



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
BIOLOGÍA MARINA**

**Evaluación de tratamientos con diferentes porciones de proteína,
lípidos y carbohidratos en poslarvas del langostino
Macrobrachium acanthurus.**

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO ACADÉMICO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA**

PRESENTA:

M.V.Z SUSANA ALEJANDRA FRÍAS GÓMEZ

TUTOR:

**DR. LUIS HÉCTOR HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ
LABORATORIO DE PRODUCCIÓN ACUÍCOLA, FES IZTACALA, UNAM**

COMITÉ TUTOR:

**DR. CARLOS ALFONSO ÁLVAREZ GONZÁLEZ
LABORATORIO DE ACUACULTURA TROPICAL, UJAT**

**DRA. CRISANTEMA HERNÁNDEZ GONZÁLEZ
LABORATORIO DE NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN DE PECES Y CAMARONES, CIAD**

**DR. ROBERTO CIVERA CERECEDO
CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL NOROESTE**

**DR. ARMANDO FRANCISCO VARGAS ALBORES
TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL, CIAD**

CDMX, ABRIL 2019.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**Evaluación de tratamientos con diferentes porciones de proteína,
lípidos y carbohidratos en poslarvas del langostino
Macrobrachium acanthurus.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
BIOLOGIA MARINA

PRESENTA:

M.V.Z. SUSANA ALEJANDRA FRÍAS GÓMEZ

TUTOR:

DR. LUIS HÉCTOR HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ
LABORATORIO DE PRODUCCIÓN ACUÍCOLA, FES IZTACALA, UNAM

COMITÉ TUTOR:

DR. CARLOS ALFONSO ÁLVAREZ GONZÁLEZ

LABORATORIO DE ACUACULTURA TROPICAL, UJAT

DRA. CRISANTEMA HERNÁNDEZ GONZÁLEZ

LABORATORIO DE NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN DE PECES Y CAMARONES, CIAD

DR. ROBERTO CIVERA CERECEDO

CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL NOROESTE

DR. ARMANDO FRANCISCO VARGAS ALBORES

TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL, CIAD

MÉXICO, CDMX, ABRIL 2019.

AGRADECIMIENTOS:

Al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología, por la oportunidad de estudiar la maestría y contribuir con ello a mi desarrollo académico y profesional.

A Conacyt, por la beca otorgada durante los 24 meses que dura el programa y que me permitió dedicarme a tiempo completo a mis estudios.

Al Dr. Luis Héctor Hernández Hernández, por la invaluable guía que me ha brindado a lo largo de mi formación, desde la tesis de licenciatura y hasta el presente para la conclusión de este proyecto. Sus conocimientos y apoyo incondicional han sido esenciales para terminar esta etapa de mi formación.

A los miembros del comité tutor, el Dr. Carlos Alfonso Álvarez González y la Dra. Crisantema Hernández González, por el tiempo que dedicaron a la revisión y asesoramiento de este trabajo.

A los miembros de mi jurado, el Dr. Armando Francisco Vargas Albores y el Dr. Roberto Rivera Cerecedo, por sus contribuciones y correcciones que enriquecieron el presente trabajo.

A mis amigos del Laboratorio, por hacer de las largas estancias en el trabajo un ameno tiempo para compartir y convivir. Por la ayuda que me prestaron cuando sentía que me abrumaban las responsabilidades, por las risas y los consejos, por escuchar cuando lo necesitaba y por entenderme cuando me estresaba.

A mis amigos fuera del Laboratorio, gracias por la paciencia infinita que me tuvieron estos dos años cuando no me separaba del trabajo. Por distraerme y recordarme que existía un mundo aparte del laboratorio, por aliviar el estrés de largas jornadas y por las aventuras que pasamos en tantos lugares.

A toda mi familia, por el apoyo incondicional y por ser el refugio al cual siempre he podido volver. Gracias por motivarme a seguir siempre adelante, por impulsar mis sueños, y por ser la red de amor que me saca de cualquier apuro. Todo lo que he logrado sin duda lleva su estampa y su huella.

