios de *Artemia* enriquecidos con *T. suecia* (D<sub>2</sub>) y metanauplios de *Artemia* enriquecidos con *C. calcitrans* (D<sub>3</sub>) respectivamente.

**Tabla VI.** Ácidos grasos (medias  $\pm$  DE) en microalgas *T. suecica* y *C. calcitrans*.

Contenido Ácidos grasos (%)		Microalgas	
		<i>T. suecica</i>	<i>C. calcitrans</i>
Saturados	10:0	ND	0.01 $\pm$ 0.01
	11:0	0.03 $\pm$ 0.02	ND
	12:0	ND	0.06 $\pm$ 0.02
	14:0	0.44 $\pm$ 0.00	9.10 $\pm$ 1.06
	16:0	17.89 $\pm$ 0.17	23.02 $\pm$ 0.64
	18:0	0.29 $\pm$ 0.03	1.45 $\pm$ 0.18
	20:0	ND	0.12 $\pm$ 0.01
	22:0	ND	0.50 $\pm$ 0.06
	24:0	ND	0.43 $\pm$ 0.04
Monosaturados	14:1n5	ND	0.02 $\pm$ 0.02
	16:1n9	0.39 $\pm$ 0.01	0.15 $\pm$ 0.12
	16:1n7	3.98 $\pm$ 0.02	29.24 $\pm$ 0.02
	18:1n9	3.83 $\pm$ 0.02	0.36 $\pm$ 0.04
	18:1n7	1.18 $\pm$ 0.03	0.46 $\pm$ 0.04
	20:1n9	0.09 $\pm$ 0.05	0.02 $\pm$ 0.03
Polinsaturados	16:2n6	ND	2.62 $\pm$ 0.02
	16:2n4	ND	2.29 $\pm$ 0.03
	16:3 n4	0.28 $\pm$ 0.02	6.39 $\pm$ 0.24
	18:2n6	14.70 $\pm$ 0.09	0.61 $\pm$ 0.03
	18:3n6	4.61 $\pm$ 0.04	2.20 $\pm$ 0.03
	18:3n3	15.34 $\pm$ 0.26	ND
	18:4n3	0.95 $\pm$ 0.05	0.61 $\pm$ 0.01
	20:3n6	ND	0.17 $\pm$ 0.05
	20:4n6	0.07 $\pm$ 0.06	4.72 $\pm$ 0.09
	20:5n3	ND	14.20 $\pm$ 0.15
22:6n3	0.01 $\pm$ 0.01	0.89 $\pm$ 0.01	
$\Sigma$ Saturados		18.65	34.69
$\Sigma$ Monosaturados		9.47	30.25
$\Sigma$ Polinsaturados		35.96	34.7

Valores medios de tres repeticiones, expresados en base seca. ND, no determinado.

**Tabla VII.** Ácidos grasos (media  $\pm$  DE) de dietas experimentales (D<sub>1</sub>, nauplios de *Artemia*, D<sub>2</sub>, *Artemia* enriquecida con *T. suecica*, D<sub>3</sub>, *Artemia* enriquecida con *C. calcitrans*) para larvas *M. americanum*.

Contenido Ácidos grasos		Dietas		
(% )		D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>
Saturados	6:0	0.05 $\pm$ 0.01	ND	0.06 $\pm$ 0.04
	10:0	0.03 $\pm$ 0.00	0.01 $\pm$ 0.02	0.04 $\pm$ 0.01
	12:0	0.06 $\pm$ 0.00	0.05 $\pm$ 0.01	0.06 $\pm$ 0.01
	13:0	0.03 $\pm$ 0.00	ND	0.01 $\pm$ 0.02
	14:0	1.01 $\pm$ 0.01	0.62 $\pm$ 0.02	1.62 $\pm$ 0.15
	16:0	0.04 $\pm$ 0.01	ND	0.02 $\pm$ 0.03
	18:0	6.75 $\pm$ 0.03	6.62 $\pm$ 0.47	8.48 $\pm$ 0.27
	20:0	0.21 $\pm$ 0.00	0.21 $\pm$ 0.01	0.27 $\pm$ 0.01
	22:0	0.65 $\pm$ 0.01	0.84 $\pm$ 0.06	1.06 $\pm$ 0.04
	24:0	ND	ND	0.11 $\pm$ 0.01
Monosaturados	14:1n5	0.04 $\pm$ 0.01	ND	0.02 $\pm$ 0.03
	16:1n9	0.97 $\pm$ 0.00	0.71 $\pm$ 0.05	0.76 $\pm$ 0.02
	16:1n7	3.94 $\pm$ 0.01	2.59 $\pm$ 0.16	9.37 $\pm$ 0.15
	16:1n5	1.00 $\pm$ 0.01	0.78 $\pm$ 0.05	0.59 $\pm$ 0.51
	18:1n9t	0.26 $\pm$ 0.00	0.18 $\pm$ 0.01	0.26 $\pm$ 0.01
	18:1n9	23.98 $\pm$ 0.06	18.56 $\pm$ 1.33	20.92 $\pm$ 0.24
	18:1n7	9.33 $\pm$ 0.00	9.05 $\pm$ 0.62	10.57 $\pm$ 0.25
	20:1n9	0.70 $\pm$ 0.01	0.65 $\pm$ 0.05	0.91 $\pm$ 0.19
	22:1n9	0.05 $\pm$ 0.04	ND	0.05 $\pm$ 0.04
Polisaturados	16:2n6	0.16 $\pm$ 0.00	0.10 $\pm$ 0.00	0.46 $\pm$ 0.03
	16:2n4	0.20 $\pm$ 0.01	0.13 $\pm$ 0.01	0.36 $\pm$ 0.01
	16:3n4	1.59 $\pm$ 0.45	1.48 $\pm$ 0.10	0.48 $\pm$ 0.01
	18:2n6	5.36 $\pm$ 0.04	5.47 $\pm$ 0.42	4.49 $\pm$ 0.04
	18:3n6	0.40 $\pm$ 0.00	0.65 $\pm$ 0.05	0.49 $\pm$ 0.02
	18:3n3	21.75 $\pm$ 0.27	24.31 $\pm$ 1.81	26.01 $\pm$ 0.26
	18:4n3	3.09 $\pm$ 0.04	2.88 $\pm$ 0.22	1.85 $\pm$ 0.02
	20:2n6	0.17 $\pm$ 0.15	0.30 $\pm$ 0.02	0.29 $\pm$ 0.02
	20:3n6	0.09 $\pm$ 0.00	0.10 $\pm$ 0.01	0.11 $\pm$ 0.01
	20:4n6	0.97 $\pm$ 0.01	1.76 $\pm$ 0.12	1.46 $\pm$ 0.11
	20:3n3	0.60 $\pm$ 0.01	0.76 $\pm$ 0.06	0.18 $\pm$ 0.31
	20:5n3	1.76 $\pm$ 0.04	2.84 $\pm$ 0.23	2.86 $\pm$ 0.10
	22:6n3	0.01 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.00	0.09 $\pm$ 0.05
$\Sigma$ Saturados		8.86	8.35	11.75
$\Sigma$ Monosaturados		40.27	32.52	43.45
$\Sigma$ Polisaturados		36.15	40.79	39.13

Valores medios de tres repeticiones, expresados en base seca. ND, no determinado.

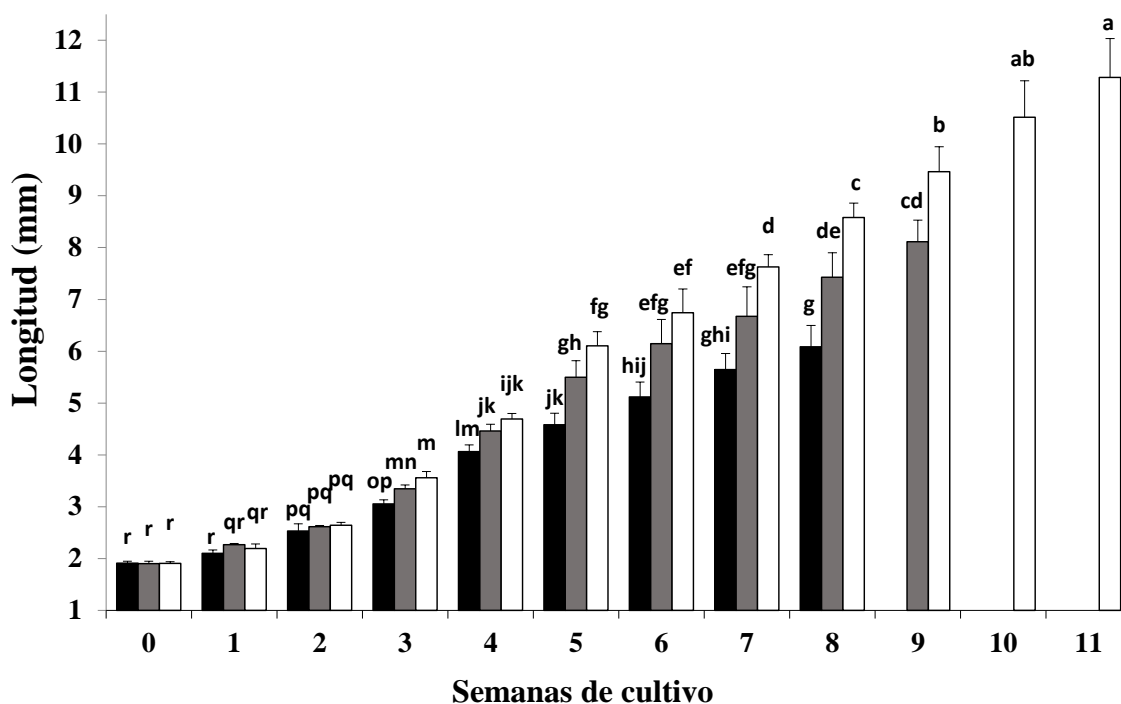
En la tabla VIII. Se presenta la composición bioquímica (proteínas, lípidos y carbohidratos) y energía teórica de las dietas, los niveles de proteína y energía fueron de 40.46- 46.31 y 347.45 – 375.99 kcal g<sup>-1</sup> respectivamente. El mayor nivel de proteínas y energía se encontró en D<sub>3</sub>, con respecto a los lípidos en la dieta, las cantidades encontradas fueron de 8.09 – 9.75%, y en la dieta D<sub>3</sub> aunque presenta niveles de lípidos más bajos que la D<sub>1</sub> se observaron en proporción a los niveles de lípidos las mayores cantidades de ácidos grasos poliinsaturados, monoinsaturados y saturados.

**Tabla VIII.** Análisis bioquímico (media ± DE) de las dietas experimentales (D<sub>1</sub>, nauplios de *Artemia*, D<sub>2</sub>, *Artemia* enriquecido con *T. suecica*, D<sub>3</sub>, *Artemia* enriquecido con *C. calcitrans*) para larvas de *M. americanum*.

Composición química	(% base seca)		
	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>
Lípido	9.75 ± 0.84	8.09 ± 0.33	8.90 ± 1.11
Proteína	40.46 ± 0.57	43.18 ± 1.38	46.31 ± 1.43
Carbohidrato	6.89 ± 1.75	10.86 ± 0.43	7.83 ± 1.64
Energía (kcal g <sup>-1</sup> )*	347.45	363.19	375.99

Valores promedio de tres repeticiones, expresados en base seca. \*Calculado: Tacon (1987), NRC (2011).





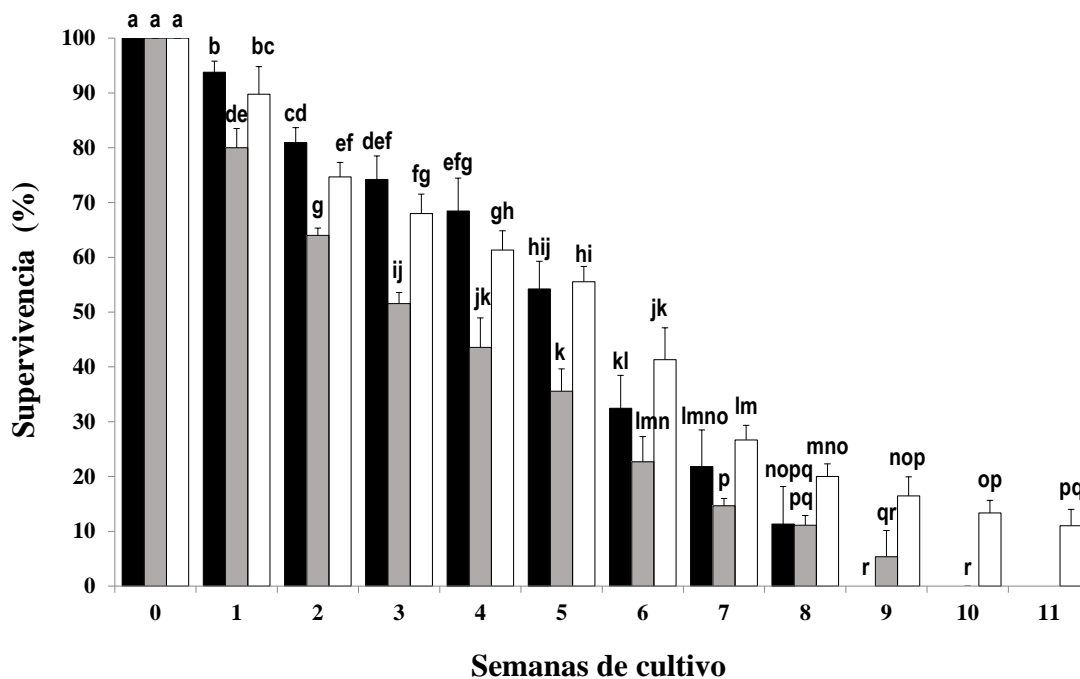
**Figura 11.** Crecimiento (medias  $\pm$  DE) en larvas de *M. americanum* alimentadas con *Artemia* enriquecida con microalgas. D<sub>1</sub> = Nauplio de *Artemia* (en negro), D<sub>2</sub> = *Artemia* enriquecida con *T. suecia* (en gris), D<sub>3</sub> = *Artemia* enriquecida con *C. calcitrans* (en blanco).

En términos generales, se observa que las diferencias de crecimiento entre tratamientos (Fig. 11) comienzan a tener diferencias significativas ( $F = 207.15$ ,  $P < 0.001$ ) a partir de la tercera semana, con mejor crecimiento y tasa de crecimiento ( $F = 28.36$ ,  $P < 0.001$ ) (Tabla IX) en larvas de tratamiento D3. Esta tendencia continuó durante el resto del experimento; la menor TCE se obtuvo en larvas de langostinos alimentados con D1.

**Tabla IX.** Tasa de crecimiento (medias  $\pm$  DE) en larvas de langostinos de río *M. americanum* alimentados con dietas experimentales (D<sub>1</sub>, nauplios de *Artemia*, D<sub>2</sub>, *Artemia* enriquecida con *T. suecia*, D<sub>3</sub>, *Artemia* enriquecida con *C. calcitrans*).

Semanas	Dietas		
	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>
1	1.33 $\pm$ 0.22 <sup>o</sup>	2.05 $\pm$ 0.10 <sup>mn</sup>	1.99 $\pm$ 0.04 <sup>n</sup>
2	2.01 $\pm$ 0.09 <sup>n</sup>	2.27 $\pm$ 0.08 <sup>kl</sup>	2.07 $\pm$ 0.44 <sup>n</sup>
3	2.23 $\pm$ 0.05 <sup>lm</sup>	2.68 $\pm$ 0.12 <sup>fgh</sup>	2.97 $\pm$ 0.09 <sup>cde</sup>
4	2.69 $\pm$ 0.06 <sup>fg</sup>	3.04 $\pm$ 0.07 <sup>bc</sup>	3.22 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>
5	2.50 $\pm$ 0.11 <sup>hij</sup>	3.03 $\pm$ 0.11 <sup>bc</sup>	3.32 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>
6	2.34 $\pm$ 0.04 <sup>jkl</sup>	2.79 $\pm$ 0.07 <sup>ef</sup>	3.01 $\pm$ 0.03 <sup>cd</sup>
7	2.21 $\pm$ 0.06 <sup>lm</sup>	2.56 $\pm$ 0.03 <sup>ghi</sup>	2.83 $\pm$ 0.02 <sup>def</sup>
8	2.07 $\pm$ 0.06 <sup>mn</sup>	2.43 $\pm$ 0.05 <sup>ijk</sup>	2.68 $\pm$ 0.01 <sup>fg</sup>
9	**	2.29 $\pm$ 0.01 <sup>jkl</sup>	2.54 $\pm$ 0.05 <sup>ghi</sup>
10	**	**	2.44 $\pm$ 0.01 <sup>ijk</sup>
11	**	**	2.31 $\pm$ 0.02 <sup>jkl</sup>

Los valores medios  $\pm$  DE seguidos por superíndices diferentes en la fila indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). \*\* = No determinado.



**Figura 12.** Supervivencia (medias  $\pm$  DE) en larvas de *M. americanum* alimentadas con *Artemia* enriquecida con microalgas, D<sub>1</sub> = Nauplio de *Artemia* (en negro), D<sub>2</sub> = *Artemia* enriquecida con *T. suecia* (en gris), D<sub>3</sub> = *Artemia* enriquecida con *C. calcitrans* (en blanco).

La supervivencia de las larvas de *M. americanum* alimentadas con *Artemia* enriquecida con microalgas se muestra en la figura 12. A partir de la primera semana, se observaron diferencias significativas ( $F = 20.44$ ,  $P < 0.001$ ) en la supervivencia entre los tratamientos  $D_1$  y  $D_3$  con respecto a  $D_2$ . Todas las larvas de langostinos del río alimentadas con  $D_1$  y  $D_2$  murieron después de la semana 9 y 10, respectivamente. Se obtuvieron juveniles o post-larvas tempranas con la dieta  $D_3$  después de 55 días hasta 77 días (11 semanas) de cultivo y con un 11.6% de supervivencia. Las etapas larvarias durante el período experimental se presentan en la tabla X.

**Tabla X.** Estadios de desarrollo de las larvas de langostino de río *Macrobrachium americanum* durante el cultivo.

<b>Día</b>	<b>Zoea</b>
0	I
1.– 3	II
4 – 7	III
8 – 16	IV
14 – 20	V
19 – 26	VI
24 – 30	VII
28 – 36	VIII
35 – 41	IX
40 – 49	X
47 – 77	XI
55 – 77	PL

## 7.2 Experimento II. Bioensayo con juveniles de *M. americanum* empleando diferentes niveles de proteína en dieta.

En la tabla XI se presenta el análisis proximal de las cuatro dietas experimentales con diferentes niveles de PC (30.7, 37.2, 41.8 y 46.8%) empleadas para evaluar el nivel de PC en juveniles de *M. americanum*. Como se puede observar la composición química de las cuatro dietas es muy similar con excepción de la PC.

**Tabla XI.** Análisis proximal (medias  $\pm$  DE) y energía de las dietas experimentales con diferentes niveles de proteína para juveniles de *M. americanum*.

Composición proximal real (%)	Nivel de proteína cruda en dieta (%)			
	30.7	37.2	41.8	46.8
Materia Seca	90.14 $\pm$ 0.29	89.49 $\pm$ 0.15	90.03 $\pm$ 0.10	89.50 $\pm$ 0.17
Proteína	30.74 $\pm$ 0.13	37.26 $\pm$ 0.22	41.88 $\pm$ 0.10	46.83 $\pm$ 0.08
Extracto Etéreo	7.35 $\pm$ 0.17	7.37 $\pm$ 0.25	7.25 $\pm$ 0.09	7.30 $\pm$ 0.08
Fibra Cruda	1.70 $\pm$ 0.26	2.70 $\pm$ 0.09	1.93 $\pm$ 0.05	1.23 $\pm$ 0.05
Cenizas	8.72 $\pm$ 0.05	10.65 $\pm$ 0.23	12.16 $\pm$ 0.01	14.01 $\pm$ 0.06
ELN <sup>6</sup>	51.49	42.02	36.78	30.63
Energía (kJ g <sup>-1</sup> )	18.14	18.41	18.49	18.37

Resultados expresados en base seca por triplicado.

El perfil de aminoácidos de las cuatro dietas (Tabla XII) mostró una adecuada similitud y proporción entre ellos, encontrándose en mayor cantidad de AAE la arginina, lisina y leucina; de los AANE mostraron mayor presencia el ácido glutámico, prolina y glicina. La treonina y metionina mostraron ser los aminoácidos en menor cantidad.

**Tabla XII.** Perfil de aminoácidos (% medias  $\pm$  DE) en las diferentes dietas empleadas en la alimentación de juveniles de *M. americanum*.

Amino ácidos	Nivel de proteína cruda en dieta (%)				A/E Proporción
	30.7	37.2	41.8	46.8	
<i>AAE</i>					
Treonina	1.35 $\pm$ 0.12	2.47 $\pm$ 0.44	1.10 $\pm$ 0.43	1.04 $\pm$ 0.07	0.050
Valina	3.70 $\pm$ 0.42	3.75 $\pm$ 0.81	3.47 $\pm$ 0.82	3.87 $\pm$ 0.53	0.124
Metionina	1.05 $\pm$ 0.11	1.49 $\pm$ 0.25	1.02 $\pm$ 0.27	1.44 $\pm$ 0.28	0.042
Isoleucina	3.15 $\pm$ 0.49	3.22 $\pm$ 0.75	2.89 $\pm$ 0.71	3.20 $\pm$ 0.43	0.105
Leucina	6.28 $\pm$ 0.61	6.82 $\pm$ 1.28	5.45 $\pm$ 0.73	5.83 $\pm$ 0.64	0.205
Fenilalanina	2.43 $\pm$ 0.24	2.72 $\pm$ 0.60	2.17 $\pm$ 0.42	2.41 $\pm$ 0.32	0.082
Lisina	4.59 $\pm$ 0.50	5.19 $\pm$ 0.93	4.58 $\pm$ 0.51	5.12 $\pm$ 0.59	0.164
Histidina	2.14 $\pm$ 0.27	1.90 $\pm$ 0.33	1.83 $\pm$ 0.31	1.98 $\pm$ 0.22	0.066
Arginina	4.96 $\pm$ 0.47	5.20 $\pm$ 0.95	4.38 $\pm$ 0.35	4.73 $\pm$ 0.49	0.162
$\Sigma$ AAE	29.65	32.76	26.89	29.62	
<i>AANE</i>					
Serina	3.48 $\pm$ 0.19	2.78 $\pm$ 0.39	2.80 $\pm$ 0.32	2.95 $\pm$ 0.28	
Ac. Glutámico	15.08 $\pm$ 0.73	14.60 $\pm$ 2.41	11.76 $\pm$ 1.30	12.18 $\pm$ 1.36	
Glicina	4.90 $\pm$ 0.07	5.15 $\pm$ 0.81	4.76 $\pm$ 1.05	4.59 $\pm$ 0.61	
Alanina	2.60 $\pm$ 0.27	2.87 $\pm$ 0.45	2.41 $\pm$ 0.09	2.85 $\pm$ 0.39	
Tyrosina	2.29 $\pm$ 0.19	2.65 $\pm$ 0.51	1.96 $\pm$ 0.05	2.08 $\pm$ 0.21	
Prolina	9.16 $\pm$ 2.47	6.03 $\pm$ 0.98	10.31 $\pm$ 4.68	6.20 $\pm$ 0.62	
$\Sigma$ AANE	37.51	34.08	34.00	31.25	

Valores promedio de tres repeticiones, expresados en base seca. AAE: aminoácidos esenciales; AANE: Aminoácidos no esenciales; A/E proporción = AAE / Total AEE.

La prueba de hidroestabilidad realizada a cada dieta peletizada, con el fin de determinar el % de Materia Seca Retenida (MSR) después de 60 min de inmersión, se muestran en la tabla XIII. Se pudo apreciar que los alimentos fueron elaborados correctamente; resultado de una relación directa entre la consistencia de las dietas peletizadas y proporción de ingredientes empleados.

**Tabla XIII.** Hidroestabilidad de la materia seca (media  $\pm$  DE) de las dietas peletizadas experimentales.

(%)	Nivel de Proteína Cruda en dieta (%)			
	30.7	37.2	41.8	46.8
MSR	88.13 $\pm$ 0.71	87.03 $\pm$ 0.35	86.91 $\pm$ 0.87	86.87 $\pm$ 0.78

MSR = materia seca retenida, ó hidroestabilidad de la materia seca.

En el presente trabajo, el valor menor del MSR ( $86.87 \pm 0.78\%$ ) fue encontrado en la dieta de 46.8% PC. Se pudo comprobar que la MSR tiene tendencia de aumentar a medida que se incrementa la proporción de la harina de trigo. Contrariamente para los otros tipos de las harinas utilizadas en el experimento (pescado y calamar) la relación fue inversa, apreciándose una tendencia a disminuir la MSR conforme se incrementa la proporción de estas dos harinas.

La supervivencia fue del 100% en todos los tratamientos (Tabla XIV). Se encontraron diferencias significativas en el peso corporal, aumento de peso, la TCE, TEP, y FCA entre los tratamientos (Tabla XIV). El crecimiento y FCA final más adecuado se produjo en los juveniles alimentados con la dieta que contiene 37.2% PC, lo que fue significativamente diferente de los otros tratamientos.

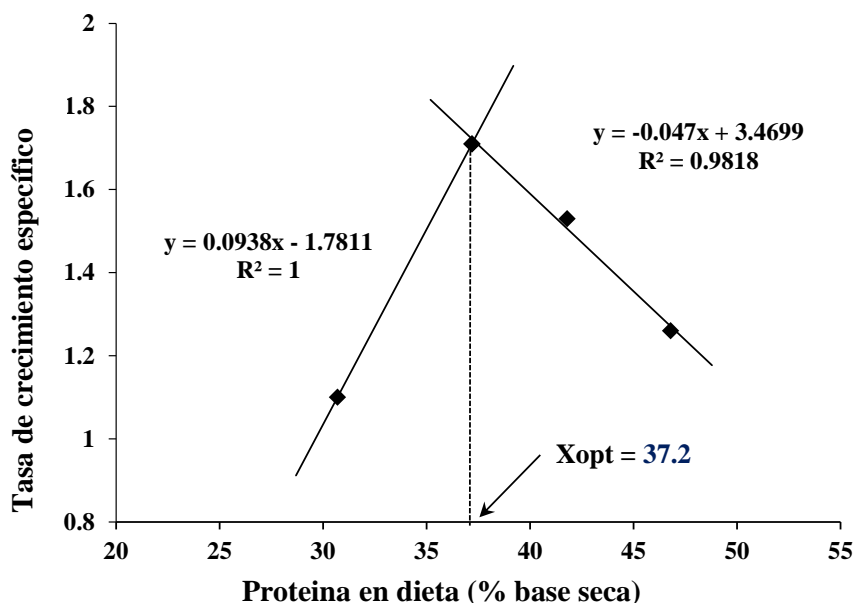
**Tabla XIV.** Valores (medias  $\pm$  DE) de los parámetros de producción en juveniles de *M. americanum*, alimentados con cuatro dietas con diferente nivel de proteína.

Parámetros	Nivel de Proteína Cruda en dieta (%)			
	30.7	37.2	41.8	46.8
Peso inicial (g org <sup>-1</sup> )	0.16 $\pm$ 0.002	0.16 $\pm$ 0.007	0.15 $\pm$ 0.006	0.16 $\pm$ 0.008
Peso final (g org <sup>-1</sup> )	0.36 $\pm$ 0.005 <sup>c</sup>	0.58 $\pm$ 0.016 <sup>a</sup>	0.48 $\pm$ 0.013 <sup>b</sup>	0.42 $\pm$ 0.022 <sup>bc</sup>
IP (g org <sup>-1</sup> )	0.20 $\pm$ 0.006 <sup>c</sup>	0.42 $\pm$ 0.020 <sup>a</sup>	0.33 $\pm$ 0.014 <sup>b</sup>	0.25 $\pm$ 0.019 <sup>bc</sup>
TCE	1.10 $\pm$ 0.027 <sup>c</sup>	1.71 $\pm$ 0.080 <sup>a</sup>	1.53 $\pm$ 0.058 <sup>ab</sup>	1.26 $\pm$ 0.064 <sup>bc</sup>
TEP	0.24 $\pm$ 0.004 <sup>a</sup>	0.26 $\pm$ 0.006 <sup>a</sup>	0.22 $\pm$ 0.004 <sup>ab</sup>	0.17 $\pm$ 0.005 <sup>b</sup>
FCA	3.55 $\pm$ 0.211 <sup>c</sup>	2.15 $\pm$ 0.263 <sup>a</sup>	2.54 $\pm$ 0.242 <sup>b</sup>	3.36 $\pm$ 0.330 <sup>c</sup>
Supervivencia (%)	100	100	100	100

Los valores medios  $\pm$  DE seguidos por superíndices diferentes en la fila indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

La mayor proporción de TCE y la TEP se produjo en los juveniles alimentados con la dieta de proteína cruda de 37.2%, que fue significativamente diferente de los tratamientos con menos y más proteínas.

El análisis de regresión de línea quebrada realizado a la TCE en función de los tratamientos (dieta) fue  $y = 0.0938x - 1.7811$  ( $R^2 = 1$ ),  $y = 3.4699 - 0.047x$  ( $R^2 = 0.9818$ ), respectivamente. A partir del análisis de regresión de línea quebrada, el nivel de proteína en la dieta óptima fue el tratamiento con 37.2% PC (Fig. 13).



**Figura 13.** Efecto del nivel de proteína en dieta sobre la TCE (medias  $\pm$  DE) de juveniles de *M. americanum*. El requerimiento fue estimado mediante la aplicación del modelo de línea quebrada con 0.95 de confianza.

La tabla XV muestra cómo toda composición bioquímica del cuerpo varió entre tratamientos en el final del experimento. En la proteína de los langostinos enteros, sólo el tratamiento con menor proteína en la dieta fue estadísticamente diferente de los tratamientos con 37.2 y 46.8% PC.

**Tabla XV.** Composición proximal (% medias  $\pm$  DE) en juveniles de *M. americanum* alimentado con las dietas experimentales.

<b>Composición Proximal (%)</b>	<b>Nivel de Proteína Cruda en dieta (%)</b>			
	<b>30.7</b>	<b>37.2</b>	<b>41.8</b>	<b>46.8</b>
Humedad	72.03 $\pm$ 0.64	71.59 $\pm$ 0.44	71.76 $\pm$ 0.51	71.83 $\pm$ 0.48
Proteína	17.68 $\pm$ 0.20 <sup>b</sup>	19.10 $\pm$ 0.70 <sup>a</sup>	18.72 $\pm$ 1.14 <sup>ab</sup>	19.21 $\pm$ 0.38 <sup>a</sup>
Lípido	1.41 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	1.61 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	1.69 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>	1.64 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>
Carbohidrato	1.06 $\pm$ 0.11	1.22 $\pm$ 0.05	1.14 $\pm$ 0.13	1.09 $\pm$ 0.09

Los valores medios  $\pm$  DE seguidos por superíndices diferentes en la fila indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

El contenido total de lípidos fue estadísticamente diferente sólo para el tratamiento con menos proteína en la dieta. No se obtuvieron diferencias estadísticas para la humedad (%) y carbohidratos (%) en todo el cuerpo. Respecto a la composición aminoacídica del tejido de los juveniles enteros (Tabla XVI) fueron influenciados significativamente por los niveles de proteína de la dieta, dado que los langostinos alimentados con 30.7% PC, presentaron niveles de AAE y AANE menores con respecto a los demás tratamientos, observándose la concentración más alta en juveniles alimentados con 37.2% PC.

Se encontró que los esenciales (AAE): arginina, lisina y leucina, así como los no esenciales (AANE): ácido glutámico, prolina y glicina, fueron los mayormente encontrados en los organismos de todos los tratamientos; estos seis aminoácidos constituyeron el 64.57% del total de aminoácidos evaluados. La treonina, metionina e histidina mostraron ser los aminoácidos más limitantes.



**Tabla XVI.** Perfil de aminoácidos (% medias  $\pm$  DE) en juveniles enteros de *M. americanum* alimentados con dietas experimentales.

Amino ácidos	Nivel de proteína cruda en dieta (%)			
	30.7	37.2	41.8	46.8
<i>AAE</i>				
Treonina	0.49 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	0.64 $\pm$ 0.09 <sup>ab</sup>	0.60 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	0.75 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>
Valina	2.16 $\pm$ 0.26 <sup>ab</sup>	2.68 $\pm$ 0.26 <sup>b</sup>	2.15 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>	3.60 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>
Metionina	1.23 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	1.46 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	1.43 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	1.38 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>
Isoleucina	2.49 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>	3.01 $\pm$ 0.38 <sup>a</sup>	2.80 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>	2.68 $\pm$ 0.17 <sup>ab</sup>
Leucina	4.63 $\pm$ 0.45 <sup>b</sup>	5.17 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>	5.13 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>	4.63 $\pm$ 0.20 <sup>b</sup>
Fenilalanina	1.99 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>	2.39 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	2.30 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>	2.16 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>
Lisina	4.69 $\pm$ 0.35 <sup>b</sup>	5.25 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	5.21 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>	4.80 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>
Histidina	1.43 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	1.67 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	1.51 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup>	1.61 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>
Arginina	4.22 $\pm$ 0.37 <sup>b</sup>	4.87 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	4.61 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	4.54 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>
$\Sigma$ AAE	23.33	27.14	25.74	26.15
<i>AANE</i>				
Serina	2.49 $\pm$ 0.20 <sup>ab</sup>	1.74 $\pm$ 0.59 <sup>b</sup>	2.58 $\pm$ 0.48 <sup>a</sup>	2.42 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>
Ac. Glutámico	9.65 $\pm$ 0.85 <sup>ab</sup>	10.76 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	10.73 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	9.59 $\pm$ 0.44 <sup>b</sup>
Glicina	3.13 $\pm$ 0.37 <sup>b</sup>	3.71 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>	3.58 $\pm$ 0.55 <sup>a</sup>	3.35 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>
Alanina	2.42 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup>	2.73 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>	2.77 $\pm$ 0.46 <sup>a</sup>	2.53 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>
Tirosina	1.92 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>	2.35 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup>	2.16 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	2.06 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>
Prolina	4.77 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>	5.60 $\pm$ 1.71 <sup>a</sup>	5.11 $\pm$ 0.50 <sup>a</sup>	4.92 $\pm$ 0.36 <sup>ab</sup>
$\Sigma$ AANE	24.38	26.89	26.93	24.87

Los valores medios  $\pm$  DE seguidos por superíndices diferentes en la fila indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).  
AAE: aminoácidos esenciales; AANE: Aminoácidos no esenciales.

### 7.3 Experimento III. Bioensayo con juveniles de *M. americanum* empleando diferentes niveles de proteína y energía en dieta

En tabla XVII se presenta el análisis proximal (medias  $\pm$  DE) y energía de las dietas experimentales con diferentes relaciones de P/E para juveniles de *M. americanum*.

**Tabla XVII.** Análisis proximal y energía de las dietas experimentales con diferentes niveles de proteína: energía para juveniles de *M. americanum*.

<b>Dietas, Composición Próximal (% en base seca)</b>						
<b>Relación P/E (mg CP KJ<sup>-1</sup> GE g<sup>-1</sup>)</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>22</b>
<b>Proteína (%)</b>	<b>35</b>	<b>35</b>	<b>35</b>	<b>40</b>	<b>40</b>	<b>40</b>
<b>Lípido (%)</b>	<b>14</b>	<b>10</b>	<b>6</b>	<b>14</b>	<b>10</b>	<b>6</b>
Materia Seca	93.0	92.1	94.0	93.3	96.2	95.4
Proteína cruda	35.0	35.4	35.6	40.9	40.8	40.7
Extracto etéreo	14.9	10.3	6.1	14.8	10.3	6.7
Fibra cruda	4.2	7.3	10.6	5.8	6.5	9.9
Ceniza	10.3	10.4	10.4	10.3	10.4	10.4
Extracto Libre de Nitrógeno	35.6	36.6	37.3	28.1	32.0	32.3
Energía bruta (MJ g <sup>-1</sup> )	20	19	18	20	19	18
Proporción P/E (mg CP KJ <sup>-1</sup> GE g <sup>-1</sup> )	17	18	19	20	21	22

La tasa de supervivencia en los juveniles no presento diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) (Tabla XVIII), se situó en un rango de 95.56 - 100%; tambien se muestran el peso corporal final, el aumento de peso, la longitud corporal final, la ganancia de longitud, la tasa de crecimiento específico, el factor de condición, la tasa de crecimiento específico y el índice hepatosómico. El mayor PF, GP y TCE ( $P < 0.05$ ) se observó para los langostinos alimentados con la dieta con una relación P/E de 18:1. Los juveniles alimentados con una relación P/E de 18:1 y 19:1 mostraron significativamente mejor FC e IHS ( $P < 0.05$ ) que aquellos alimentados con las otras dietas. Con respecto a FCA y LF, los valores más altos fueron observados para langostinos alimentados con la dieta que contenía la relación P/E 18:1, 19:1 y 21:1 ( $P < 0.05$ ).

Con respecto a los índices nutricionales, se observó la mayor TEP (Tabla XIX) para el langostino alimentado con una relación P/E de 18:1 y 19:1. Para RP no se observaron diferencias significativas entre los langostinos alimentados con la dieta que contenían una relación P/E de 17:1 y 21:1, pero si presentaron una diferencia significativa en comparación con otros tratamientos. Para RL no se observaron diferencias significativas entre los langostinos alimentados con la dieta con una relación P/E de 18:1, 19:1 y 22:1, pero si presentaron una diferencia significativa mejor en comparación con los otros tratamientos. Para los índices de producción y nutrición con diferencia significativa, se registró el valor más bajo para los langostinos alimentados con una relación P/E de 17 y 22 mg PC KJ<sup>-1</sup> EB g<sup>-1</sup> (17:1 y 22:1). Con respecto a los niveles de proteína en la dieta, se observaron los valores más altos de PF, GP, GL, TCE, FC, FCA y IHS para juveniles alimentados con 35%, mientras que los juveniles que recibieron la dieta con 10% de lípidos registraron los valores más altos de en estas variables, independientemente de los niveles de proteína en la dieta. La misma tendencia se observó para los valores más altos de TEP, RP y LR (Tabla XIX).

**Tabla XVIII.** Respuesta productiva de juveniles de langostino de río (*M. americanum*) alimentados con dietas experimentales conteniendo diferentes niveles de relaciones P/E.

Dietas	PF (g cauque <sup>-1</sup> )	GP (% cauque <sup>-1</sup> )	LF (mm cauque <sup>-1</sup> )	GL (% cauque <sup>-1</sup> )	TCE (% día)	FC (%)	FCA	TS (%)	IHS (%)
Relación P/E (mg PC kJ <sup>-1</sup> EB g <sup>-1</sup> ) (PC/LP)									
17:1 (35:14)	0.72 ± 0.19 <sup>b</sup>	211.52 ± 13.72 <sup>b</sup>	0.76 ± 0.15 <sup>ab</sup>	194.97 ± 8.47 <sup>b</sup>	1.89 ± 0.07 <sup>c</sup>	1.60 ± 0.03 <sup>c</sup>	1.94 ± 0.24 <sup>bc</sup>	100.0 ± 0.00	3.75 ± 0.32 <sup>bc</sup>
18:1 (35:10)	0.79 ± 0.14 <sup>a</sup>	253.12 ± 22.23 <sup>a</sup>	0.80 ± 0.18 <sup>a</sup>	206.75 ± 12.65 <sup>ab</sup>	2.10 ± 0.10 <sup>a</sup>	1.51 ± 0.09 <sup>b</sup>	1.81 ± 0.02 <sup>a</sup>	100.0 ± 0.00	4.47 ± 0.05 <sup>a</sup>
19:1 (35: 6)	0.69 ± 0.16 <sup>c</sup>	205.43 ± 9.14 <sup>b</sup>	0.82 ± 0.12 <sup>a</sup>	214.08 ± 5.06 <sup>a</sup>	1.86 ± 0.08 <sup>c</sup>	1.28 ± 0.09 <sup>a</sup>	1.88 ± 0.09 <sup>b</sup>	97.23 ± 4.81	4.06 ± 0.31 <sup>b</sup>
20:1 (40:14)	0.68 ± 0.14 <sup>c</sup>	196.14 ± 21.46 <sup>bc</sup>	0.71 ± 0.09 <sup>b</sup>	173.19 ± 16.30 <sup>c</sup>	1.81 ± 0.12 <sup>c</sup>	1.92 ± 0.27 <sup>d</sup>	2.08 ± 0.06 <sup>c</sup>	94.45 ± 4.81	3.15 ± 0.14 <sup>c</sup>
21:1 (40:10)	0.73 ± 0.20 <sup>b</sup>	224.93 ± 19.64 <sup>b</sup>	0.79 ± 0.14 <sup>ab</sup>	195.95 ± 45.26 <sup>ab</sup>	1.96 ± 0.10 <sup>b</sup>	1.48 ± 0.41 <sup>ab</sup>	1.84 ± 0.05 <sup>ab</sup>	100.0 ± 0.00	4.17 ± 0.56 <sup>a</sup>
22:1 (40: 6)	0.67 ± 0.21 <sup>c</sup>	193.83 ± 24.51 <sup>c</sup>	0.72 ± 0.11 <sup>b</sup>	169.01 ± 17.55 <sup>d</sup>	1.79 ± 0.13 <sup>c</sup>	1.84 ± 0.23 <sup>cd</sup>	2.02 ± 0.03 <sup>c</sup>	97.23 ± 4.81	3.98 ± 0.33 <sup>b</sup>
Nivel de Proteína (%)									
35	0.74 ± 0.17 <sup>a</sup>	223.37 ± 26.40 <sup>a</sup>	0.79 ± 0.03 <sup>a</sup>	205.28 ± 10.92 <sup>a</sup>	1.95 ± 0.11	1.46 ± 0.16 <sup>a</sup>	1.88 ± 0.15	99.08 ± 2.78	4.10 ± 0.39 <sup>a</sup>
40	0.70 ± 0.19 <sup>b</sup>	204.97 ± 24.23 <sup>b</sup>	0.74 ± 0.06 <sup>b</sup>	179.39 ± 28.52 <sup>b</sup>	1.85 ± 0.13	1.75 ± 0.34 <sup>b</sup>	1.98 ± 0.12	97.23 ± 4.17	3.76 ± 0.58 <sup>b</sup>
Nivel de Lípidos (%)									
6	0.69 ± 0.18 <sup>b</sup>	199.64 ± 17.73 <sup>b</sup>	0.77 ± 0.06 <sup>b</sup>	191.55 ± 27.26	1.82 ± 0.10 <sup>b</sup>	1.56 ± 0.35	1.95 ± 0.10 <sup>b</sup>	97.23 ± 4.31	4.02 ± 0.29 <sup>a</sup>
10	0.77 ± 0.17 <sup>a</sup>	239.03 ± 24.30 <sup>a</sup>	0.80 ± 0.04 <sup>a</sup>	201.36 ± 30.31	2.03 ± 0.12 <sup>a</sup>	1.49 ± 0.27	1.82 ± 0.04 <sup>a</sup>	100.0 ± 0.00	4.32 ± 0.40 <sup>a</sup>
14	0.71 ± 0.17 <sup>b</sup>	203.84 ± 18.18 <sup>b</sup>	0.73 ± 0.05 <sup>c</sup>	184.09 ± 15.93	1.85 ± 0.11 <sup>b</sup>	1.76 ± 0.24	2.01 ± 0.18 <sup>c</sup>	97.23 ± 4.31	3.45 ± 0.41 <sup>b</sup>
Relación P/E *	0.986	0.020	0.020	0.001	0.034	0.031	0.036	0.030	0.315
Proteína**	0.034	0.043	0.000	0.009	0.065	0.025	0.066	0.271	0.043
Lípido**	0.009	0.012	0.010	0.083	0.010	0.100	0.031	0.300	0.003
PxL**	0.678	0.776	0.435	0.454	0.889	0.121	0.547	0.300	0.054

Los datos fueron expresados medias ± DE, de tres replicas. Valores en columna con superíndices iguales no muestran diferencia significativa (Duncan's test, P < 0.05). \*Probabilidad para one-way ANOVA. \*\*Two-way ANOVA P-level.