Y finalmente a la UNAM. Porque le debo toda mi formación, tantos amigos y tantas oportunidades.

DEDICATORIA

*Son parte de todo lo que hago en mi vida,
Cada logro lleva su huella,
Cada triunfo es tan suyo como mío,
Son inspiración y consuelo,
Dulce refugio y océano de paz.
Son el eje de mi universo y el pilar que sostiene mi mundo.
Son el viento en mis alas y el alimento de mis sueños.
Son, de todas las personas, los luceros que me guían en el camino,
Es obvio, entonces, que este trabajo se los dedique a ustedes.*

Kevin y Susana.

RESUMEN

A nivel mundial la producción de langostino se ha incrementado en las últimas décadas, debido a su alto valor económico y a las ventajas que ofrece su cultivo. Sin embargo, en México no se ha visto reflejada esta tendencia, debido al desaprovechamiento de las especies nativas, de las cuales se desconoce información relevante en materia de nutrición, cultivo y manejo. Dado que el éxito de cualquier explotación acuícola se encuentra estrechamente ligada a una óptima nutrición, el objetivo de este trabajo es evaluar el crecimiento en la etapa post larvaria del langostino prieto, *Macrobrachium acanthurus*, en respuesta a diferentes concentraciones de macronutrientes, y determinar así los requerimientos nutricionales de la especie.

Los juveniles utilizados durante el experimento fueron obtenidos a partir de reproductores mantenidos en el laboratorio. Ciento ochenta poslarvas fueron asignadas aleatoriamente en grupos de cinco organismos por unidad experimental y cada tratamiento se realizó por triplicado. Se formularon doce tratamientos que contenían 30% de proteína (lípidos L-20 carbohidratos C-8; L-15 C-20; L-12 C-25; L-10 C-31), 35% de proteína (L-20 C-3; L-15 C-15; L-10 C-26 L-5 C-38) y 40% de proteína (L-15 C-8; L-10 C-20; L-5 C-31; L-1 C-40). Los organismos se alimentaron dos veces por día durante 60 días. Al finalizar la prueba de alimentación, tres organismos de cada tratamiento fueron escogidos al azar para determinar el consumo de oxígeno y la excreción de amonio. Para determinar la composición química corporal todos los organismos supervivientes fueron eutanasiados y se diseccionó el músculo y hepatopáncreas. Los datos obtenidos fueron analizados mediante un ANOVA de una vía después de asegurar la normalidad y homogeneidad de varianzas.

Los alimentos que contenían 35% de proteína, entre 15% - 20% de lípidos y de 8% - 20% de carbohidratos obtuvieron la mayor ganancia en peso (132 ± 50 mg) y tasa de crecimiento específico (2.22 ± 0.4 %/día). El peso final de estos organismos al finalizar la prueba de alimentación también fue significativamente mayor con estos tratamientos en comparación a los demás. Las inclusiones altas de lípidos también contribuyeron a una mayor acumulación de lípidos en el hepatopáncreas. Las poslarvas alimentadas con una concentración mayor de 30% de carbohidratos excretaron la máxima concentración de amonio, lo que sugiere el catabolismo de proteínas como principal fuente de energía.

ABSTRACT

Prawn production has recently increased worldwide, due to its high commercial value and the advantages of its production. However, Mexico has not followed this trend because research is lacking on their native species information about nutrition, breeding and management. Ever since success of aquaculture production is closely linked to optimal nutrition, the aim of this study was to evaluate growth parameters, metabolic responses (oxygen consumption and nitrogen excretion) and body composition in the juvenile stage of the cinnamon prawn *Macrobrachium acanthurus*, in response to varying levels of macronutrients (protein, lipid and carbohydrates) to learn more about the nutrient requirements of the species.

Juveniles used for the experiment were hatched and raised from breeders kept at the laboratory. One hundred eighty prawn juveniles were randomly assigned into groups of five organisms per experimental unit, and every treatment was conducted in triplicate. Twelve diets were formulated containing 30% protein (lipids L-20 carbohydrates C-8; L-15 C-20; L-12 C-25; L-10 C-31), 35% protein (L-20 C-3; L-15 C-15; L-10 C-26 L-5 C-38) and 40% protein (L-15 C-8; L-10 C-20; L-5 C-31; L-1 C-40) and fed to the organisms twice a day for 60 days. At the end of the feeding trial, three organisms from each treatment were randomly selected to determine oxygen consumption and ammonia excretion. For body composition determination all surviving prawns were euthanized to dissect muscle and hepatopancreas. Data was analyzed using one-way ANOVA after checking for normality and homoscedasticity.

Diets containing 35% protein, between 15% and 20% lipids and 8% to 20% carbohydrates yielded highest weight gain (132 ± 50 mg) and specific growth rate (2.22 ± 0.4 %/day). The final weight of the organisms at the end of the feeding test was also significantly higher with these treatments compared to the others. Higher inclusion of feed lipids also contributed to greater accumulation of lipid deposition in the hepatopancreas. Juveniles fed diets above 30% carbohydrates showed an increase in the excretion of ammonia, suggesting catabolism of proteins as the main energy source.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 El papel de los crustáceos en la acuicultura	2
1.2 Los langostinos en México y el mundo.....	5
1.3 Aspectos biológicos y nutrición del langostino	7
1.3.1 Metabolismo de proteínas	9
1.3.2 Metabolismo de lípidos	10
1.3.3 Metabolismo de carbohidratos.....	11
1.4 Consumo de oxígeno	13
1.5 Excreción de nitrógeno.....	14
2. ANTECEDENTES	16
3. JUSTIFICACIÓN	17
4. HIPÓTESIS	18
5. OBJETIVOS	19
5.1 General	19
5.2 Específicos.....	19
6. MATERIAL Y MÉTODOS	20
6.1 Obtención de los organismos.....	20
6.2 Formulación y elaboración de los tratamientos experimentales.....	20
6.3 Diseño experimental	23
6.4 Determinación de parámetros de crecimiento.....	24
6.5 Consumo de oxígeno y excreción de nitrógeno	25
6.6 Estabilidad del alimento	26
6.7 Análisis químicos proximales	27
6.8 Análisis estadísticos.....	27
7. RESULTADOS	29
7.1. Retención de materia seca en agua.....	29
7.2. Parámetros de crecimiento	30
7.3. Parámetros metabólicos	37
7.4. Composición química corporal.....	39
8. DISCUSIÓN	41

8.1	Estabilidad del alimento	41
8.2	Parámetros de crecimiento	42
8.3	Metabolismo.....	45
8.4	Composición química corporal	47
9.	CONCLUSIONES.....	49
10.	ANEXO 1	50
11.	BIBLIOGRAFÍA.....	51

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

TABLAS

Tabla 1. Formulación de los tratamientos	22
Tabla 2 Parámetros de crecimiento	31

FIGURAS

Figura 1. Diseño experimental.....	28
Figura 2. Estabilidad del alimento.....	29
Figura 3. Gráfica de crecimiento.....	32
Figura 4. Tasa de crecimiento específica	33
Figura 5. Supervivencia	33
Figura 6. Consumo de alimento.....	34
Figura 7. Conversión alimenticia	35
Figura 8. Tasa de eficiencia proteica	36
Figura 9. Índice hepatosomático	37
Figura 10. Consumo de oxígeno	38
Figura 11. Excreción de nitrógeno amoniacal (N-NH ₃)	38
Figura 12. Contenido de lípidos en músculo y hepatopáncreas.	39
Figura 13. Contenido de proteína en músculo y hepatopáncreas	40

1. INTRODUCCIÓN

Existen aproximadamente 238 especies de langostinos pertenecientes al género *Macrobrachium* que se distribuyen en zonas tropicales y subtropicales de todo el mundo; de éstas, aproximadamente 25 están siendo estudiadas para adaptarlas al cultivo comercial. Actualmente el mayor volumen de producción se encuentra representado por *M. rosenbergii*, *M. nipponense* y *M. malcolmsonii*. Sin embargo, existen numerosos proyectos experimentales en todos los continentes, que evalúan el potencial de cultivo de sus especies nativas, como *M. carcinus* y *M. acanthurus* en el caso de México y *M. amazonicum* en Sudamérica (Kutty, 2005).