**Tabla XIX** Índices de eficiencia alimentaria de juveniles de langostinos de río (*M. americanum*) alimentados con dietas experimentales con diferente relación de P/E.

<b>Dietas</b>	<b>Tasa Eficiencia Proteica</b>	<b>Retención de Proteína (%)<sup>1</sup></b>	<b>Retención de lípidos (%)<sup>2</sup></b>
<b>Relación P/E (mg PC kJ<sup>-1</sup> EB g<sup>-1</sup>) (PC/LP)</b>			
17:1 (35:14)	1.49 ± 0.18 <sup>b</sup>	27.02 ± 3.29 <sup>b</sup>	16.97 ± 0.87 <sup>b</sup>
18:1 (35:10)	1.57 ± 0.02 <sup>a</sup>	31.91 ± 0.46 <sup>a</sup>	18.39 ± 0.13 <sup>ab</sup>
19:1 (35: 6)	1.51 ± 0.08 <sup>ab</sup>	24.95 ± 1.58 <sup>c</sup>	22.06 ± 0.63 <sup>a</sup>
20:1 (40:14)	1.20 ± 0.01 <sup>d</sup>	25.86 ± 0.20 <sup>c</sup>	14.87 ± 0.09 <sup>b</sup>
21:1 (40:10)	1.36 ± 0.05 <sup>c</sup>	31.69 ± 1.68 <sup>a</sup>	15.74 ± 0.22 <sup>b</sup>
22:1 (40: 6)	1.24 ± 0.02 <sup>cd</sup>	26.94 ± 0.50 <sup>bc</sup>	21.50 ± 0.23 <sup>a</sup>
<b>Niveles de Proteína (%)</b>			
35	1.53 ± 0.11 <sup>a</sup>	27.96 ± 3.60 <sup>b</sup>	19.15 ± 2.34 <sup>a</sup>
40	1.27 ± 0.08 <sup>b</sup>	28.17 ± 2.83 <sup>a</sup>	17.37 ± 3.13 <sup>b</sup>
<b>Niveles de Lípidos (%)</b>			
6	1.38 ± 0.17 <sup>b</sup>	25.95 ± 1.52 <sup>b</sup>	21.79 ± 0.53 <sup>a</sup>
10	1.47 ± 0.12 <sup>a</sup>	31.80 ± 1.11 <sup>a</sup>	17.07 ± 1.47 <sup>b</sup>
14	1.35 ± 0.20 <sup>b</sup>	26.44 ± 2.18 <sup>b</sup>	15.93 ± 1.28 <sup>b</sup>
Relación P/E*	0.0000	0.0041	0.0000
Proteína**	0.0000	0.0010	0.0001
Lípido**	0.0460	0.0020	0.0010
PxL**	0.6681	0.0001	0.0050

Los datos fueron expresados medias ± DE, de tres replicas. Valores en columna con superíndices iguales no muestran diferencia significativa (Duncan's test, P <0.05). \*Probabilidad para one-way ANOVA. \*\*Two-way ANOVA P-level. <sup>1</sup>Inicial proteína de organismos enteros fue 14.69% (en base seca); <sup>2</sup>Inicial lípidos de organismos enteros fue 1.12% (en base seca).

La tabla XX muestra cómo la composición bioquímica del cuerpo entero varió entre los tratamientos al final del cultivo. La proteína del cuerpo entero (%) mostró altos valores cuando se alimentaron con dietas que contenían relaciones P/E de 20:1, 21:1 y 22:1, respectivamente. El mayor contenido de carbohidratos (%) en el cuerpo entero se observó para los langostinos alimentados con la dieta con una relación P/E de 18:1 y para el contenido de lípidos en los langostinos de cuerpo entero fue con un P/E Proporción 17:1, 18:1 y 20:1. Sin embargo, no se observó diferencia significativa entre los tratamientos experimentales para la humedad del cuerpo entero (%).

**Tabla XX.** Composición de juveniles enteros de langostinos de río (*M. americanum*) (% base seca) alimentados con dietas experimentales con diferentes niveles de P/E.

<b>Dieta</b>	<b>Humedad (%)</b>	<b>Proteína (%)</b>	<b>Lípido (%)</b>	<b>Carbohidratos (%)</b>
<b>Relación P/E (mg PC kJ<sup>-1</sup> EB g<sup>-1</sup>) (PC/LP)</b>				
17:1 (35:14)	72.44 ± 1.44	17.05 ± 0.11 <sup>bc</sup>	1.63 ± 0.36 <sup>a</sup>	1.43 ± 0.02 <sup>c</sup>
18:1 (35:10)	73.48 ± 1.27	18.66 ± 0.10 <sup>b</sup>	1.41 ± 0.06 <sup>a</sup>	2.15 ± 0.02 <sup>a</sup>
19:1 (35: 6)	73.08 ± 1.04	15.97 ± 0.44 <sup>c</sup>	1.28 ± 0.10 <sup>b</sup>	0.96 ± 0.01 <sup>e</sup>
20:1 (40:14)	72.15 ± 1.10	19.20 ± 0.14 <sup>ab</sup>	1.32 ± 0.04 <sup>ab</sup>	1.30 ± 0.03 <sup>d</sup>
21:1 (40:10)	74.34 ± 1.16	19.34 ± 0.02 <sup>ab</sup>	1.07 ± 0.09 <sup>c</sup>	1.63 ± 0.02 <sup>b</sup>
22:1 (40: 6)	72.89 ± 0.37	20.59 ± 0.55 <sup>a</sup>	1.30 ± 0.06 <sup>b</sup>	1.50 ± 0.04 <sup>bc</sup>
<b>Nivel Proteína (%)</b>				
35	73.00 ± 1.18	17.23 ± 1.19 <sup>b</sup>	1.44 ± 0.15 <sup>a</sup>	1.52 ± 0.52 <sup>a</sup>
40	73.13 ± 1.28	19.71 ± 0.72 <sup>a</sup>	1.23 ± 0.12 <sup>b</sup>	1.48 ± 0.15 <sup>b</sup>
<b>Nivel Lípidos (%)</b>				
6	72.98 ± 0.12	18.28 ± 0.43 <sup>b</sup>	1.29 ± 0.05 <sup>b</sup>	1.23 ± 0.05 <sup>c</sup>
10	73.81 ± 0.19	19.00 ± 0.06 <sup>a</sup>	1.24 ± 0.07 <sup>c</sup>	1.89 ± 0.04 <sup>a</sup>
14	72.28 ± 0.22	18.13 ± 0.05 <sup>b</sup>	1.48 ± 0.18 <sup>a</sup>	1.36 ± 0.08 <sup>b</sup>
Relación P/E *	0.0082	0.0000	0.0001	0.0000
Proteína**	0.0766	0.0061	0.0000	0.0035
Lípido**	0.2394	0.0012	0.0000	0.0005
PxL**	0.3666	0.0002	0.0000	0.0001

Los datos fueron expresados medias ± DE, de tres replicas. Valores en columna con superíndices iguales no muestran diferencia significativa (Duncan's test, P <0.05). \*Probabilidad para one-way ANOVA. \*\*Two-way ANOVA P-level.

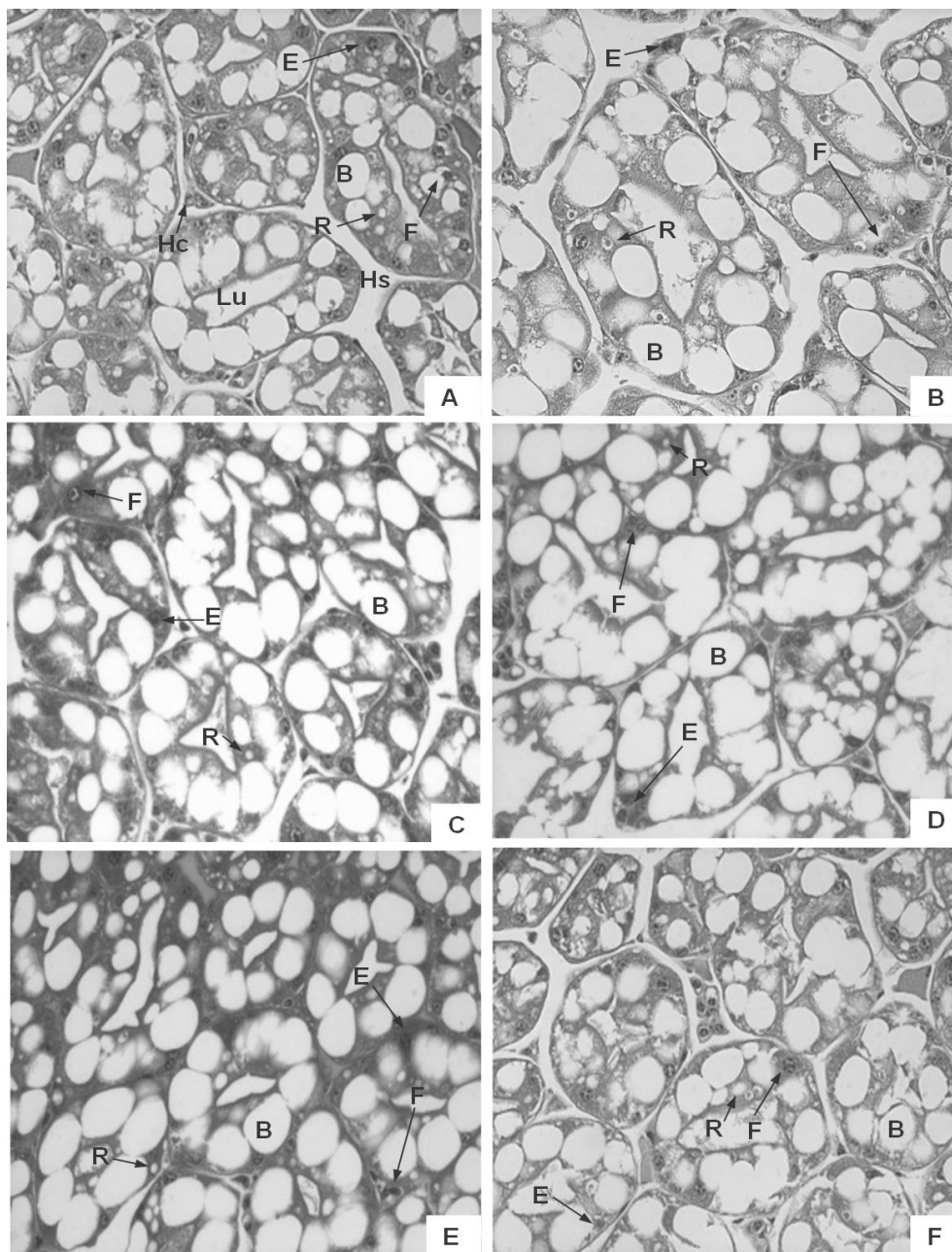
Los valores más altos de mejor composición en los lípidos de todo el cuerpo (%) y carbohidratos (%) con respecto a los niveles de proteína en la dieta, independientemente de los niveles de lípidos en la dieta, fueron observados en juveniles alimentados con 35%, mientras que los juveniles alimentados con la dieta con 10% de lípidos, registraron los mayores valores de mejor composición bioquímica, independientemente de los niveles de proteína en la dieta.

La figura 14 muestra la sección transversal a través de los túbulos muestra los cuatro tipos de células. Las células F (fibrillenzellen o fibrosas) contienen un gran número de ribosomas y un retículo endoplasmático bien desarrollado, la célula B (``blasenzenllen``) típicamente contiene una única vesícula secretora grande, la célula R (``restzellen``) típicamente Contienen vacuolas lipídicas de tamaño variable y las células E

``embryonalzellen`` o embrionarias) son los tipos celulares predominantes de las puntas distales de los túbulos HP.

Se encontró que la relación P/E en la dieta y los niveles de lípidos afectaron significativamente la estructura de hepatopáncreas de *M. americanum* (Fig. 14), sin embargo no se presentó diferencia en relación con los niveles de proteína en las dietas. No hubo diferencias aparentes en los túbulos de hepatopáncreas (área epitelial, diámetro tubular y área de la luz del túbulo) entre langostinos alimentadas con una relación P/E 18:1, 19:1 y 22:1 (Fig. 14 B, C, E), mostrando una mejor respuesta para los niveles de 10% de lípidos en la dieta. También se observó un tamaño mayor de las vacuolas en las células B de estos grupos en cuanto al área o diámetro en las células. La morfología del hepatopáncreas en estos grupos fue normal, con los túbulos bien dispuestos. Diferentes tipos de células fueron fácilmente reconocidos y razonablemente uniformes en forma y tamaño. Los langostinos alimentadas con P/E 20:1 presentaban túbulos comprimidos de hepatopáncreas, había poca vacuolización en las células R y la vacuola era pequeña (Fig. 14 D). Las células epiteliales se deformaron en forma y tamaño, lo que dificultó la identificación celular. Las células epiteliales de langostinos alimentadas con P/E 18:1 tenían una forma más uniforme (Fig. 14 B) y no tan comprimida como en langostinos alimentado con 20:1 de P/E. Se observó un aumento notable en la cantidad de vacuolas en células R en este grupo comparado con langostinos alimentados con 20:1 de P/E.

Las anomalías fueron obvias, los lúmenes de los túbulos que estaban deformes y se habían ampliado debido al epitelio adelgazado. El número de células B aumentó, las vacuolas más grandes tienden a colocarse en uno más grande. En comparación con los lípidos del cuerpo, la proteína bruta y el contenido de cenizas en el cuerpo entero no fueron significativamente influenciados por el nivel de proteína en la dieta.



**Figura 14.** Sección transversal de los túbulos de la glándula digestiva de *M. americanum* alimentados con (A) 17:1 (35:14%), (B) 18:1 (35:10%), (C) 19:1 (35:10%), (D) 20:1 (40:14%) (E) 21:1 (40:10%) y (F) 22:1 (40:6%) relación P/E (mg PC kJ<sup>-1</sup> EB g<sup>-1</sup>) (PC/LP), dietas durante 60 días (20X). Hc, hemocitos, Hs, espacio de hemolinfa, Lu, lumen de los túbulos.



**Tabla XXI.** Actividad de enzimas digestivas de juveniles de langostino de río (*M. americanum*) alimentados con dietas con diferentes niveles de relación P/E.

Dietas	Proteasa (U mg <sup>-1</sup> Proteína)	Lipasa (U mg <sup>-1</sup> Proteína)	Amilasa (U mg <sup>-1</sup> Proteína)
Relación P/E (mg PC kJ <sup>-1</sup> EB g <sup>-1</sup> ) (PC/LP)			
17:1 (35:14)	1.127 ± 0.319 <sup>c</sup>	1.654 ± 0.211 <sup>bc</sup>	1.568 ± 0.416 <sup>c</sup>
18:1 (35:10)	2.034 ± 0.228 <sup>ab</sup>	2.053 ± 0.165 <sup>a</sup>	1.924 ± 0.252 <sup>b</sup>
19:1 (35: 6)	1.257 ± 0.582 <sup>c</sup>	1.110 ± 0.147 <sup>d</sup>	1.522 ± 0.627 <sup>c</sup>
20:1 (40:14)	1.608 ± 0.870 <sup>bc</sup>	1.222 ± 0.328 <sup>c</sup>	1.250 ± 0.685 <sup>d</sup>
21:1 (40:10)	2.110 ± 0.751 <sup>a</sup>	1.740 ± 0.495 <sup>b</sup>	1.598 ± 0.567 <sup>c</sup>
22:1 (40: 6)	1.877 ± 0.285 <sup>b</sup>	1.849 ± 0.314 <sup>ab</sup>	2.483 ± 2.110 <sup>a</sup>
Nivel Proteína (%)			
35	1.473 ± 4.261 <sup>b</sup>	1.606 ± 4.102	1.672 ± 1.948
40	1.865 ± 2.253 <sup>a</sup>	1.604 ± 2.923	1.776 ± 5.618
Nivel Lípido (%)			
6	1.567 ± 0.570 <sup>b</sup>	1.480 ± 0.676 <sup>ab</sup>	2.002 ± 0.907 <sup>a</sup>
10	2.072 ± 0.108 <sup>a</sup>	1.897 ± 0.291 <sup>a</sup>	1.761 ± 0.305 <sup>ab</sup>
14	1.367 ± 0.401 <sup>b</sup>	1.438 ± 0.760 <sup>b</sup>	1.409 ± 0.620 <sup>b</sup>
Relación P/E*	0.0000	0.0001	0.0000
Proteína**	0.0000	0.8710	0.6020
Lípido**	0.0000	0.0000	0.0000
PxL**	0.0002	0.0031	0.0000

Los datos fueron expresados medias ± DE, de tres replicas. Valores en columna con superíndices iguales no muestran diferencia significativa (Duncan's test, P <0.05). \*Probabilidad para one-way ANOVA. \*\*Two-way ANOVA P-level.

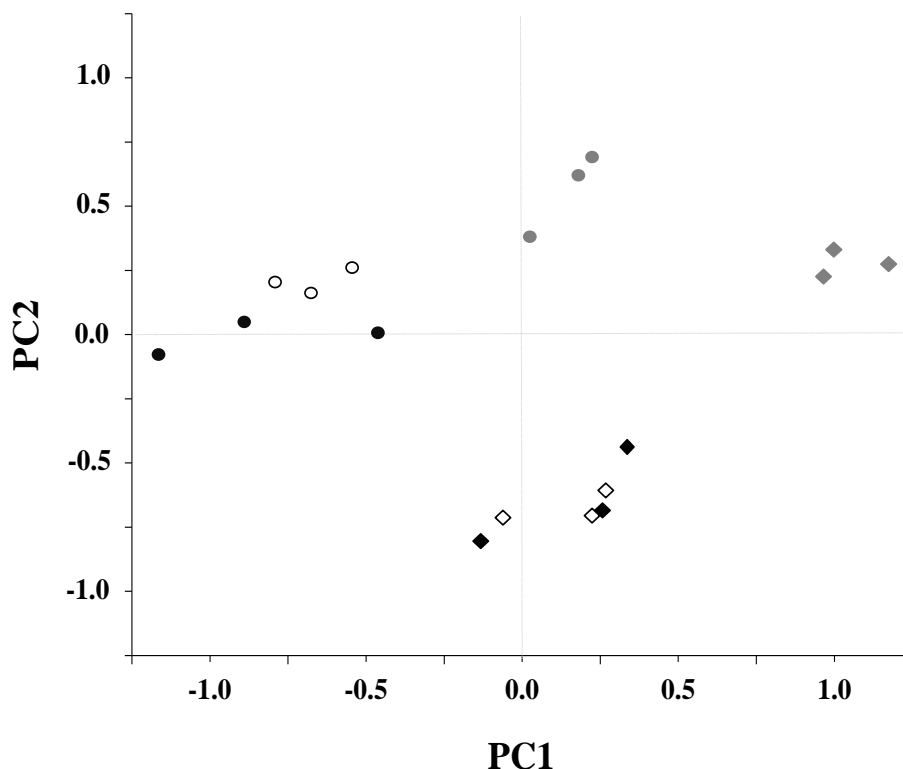
La actividad enzimática en hepatopáncreas fue significativamente afectada por las diferentes dietas de los grupos P/E (Tabla XXI). Se encontró que se encontraban significativamente elevados en langostinos alimentarios alimentados con una relación P/E de 18:1, 20:1, 22:1 respectivamente, en comparación con los otros tratamientos. La actividad de la amilasa y la lipasa no fue afectada por los niveles de proteína en la dieta y además, la actividad de las enzimas proteasa totales en el hepatopáncreas fue mayor con niveles superiores de proteína cruda. También se observó una disminución en la respuesta de todas las enzimas con el aumento de los niveles de lípidos en la dieta (14%). Sin embargo, los que recibieron 6 y 10% en cada nivel de lípidos tuvieron actividades de lipasa y amilasa estadísticamente similares.

**Tabla XXII.** Características hematológicas de juveniles de langostino de río (*M. americanum*) alimentados con dietas con diferente relación de P/E.

<b>Dietas</b>	<b>Glucosa (mmol L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Triglicéridos (mmol L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Colesterol (mmol L<sup>-1</sup>)</b>
Relación P/E (mg PC kJ <sup>-1</sup> EB g <sup>-1</sup> ) (PC/LP)			
17:1 (35:14)	0.54 ± 0.202 <sup>a</sup>	0.65 ± 0.007	0.84 ± 0.201 <sup>c</sup>
18:1 (35:10)	0.75 ± 0.215 <sup>a</sup>	0.79 ± 0.005	1.03 ± 0.173 <sup>b</sup>
19:1 (35: 6)	0.33 ± 0.281 <sup>b</sup>	0.65 ± 0.003	1.25 ± 0.297 <sup>a</sup>
20:1 (40:14)	0.64 ± 0.121 <sup>a</sup>	0.68 ± 0.001	1.25 ± 0.168 <sup>a</sup>
21:1 (40:10)	0.55 ± 0.221 <sup>a</sup>	0.58 ± 0.002	1.12 ± 0.213 <sup>ab</sup>
22:1 (40: 6)	0.24 ± 0.190 <sup>b</sup>	0.54 ± 0.003	0.94 ± 0.109 <sup>bc</sup>
Niveles de Proteína (%)			
35	0.54 ± 1.83	0.69 ± 0.076	1.04 ± 0.209
40	0.48 ± 1.83	0.60 ± 0.063	1.10 ± 0.151
Niveles Lípido (%)			
6	0.29 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.59 ± 0.010	1.10 ± 0.285 <sup>a</sup>
10	0.65 ± 0.19 <sup>a</sup>	0.69 ± 0.021	1.08 ± 0.091 <sup>ab</sup>
14	0.59 ± 0.11 <sup>a</sup>	0.66 ± 0.011	1.04 ± 0.201 <sup>b</sup>
Relación P/E*	0.0000	0.0602	0.0000
Proteína**	0.0700	0.0510	0.2100
Lípido**	0.0000	0.1505	0.0001
PxL**	0.0000	0.0821	0.0000

Los datos fueron expresados medias ± DE, de tres replicas. Valores en columna con superíndices iguales no muestran diferencia significativa (Duncan's test, P <0.05). \*Probabilidad para one-way ANOVA. \*\*Two-way ANOVA P-level.

Las características hematológicas relacionadas con el metabolismo en la hemolinfa de langostinos alimentados con diferentes interacciones entre la proteína de la dieta y los niveles de lípidos tuvieron un efecto significativo sobre las proporciones totales de P/E en la dieta (Tabla XXII). Las concentraciones totales de colesterol y glucosa en la hemolinfa fueron significativamente afectadas por las dietas que contenían diferentes niveles de relación P/E, con un aumento hasta 22:1 relación P/E. Sin embargo, no se encontró efecto del nivel de proteína en ninguna de las variables hematológicas. Los langostinos exhibieron las mayores concentraciones de colesterol total y glucosa en el nivel de lípidos de 10%. No se observaron diferencias significativas en los triglicéridos en todos los tratamientos y en los niveles de proteínas y lípidos en la dieta.



**Figura 15.** Prueba de multiplicadores de los dos primeros componentes principales del análisis de PCA de respuesta productiva, nutricional, composición química, hematológica, enzimas digestivas e histología del hepatopáncreas de juveniles de *M. americanum* después de 60 días cultivados. N=3, (rombo negro) 17:1 (35:14%), (rombo gris) 18:1 (35:10%), (rombo blanco) 19:1 (35:10%), (círculo negro) 20:1 (40:14%) (círculo gris) 21:1 (40:10%) y (círculo blanco) 22:1 (40:6%) relación P/E (mg PC kJ<sup>-1</sup> EB g<sup>-1</sup>) (PC/L).

Un Análisis de Componentes Principales (PCA) se realizó a partir de una matriz de covariables (usando sus multiplicadores como variable) para explorar la respuesta de los juveniles de *M. americanum* en función de la dietas (Fig. 15). Ambos (PC1 vs PC2) juntos explicaron el 57.21% de las diferencias en la respuesta productiva, nutricional, composición química, hematológica, enzimas digestivas y histología del hepatopáncreas. En PC1 las principales diferencias vinieron del peso, TCE, TEP. En PC2, las principales diferencias fueron del contenido bioquímico de los juveniles, tales como carbohidratos, lípidos y enzimas como proteasa y lipasa. La representación de relación P/E de 18 mg PC kJ<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup>, 35:10 % (PC/L), fueron recogidos (rombo gris) en la parte superior de la parcela a la derecha (altamente positivo para PC1 y PC2), por otro lado la relación P/E de 21 mg PC

$\text{kJ}^{-1} \text{g}^{-1}$ , 40:10 % (PC/L), fueron recogidos (círculo gris) alrededor del punto cero en la PC1, pero todavía positivo en la parte superior de la parcela a la derecha (altamente positivo para PC1 y PC2), no así para las restantes dietas, donde aquellas que tenían relación P/E de 20 y 22  $\text{mg PC kJ}^{-1} \text{g}^{-1}$  respectivamente, fueron negativo en PC1 para la mayoría de las réplicas. Aquellas que tenían relación P/E de 17 y 19  $\text{mg PC kJ}^{-1} \text{g}^{-1}$  respectivamente, fueron negativo la mayoría de las réplicas en la PC2.

## 8. Discusión

### 8.1 Experimento I. Cultivo larvario de *M. americanum* alimentados con *Artemia* enriquecida

En el cultivo de larvas de langostinos de río, la alimentación es crucial no sólo por ser esencial para la supervivencia, sino también porque la mayoría de los costos de producción están relacionados con los alimentos (Méndez-Martínez *et al.*, 2016). Ling (1962) observó que la falta de un alimento adecuado en términos de atractibilidad y calidad nutricional ha sido el principal problema a resolver en la producción de larvas de crustáceos. En comparación con los resultados presentados por Thinh *et al.* (1999), Lora-Vilchis *et al.* (2004) y Lavens *et al.* (2002), las dietas empleadas en el Experimento I presentan resultados adecuados.

En los resultados de este Experimento I se presentan diferencias significativas en el crecimiento y supervivencia de las larvas de *M. americanum*, entre los tratamientos D<sub>1</sub> y D<sub>3</sub> en comparación con D<sub>2</sub>. A las cuatro semanas del cultivo el mejor tratamiento fue con D<sub>1</sub>. A partir de la semana cinco los mejores resultados se presentan con el tratamiento D<sub>3</sub>. Una posible explicación de esto es el hecho de que la dieta D<sub>3</sub> (*Artemia* enriquecida con *C. calcitrans*) puede proporcionar a las larvas de *M. americanum* una mejor nutrición. De hecho, en el presente estudio la supervivencia fue mejor que la reportada por Reyes-Marchán y Hidalgo-Magallón (2001) para larvas de *M. americanum*, que utilizó las dietas de *Brachionus plicatilis* y nauplios de *Artemia* y puede mantener el cultivo hasta el Z<sub>II</sub>. Los mismos autores mencionaron que el método de Ling (1961) para las larvas de *M. rosenbergii* que usa náuplios de *Artemia* como alimento no es sustentable para el cultivo larvario de *M. americanum*. Las diferencias entre los estudios podrían deberse a la velocidad de alimentación, la densidad de cultivo, las propiedades nutrimentales del alimento y las diferencias entre los diseños experimentales.

Las microalgas han demostrado ser una buena opción en la dieta de larvas de langostinos que pueden mejorar la supervivencia incluso en los casos que se agregan al agua (Lober y Zeng, 2009). De hecho, la alta densidad de microalgas está relacionada con una mejor nutrición y, finalmente, un mejor crecimiento y una mayor supervivencia (Lober y Zeng,

2009). Sin embargo, la naturaleza carnívora de las larvas de langostinos de río requieren proteínas de origen animal, por lo que, los nauplios de *Artemia* enriquecidos con algas posiblemente cumplirán mejor sus requerimientos en comparación con sólo algas o nauplios como lo indican Lavens y Sorgeloos (2000) y Bhavan *et al.* (2010). Aquellos autores encuentran en los náuplios de *Artemia* enriquecidos con microalgas un buen alimento para las larvas de langostinos si hay ciertos AGPI presentes. Los nauplios de *Artemia* carecen de los ácidos grasos altamente insaturados (HUFA), como el ácido decosaheptaenoico (DHA) y el ácido eicosapentaenoico (EPA) que son importantes para la supervivencia de las larvas de crustáceos (Léger *et al.*, 1986). La importancia de estos ácidos grasos de las microalgas como nutrientes ha sido ampliamente reconocida (Cho *et al.*, 2001). En los langostinos, el DHA es uno de los PUFAs importantes, necesarios para mantener la integridad estructural y funcional en las membranas celulares, además de ser esenciales para el desarrollo neuronal y las funciones nerviosas durante el desarrollo larvario, mientras que AA y EPA participan en la producción y modulación de eicosanoides (Bown, 1994). Los ácidos grasos omega 3 y 6 con más de 18 carbonos son sintetizados principalmente por el fitoplancton marino y deben pasar a las larvas a lo largo del alimento junto con algunas vitaminas, pigmentos y esteroides (Lubzens *et al.*, 1995). También se requieren como fuente de energía y para el mantenimiento de la integridad funcional de biomembranas (Cho *et al.*, 2001; Karuppasamy, 2014). Por lo tanto, los ácidos grasos son esenciales para la mayoría de los procesos metabólicos y fisiológicos en los animales acuáticos (Saravana-Bhavan, 2010). Se ha observado, sin embargo, que enriquecer la *Artemia* no necesariamente mejora la supervivencia, particularmente durante la muda. Aun así, la supervivencia mejoró con D<sub>3</sub> en el presente trabajo. El éxito o el fracaso de una dieta a implica observar varios niveles de influencia de los alimentos; desde la captura, la ingestión, la asimilación y la calidad nutricional de los alimentos (Moller, 1978). Debido a esto, la atractibilidad de los alimentos es igualmente importante. Anger y Hayd (2009) afirmó que cuando un depredador es capaz de alimentarse de una presa grande, la ganancia de energía es mayor. Barros y Valenti (2003) observaron que las primeras cinco etapas de *M. rosenbergii* consumieron solamente el abdomen de *Artemia*, lo que sugiere que la presa pudo ser demasiado grande para que el depredador la coma en su

totalidad, aunque la pueda capturar. En este sentido, hay que considerar que, además del valor nutricional, cada etapa puede necesitar diferentes tipos de alimentos y la naturaleza de los alimentos vivos o preparados dependerá en última instancia de las habilidades y requerimientos particulares de cada etapa y especie. Por ejemplo, las larvas de *M. rosenbergii* han sido alimentadas sólo con *Artemia* (Lavens *et al.*, 2000), mientras que las larvas de *M. amazonicum* pueden tomar o no *Artemia* dependiendo del estadio (Araujo y Valenti, 2007).

La formulación de dietas que contienen altos niveles de HUFA se ha utilizado con éxito (Devresse *et al.*, 1990), por lo que se ha reconocido que su calidad puede mejorarse enriqueciendo con estos compuestos. Das *et al.* (2007) utilizaron *Moina micrura* enriquecida con emulsiones que contenían HUFA como alimento para PL de *M. rosenbergii* con buena supervivencia y crecimiento. Estudios de estadios de desarrollo larvario de *Macrobrachium spp.* Han determinado que las etapas iniciales son lecitotróficas, pero  $Z_{II}$  tiene un comportamiento lecitotrófico opcional, que sólo se vuelve completamente plantotrófico en las etapas posteriores (Roustaian *et al.*, 1999; Barros y Valenti 2003; Anger y Hayd 2009). Agard (1999) indica que en larvas de *M. amazonicum* las diferencias anatómicas y fisiológicas entre las etapas producen diferentes adaptaciones que afectan la supervivencia y el crecimiento pues requieren de un nuevo tipo de alimento y energía adicional. El presente estudio apoya esta explicación, ya que se observó que las larvas eran más voraces después de  $Z_{VII}$  y es posible que si no pueden alimentarse en esta etapa, alcanzarán el punto de no retorno propuesto por Anger y Hayd (2009).

En el presente trabajo, aunque las larvas con los tratamientos  $D_1$  y  $D_2$  no completaron el desarrollo larvario, se obtuvieron post-larvas con  $D_3$  como lo reportado por Arana-Magallón (1974) que también utilizó náuplios de *Artemia* con una mezcla de crema de huevo, levadura y vitaminas, huevos de pescado, harina de pescado y mariscos, e hizo dos cultivos de larvas encontrando diferencias en el tiempo de desarrollo considerando que estas diferencias podían relacionarse con la época del año o la calidad de los alimentos. Esto sugiere que el uso de náuplios enriquecidos podría ser aún más exitoso si se combina con alimentos preparados dependiendo de la etapa y se coincide con Yamasaki-Granados *et al.* (2013) que obtuvieron post larvas a los 50 y 84 días de cultivo y con Mónaco (1975),

que utilizando alimentos semi-cocinados (peces) y vivos (*Artemia*) y obtuvieron post larvas a los 54 días (24 días más que *M. rosenbergii*).

En el presente estudio también se observó con las dietas D<sub>2</sub> y D<sub>3</sub> que las larvas de Z<sub>I</sub> a Z<sub>III</sub> lograban mudar con éxito casi al mismo tiempo, facilitando mantener el cultivo. Sin embargo, a partir de Z<sub>IV</sub> se observó una metamorfosis asincrónica en estadios larvarios. Esto puede reflejar diferencias en la capacidad de algunas larvas para promover cambios fisiológicos debido al desarrollo de su fisiología digestiva como resultado de nuevas adaptaciones a nuevas formas de alimentos y piensos. Dado que esto afecta la asimilación de alimentos, puede afectar la supervivencia y el crecimiento. En el presente estudio, la TCE varió de 1.33 a 3.33 mm/semana (0.3 mm /d) y el mejor crecimiento se obtuvo con la dieta D<sub>3</sub>. Dado que todas las dietas tenían la misma atractibilidad, esto puede sugerir que esta dieta tiene una mejor calidad nutricional y energética en comparación con los otros tratamientos. La cantidad de ácido graso 22:6n3 (DHA) era baja en la dieta D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub>. Se ha demostrado que las dietas deficientes en DHA afectan a la composición de los ácidos grasos del tejido neural y disminuyen la eficiencia del forrajeo (Webster y Lovell 1990; Wantanabe 1993; Bell *et al.*, 1995). Las larvas del langostino de río son también depredadores visuales y por lo tanto es probable que una deficiencia de DHA pueda afectar su comportamiento de forrajeo temprano.

Aun considerando que los resultados del presente experimento mejoran el conocimiento sobre la nutrición de las larvas de *M. americanum*, se requieren más investigación en este campo, ya que la alimentación es un hecho importante que determina el éxito o el fracaso de la larvicultura.

## **8.2 Experimento II. Bioensayo con juveniles de *M. americanum* empleando diferentes niveles de proteína en dieta**

Con respecto a las dietas prácticas peletizadas que fueron formuladas, se utilizaron insumos con fuentes proteicas de origen animal y vegetal, disponibles regionalmente, analizados nutricionalmente, altamente digeribles con los estándares para las evaluaciones



nutricionales en diversas especies de crustáceos (Goda, 2008; García-Guerrero *et al.*, 2011; Ding *et al.*, 2015; Méndez-Martínez *et al.*, 2016).

La prueba de hidroestabilidad realizada al alimento peletizado permitió comprobar que los alimentos fueron elaborados correctamente según lo indicado por Obaldo *et al.* (2002), eliminando así posibles errores (al analizar las variables respuestas) que pudieran haber sido originados por la lixiviación de los ingredientes (perdiendo intratabilidad y palatabilidad) y disminución de su consistencia (desmoronamiento) antes de ser consumida por los juveniles. Ninguno de los ingredientes excedió del nivel de inclusión recomendado para dietas de crustáceos (Tacon, 1987; NRC, 2011), existiendo las propiedades físicas adecuada en las dietas peletizadas. Los datos presentados revelaron que a medida que se incrementa la proporción de la harina de trigo, aumenta la MSR, debido al alginato y el efecto de la temperatura durante el proceso de peletizado y secado del mismo, contribuye a que se forme una capa de recubrimiento y por ende mayor estabilidad en agua al reaccionar los azúcares provenientes principalmente de la harina de trigo. En este estudio la inclusión de harina de trigo fue inversamente proporcional a las harinas de pescado y calamar, trayendo consigo la disminución de la MSR conforme aumentó la proporción de estas dos harinas, atribuido a que estos últimos ingredientes son más ricos en proteínas que en carbohidratos. Respuesta similar fue encontrada en estudios de Cortés-Jacinto *et al.* (2003). El valor más bajo de MSR fue de 86.78% y se puede considerar aceptable dado a que estuvo dentro del rango de los valores reportados en estudios realizados por Gucic (2008), quien encontró resultados muy similares comparando dietas comerciales y experimentales con valores superiores al 86% de MSR, empleando el mismo método de Obaldo *et al.* (2002), obtuvo resultados similares (cerca del 80% de MSR a 25° C y cero UPS). La aceptación y consumo del alimento que se observó rutinariamente indica que las dietas tuvieron una aceptable hidroestabilidad. Un alimento estable en el agua contribuye a un mejor crecimiento y mejor tasa de conversión alimenticia comparado con los alimentos de menor estabilidad, debido a la lixiviación y pérdida parcial en su calidad nutricional antes de que el animal los consuma (Jussila, 1997). Con todas las dietas se observó un crecimiento alométrico en langostinos, lo que sugiere que todas las dietas eran adecuadas

para el desarrollo de organismos y fueron similares a los reportados por García-Guerrero y Apun-Molina (2008).

Se considera que la mezcla de proteínas de origen animal y vegetal proporciona una mejor ganancia de peso, dado a que tendrá más probabilidades de cumplir los requerimientos de aminoácidos de los organismos (Cortés Jacinto *et al.*, 2005; Jin *et al.*, 2013). En las formulaciones dietéticas prácticas para los langostinos, la proteína constituye uno de los mayores costos en términos de nutrientes e ingredientes. Para minimizar los costos de alimentación, es importante optimizar tanto el nivel de proteína en la dieta como asimilación (D'Abramo y New, 2000).

La supervivencia fue 100% en todos los tratamientos en *Experimento II*. La mayoría de investigaciones con la supervivencia superior al 80% se considera como aceptable. En *M. rosenbergii* alimentado con 35-40% PC se alcanzó un 93% (Teshima *et al.*, 2006) y de 70-90% en la supervivencia (Kabir-Chowdhury *et al.*, 2008). Para *M. tenellum*, alimentados con dietas que tenían 20-40% PC alcanzaron supervivencia de 96-100% (Espinosa-Chaurand *et al.*, 2012). La alta supervivencia depende de una alimentación adecuada, la cual puede depender en parte, de la dieta con suficiente proteínas, ya que las dietas con bajo contenido en proteínas son una de las principales causas de la alta mortalidad, en particular durante la muda (Kabir-Chowdhury *et al.*, 2008). El suministrar suficiente proteína permite un uso eficiente de este nutriente. Pudiendo incidir además otros aspectos de la estrategia de cultivo.

No se encontraron diferencias en la TCE en langostinos alimentados con dietas que contienen un 37.2 o 41.8% de PC, lo que sugiere que el requisito óptimo se produce en este intervalo, como también ocurrió con los juveniles de *M. rosenbergii* (D'Abramo y New, 2000; Teshima *et al.*, 2006; Kabir-Chowdhury *et al.*, 2008). Para juveniles de *M. idae* con pesos iniciales de  $0.32 \pm 0.060$  g,  $1.26 \pm 0.098$  g, y  $2.96 \pm 0.013$  g, el mejor crecimiento se alcanzó con las dietas que contienen 40.4, 38.2 y 36.4% de PC, respectivamente (Sundaravadivel *et al.*, 2015). Los tamaños más grandes en nuestro estudio, y la mejor respuesta se obtuvo con la proteína 37.2%. Parece ser que los requerimientos en proteínas disminuyen a medida que se incrementa el tamaño. Tal vez porque la velocidad de crecimiento en los juveniles de es mayor que en adultos y por lo tanto necesitan más

proteínas en su dieta (Guillaume, 1997). Las diferencias en las necesidades de proteínas entre nuestro trabajo y otros pueden ser explicadas por otros factores, entre ellos las diferentes especies, tamaño, densidad, diseño experimental, o de la calidad y el tipo de ingredientes en la dieta y el proceso de preparación, en especial la relación de proteínas y energía, composición de aminoácidos, digestibilidad de la proteína, así como la proporción de ingredientes que no son proteínas (Wilson, 2002; Teshima *et al.*, 2006; Huo *et al.*, 2014).

En nuestro estudio, la tasa de crecimiento más baja se encontró con el tratamiento de proteína bruta 30.7% y la ganancia de peso bajo pudo deberse al ayuno durante la muda y el uso de las reservas de proteínas para el nuevo exoesqueleto. Arana-Magallón y Ortega-Salas (2004) informan de que langostinos de río en condiciones de laboratorio tuvieron una tasa de crecimiento más baja que los de *M. rosenbergii*, durante periodos de cultivo de 70-280 días y bajo condiciones similares. El langostino de río cauque tiene a menudo un crecimiento heterogéneo y un desarrollo más lento (García-Guerrero y Apun-Molina, 2008), aunque especímenes de tamaño de mercado se pueden producir en cautiverio (Arana-Magallón y Ortega-Salas, 2004).

Conocer el requerimiento de proteína es importante debido a que cuando los crustáceos son alimentados con dietas con exceso de proteína, más  $\text{NH}_2$  y  $\text{NH}_3$  se encuentra en la hemolinfa. La digestión de exceso de proteína interfiere con el equilibrio de la presión osmótica y el transporte de oxígeno (entre otras variables fisiológicas) (Schmitt y Santos, 1998; Guzman *et al.*, 2001), lo que aumenta el costo metabólico de la excreción de nitrógeno y conduce a un crecimiento más lento (Vergara *et al.*, 1996). Según Goda, (2008), aminoácidos libres se acumulan en los fluidos corporales con ingesta excesiva de proteínas, causando toxicidad e interfiriendo con la mayoría de las funciones metabólicas. Este fue probablemente el caso de los juveniles alimentados con la dieta de proteína bruta 46.8%. Eventualmente, los compuestos se excretan causando la contaminación del agua.

Los resultados mostraron índices de eficiencia de proteínas de 0.17-0.26%, lo que se correlaciona con el índice de conversión, que fue más eficiente ( $2.15 \pm 0.263$ ) en el tratamiento de 37.2% PC; en comparación con los otros tratamientos alcanzándose significativamente más alto nivel de FCA ( $3.55 \pm 0.212$ ) con la dieta con 30.7% PC, lo que

sugiere que mayor nivel de proteína se utilizó para la producción de energía que el crecimiento. Resultados similares se produjeron con juveniles de *M. nipponense* (Zhang *et al.*, 2008), *M. tenellum* (Espinosa-Chaurand *et al.*, 2012), y *M. idae* (Sundaravadivel *et al.*, 2015).