El cultivo de langostino está justificado por la demanda del mercado. Tiene un alto valor económico, alcanzando precios de US \$12.00 kg⁻¹ a pie de granja y es apreciado debido a sus características organolépticas (buen sabor y textura) y elevado valor nutricional (principalmente proteico) (García-Guerrero *et al.*, 2013). Esta demanda se ve reflejada en el crecimiento de la producción mundial durante los últimos 30 años, que pasó de las 2,861 toneladas (t), en la década de los 80's (New & Nair, 2012)., hasta las 581,592 t calculadas en el 2017 (FAO, 2020).

En el caso de México, como el de otros países en vías de desarrollo, no se tienen datos confiables sobre la producción y consumo de langostino pues la mayor parte de la distribución y captura de este producto se da a nivel local. Sin embargo, se ha visto una tendencia decreciente desde 1980 (cuando México era el tercer productor mundial de langostino gigante de río) a la actualidad, principalmente asociada a falta de infraestructura e investigación en temas clave como la nutrición y reproducción (CONAPESCA, 2013).

El interés por el cultivo de especies nativas de langostino se ha renovado, en vista de las numerosas ventajas que presenta respecto a las introducidas: están adaptadas a las condiciones locales por lo tanto se reducen los costos de

mantenimiento y son más resistentes a las enfermedades que predominan en la región (García-Guerrero *et al.*, 2013). Un ejemplo de ello es China, país que no reportaba producción de langostino en 1984, pero que en el 2009, se convirtió en el primer productor mundial de esta especie aportando casi el 80% del volumen global total. El cultivo de *M. nipponense* (especie nativa de Asia) representó el 60% de su producción con un total de 209,401 t, superando incluso al de *M. rosenbergii* que alcanzó 144,467 t (New & Nair, 2012).

No obstante, el éxito de una explotación acuícola se encuentra estrechamente ligada a una nutrición adecuada (Casas *et al.*, 1995). Ya que este aspecto puede llegar a representar hasta el 60% o más de los costos de producción, además de impactar directamente sobre todos los aspectos biológicos de los organismos (crecimiento, reproducción, resistencia a las enfermedades, entre otras), la investigación de los requerimientos nutricionales es básica para desarrollar alimentos balanceados que aseguren el crecimiento y supervivencia de juveniles hasta alcanzar una talla comercial (Boonyaratpalin, 1996).

1.1 El papel de los crustáceos en la acuicultura

De acuerdo a Bondad-Reantaso *et al.* (2012), la acuicultura sigue creciendo a un ritmo más acelerado que cualquier otra industria alimentaria, siendo este crecimiento de un 5.8% promedio anual en el periodo del 2000-2016. Según las proyecciones de la FAO en el periodo del 2011-2020 el crecimiento del sector pesquero estará basado en la acuicultura. Se calcula que este incremento será del 1.3% anual hasta el 2020, que es ligeramente menor al registrado en la década anterior (2001-2010).

Los mismo autores, Bondad-Reantaso *et al.* (2012), también mencionan que la contribución de los crustáceos a la producción total incrementó de menos del 5% antes del 2000 hasta el 10% en la última década; sin embargo, la derrama

económica que genera su cultivo representa el 25% del total en la acuicultura. En México, por ejemplo, el camarón es el producto pesquero más valioso en términos de exportación, dejando al país \$300 millones de dólares, anualmente.

Según la FAO (2018) las especies que dominan la producción mundial son el camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei*, el cangrejo rojo de río *Procambarus clarkii*, el cangrejo chino *Eriocheir sinensis*, el camarón tigre *Penaeus monodon*, el langostino de río oriental *Macrobrachium nipponense*, y el langostino gigante *Macrobrachium rosenbergii*. Los langostinos de agua dulce contribuyen aproximadamente con un 6% a la producción total de crustáceos, a diferencia de los camarones y langostinos marinos, cuya contribución suma el 65% de la producción de crustáceos. El porcentaje restante de crustáceos lo componen diversas especies de cangrejos (18%) y cangrejos de río (11%). Este contraste se debe principalmente al comportamiento agresivo y la tendencia al canibalismo que es más evidente en las especies dulceacuícolas (Romano & Zeng, 2017).