Gupta *et al.* (2007) y Huo *et al.* (2014) consideran que los crustáceos obtienen más fácilmente energía del catabolismo de aminoácidos que de hidratos de carbono, pero cuando están disponibles los lípidos siguen siendo la principal fuente de energía. Debido a esto, el contenido calórico en las dietas debe estar bien equilibrado. En nuestro estudio, el contenido calórico varió de 18.14-18.49 kJ g<sup>-1</sup>.

No se presentaron diferencias significativas en el contenido de humedad e hidratos de carbono del análisis del cuerpo entero de los langostinos de río, entre los cuatro tratamientos. Algunos estudios indican que el contenido de agua en *M. rosenbergii* o *M. carcinus* no fue influenciado significativamente por el contenido de proteínas de la dieta (Gupta *et al.*, 2007; Goda, 2008; Saravana-Bhavan *et al.*, 2010; Benítez-Mandujano y Ponce-Palafox, 2014). En nuestro estudio, langostinos de río alimentados con la dieta de 37.2% PC contenían más hidratos de carbono en el análisis de todo el cuerpo, lo cual se correlacionó con el crecimiento final. El contenido de proteínas y lípidos en los langostinos enteros difirió significativamente entre los cuatro tratamientos. Resultados similares fueron reportados en juveniles de *M. rosenbergii* por Gupta *et al.* (2007), con 16.05 a 18.4% de proteínas y lípidos 1.66 a 1.96%, al igual que en otros estudios de *M. rosenbergii* (Goda, 2008; Kabir Chowdhury *et al.*, 2008), *M. amazonicum* (Portella *et al.*, 2013) y *M. carcinus* (Benítez-Mandujano y Ponce-Palafox, 2014). Hemos observado que todo el contenido de proteína y grasa corporal tendía a aumentar con un mayor contenido de proteína en la dieta, probablemente por un incremento en el catabolismo. El aumento de la dispersión de los datos en todo el contenido de la proteína del cuerpo de langostinos juveniles alimentados con 41.8% PC, en comparación con otros tratamientos podrían deberse a la variación en el proceso de catabolismo.

D'Abramo y New (2000) indican que en los requerimientos de proteína se tienen que considerar además el cálculo de la proporción de cada aminoácido esencial y el total de aminoácidos esenciales. En nuestro estudio, los perfiles de aminoácidos de todo el cuerpo

de los langostinos se vieron afectados significativamente por el contenido de proteínas de la dieta, en donde los aminoácidos esenciales correlacionados positivamente con la retención de proteínas e incremento en peso. Se debe tener en cuenta que la calidad proteica de una dieta está en función de su composición de AAE (Zhang *et al.*, 2008). Gurure *et al.* (2007) consideran que el valor nutricional de la proteína en la dieta depende de la similitud del perfil de aminoácidos en el alimento y el del organismo.

Por otra parte, se han encontrado diferencias entre las cantidades de aminoácidos existente entre los langostinos de agua dulce y camarones peneidos, pero las proporciones de los mismos son muy similares entre ambos grupos (D`Abramo y New, 2000). Estas diferencias de requerimientos de aminoácidos pueden deberse a la relación con la demanda osmoregulatoria de cada uno de estos ambientes (Gu *et al.*, 2013; Seenivasan *et al.*, 2014). Destacándose en este proceso los aminoácidos libres, tales como arginina, licina, leucina, glicina, prolina y ácido glutámico, los cuales a su vez van a estar presentes en altas concentraciones en los crustáceos (Seenivasan *et al.*, 2014). Esta aseveración fue corroborada con los resultados obtenidos en langostino malayo *M. rosenbergii* (D`Abramo y New, 2000; Keshavanath *et al.*, 2011; Seenivasan *et al.*, 2014), *M. amazonicum* (Portella *et al.*, 2013), *M. tenelum* (Espinoza-Chaurand *et al.*, 2012), así como los obtenidos por Karuppasamy *et al.* (2014) en *P. monodon* y *P. indicus*, quienes encontraron en mayor presencia los AAE la arginina, lisina y leucina. En el cangrejo *P. trituberculatos* (Jin *et al.*, 2013; Huo *et al.*, 2014), encontraron que la concentración de aminoácidos en organismos juveniles se correlacionó positivamente con la retención de la proteína corporal e incremento en peso. De igual modo se comportaron los resultados obtenidos en este trabajo, donde las dietas se formularon con la proporción proteica y los niveles de aminoácidos específicos recomendados para este grupo biológico.

En la osmorregulación, arginina, lisina y leucina están involucrados en cambios en la concentración iónica y debe estar presente en la hemolinfa de crustáceos en concentraciones apropiadas (Romano y Zeng, 2012).

Dado que se necesita agua y el equilibrio iónico para el crecimiento, muchos estudios han demostrado que las concentraciones de aminoácidos se correlacionan positivamente con la retención de proteínas y el crecimiento. Además, el contenido de proteínas de la dieta

óptima necesaria para cumplir con el requerimiento de proteínas debe ser cuidadosamente calculado en relación a las raciones de alimentación y calidad de la proteína, teniendo en cuenta que los langostinos son especies dulceacuícolas que pueden tener requisitos muy específicos. Puesto que todas las especies están adaptadas a condiciones particulares, el cultivo tendrá éxito solamente si se satisfacen los requisitos básicos. Dado que esto varía con cada especie, el cultivo y la dieta, deben ser investigados por separado para cada caso. Un estudio que considere el uso de la mejor dieta con muestras más grandes o muestras en diferentes condiciones fisiológicas, se debe realizar para obtener una mejor comprensión de los requerimientos de proteínas. Es importante realizar más investigación sobre el uso de diferentes tipos de proteínas de diferentes ingredientes, sobre todo los que están disponibles en la región en la que se ejecutan y preparan por diferentes procedimientos de cultivo. El estudio de la relación entre la asimilación de proteínas y el uso de los aditivos alimentarios también debe ser considerado.

### **8.3 Experimento III. Bioensayo con juveniles de *M. americanum* empleando diferentes niveles de proteína y energía en dieta**

En el presente experimento, se obtuvo buena supervivencia (94.45-100%) después de dos meses de cultivo. Teshima *et al.* (2006), Goda (2008) y Kabir Chowdhury *et al.* (2008) reportan resultados similares para la especie *M. rosenbergii*. Aunque el canibalismo es una causa importante de baja supervivencia de crustáceos durante la cría en el laboratorio, especialmente por el impacto de la nutrición en la frecuencia de muda de los langostinos, esto se ha evitado con la adición de refugios (tubos de PVC) en cada tanque (Mambrini y Guillaume, 2011; Méndez-Martínez *et al.*, 2016). El nivel óptimo de proteínas en la dieta de los langostinos es influenciado por la calidad de proteína en la dieta, el balance energético, la composición de aminoácidos y la digestibilidad de la proteína en las dietas. Las dietas con relación P/E (18:1), con 35% de CP y 10% de L mostraron los mejores resultados en términos de crecimiento y rendimiento productivo. El FCA fue más eficaz (1.81) en el tratamiento con 18 mg PC kJ<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup>, y no excedió 2.08 para ningún tratamiento. Resultados similares ocurrieron con *M. nipponense* juvenil (Zhang *et al.*, 2008; 2016), *M.*

*tenellum* (Espinosa-Chaurand *et al.*, 2012) y *M. idae* (Sundaravadivel *et al.*, 2015). Cualquier relación dietética inadecuada de P/E resulta en una menor utilización de proteínas y energía.

En juveniles de langosta de agua *Cherax quadricarinatus* alimentados con diferentes proporciones de P/E en la dieta no se observó diferencia significativa en el consumo de alimento, pero la diferencia significativa fue respecto al FCA (Cortés Jacinto *et al.*, 2005). En estudios indicados por Zhang *et al.* (2016) que *M. nipponense* se encontró como óptimo la dieta que contenía el nivel de la relación P/E 16.4:1. Pezzato *et al.* (2003) informaron que una relación P/E dieta de 23.3:1 para PL *M. amazonicum*, tenían el mejor FCA. Concluyeron que los índices de crecimiento y la utilización de alimento del langostino *M. amazonicum* dependen estrechamente de los contenidos de proteína y energía de la alimentación. La relación óptima P/E para el crecimiento de juveniles de langostino malayo fue reportada por El-Kholy (1995) que debía ser de 19.4:1-22:1. Sin embargo, Zaki *et al.* (2002) encontraron que una dieta que contenía una relación de P/E 23.2:1 apoyaba el crecimiento más rápido para juveniles de langostino malayo. Mitra *et al.* (2005) informaron que las dietas isocalóricas de 13.4 MJ kg<sup>-1</sup> que contenían CP de 35 - 40% (relación de 26.1 a 29.9 mg PC kJ<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup>) eran adecuadas para el crecimiento de langostino malayo en sistemas de agua clara que no contienen alimentos naturales. Teshima *et al.* (2006) estudiaron el nivel de proteína necesario para el mantenimiento y el incremento de proteína corporal para *M. rosenbergii* y mostraron que las dietas que contenían una relación P/E de 20.7:1 eran óptimas para el crecimiento del langostino. Goda (2008) concluyó que una dieta que contenía una relación P/E de 17:1 apoyaba el mejor rendimiento de *M. rosenbergii*. Sin embargo, los anteriores resultados contradictorios pueden atribuirse a la variación de la proteína alimentaria y la energía alimentada, etapa de la edad del langostino. En nuestro estudio, los mejores resultados de FCA, se obtuvieron a una menor relación de P/E (18:1), lo que es coherente con lo informado por Chuntapa *et al.* (1999), que el consumo excesivo de lípidos puede reducir el consumo de alimento debido a la excesiva energía alimentaria.

En nuestro estudio, la TCE se encontró de 2.10 a 1.79, la más lenta fue en el tratamiento con 20 mg PC kJ<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> (35% PC y 10% L). El bajo incremento de peso puede deberse al uso

de las reservas de energía debido a los procesos fisiológicos que se producen durante la ecdisis, estructuras con quitina como: mandíbulas, quijada y dientes del molino gástrico, los cuales no son funcionales debido a que se han regenerado recientemente y son blandos, causando limitación en la articulación mecánica para el proceso de alimentación. Una preocupación adicional son las dietas que tienen bajo contenido de lípidos.

Varios estudios también han demostrado que la energía dietética adicional proporcionada como lípido puede tener un efecto limitado en la eficiencia de la utilización de proteínas (D'Abramo y New, 2000), y puede afectar seriamente la tasa de crecimiento de animales cultivados bajo condiciones específicas. Se sabe que el exceso de lípidos en la dieta afecta adversamente las funciones metabólicas normales y disminuye el crecimiento y la supervivencia (Xu *et al.*, 2013; Rodríguez-González *et al.*, 2014). Por lo tanto, un exceso de energía contenido en la dieta causará una disminución en la ingesta de nutrientes, o conducirá a deposición excesiva de grasas en el langostino; mientras que con una baja densidad energética en la dieta, el langostino usará los nutrientes que se ofrecen en la ración para cubrir sus necesidades energéticas en lugar de canalizarlas para la síntesis de tejido y por lo tanto para el crecimiento. En nuestro estudio, el contenido calórico varió de 18-22 MJ g<sup>-1</sup>, que está en el rango recomendado para la mayoría de los crustáceos para NRC (2011). Los resultados del presente estudio demostraron que se presentó una relación entre el desempeño del crecimiento y el nivel de lípidos en la dieta, lo que indicó que había niveles específicos de lípidos en la dieta requeridos por las especie.

En general, las diferencias en la relación P/E óptima pueden existir entre las especies y las etapas de vida y la proteína desempeña un papel importante en el crecimiento de las especies de langostinos (Kabir-Chowdhury *et al.*, 2008; Davassi, 2011). La optimización de la relación P/E es ampliamente aceptada como un medio para ahorrar proteínas. Una disminución de la relación P/E se logra reduciendo los niveles de proteína en la dieta con o sin un aumento concomitante en el suministro de energía no proteica en la dieta y se demuestra que es extremadamente eficiente para mejorar la utilización de proteínas (nitrógeno).

Un mayor valor de las relaciones de eficiencia proteica indica una mejor calidad proteica. Los resultados mostraron relaciones de TEP de 1.20-1.52% se correlacionaron con la



proporción del FCA. Menos proteínas de la dieta (35%) fue significativamente más eficiente en langostinos para la síntesis de proteínas (TEP y RP), que es coherente con las observaciones de Zaki *et al.* (2002) en *M. rosenbergii* y Pezzato *et al.* (2003) en *M. amazonicum*. RP disminuyó significativamente con el aumento de los lípidos de la dieta y lo mismo para el nivel de proteínas en la dieta. Un componente de la proteína dietética puede ser metabolizado por energía cuando los nutrientes dietéticos de los carbohidratos y los lípidos no se asimilan adecuadamente (Hou *et al.*, 2014). Yu *et al.* (1990) y Benítez-Mandujano y Ponce-Palafox (2014) indicaron que el exceso de proteína se metaboliza en lugar de utilizarse para el crecimiento y que la proteína dietética a un nivel bajo podría ser utilizada eficientemente para la síntesis de proteínas en langostinos. La síntesis de la proteína en crecimiento refleja el catabolismo continuo de la proteína para la energía, en ausencia de cualquier efecto proteico de las proteínas a niveles altos de proteína (Tacon, 1987; D'Abramo y New, 2000).

Los langostinos juveniles alimentadas con dietas con niveles de lípidos (6%) y proteínas (35%) más bajas, dieron como resultado un aumento significativo de la RL en comparación con las otras dietas. Este resultado puede deberse a que los langostinos alimentados con dietas con los niveles de lípidos y proteínas más bajos tuvieron un mejor rendimiento de crecimiento y la RL mejoró de manera correlacionada. En nuestro estudio, los lípidos de 10% fueron óptimos para las especies en sistemas de agua clara. Los juveniles de langostinos alimentados con una dieta de relación P/E (17:1) probablemente no tuvieron suficiente energía disponible para ahorrar todas las proteínas para la formación de tejidos, dando como resultado una reducción del crecimiento. En algunos estudios con langostinos (Yu *et al.*, Goda, 2008; Zhang *et al.*, 2016) se ha observado una disminución en el peso más allá de la relación óptima P/E, donde la reducción en la retención de la proteína sintetizada parece ser una consecuencia del exceso de proteína dietética sobre la energía dietética (Huo *et al.*, 2014). En los crustáceos este desequilibrio resulta en una mayor degradación de proteínas y menor retención de proteínas sintetizadas (Cortés-Jacinto *et al.*, 2005). Además, se ha afirmado que los altos niveles de lípidos podrían reducir el crecimiento de los langostinos (Goda, 2008; Benítez-Mandujano y Ponce-Palafox, 2014). Similar reporte fue hecho por Cortés-Jacinto *et al.* (2005); Ward *et al.* (2003), Rodríguez-

González *et al.* (2014) en la langosta de agua dulce, con un aumento en el nivel de lípidos no resultó en una mayor TCE, lo que sugiere que el exceso de lípidos no se utiliza eficientemente como una fuente de energía para ahorrar proteína. Además, la dieta con altos niveles de lípidos era lo que podría inhibir la digestión y utilización de proteínas, lo que podría indicar que la función de los lípidos en la preservación de la proteína es limitada. Sin embargo, los lípidos son extremadamente importantes en el mantenimiento de la integridad estructural y fisiológica de las membranas celulares y subcelulares, considerada la mejor fuente de los productores de energía del cuerpo a través del metabolismo. Proporcionan una fuente de nutrientes indispensables y actúan como portadores de ciertos nutrientes no grasos, en particular las vitaminas liposolubles como A, D, E y K (Ricardo *et al.*, 2003; Saravana-Bhavan *et al.*, 2010).

Por otro lado, las cantidades excesivas de lípidos en la alimentación afectarán significativamente la composición del cuerpo entero de los langostinos, lo que resultará en un aumento significativo en la cantidad de grasa corporal, probablemente debido a un proceso metabólico inadecuado. La concentración de lípidos, proteínas y carbohidratos en todo el cuerpo mostró algunas diferencias significativas en comparación con dietas diferentes. No se observaron diferencias significativas en el contenido de humedad en los análisis de todo el cuerpo. Uno de los requisitos principales del cultivo del langostino es la transformación de la proteína dietética en proteína tisular. La proteína en todo el cuerpo se correlacionó con el aumento de la relación P/E, y el nivel de proteína en la dieta, probablemente a partir de un aumento en el catabolismo. Otros decápodos como la langosta de río *C. quadricarinatus* (Cortés-Jacinto *et al.*, 2003) y el camarón blanco *L. vannamei* (Hu *et al.*, 2008) tuvieron respuestas similares, que reflejan el efecto de la relación P/E y el contenido de proteína y lípidos por los crustáceos. Con respecto al contenido de carbohidratos en el cuerpo entero se encontraron más en el tratamiento que produjo mayor TCE, lo que podría deberse a que los crustáceos tienen la capacidad de sintetizar carbohidratos (por ejemplo, glucosa) a partir de sustratos tales como proteínas y lípidos por medio de la gluconeogénesis (Tacon, 1987; Xiao *et al.*, 2014).

El hepatopáncreas se utiliza para monitorear diversas actividades de salud y metabolismo, el mismo está compuesto de numerosos túbulos epiteliales y cada túbulo constituido por

diferentes tipos de células epiteliales (Franceschini-Vicentini *et al.*, 2009; Calvo *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2016). En *M. americanum* aún no existe nada reportado al respecto. El análisis histológico del hepatopáncreas apoyó las tendencias en el mayor crecimiento y la utilización de alimento con langostino alimentado con relación P/E (18:1) con 10% de lípido en la dieta. Bajo las mejores condiciones nutricionales, se observaron células hepatopancreáticas completas, con estructura bien definida, mientras que aquellas alimentadas con dietas de nivel lipídico de 14%, mostraron células de forma comprimida o inconsistente. Los estudios ultraestructurales e histoquímicos realizados con diferentes especies de crustáceos indican que cada tipo de célula tiene un papel específico en la actividad del hepatopáncreas, incluyendo la síntesis y secreción de enzimas digestivas. Se identificaron cuatro tipos de células, las células F (fibrilares) sintetizan los gránulos de zimógeno que se exocitan en el lumen de los túbulos y se transportan al estómago (Al-Mohanna y Nott, 1987; Vogt, 1993); las células F y B (tipo ampollas) difieren en su localización a lo largo del túbulo hepatopancreático de *M. americanum* cuando se comparan con estudios previos en otras especies del mismo género (Franceschini-Vicentini *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2016). Según la literatura, estos dos tipos de células son la misma célula, en diferentes etapas de la fisiología digestiva de algunas especies de crustáceos (Hu y Leung, 2007; Xiao *et al.*, 2014; Ribeiro *et al.*, 2016), este tipo celular (F) tiene una alta tasa de síntesis de proteínas y es el único sitio de producción de enzimas digestivas que se liberan periódicamente después de la ingestión de alimentos por apocrina, holocrina o secreción merocrina, dependiendo de la especie y su estado nutricional (Al-Mohanna y Nott, 1989; Johnston *et al.*, 1998; Lehnert y Johnson, 2002, Hu y Leung, 2007). La fusión de vesículas en el citoplasma y la absorción de nutrientes de la luz promueven un cambio en la identificación de las células F a las células B (Al-Mohanna y Nott, 1989; Lehnert y Johnson, 2002; Hu y Leung, 2007).

Las células B son responsables de la digestión intracelular, y el material absorbido se acumula en las vacuolas digestivas. Los aminoácidos de la ruptura dejan las vacuolas como moléculas difusibles y se transportan a la célula R y luego a la hemolinfa (Hu y Leung, 2007). El material soluble es absorbido por las células R, pero la función digestiva principal es llevada a cabo por las células B que asimilan los nutrientes por endocitosis de

sus vacuolas (Al-Mohanna y Nott, 1987; Vogt, 1993; Calvo *et al.*, 2011). En nuestro estudio, el tamaño y el número de células B incrementó significativamente con el nivel de lípidos de 10%, lo que correspondía con la tendencia del IHS, FCA y enzimas digestivas. Estos resultados indican que las condiciones nutricionales de los langostinos alimentados con altos niveles de dietas lipídicas (14%) son más limitadas que las de 10 y 6% de lípidos. Esto puede deberse a la limitada capacidad del langostino para utilizar los lípidos, lo que puede ser debido al carácter hidrófobo de las grasas que tienden a resistir la digestión. Por otro lado, el aumento de las células B puede haber facilitado la endocitosis. Estas observaciones difieren de las de Gibson y Baker (1979) y Caceci *et al.* (1988) que afirman que son las células B, la fuente de las enzimas para la digestión extracelular.

Johnston *et al.* (2003) encontraron que la atrofia del túbulo se producía junto con una disminución de la vacuolación en las células R, cuando los juveniles de *Jasus edwardsii* eran alimentados con una dieta no óptima y se cree que es una función del estrés nutricional. La función de almacenamiento en hepatopáncreas es llevada por las células R. Las células R almacenan lípidos, trazas de elementos de glucógeno y material de reserva como glicoproteínas, pero en menor cantidad (Al-Mohanna y Nott, 1987; Vogt, 1993; Zhang *et al.*, 2016). Estas reservas pueden mobilizarse para proporcionar energía durante los períodos de inanición y de muda. Al final del ciclo digestivo las células E (embrionarias) se dividen por mitosis y regeneran la pérdida de células B y células R (Al-Mohanna y Nott, 1987). Las células B están implicadas en la deposición de material fecal por secreción holocrina después de la etapa de digestión y asimilación intracelular (Vogt, 1993; Ribeiro *et al.*, 2016). El ciclo digestivo en hepatopáncreas toma por lo menos 24 horas después de la ingestión de los alimentos. Esto sugiere que un langostino bien alimentado tendrá la glándula con suficiente quimo para envolver las partículas producidas por la masticación o digestión primaria realizada en el estómago para ser digerido y asimilado.

La morfología del hepatopáncreas en estos grupos es normal, con los túbulos bien dispuestos, sin embargo, se encontró una diferencia significativa en el diámetro y el área de los túbulos, que se correlacionó con el tamaño de las células B. Estas diferencias pueden deberse a la capacidad variable de utilizar lípidos en los crustáceos. Zhang *et al.* (2016),

informó que las células B aumentaron en el hepatopáncreas de los túbulos en *M. nipponense* a niveles de lípidos más altos en la dieta. Esto podría indicar que alta tasa de síntesis y liberación de enzimas digestivas y antioxidantes aceleran la movilización de nutrientes en los túbulos del hepatopáncreas, por lo que se suministra más energía para la osmorregulación para adaptarse al estrés ambiental.

Las enzimas digestivas juegan un papel central en la fisiología digestiva y regulan el ciclo de muda y la tasa de crecimiento de los crustáceos (Radhakrishnan *et al.*, 2016). La presencia y variación de la proteína y lípidos en la dieta también pudo estimular de alguna manera las enzimas endógenas producidas por el langostino de río. El análisis histológico del hepatopáncreas y las enzimas digestivas apoyaron las tendencias en el crecimiento y la utilización de alimento, con langostinos alimentados con 35% proteína y 10% de lípidos (18:1, relación P/E). En nuestro estudio, la actividad de proteasa, lipasa y amilasa presento diferencias significativas entre seis tratamientos, lo que implica que diferentes relaciones P/E pueden tener una gran influencia sobre la secreción y la actividad de las enzimas digestivas, lo que podría haber llevado a una digestión mejorada y mayor absorción del alimento, seguido por la mejora de la supervivencia y el crecimiento. Cuando los langostinos fueron alimentados con dietas con niveles de lípidos inferiores a 10%, la actividad específica de lipasa y amilasa aumentó significativamente con el nivel de lípidos de la dieta, lo que puede demostrar un aumento de la capacidad digestiva de los lípidos. Sin embargo, la actividad de la lipasa se saturó a un nivel lipídico dietético de 14%, pudiendo indicar que la digestibilidad del lípido en esta especie estaba limitada por las características del sustrato de enzima lipasa. Por lo tanto, esto puede explicar en parte por qué el mayor rendimiento de crecimiento se presneto con 10% de lípidos. Estos resultados muestran que la actividad de la amilasa no influyó directamente en la tasa de crecimiento y respuesta productiva de *M. americanum*. Estudios previos han demostrado que las actividades de las enzimas digestivas a veces pueden reflejar directamente la capacidad de absorción y utilización de nutrientes, pero no el rendimiento del crecimiento (Muralisankar *et al.*, 2015; Radhakrishnan *et al.*, 2015). Estos valores están en correspondencia con los encontrados en *M. rosenbergii*, por Radhakrishnan *et al.* (2016), Mohan *et al.* (2016) y Muralisankar *et al.* (2016).

Los crustáceos decápodos tienen un sistema circulatorio de vaso abierto, de tal manera que se considera que el transporte interorgánico de nutrientes, incluidos los lípidos, se realiza a través de la hemolinfa (Rosas *et al.*, 2001; Zhou *et al.*, 2007, 2010). Los lípidos dietéticos altos afectan al metabolismo lipídico normal de los animales (catabolismo y oxidación) y el exceso de lípidos se depositan en el hepatopáncreas y el músculo (Chuntapa *et al.*, 1999; Cui *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016).

La lipasa y la amilasa pueden ayudar a usar la hidrólisis que produce triglicéridos y glucosa en el hepatopáncreas, que se libera lentamente en la hemolinfa y luego se utiliza como fuente de energía metabólica (ATP) en los tejidos (Zhou *et al.*, 2010; Radhakrishnan *et al.*, 2016). En este caso, altos niveles de lípidos pueden actuar y reducir la absorción de aminoácidos, lo que conduce a un pobre rendimiento de crecimiento, dado que los niveles anormales puede limitar la utilización de macro-nutrientes e inhibir la absorción de aminoácidos, péptidos y ácidos grasos en el intestino, lo que puede perderse a través de la excreción fecal.

El contenido de triglicéridos, glucosa y colesterol total en hemolinfa en crustáceos se relacionaron con la salud animal (Huo *et al.*, 2014). Las características hematológicas de las concentraciones de glucosa y colesterol en la hemolinfa fueron significativamente afectadas por la relación P/E y los niveles de proteínas y lípidos en la dieta, y mostraron una correlación positiva con la retención y el crecimiento de lípidos. Coincidiendo con Rosa *et al.* (2001), sobre que la condición nutricional del alimento que afecta la concentración de glucosa en hemolinfa. Estos autores asumieron que después de la alimentación ocurre un transporte rápido y masivo de moléculas orgánicas (es decir, productos digestivos como glucosa) del intestino a la hemolinfa.

El colesterol en la hemolinfa se asocia con el nivel de lípidos en la dieta, lo cual es consistente con lo reportado en *L. vannamei* (Hu *et al.*, 2008), *P. clarki* (Huo *et al.*, 2014) y *M. nipponense* (Zhang *et al.*, 2016). Sin embargo, no hubo diferencias significativas en la concentración de triglicéridos en hemolinfa entre todos los tratamientos, esto también fue observado por Huo *et al.* (2014). El efecto de las proporciones de P/E en la dieta sobre los constituyentes de la hemolinfa y la salud del langostino de cauque debe ser evaluada en el futuro.

El análisis de principales componentes (PCA), permitió corroborar la tendencia observada con el empleo de ANOVA. En langostinos, el contenido óptimo de proteínas y lípidos en la dieta es necesario para satisfacer el requerimiento diario de P/E debe ser cuidadosamente analizado en relación con la estabilidad del agua, raciones de alimentación y calidad de proteína, considerando que los langostinos son especies dulceacuicolas que pueden tener requisitos muy específicos para el éxito de su cultivo.

En su conjunto, estos resultados enfatizan la necesidad de un estudio adicional de la composición de la relación P/E y la actividad enzimática extracelular bajo diferentes prácticas de manejo y sugieren la posibilidad de manipular proteínas y lípidos en la composición de la dieta que influyan sobre la actividad enzimática extracelular para lograr un mejor crecimiento y desarrollo en el cultivo del langostino de río *M. americanum*.

## 9. Conclusiones

Con los resultados de la presente investigación se aceptan la hipótesis planteadas, atendiendo a que se encontró que con las dietas empleadas se alcanzan diferencias en larvas y juveniles de *M. americanum* en marcadores zootécnicos, nutricionales, bioquímicos e histológicos.

Las condiciones generales de las evaluaciones experimentales realizadas fueron satisfactorias, y cumplen con los estándares definidos para evaluaciones nutricionales en crustáceos decápodos.

Las larvas de langostinos alimentados con *Artemia* enriquecida con *C. calcitrans*, mostraron mejor respuesta en crecimiento y supervivencia con respecto a los demás tratamientos, encontrado poslarvas durante las semana nueve.

Partiendo de las condiciones experimentales aquí establecidas los juveniles de *M. americanum* alimentados con 37.2% PC se desarrollaron más rápido que organismos que fueron alimentados con niveles diferentes de este nutriente y se corroboró por medio del modelo de regresiones de dos líneas de línea discontinua como requerimiento óptimo de PC.

Los resultados revelaron que una relación P/E en la dieta de 18 mg PC kJ<sup>-1</sup> EB g<sup>-1</sup> apoya el rendimiento de crecimiento y la utilización de nutrientes dietéticos, para *M. americanum* juvenil. Además, se logró una proteína dietética ahorradora con lípidos dietéticos para la dieta que contenía 35% PC y 10% lípido, pudiéndose establecer como formulación de alimento adecuada para *M. americanum*. Lo cual también se corrobora por medio de un análisis de componentes principales (PCA) utilizando la matriz de covarianza.



## 10. Literatura citada

- Abatzopoulos, T. J., N. Agh, G. Van Stappen, S. M. Rouhani, P. Sorgeloos. 2006. *Artemia* sites in Iran. J. Mar. Biol. Assoc. UK. 86(02):299-307.
- Abdel-Salam, H. A. 2014. Amino acid composition in the muscles of male and female commercially important crustaceans from Egyptian and Saudi Arabia coasts. Am. J. Biosci. 2:70-78.
- Agard, J. B. 1999. A four-dimensional response surface analysis of the ontogeny of physiological adaptation to salinity and temperature in larvae of the palaemonid shrimp *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). J. Ex. Mar. Biol. Ecol. 236(2):209-233.
- Akiyama, D. M., W. G. Dominy, L. L. Addison. 1991. Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry. In: Akiyama, D. M., R. K. Tan. (eds). Proceedings of the aquaculture feed processing and nutrition workshop. American Soybean Association. Singapore. pp 80-98.
- Al-Hafedh, Y. S. 2007. Effects of dietary protein level on growth, feed conversion, and protein efficiency ratio of freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, in Outdoor Concrete Tanks. J. Appl. Aquacult. 19:51-60.
- Al-Mohanna, S. Y., J. A. Nott. 1987. R cells and the digestive cycle in *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda). Mar. Biol. 95:129-137.
- Al-Mohanna, S. Y., J. D. Nott. 1989. Function cytology of the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda) during the moult cycle. Mar. Biol. 101:535-544.
- Anger, K., L. Hayd. 2009. From lecithotrophy to planktotrophy: ontogeny of larval feeding in the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum*. Aquatic. Biology. 7(1):19-30.
- Anh, N. T. N., T. T. T. Hien, W. Mathieu, N. V. Hoa, P. Sorgeloos. 2009. Effect of fishmeal replacement with *Artemia* biomass as a protein source in practical diets for the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Aquac. Res. 40(6):669-680.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2000. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 17th edn. AOAC, Gaithersburg, Maryland, USA. 1234p.
- Arana, M. F. 1974. Experiencias sobre el cultivo de langostino (*Macrobrachium americanum* Bate) en el Noroeste de México. In: Dupree, H. K., K. S. Price Jr, W. N. Shaw, K. S. Danberg (eds.). Actas del Simposio sobre Acuicultura en América Latina. Rome: Documentos de investigación. FAO. pp 139-147.

- Arana-Magallón, F. C., A. A. Ortega-Salas. 2004. Rearing of the cauque prawn under laboratory conditions. *N. Am. J. Aquacult.* 66:158-161.
- Arana-Magallón, M. F. 1977. Experiencias sobre el cultivo del langostino *Macrobrachium americanum* Bate, en el noroeste de México. *Actas del Simposio sobre Acuicultura en América Latina; FAO Fish. Rep.* 1(1591):139-147.
- Arredondo-Vega, B. O., D. Voltolina. 2007. Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S.C., La Paz, BCS, México. 97p.
- Atkinson, J. M. 1973. The larval development of the freshwater prawn *Macrobrachium lar* (Fabricius) reared in the laboratory. Thesis (Master of Science in Zoology). Honolulu. Hawaii. University of Hawaii. 122 p.
- Atkinson, J. M. 1977. Larval development of a freshwater prawn, *Macrobrachium lar* (Decapoda, Palaemonidae): reared in the laboratory. *Crustaceana.* 33(2):119-132
- Banerjee, S., M. C. Ooi, M. Shariff, H. Khatoon. 2012. Antibiotic Resistant *Salmonella* and *Vibrio* Associated with Farmed *Litopenaeus vannamei*. *Sci. World. J.* 12:1-6.
- Barnes, H., J. Blackstock. 1973. Estimation of lipids in marine animals and tissues: detailed investigation of the sulphophosphovanillin method to total lipids. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 12:103-118.
- Barros, H. P., W. C. Valenti. 2003. Food intake of *Macrobrachium rosenbergii* during larval development. *Aquaculture.* 216(1):165-176.
- Bell, M.V., R. S. Batty, J. R. Dick, K. Fretwell, J. C. Navarro, J. R. Sargent. 1995. Dietary deficiency of docosahexaenoic acid impairs vision at low light intensities in juvenile herring (*Clupea harengus L.*). *Lipids.* 30:443-449.
- Benítez-Mandujano, M. A., J. T. Ponce-Palafox. 2014. Effects of different dietary of protein and lipid levels on the growth of freshwater prawns (*Macrobrachium carcinus*) broodstock. *Rev. MVZ. Cordoba.* 19(1):3921-3929.
- Bhavan, P. S., V. G. Devi, R. Shanti, S. Radhakrishnan, R. Poongodi. 2010. Basic biochemical constituents and profiles of amino acids in the post larvae of *Macrobrachium rosenbergii* fed with *Spirulina* and Yeast enriched *Artemia*. *J. Sci. Res.* 2(3):539.
- Brown, M. F. 1994. Modulation of rhodopsin function by properties of the membrane bilayer. *Chem. Phys. Lipids.* 73:159-180

- Brown, M. R., S. W. Jeffrey, J. K. Volkman, G. A. Dunstan. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*. 151:315-331.
- Cabrera-Jiménez, J. A., C. Chávez, C. Martínéz. 1979. Fecundidad y cultivo de *Macrobrachium tenellum* (Smith) en el laboratorio. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Sér. Zool.* 50:127-152.
- Caceci, T., K. F. Neck, D. H. Lewis, R. F. Sis. 1988. Ultrastructure of the hepatopancreas of the pacific White shrimp *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda). *J. Mar. Biol. Assoc. UK.* 68:323-337.
- Calvo, N. S., L. Stumpf, S. Pietrokovsky, L. S. López Greco. 2011. Early and late effects of feed restriction on survival, growth and hepatopancreas structure in juveniles of the red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Aquaculture*. 319:355-362.
- Campaña, T. A., L. R. Martínez-Cordova, H. Villarreal-Colmenares, R. Civera-Cerecedo. 2006. Carbohydrate and lipid digestibility of animal and vegetal ingredients and diets for juvenile Australian redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus*. *Aquacul. Nutr.* 12(2):103-109.
- Casillas-Hernández, R., F. Magallón, G. Portillo, O. Carrillo, H. Nolasco, F. Vega-Villasante. 2002. La actividad de proteasa, amilasa y lipasa durante los estadios de muda del camarón azul *Litopenaeus stylirostris*. *Rev. Invest. Mar.* 23(1):35-40.
- Castro, J., T. Castro, J. Sánchez, G. Castro, A. Castro, J. Zaragoza, M. del C Monroy. 2006. Cysts and nauplii biometry characteristics of seven *Artemia franciscana* (Kellog, 1906) populations from Mexico. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.* 41(2):187.
- Castro, M. J., S. A. Malpica, G. S. A. Rodríguez, B. T. Castro, A. R. De Lara. 1995. Análisis morfológico de *Artemia* spp. en las salinas "Las Coloradas", Oaxaca, México. *Oceanología*. 2:116-128.
- Castro, T., C. Gallardo. 1993. *Artemia* sp. División deficiencias biológicas y de la salud. Departamento el Hombre y su Ambiente. Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México, DF., México.
- Cebreros, Á. R., M. García-Guerrero, P. A. Molina, A. S. Miranda. 2013. A preliminary assay on the mixed culture of red Florida tilapia and freshwater prawn *Macrobrachium americanum* stocked in outdoor tanks at different tilapia densities. *J. Agric. Sci.* 4(7):345-352.
- Chen, J. C., Y. Lee. 1997. Effects of nitrite exposure on acid-base balance, respiratory protein, and ion concentrations of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* at low pH. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 33(3):290-297.

- Cho, S. H., S. B. Hur, J. Y. Jo. 2001. Effect of enriched live feeds on survival and growth rates in larval Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* Hilgendorf. *Aquac Res* 32:199-208.
- Choudhury, P. C. 1970. Complete larval development of the Palaemonid shrimp *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) reared in the laboratory. *Crustaceana*. 18(2):113-132.
- Choudhury, P. C. 1971a. Laboratory rearing of larvae of the palaemonid shrimp *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836). *Crustaceana*. 21:113-126.
- Choudhury, P. C. 1971b. Responses of larval *Macrobrachium carcinus* (L.) to variations in salinity and diet (Decapoda, Palaemonidae). *Crustaceana*. 20:113-120.
- Choudhury, P. C. 1971c. Complete larval development of the Palaemonid shrimp *Macrobrachium carcinus* (L.): reared in the laboratory (Decapoda, Palaemonidae). *Crustaceana*. 20(1):51-69.
- Chuntapa, B., S. Piyatiratitivorakul, C. Nitithamyong, V. Viyakarn, P. Menasveta. 1999. Optimal lipid: carbohydrate and protein: energy ratios in semi-purified diets for juvenile black tiger shrimp *Penaeus monodon* Fabricius. *Aquac. Res.* 30:825-830.
- CONAPESCA (Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca). 2011. Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca. México, D.F. 65p.
- Cortés-Jacinto, E. 2003. Definición de los requerimientos nutricionales de juveniles y preadultos de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*, con especial énfasis en la relación Proteína/ Lípido. Tesis (Doctor en Ciencias en Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales). La Paz, B. C. S., México. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. 104 p.
- Cortés-Jacinto, E., A. I. Campa-Córdova, F. Ascencio, H. Villareal-Colmenares, R. J. Holguín-Peña. 2009. The effect of protein and energy level sin diet on the antioxidant activity of juvenile redclaw *Cherax quadricarinatus* (von Martens, 1868). *Hidrobiologica*. 19(2):77-83.
- Cortés-Jacinto, E., H. Villareal-Colmenares, L. E. Cruz-Suárez, R. Civera-Cerecedo, L. R. Martínez-Córdova. 2005. Effect of different dietary protein and lipid levels on growth and survival of juvenile Australian redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens). *Aquacul. Nutr.* 11(7):283-291.
- Cortés-Jacinto, E., H. Villarreal-Colmenares, R. Civera-Cerecedo, L. R. Martínez-Córdova. 2003. Effect of dietary protein level on growth and survival of juvenile freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). *Aquacul. Nutr.* 9:207-213.

- Cortés-Jacinto, E., H. Villarreal-Colmenares, R. Civera-Cerecedo, J. Naranjo-Páramo. 2004. Effect of dietary protein level on the growth and survival of pre-adult freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens) in monosex culture. *Aquac. Res.* 35:71-79.
- Cruz-Suárez, L. E., P. P. Ruíz-Díaz, E. Cota-Cerecer, M. G. Nieto-López, C. Guajardo-Barbosa, M. Tapia-Salazar, D. Villarreal-Cavazos, D. Ricque-Marie. 2006. Revisión de algunas características físicas y control de calidad de alimentos comerciales para camarón en México. En: Memorias del Simposio Internacional de Nutrición Acuícola (8º, 2006, Nuevo León, México). Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey. pp. 330-370.
- Cuartas, E. I., A. C. Díaz, A. M. Petriella. 2002. Estudio morfológico e histológico del hepatopancreas del langostino *Pleoticus muelleri* (Bate) (Crustacea, Penaeoidea). *Rev. Invest. Desarr. Pesq.* 15:5-13.
- Cui, Y., Q. Ma, S. M. Limbu, Z. Du, N. Zhang, E. Li, L. Chen. 2016. Effects of dietary protein to energy ratios on growth, body composition and digestive enzyme activities in Chinese mitten-handed crab, *Eriocheir sinensis*. *Aquac. Res.* doi: 10.1111/are.13061.
- Cuzon, G., J. Guillaume. 1997. Energy and Protein: Energy Ratio. In: D'Abramo, L. R., D. E. Akiyama, (eds.). *Crustacean Nutrition*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, L. A. pp 51-70.
- D'Abramo, L. R., M. B. New. 2000. Nutrition, feeds and feeding. In: New M. B., W. C. Valenti. *Freshwater prawn culture. The farming of *Macrobrachium rosenbergii**. Blackwell Science Ltd Editorial. pp 201-223.
- D'Abramo, L., S. D. J. Sheen. 1996. Requerimientos nutricionales, formulación de dietas, y prácticas alimenticias para el cultivo intensivo del langostino de agua dulce *Macrobrachium rosenbergii*. Memorias del Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, (Mendoza, R., Cruz, S. E. Ricque, D. (eds): Monterrey, México. N. L. pp. 81-101.
- D'Abramo, L. R., D. E. Conklin. 1995. New developments in the understanding of the nutrition of penaeid and caridean species of shrimp. In: *Swimming through troubled water, Proceedings of the special session on shrimp farming*. *Aquaculture.* 95:95-107.
- D'Abramo, L. R., S. S. Sheen. 1994. Nutritional requirements, feed formulation, and feeding practices for intensive culture of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Rev. Fish. Sci.* 2(1):1-21.