El interés por el cultivo de crustáceos es estimulado por el alto valor comercial de estos productos. La demanda de estos organismos se ha incrementado rápidamente principalmente en Japón y en los países de occidente, pero la pesquería se ha mantenido constante o incrementa a un ritmo más lento que la demanda. Esta situación ha favorecido el desarrollo de las producciones de crustáceos en varios países. Los principales consumidores a nivel mundial de langostino gigante (género *Macrobrachium*) son países del sudeste asiático, como Tailandia y Taiwán, aunque también se importa a Japón, EUA y Europa (Laubier & Laubier, 1993).

En el caso particular de los langostinos del género *Macrobrachium*, en Latinoamérica se reporta que la demanda es abastecida principalmente por la pesca artesanal. Estas pesquerías por lo regular son informales, muchas veces ilegales

(fuera de los períodos de veda establecidos para las diferentes especies) y no se tienen datos exactos de la extracción de estas especies. Sin embargo, se ha demostrado la disminución de las poblaciones de langostino en su hábitat natural, debido a la sobreexplotación del recurso. Desafortunadamente, debido a la falta de investigación en temas clave como cultivo larvario, reproducción y nutrición, no existe el desarrollo tecnológico que permita establecer producciones acuícolas a nivel comercial (García-Guerrero *et al.*, 2015).

A pesar del crecimiento explosivo que ha tenido la producción de crustáceos, han surgido ciertas limitantes para su cultivo, entre las que se encuentran las enfermedades; en el caso del camarón se calcula que las pérdidas por patologías infecciosas superan el 40% de la capacidad global. Otras enfermedades emergentes a nivel mundial como el síndrome temprano de mortalidad, la mancha blanca (WSSV), el síndrome de cabeza amarilla y la mionecrosis viral han diezmando las producciones en India, Ecuador, China y Brasil por mencionar solo algunos (Stentiford *et al.*, 2017). Este problema se ve agravado si tomamos en cuenta que los crustáceos son incapaces de desarrollar memoria inmune a largo plazo, lo cual implica que la vacunación es un método ineficaz para ellos. Por lo tanto, otras alternativas se han explorado para mejorar la respuesta inmune y la resistencia a enfermedades, como la adición de prebióticos y probióticos en la alimentación de camarones y langostinos (Pérez-Sánchez *et al.*, 2018).

Otro obstáculo es la demanda de concentrados de alta calidad nutricional, lo que dificulta la sustitución de proteína y lípidos por fuentes vegetales alternativas que son mejor aceptadas por otras especies omnívoras. Debido a lo anterior, las investigaciones deben centrarse en temas de bioseguridad y nutrición para impulsar el crecimiento de este sector acuícola (Bondad-Reantaso *et al.*, 2012).

En resumen, los crustáceos son un producto acuícola de alto valor comercial y su cultivo se ha intensificado en varios países debido a este potencial. Sin embargo, debido a que poseen características únicas en aspectos biológicos como parámetros de crecimiento, respuesta inmune y comportamiento que los diferencian de las especies vertebradas es necesario invertir más recursos a la investigación de estos temas con el fin de superar las limitantes a las que se enfrenta su explotación, como las enfermedades emergentes y la falta de información en temas clave (nutrición, manejo, reproducción, cultivo larvario) de algunas especies nativas que han probado ser susceptibles de introducirse a técnicas de cultivo comercial.

1.2 Los langostinos en México y el mundo

Los langostinos de agua dulce son crustáceos decápodos que pertenecen al género *Macrobrachium*, el más grande dentro de la familia Palaemonidae. Se han descrito poco más de 200 especies alrededor del mundo. Se caracterizan por el gran tamaño del segundo par de pereiópodos, la presencia de espina hepática y por el rostrum bien desarrollado, alargado y dentado. Su distribución natural abarca lagos, ríos, pantanos, presas, canales y estanques, así como zonas estuarinas en todas las regiones tropicales y subtropicales del planeta (FAO, 2002; New & Valenti, 2000).