- D'Abramo, R. L. 1998. Nutritional Requirements of the Freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii*: Comparisons with Species of Penaeid shrimp. Fish. Sci. 6:153-163.
- D'Abramo, R. L. 2015. Preharvest Feeding Strategy to Enhance Long-Chain Polyunsaturated and Polyunsaturated Fatty Acid Composition of the Tail Muscle of Freshwater Prawns *Macrobrachium rosenbergii* Grown in Earthen Ponds. N. Am. J. Aquacult. 77:1-7.
- Das, S. K., V. K. Tiwari, G. Venkateshwarlu, A. K. Reddy, J. Parhi, P. Sharma, J. K. Chettri. 2007. Growth, survival and fatty acid composition of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879) post larvae fed HUFA-enriched *Moina micrura*. Aquaculture. 269(1):464-475.
- Davassi, A. L. 2011. Survival and growth of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* in relation to different nutrients composition. J. Fish. Aquat. Sci. 6:649-654.
- Deru, J., S. McColgan, K. Ahmed, D. A. Jones. 1989. Requirement for dietary HUFA in the larval culture of *Macrobrachium rosenbergii* and other caridean larvae. Aquaculture. 89:12-18.
- Devresse, B., M. S. Romdhane, M. Buzzi, J. Rasowo, P. Léger, J. Brown, P. Sorgeloos. 1990. Improved larviculture outputs in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* fed a diet of *Artemia* enriched with n-3 HUFA and phospholipids. J. World. Aquac. Soc. 21:123-125
- Dhont, J., G. Van Stappen. 2003. Biology, Tank Production and Nutritional Value of *Artemia*. In: Josianne, G., A. Støttrupm Lesley (eds.). Live Feeds in Marine Aquaculture. McEvoy by Blackwell Science Ltd a Blackwell. pp 65-121.
- Dhont, J., M. Wille, M. Frinsko, S. D. Coyle, P. Sorgeloos. 2010. Larval Feeds and Feeding. In: New, M. B., W. C. Valenti, J. H. Tidwell, L. R. D'Abramo, M. N. Kutty (eds.). Freshwater Prawns Biology and Farming. Wiley-Blackwell, Chichester, West Sussex, United Kingdom. pp 86-107.
- Díaz-Monge, F., M. P. Díaz, R. L. Rodríguez. 2001. Producción larval de camarón de río nativo, *Macrobrachium americanum*, en laboratorio. Centro de Estudios del Mar y Acuicultura CEMA Guatemala City. 78 p.
- Ding, Z., Y. Zhang, J. Ye, Z. Du, Y. Kong. 2015. An evaluation of replacing fish meal with fermented soybean meal in the diet of *Macrobrachium nipponense*: Growth, non specific immunity, and resistance to *Aeromonas hydrophila*. Fish Shellfish Immunol. 44:295-301.

- El-Kholy, A. M. 1995. Studied of feeding and production of prawns. Thesis (Master of Science in Faculty of Agriculture), Alexandria University, Alexandria, Egypt.
- Espinosa-Chaurand, L. D., M. A. Vargas-Ceballos, M. Guzmán-Arroyo, H. Nolasco-Soria, O. Carrillo-Farnés, O. Chong-Carrillo, F. Vega-Villasante. 2011. Biología y cultivo de *Macrobrachium tenellum*: Estado del arte. Hidrobiologica. 21(2):98-117.
- Espinosa-Chaurand, L., C. Flores-Zepeda, H. Nolasco-Soria, O. Carrillo-Farnes, F. Vega-Villasante. 2012. Effect of dietary protein level on the development of juveniles of *Macrobrachium tenellum* (Smith, 1871). Rev. MVZ Córdoba 17(3):3140-3146.
- Ettefaghdoost, M. 2015. Effects of Different Feeding Percent on Growth Indices and Survival of Oriental River Prawn *Macrobrachium nipponense* (De Haan, 1849). J. Fish. Aquat. Sci. 10(1):54.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2016. FishStatJa tool for fishery statistics analysis, Release 2.0.0. Universal software for fishery statistical time series. Global capture and aquaculture production: Quantities 1950-2014; Aquaculture values 1984-2014. FAO Fisheries Department, Fishery Information, Data and Statistics Unit. Rome.
- Fariás, A. I. Uriarte. 2001. Effect of microalgae protein on the gonad development and physiological parameters for the scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). J. Shellfish. Res. 20:97-105.
- Felix, N., M. Prince-Jayaseelan. 2006. Effects of different protein diets on growth and food conversion ratio of postlarvae of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). Indian J. Fish. 53:175-180.
- Folch, J., M. Less, G. H. S. Stanley. 1956. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. of Biol. and Chem. 226:497-509.
- Franceschini-Vicentini, I. B., K. Ribeiro, L. P. Papa, J. Marques-Junior, C. A. Vicentini, P. M. C. M. Valenti. 2009. Histoarquitectura del Hepatopáncreas del Camarón de la Amazonia *Macrobrachium amazonicum*. Int. J. Morphol. 27:121-128.
- Fujimoto, E. K., N. M. Goeke, B. J. Olson, D. C. Klenk. 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid. Anal. Biochem. 150:76-85.
- Fujimura, T., H. Okamoto. 1970. Notes on progress made in developing a mass culturing technique for *Macrobrachium rosenbergii* in Hawaii. In: Indo-Pacific Fisheries Council (14<sup>o</sup> session, Bangkok, Thailand). Bangkok, FAO Regional Office for Asia and the Far East. pp. 18-27.

- Gandolfi, A.J., R. B. Nagle, J. J. Soltis, F. H. Plescia. 1981. Nephrotoxicity of halogenated vinylcysteine compounds. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* 33:249-261.
- García-Guerrero, M. U. 2009. Proximate biochemical variations in eggs of the prawn *Macrobrachium americanum* (Bate, 1869) during its embryonic development. *Aquac. Res.* 40:575-581.
- García-Guerrero, M. U. 2010. Effect of temperature on consumption rate of main yolk components during embryodevelopment of the prawn *Macrobrachium americanum* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae). *J. World Aquac. Soc.* 41:84-92.
- García-Guerrero, M. U. J. P. Apún-Molina. 2008. Density and shelter influence the adaptation of wild juvenile cauque prawns *Macrobrachium americanum* to culture conditions. *N. Am. J. Aquacult.* 70:343-346.
- García-Guerrero, M. U., J. Orduña-Rojas, E. Cortés-Jacinto. 2011. Size and temperature effects on oxygen consumption of the river prawn *Macrobrachium americanum* Bate over its regular temperature range. *N. Am. J. Aquacult.* 73:320-326.
- García-Guerrero, M. U., M. E. Hendrickx. 2009. External description of the embryonic development of the prawn, *Macrobrachium americanum* Bate, 1868 (Decapoda, Palaemonidae) based on the staging method. *Crustaceana.* 82(11):1413-1422.
- García-Ulloa, G. M., H. M. López-Chavarín, H. Rodríguez-González, H. Villarreal-Colmenares. 2003. Growth of redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae) juveniles fed isoproteic diets with partial or total substitution of fish meal by soya bean meal: preliminary study. *Aquacul. Nutr.* 9:25-31.
- Gibson, R., P. L. Barker. 1979. The decapod hepatopancreas. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 17:285-346.
- Goda, A. M. A.-S. 2008. Effect of dietary protein and lipid levels and protein-energy ratio on growth indices, feed utilization and body composition of freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man 1879) post larvae. *Aquac. Res.* 39:891-901.
- Graü, de M. C. 2006a. Control de calidad de los productos pesqueros en Venezuela. *INIA-Divulga.* 8:44-46.
- Graü, de M. C. 2006b. Método sistemático para la gestión de calidad en productos pesqueros. *INIA-Divulga.* 9:41-42.
- Greenwood, J. G., D. R. Fielder, M. J. Thorne. 1976. The larval life history of *Macrobrachium novaehollandiae* (de Man, 1908) (Decapoda, Palaemonidae): reared in the laboratory. *Crustaceana.* 30(3):252-286.



- Gu, G. J., M. Friedman, C. Jost, K. Johnsson, M. Kamali-Moghaddam, A. Plückthun, O. Söderberg. 2013. Protein tag-mediated conjugation of oligonucleotides to recombinant affinity binders for proximity ligation. *N. Biotechnol.* 30:144-152.
- Gucic, M. 2008. Digestibilidad *in vivo* de alimentos comerciales y experimentales para camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) cultivado a diferentes salinidades. Tesis (Maestría en Ciencias en Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales). La Paz, B. C. S., México. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. 80 p.
- Guillard, R. R., Ryther, J. H. 1962. Studies of marine planktonic diatoms: I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (CLEVE) Gran. *Can. J. Microbiol.* 8(2):229-239.
- Guillaume J. 1997. Protein and amino acids. In: D'Abramo, L. R., D. E. Conklin D. M. Akiyama (eds.). *Crustacean Nutrition. Advances in World Aquaculture.* Louisiana, USA. pp 26-50.
- Gupta, A., H. S. Sehgal, G. K. Sehgal. 2007. Growth and carcass composition of giant freshwater praw, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man): fed different isonitrogenous and isocaloric diets. *Aquac. Res.* 38:1355-1363.
- Gurure, R., J. Atkinson, R. D. Moccia, 2007. Amino acid composition of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.) and the prediction of dietary requirements for essential amino acids. *Aquacul. Nutr.* 13:266-272.
- Guzman, C., G. Gaxiola, C. Rosa, A. Torre-Blanco. 2001. The effect of dietary protein and total energy content on digestive enzyme activities, growth and survival of *Litopenaeus setiferus* (Linnaeus 1767) postlarvae. *Aquacul. Nutr.* 7:113-122.
- Habashy, M. M. 2009. Growth and body composition of juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*, fed different protein/starch ratios. *Glob. Vet.* 3:45-50.
- Hajen, W., R. Beames, D. Higos, B. Dosanjh. 1993. Digestibility of various feed stuffs by post-juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in sea water. Validation of technique. *Aquaculture.* 112:321-332.
- Hari, B., B. M. Kurup. 2003. Comparative evaluation of dietary protein levels and plant-animal protein ratios in *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquacul. Nutr.* 9:131-137.
- Hasanuzzaman, A. F., N. Siddiqui, A. H. Chisty. 2009. Optimum replacement of fishmeal with soybean meal in diet for *Macrobrachium rosenbergii* (de Man 1879) culture in low saline water. *J. Fish. Aquat. Sci.* 9:17-22.

- Hayd, L. A., D. Lemos, W. C. Valenti. 2014. Effects of ambient nitrite on amazon river prawn, *Macrobrachium amazonicum*, larvae. J. World Aquac. Soc . 45(1):55-64.
- Hemaiswarya, S., R. Raja, R. R. Kumar, V. Ganesan, C. Anbazhagan. 2011. Microalgae sustainable feed source for aquaculture. World. J. Microbiol. Biotechnol. 27(8):1737-1746.
- Hernández, L. G. 2007. Revisión sistemática del género *Macrobrachium* (Decapoda: Palaemonidae) de la Península de Baja California, México. Tesis (Doctor en Ciencias en Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales). LaPaz, B. C. S., México. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. 159 p.
- Hernández-Sandoval, P. 2008. “Efecto de la temperatura en el crecimiento y sobrevivencia del langostino *Macrobrachium occidentale* y del acocil *Cherax quadricarinatus*”. Tesis (Maestría en Recursos Naturales y Medio Ambiente). Guasave, Sinaloa, México. CIIDIR-Sinaloa, Instituto Politécnico Nacional. 47 p.
- Hernández-Valencia, A. 2010. Evaluación de la frecuencia alimenticia en cultivo larvario del langostino de río *Macrobrachium americanum* Bate. 1868 (Decapoda: Palaemonidae): en Guasave de Levva, Sinaloa y Coyuca de Benítez, Guerrero. Tesis (Licenciatura en Ecología Marina). Guerrero, México. Unidad Académica de Ecología Marina. Universidad Autónoma de Guerrero, 62 p.
- Holtzman, K. M. 1988. Manual Técnico para el cultivo y engorda del langostino malayo. Secretaría de Pesca. FONDEPESCA, México. 128p.
- Holtzman, K. M., E. Pfeiler. 1984. Effect of salinity on survival and development of larvae and postlarvae *Macrobrachium americanum* Bate (Decapoda, Palaemonidae). Crustaceana.46:1.
- Hu, Y., B. Tan, K. Mai, Q. Ai, S. Zheng, K. Cheng. 2008. Growth and body composition of juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed dietary different ratios of dietary protein to energy. Aquacul. Nutr. 14:499-506.
- Huo, Y. W., M. Jin, P. P. Zhou, M. Li, K. S. Mai, Q. C. Zhou. 2014. Effects of dietary protein and lipid levels on growth, feed utilization and body composition of juvenile swimming crab, *Portunus trituberculatus*. Aquaculture. 434:151-158.
- Icely, J. D., J. A. Nott. 1992. Digestion and absorption: digestive system and associated organs. In: Harrison, F. W., A. G. Humes. (eds.). Microscopic Anatomy of Invertebrates. Wiley-Liss, New York. pp 147-201.

- Jayanthi, L., P. Saravana Bhavan, V. Srinivasan, T. Muralisankar, N. Manickam. 2015. Probiotics product lactobacil digestive enzymes activity, nutritional status and gut microflora of the prawn. *Int. J. Curr. Res.* 7(01):11440-11453.
- Jin, M., Q. C. Zhou, W. Zhang, F. J. Xie, J. K. ShenTu, X. L. Huang. 2013. Dietary protein requirements of the juvenile swimming crab, *Portunus trituberculatus*. *Aquaculture*. 414:303-308.
- Johnston, D. J., C. G. Alexander, D. Yellowhees. 1998. Epithelial cytology and function in the digestive gland of *Thenus orientalis* (Decapoda: Scyllaridae). *J. Crustac. Biol.* 18:271-278.
- Johnston, D. J., K. A. Calvert, B. J. Crear, C. G. Carter. 2003. Dietary carbohydrate / lipid ratios and nutritional condition in juvenile southern rock lobster, *Jasus edwardsii*. *Aquaculture*. 220:667-682.
- Jones, P. L., J. H. Obst. 2000. Effects of starvation and subsequent refeeding on the size and nutrient content of the hepatopancreas of *Cherax destructor* (Decapoda: Parastacidae). *J. Crust. Biol.* 20:431-441.
- Jussila, J. 1997. Physiological responses of *Astacid* and *Parastacid* crayfishes (Crustacea: Decapoda) to conditions of intensive culture. Kuopio University Publications C. Natural and Environmental Sciences. Perth, Western Australia. 136p.
- Kabir Chowdhury, M. A., A. M. A.-S. Goda, E. R. El-Haroun, M. A. Wafa, S. A. El-Din. 2008. Effect of dietary protein and feeding time on growth performance and feed utilization of post larval freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Ma 1879). *J. Fish. Aquat. Sci.* 3:1-11.
- Karuppasamy, P. K., R. Sri Sakthi Priyadarshini, N. Ramamoorthy, R. Sujatha, S. Ganga, T. Jayalakshmi, P. Santhanam. 2014. Comparison of proximate, amino and fatty acid composition of *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798): *Fenneropenaeus indicus* (H. Milne Edwards, 1837) and *Aristeus virilis* (Bate, 1881) of Nagapattinam landing centre, Tamil Nadu. *J. Mar. Biol. Ass. India.* 55:5-10.
- Keshavanath, P., S. Khadri, B. Gangadhara. 2011. Growth performance, muscle composition and digestive enzyme activity of *Macrobrachium rosenbergii* (de man) fed salt incorporated diets. *J. Aquacult. Trop.* 26:31.
- Koshio; S., S. Teshima, A. Kanazawa, T. Watase. 1993. The effect of dietary protein content on growth, digestion efficiency and nitrogen excretion of juvenil kuruma prawns, *Penaeus japonicus*. *Aquaculture*. 113:104-114.

- Kotrbaček, V., J. Doubek, J. Doucha. 2015. The chlorococcalean alga *Chlorella* in animal nutrition: a review. *J. Appl. Phycol.* 27:2173-2180.
- Kovalenko, E. E., L. R. D'Abramo, C. L. Ohs, R. K. Buddington. 2002. A successful microbound diet for the larval culture of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture.* 210(1):385-395.
- Kureshy, N., D. A. Davis. 2002. Protein requirement for maintenance and maximum weight gain for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture.* 204(1):125-143.
- Laganà, P. G. Caruso, E. Minutoli, R. Zaccone, S. Delia. 2011. Susceptibility to antibiotics of *Vibrio* spp. and *Photobacterium damsela* sp. piscicida strains isolated from Italian aquaculture farms. *New Microbiol.* 34:53-63.
- Lal, M. M., J. Seeto, T. D. Pickering. 2014. Complete larval development of the Monkey River Prawn *Macrobrachium lar* (Palaemonidae) using a novel greenwater technique. *Springerplus.* 3(1):568.
- Langer, S., Y. Bakhtiyar, R. Lakhnotra. 2011. Replacement of fishmeal with locally available ingredients in diet composition of *Macrobrachium dayanum*. *Afr. J. Agric. Res.* 6:1080-1084.
- Lavens, P. P. Sorgeloos. 2000. The history, present status and prospects of the availability of *Artemia* cysts for aquaculture. *Aquaculture.* 181(3):397-403.
- Lavens, P., S. Thongrod, P. Sorgeloos. 2000. Larval prawn feeds and the dietary importance of *Artemia*. In: New, M. B., W. C. Valenti. (eds.). *Freshwater Prawn Culture: The Farming of *Macrobrachium rosenbergii**. Wiley-Blackwell Oxford, UK. pp 91-111.
- Léger, P., D. A. Bengston, K. L. Simpson, P. Sorgeloos. 1986. The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. *Ocean. Mar. Bio. Ann. Rev.* 24:521-623
- Ling, S. W. 1961. Notes on the life and habits of the adults and larval stages of *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). *Indo-Pacific. Fis. Council. Proc.* 9(2):55-61.
- Ling, S. W. 1962. Studies on the rearing of larvae and juveniles and culturing of adults of *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). *Indo-Pacific. Fish. Council. Proc. Curr. Affairs. Bull.* 35:1-11.
- Ling, S. W. 1969. The general biology and development of *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). *FAO Fish. Rep.* 3(57):589-606.

- Lober, M., C. Zeng. 2009. Effect of microalgae concentration on larval survival, development and growth of an Australian strain of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*. 289:95-100.
- López-López, S., H. Nolasco, F. Vega Villasante. 2003. Characterization of digestive gland esterase-lipase activity of juvenile redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* 135:337-347.
- Lora Vilchis, M. C. 2004. Evaluación de la calidad dietética de microalgas mediante el estudio del balance energético de *Artemia franciscana*. Tesis (Doctorado en Ciencias en Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales). La Paz, B. C. S., México. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. 135 p.
- Lora-Vilchis, M. C., E. Ruiz-Velasco-Cruz, T. Reynoso-Granados, D. Voltolina. 2004. Evaluation of five microalgae diets for juvenile pen shells *Atrina maura*. *J. World. Aquac. Soc.* 35(2):232-236.
- Lubzens, E., O. Gibson, O. Zmora, A. Sukenik. 1995. Potential advantages of frozen algae (*Nannochloropsis sp.*) for rotifer (*Brachionus plicatilis*) culture. *Aquaculture*. 133:295-309.
- Luna, M., C. Graziani, E. Villarroel, M. Lemus, C. Lodeiros G. Salazar. 2007. Evaluación de tres dietas con diferente contenido proteico en el cultivo de postlarvas del langostino de río *Macrobrachium rosenbergii*. *Zootecnia Tropical*. 25(2):111-121.
- Maciel, C. R., M. B. New, W. C. Valenti. 2012. The predation of *Artemia* nauplii by the larvae of the Amazon River Prawn, *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862): is affected by prey density, time of day, and ontogenetic development. *J. World. Aquac. Soc.* 43(5):659-669.
- Mambrini, M., J. Guillaume. 2011. Protein nutrition. In: Guillaume, J., S. Kaushik, P. Bergot, R. Metailler (eds.). *Nutrition and Feeding on Fish and Crustaceans*. Springer and Praxis Publishing, Chichester, UK. pp 81–110.
- Mantellato, F., L. Barbosa. 2005. Population structure and relative growth of freshwater prawn *Macrobrachium brasiliense* (Decapoda, Palaemonidae) from São Paulo State, Brazil. *Acta Limnol. Brasil.* 17:245-255.
- Martínez-Cordova, L. R., M. Martínez-Porchas, E. Cortés-Jacinto. 2009. Camaronicultura Mexicana y mundial: actividad sustentable o industria contaminante?. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 25:181-196.
- Martínez-Porchas, M., L. R. Martínez-Córdova, R. Ramos-Enríquez. 2009. Dinámica de crecimiento de peces y crustáceos. *Rev. Electrónica Vet.* 10(10):1-16.

- Méndez-Martínez, Y. 2009. Inclusión de la Harina de Azolla (*Azolla sp*) en dietas para juveniles del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Tesis (Maestría en Nutrición Animal). Bayamo, Granma, Cuba. Universidad de Granma. 70 p.
- Méndez-Martínez, Y., S. Yamasaki-Granados, M. U. García-Guerrero, L. R. Martínez-Córdova LR, M. E. Rivas-Vega, F. G. Arcos-Ortega. E. Cortés-Jacinto. 2016. Effect of dietary protein content on growth rate, survival and body composition of juvenile caucue river prawn, *Macrobrachium americanum* (Bate 1868). Aquac. Res. doi:10.1111/are.13193.
- Mohan, K., A. M. Padmanaban, V. Uthayakumar, R. Chandirasekar, T. Muralisankar, P. Santhanam. 2016. Effect of dietary Ganoderma lucidum polysaccharides on biological and physiological responses of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture. 464:42–49.
- Moller, T. H. 1978. Feeding behaviour of larvae and postlarvae of *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) (Crustacea: Palaemonidae). J. Ex. Mar. Biol. Ecol. 35:251-258.
- Monaco, G. 1975. Laboratory rearing of larvae of the palaemonid shrimp *Macrobrachium americanum* (Bate). Aquaculture. 6:169-375.
- Morales, M. C., J. Meruane. 2012. Indicadores de condición larvaria aplicados al camarón de río del norte *Cryphiops caementarius* (Molina, 1782): en condiciones de cultivo controlado. Lat. Am. J. Aquat. Res. 40(3):730-742.
- Mukhopadhyay, S., B. S. Kim, P. R. Chipman, M. G. Rossmann, R. J. Kuhn. 2003. Structure of west Nile virus. Science. 302:248-248.
- Muller-Feuga, A., R. Robert, C. Cahu, J. Robin, P. Divanach. 2003. Uses of microalgae in aquaculture. In: Live Feeds in Marine Aquaculture. McEvoy by Blackwell Science Ltd a Blackwell. 253-288p.
- Muralisankar, T., P. S. Bhavan, S. Radhakrishnan, C. Seenivasan, V. Srinivasan, 2016. The effect of copper nanoparticles supplementation on freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* post larvae. J. Trace Elem. Med. Biol. 34:39-49.
- Muralisankar, T., P. S. Bhavan, V. Srinivasan, S. Radhakrishnan, C. Seenivasan, N. Manickam. 2015. Effects of dietary copper on the growth physiology and biochemistry of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* post larvae. Int. J. Pure App. Biosci. 3(2):509-518.
- Naegel, L. C. 1999. Controlled production of *Artemia* biomass using an inert commercial diet, compared with the microalgae Chaetoceros. Aquacult. Eng. 21(1):49-59.

- Nandlal, S. 2010. A new species for culture in the Pacific: evaluation of the potential of the indigenous *Macrobrachium lar* (Fabricius, 1798). Thesis (Doctor of Philosophy). Suva, Fiji. School of Islands and Oceans, Faculty of Science, Technology and Environment. University of the South Pacific. 209 p.
- New, M. B. 1997. The Nutrition of prawns and shrimp: a synthesis of current knowledge. En: Anais do Simpósio Internacional sobre Nutrição de Peixes e Crustáceos (1997, Campinas, Brasil). Campos do Jordão, Colegio Brasileiro de Nutrição Animal (CBNA). pp. 127-158.
- Ngoc-Ho, N. 1976. The larval development of the prawns *Macrobrachium equidens* and *Macrobrachium sp* (Decapoda, Palaemonidae): reared in the laboratory. J. Zool. 178:15-55.
- Nguyen, D. T., Vangansbeke, D., De Clercq, P. 2014. Solid artificial diets for the phytoseiid predator *Amblyseius swirskii*. Biocontrol. 59(6):719-727.
- Nolasco, H., F. Vega-Villasante. 1992. Rapid detection and quantification of amylase activity in fractions after liquid chromatography. J. Biotechnol. 23:103-109.
- Nolasco-Soria, H., F. Vega-Villasante. 2000. Actividad enzimática digestiva, ritmos circadianos y su relación con la alimentación del camarón. En: Civera-Cerecedo, R., C. J. Pérez-Estrada, D. Ricque-Marie, L. E. Cruz-Suárez (eds.) Avances en Nutrición Acuicola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. Noviembre 15-18:1998. La Paz, B. C. S., México. pp. 149-165.
- NRC (National Research Council). 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academies Press, Animal Nutrition Series, Washington, D. C. 70-71p.
- Obaldo, L. G., S. Divakaran, A. G. Tacon. 2002. Method for the determining the physical stability of shrimp feeds in water. Aquac. Res. 33:369-377.
- Pérez-Castro, D. P., O. T. Mendoza, S. B. Olivier. 2014. Cultivation of *Macrobrachium tenellum* fed with *Artemia franciscana* which at the same time was fed with unialgal and mixed diets of microalgae. Tlamati. (2)5:44-48.
- Pérez-Chi, A. 1991. Observaciones sobre la biología del langostino *Macrobrachium americanum* en cautiverio. An. Esc. Nac. Cien. Biol., 34:123-143.
- Pezzato, L. E., M. M. Barros, S. F. Garcia, F. D. Rocha, G. G. Sampaio, H. Hisano. 2003. Relação energia: proteína dietária para pós-larvas de *Macrobrachium amazonicum* (Crustacea, Decapoda). Acta Sci. Anim. Sci. 25(2):235-241.

- Pillai, B. R., K. D. Mahapatra, R. W. Ponzoni, L. Sahoo, P. L. Lalrinsanga, W. Mekkway, G. Patra. 2014. Survival, male morphotypes, female and male proportion, female reproductive status and tag loss in crosses among three populations of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) in India. *Aquac. Res.* 1:1-12.
- Ponce-Palafox, J., F. C. Arana-Magallón, H. Cabanillas-Beltrán, H. Esparza-Leal. 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, 1868). En: Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura, CIVA (1º, 2002, Zaragoza, España). CIVA, Zaragoza. pp. 534-546.
- Portella C. D. G., L. S. Sant'Ana, W. C. Valenti. 2013. Chemical composition and fatty acid contents in farmed freshwater prawns. *Pesq. Agropec. Bras.* 48:1115-1118.
- Racotta, I. S., E. Palacios, R. Hernández-Herrera, A. Bonilla, J. L. Ramirez. 2004. Criteria for hepatopancreas larval and postlarval quality in white pacific shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931). *Aquaculture.* 233:181-195.
- Radhakrishnan, S., C. Seenivasan, T. Muralisankar. 2015. Effect of dietary replacement of fishmeal with *Chlorella vulgaris* on growth performance, energy utilization and digestive enzymes in *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Int. J. Fish. Aquac.* 7(5):62-70.
- Radhakrishnan, S., I. E. Belal, C. Seenivasan, T. Muralisankar, P. S. Bhavan. 2016. Impact of fishmeal replacement with *Arthrospira platensis* on growth performance, body composition and digestive enzyme activities of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture Reports.* 3:35-44.
- Reigh, R. C., S. L. Braden, R. J. Laprarie. 1993. Substitution of soybean protein for fish protein in formulated diets for red swamp *Procambarus*. *J. World. Aquac. Soc.* 26(3):329-338.
- Reyes-Marchán, R., A. Hidalgo-Mogollón. 2001. Producción en laboratorio de postlarvas de *Macrobrachium americanum* (Decapoda: Palaemonidae (Camarón de río). Thesis (Fishery Engineering). Tumbes, Perú. Escuela Académico Profesional de Ingeniería Pesquera. Facultad de Ingeniería Pesquera. Universidad Nacional de Tumbes.
- Ribeiro, K., L. P. Papa, C. A. Vicentini, I. B. Franceschini-Vicentini. 2016. The ultrastructural evaluation of digestive cells in the hepatopancreas of the amazon river prawn, *Macrobrachium amazonicum*. *Aquac. Res.* 47:1251–1259.
- Ricardo, L. S., T. L. James, P. B. Zelionara, A. Bianchini, N. Y. Luiz Eduardo Maia. (2003). Lipids as energy source during salinity acclimation in the euryhaline crab



- Chasmagnathus granulata* Dana, 1851 (crustacea-grapsidae). J. Exp. Zool. 295:200-205.
- Rivas-Vega, M. E., E. Goytortúa-Bores, J. M. Ezquerra-Brauer, M. G. Salazar-García, L. E. Cruz-Suárez, H. Nolasco-Soria, R. Civera-Cerecedo. 2006. Nutritional value of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) meals as ingredients in diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). J. Food Chem. 97(1):41-49.
- Rivero-Rodríguez S, A. R. Beaumont, M. C. Lora-Vilchis. 2007. The effect of microalgal diets on growth, biochemical composition, and fatty acid profile of *Crassostrea corteziensis* (Hertlein) juveniles. Aquaculture. 263:199-210
- Rodríguez-González, H., A. Hernández-Llamas, M. García-Ulloa, I. S. Racotta, M. Montoya-Mejía, H. Villarreal. 2014. Effect of protein and lipid levels in diets for female red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* on quality of offspring (juvenile): with emphasis on growth performance, biochemical composition and stress resistance to low oxygen, high ammonia and salinity. Aquacul. Nutr. 20:557-565.
- Rodríguez-Uribe, M. C., F. Vega-Villasante, T. R. Bauer, M. Guzman-Arroyo. 2014. Migración de camarones anfídromos: conocimiento actual en América. En: Cifuentes-Lemus, J. L., F. G. Cupul-Magaña (eds.). Temas sobre investigaciones costeras. Universidad de Guadalajara. Jalisco, México. pp 245-272.
- Roe, J. H., J. M. Bailey, R. R. Gray, J. N. Robinson. 1961. Complete removal of glycogen from tissues by extraction with cold trichloroacetic acid solution. J. Biol. Chem. 236(5):1244-1246.
- Román-Contreras, R. 1991. Ecología de *Macrobrachium tenellum* (Decapoda: Palaemonidae) en la laguna Coyuca, Guerrero, Pacífico de México. An. Inst. Cienc. Mar. Limnol. 18(1):87-96.
- Romano, N., C. Zeng. 2012. Osmoregulation in decapod crustaceans: implications to aquaculture productivity, methods for potential improvement and interactions with elevated ammonia exposure. Aquaculture. 334:12-23.
- Rosas, C., G. Cuzon, G. Taboada, C. Pascual, G. Gaxiola, A. Van-Wormhoudt. 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). Aquac. Res. 32:531-547.
- Ross, L. G., C. A. Martínez-Palacios, E. J. Morales. 2008. Developing native fish species for aquaculture: The interacting demands of biodiversity, sustainable aquaculture and livelihoods. Aquac. Res. 39(7):675-683.

- Ross, L. G., M. C. M. Beveridge. 1995. Is a better strategy necessary for development of native species for aquaculture? A Mexican case study. *Aquacult. Fish. Manage.* 26:539-547.
- Roustaian, P., M. S. Kamarudin, H. Omar, C. R. Saad, M. H. Ahmad. 1999. Changes in fatty acid profile during larval development of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (DeMan). *Aquac. Res.* 30:815-824.
- Roychoudhury, P., M. Mukherjee. 2013. Role of algal mixture in food intake of *Macrobrachium rosenbergii* during larval development. *Indian. J. Geomarine Sci.* 42(5):647-652.
- Sagar, V., N. P. Sahu, A. K. Pal, K. K. Jain, G. Venugopal. 2009. Growth and digestive enzymes of *Macrobrachium rosenbergii* juveniles: effect of different stocktypes and dietary protein levels under a similar culture environment. *Aquac. Res.* 40(12):1383-1393.
- SAGARPA (Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2015. Inicio del periodo de veda para el langostino en la vertiente del Océano Pacífico. Mazatlán, Sinaloa.
- Sandifer, P. A., J. D. Joseph. 1976. Growth responses and fatty acid composition of juvenile prawns (*Macrobrachium rosenbergii*) fed a prepared ration augmented with shrimp head oil. *Aquaculture.* 8 :129-138.
- Saravana-Bhavan, P., S. Radhakrishnan, C. Seenivasan, R. Shanthi, R. Poongodi, S. Kannan. 2010. Proximate composition and profiles of amino acids and fatty acids in the muscle of adult males and females of commercially viable prawn species *Macrobrachium rosenbergii* collected from natural culture environments. *Int. J. Biol. Sci.* 2:107-119.
- Sargent, J. R., L. A. McEvoy, J. G. Bell. 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture.* 155(1):117-127.
- Schmitt, A. S. C., E. A. Santos. 1998. Ammonia-N efflux rate and nutritional state of juvenile pink shrimp, *Penaeus paulensis* (Perez-Farfante): in relation to feed type. *Aquac. Res.* 29:495-502.
- Seenivasan, C., S. Radhakrishnan, T. Muralisankar, P. S. Bhavan. 2014. Effects of probiotics on survival, growth and digestive enzymes activities in freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man 1879). *Proceedings of the Zoological Society.* Springer India. 1-9p.

- Shiau, S. Y., C Y. Peng. 1992. Utilization of different carbohydrates at different dietary protein levels in grass prawn *Penaeus monodon* reared in seawater. *Aquaculture*. 101:240-250.
- Silva Santos, F. M., K. Ribeiro, A. C. V. Freitas, L. B. Carvalho, W. C. Valenti. R. S. Bezerra. 2014. Digestive proteases from wild and farmed male morphotypes of the Amazon river prawn (*Macrobrachium amazonicum*). *J. Crust. Biol.* 34:189-198.
- Sriket, C., S. Benjakul, W. Visessanguan. 2011. Characterisation of proteolytic enzymes from muscle and hepatopancreas of fresh water prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). *J. Sci. Food Agr.* 91(1):52-59.
- Sundaravadivel, C., T. A. Sethuramalingam, K. Juliet. 2015. Studies on the optimum dietary protein requirement of three size groups of fresh water prawn *Macrobrachium I* (Heller). *J. Environ. Sci. Toxicol. Food. Technol.* 9:38-43.
- Tacon, A. G. J. 1987. The nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. A training manual. II. Nutrient sources and composition. Field document. S/E Food and Agriculture Organization, Brasilia, Brazil. 137p.
- Tacon, A. G. J., M. Metian. 2015. Feed Matters: Satisfying the Feed Demand of Aquaculture. *Rev. Fish. Sci. Aquac.* 23(1):1-10.
- Tacon, A. G. S., D. Akiyama. 1997. Feed ingredients. In: D'Abramo, R. L., E. D. Conklin, D. M. Akiyama. (eds.). *Crustacean nutrition. Advances in World Aquaculture Society. The World Aquaculture Society. USA. Pp 71-84.*
- Teshima, S. I., S. Koshio, M. Ishikawa. 2006. Protein requirements of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* evaluated by the factorial method. *J. World. Aquac. Soc.* 37:145-153.
- Thin, L.V., S. M. Renaud, D. L. Parry. 1999. Evaluation of recently isolated Australian tropical microalgae for the enrichment of the dietary value of brine shrimp, *Artemia nauplii*. *Aquaculture*. 170:161-173.
- Umagat, H., P. Kucera, L.F. Wen. 1982. Total amino acid analysis using pre-column fluorescence derivatization. *J. Chromatogr.* 239:463-474.
- Uno, Y., C. S. Kwon. 1969. Larval development of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) reared in the laboratory. *J. Tokyo Univ. Fish.* 55(2):179-190.
- Uriarte, I., A. Farías. 1999. The effect of dietary protein on growth and biochemical composition of Chilean scallop *Argopecten purpuratus* (L.) postlarvae and spat. *Aquaculture*. 180:119-127.

- Valenti, W. C., W. H. Daniels. 2000. Recirculation hatchery systems and management. In: New, M. B., W. C. Valenti (eds.): Freshwater Prawn Culture. Blackwell, Oxford. Pp 69-90.
- Van Stappen, G. 1996. Introduction, biology and ecology of *Artemia*. In: Lavens, P., P. Sorgeloos (eds.). Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO/Fisheries technical. Pp 79–264.
- Vega-Villasante, F., C. L. D. Espinosa, S. Yamasaki-Granados, E. Cortés-Jacinto, M. U. García-Guerrero, M. A. L. Cupul. 2011<sup>a</sup>. Acuicultura del langostino *Macrobrachium tenellum* – Engorda de estanques semirrústicos. Universidad de Guadalajara. México, Jalisco. 87p.
- Vega-Villasante, F., E. A. Martínez-López, L. D. Espinosa-Chaurand, M. C. Cortés-Lara, H. Nolasco-Soria. 2011b. Crecimiento y supervivencia del langostino *Macrobrachium tenellum* en cultivos experimentales de verano y otroño en la costa tropical del Pacífico mexicano. Trop. Subtrop. Agroecosyst. 14:581-588.
- Vega-Villasante, F., H. Nolasco, R. Civera. 1995. The digestive enzymes of the Pacific hepat shrimp *Penaeus californiensis*-II. Properties of protease activity in the whole digestive tract. Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol. 112:123-129.
- Vega-Villasante, F., M. A. A. Palomera, D. A. M. López, G. L. G. Ramos, C. E. M. Martínez, O. C. Carrillo, M. A. V. Ceballos. 2015. Inclusión de *Hibiscus sabdariffa* en alimentos experimentales para *Macrobrachium tenellum*: efectos en la pigmentación, crecimiento y supervivencia. E-Gnosis. 13:3-14.
- Vega-Villasante, F., M. U. García-Guerrero, E. Cortés-Jacinto, S. Yamasaki-Granados, C. E. Montoya-Martínez, M. A. Vargas-Ceballos, O. Chong-Carrillo, M. A. Rubio-Padilla, M. Guzman-Arroyo, O. V. Carrillo-Farnés, L. D. Espinosa-Chaurand, H. Nolasco-Soria. 2014. Los camarones de agua dulce del género *Macrobrachium*: biología, ecología y explotación. En: Cifuentes-Lemus J. L., F. G. Cupul-Magaña (eds.) Temas sobre investigaciones costeras. Universidad de Guadalajara. Jalisco, México. pp 273-315.
- Velu, C. S., N. Munuswamy. 2008. Evaluation of *Streptocephalus dichotomus* nauplii as a larval diet for freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Aquacult. Nutr. 14:331-340.
- Vergara, J. M., H. Fernandez-Palacios, L. Robaina, K. Jauncey, M. De La Higuera, M. Izquierdo. 1996. The effects of varying dietary protein level on the growth, feed efficiency, protein utilization and body composition of gilthead sea bream. Fish. Sci. 62:620-623.

- Versaw, W. K., S. L. Cuppett, D. D. Winters, L. E. Williams. 1989. An improved colorimetric assay for bacterial lipase in nonfat dry milk. *J. Food. Sci.* 54:1557-1558.
- Vogt, G. 1993. Differentiation of B-cells in the hepatopáncreas of the prawn *Penaeus monodon*. *Acta Zool.* 74:51-60.
- Vogt, G., V. Storch, E. T. Quintio, F. P. Pascual. 1985. Midgut gland as monitor organ for the nutritional value of diets in *Penaeus monodon* (Decapoda). *Aquaculture.* 48:1-12.
- Voltolina, D. J. A. López-Elías. 2002. Cultivos de apoyo: tendencias e innovaciones. In Martínez-Córdova LR (ed) *Camaronicultura, avances y tendencias*. AGT Editores, México, D.F. pp 147.
- Wantanabe, T. 1993. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *J. World. Aquacult. Soc.* 24:152-161.
- Ward, L. R., C. G. Carter, B. J. Crear, D. M. Smith. 2003. Optimal dietary protein level for juvenile southern rock lobster, *Jasus edwardsii*, at two lipid levels. *Aquaculture.* 217:483-500.
- Webster, C. D., R. T. Lovell. 1990. Response of striped bass larvae fed brine shrimp from different sources containing different fatty acid compositions. *Aquaculture.* 90:49-61.
- Wicksten, M. K., M. E. Hendrickx. 2003. Checklist of Penaeoid and Caridean shrimps (Decapoda: Panaeoidea) from the Eastern Tropical Pacific. *Proc. San Diego Soc. Nat. Hist.* 9:1-11.
- Willführ-Nast, J., H. Rosenthal, P. J. Udo, F. Nast. 1993. Laboratory cultivation and experimental studies of salinity effects on larval development in the African River prawn *Macrobrachium vollehovenii* (Decapoda, Palaemonidae). *Aquat. Living. Resour.* 6:115-137.
- Wilson, R. P. 2002. Amino acid and proteins. In: Halver, J. E., R. W. Hardy (eds.). *Fish Nutrition*. Academic Press, London. Pp 144-174.
- Xiao, X., D. Han, X. Zhu, Y. Yang, S. Xie, Y. Huang. 2014. Effect of dietary cornstarch levels on growth performance, enzyme activity and hepatopáncreas histology of juvenile red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard). *Aquaculture.* 426:112-119.
- Xu, W. N., W. B. Liu, M. F. Shen, G. F. Li, Y. Wang, W. W. Zhang. 2013. Effect of different dietary protein and lipid levels on growth performance, body composition of juvenile red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *Aquacult. Int.* 21:687-697.

- Yamasaki-Granados, S. 2012. Desarrollo larvario y biología de la muda del langostino de Río *Macrobrachium* spp. Tesis de Doctorado. Universidad de Guadalajara. 167p.
- Yamasaki-Granados, S., M. García-Guerrero, F. Vega-Villasante, F. Castellanos-León, R. O. Cavalli, E. Cortés-Jacinto. 2013. Experimental culture of the river prawn *Macrobrachium americanum* larvae (Bate, 1868): with emphasis on feeding and stocking density effect on survival. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 41(4):793-800.
- Yu, B. R., H. Shen. 1990. On the appropriate contents of protein, fat and calorie-protein ratio in the diet for freshwater shrimp (*Macrobrachium nipponense*). *J. Fish. China.* 14:321-327.
- Zaki, M. A., H. A. Mabrouk, A. A. Nour. 2002. Optimum dietary protein levels and stocking density for fresh-water prawn *Macrobrachium rosenbergii* juveniles reared in concrete basins. *Egypt. J. Anim. Produc.* 7:161-168.
- Zar, J. H. 1984. Biostatistical analysis. In: Prentice-Hall (ed.). 2da. Upper Saddle River, New Jersey, USA. pp 236-346.
- Zendejas, J. 1991. Alimentos para camarón y sistemas de alimentación. En: Purina, S. A. Taller sobre el cultivo de camarón (1991, Mazatlán, Sinaloa). México. pp. 1-14.
- Zhang, L. Y., J. Y. Ye, Y. H. Wang, J. L. Guo, J. M. Chen, Q. Pan, D. D. Wang. 2008. Effects of dietary protein levels on growth of oriental river prawn *Macrobrachium nipponense*. *J. Shanghai Fish. Univ.* 6:1-5.
- Zhang, N. N., Q. Q. Ma, W. J. Fan, Q. Xing, Y. L. Zhao, C. O. Chen, J. Y. Ye, M. L. Zhang, Z. Y. Du. 2016. Effect of the dietary protein to energy ratio on growth feed utilization and body composition in *Macrobrachium nipponense*. *Aquacul. Nutr.* doi:10. 1111/anu. 12395.
- Zhou, F., W. Xiong, J. X. Xiao, Q. J. Shao, O. N. Bergo, Y. Hua, X. Chai. 2010. Optimum arginine requirement of juvenile black sea bream, *Sparus macrocephalus*. *Aquac. Res.* 41(10):418-430.
- Zhou, J. B., Q. C. Zhou, S. Y. Chi, Q. H. Yang, C. W. Liu. 2007. Optimal dietary protein requirement for juvenile ivory shell, *Babylonia areolate*. *Aquaculture.* 270:186-192.