En México se encuentran alrededor de 20 especies, algunas de ellas como *M. carcinus*, *M. acanthurus* y *M. americanum* son objeto de estudio para el desarrollo de técnicas adecuadas que permitan escalar su producción a nivel comercial (López-Uriarte *et al.*, 2018).

El cultivo de langostino experimentó un acelerado crecimiento en las décadas de los 70s y 80s cuando se desarrolló un método para la producción en masa de pos larvas del langostino gigante *M. rosenbergii*, originario del sur y sudeste asiático, en Hawaii desde donde se introdujo a varios países como Brasil, Bangladesh, China,

Ecuador, Taiwán, Tailandia y la India, convirtiéndose en los principales productores (New & Valenti, 2000).

Posteriormente, en México se importaron algunos especímenes de esta especie en 1973 con el objeto de iniciar el cultivo en el país. En algún momento México llegó a producir 310 t (en 1980), siendo uno de los 3 principales productores junto con Ecuador y Vietnam, pero debido a la incidencia de enfermedades, al elevado costo de la infraestructura necesaria para mantener a esta especie y la falta de adaptación a las condiciones ambientales locales de una especie exótica, la producción comenzó a declinar y el interés por el cultivo de langostino decayó en favor del camarón, otro crustáceo que se consideró más rentable por la facilidad con la que se adapta a altas densidades de siembra (INAPESCA, 2012; New & Nair, 2012).

Sin embargo, la producción de camarón se ha visto seriamente afectada por la diseminación de enfermedades emergentes que han provocado considerables pérdidas en Nayarit, Sonora y Sinaloa (principales estados productores) tal como la mancha blanca (WSSV por sus siglas en inglés), síndrome de mortalidad temprana (EMS por sus siglas en inglés), necrosis hepatopancreática aguda (AHPND por sus siglas en inglés) y el síndrome de Taura (TSV por sus siglas en inglés) (Escobedo-Bonilla, 2016). Debido a esto, el cultivo de otras especies de crustáceos ha tomado un nuevo impulso; en especial los langostinos dulceacuícolas presentan ciertas ventajas al no depender de cuerpos de agua salinos durante su fase adulta y juvenil (Nunan *et al.*, 2014; Kutty, 2005).

Es por ello que los esfuerzos de investigación se han enfocado al estudio de las necesidades de los langostinos nativos. En China, por ejemplo, el cultivo de su especie local *M. nipponense* ha superado al de *M. rosenbergii*; en África se llevan a cabo producciones piloto con *M. vollehoveni* mientras que en Sudamérica se experimenta con *M. amazonicum* (New & Nair, 2012).

En el caso de México, las especies locales susceptibles de adaptarse a la acuicultura son *M. carcinus*, *M. acanthurus* y *M. americanum*. Sin embargo aún se desconocen muchos aspectos biológicos de estos organismos, particularmente en el ámbito nutricional, lo que genera la necesidad de investigación en el tema (García-Guerrero *et al.*, 2013).

1.3 Aspectos biológicos y nutrición del langostino

Para que un alimento balanceado pueda ser considerado como de alta calidad necesita cumplir ciertos requisitos (Glencross *et al.*, 2007):

- 1) Composición nutricional: debe satisfacer los requerimientos nutricionales del organismo para el cual está destinado en términos de macro (proteínas, lípidos y carbohidratos) y micronutrientes (vitaminas y minerales).
- 2) Digestibilidad: se refiere a la proporción de energía y nutrientes que pueden extraer los organismos de un alimento a través del proceso digestivo. Esta cualidad depende no solo de los ingredientes que lo componen, sino también de las técnicas empleadas durante su elaboración (i.e. la gelatinización de los carbohidratos los vuelve más disponibles).
- 3) Palatabilidad: este atributo determinará la tasa de ingesta del organismo, por lo cual no debe subestimarse su importancia a la hora de formular un alimento comercial. El problema de los ingredientes vegetales, por ejemplo, radica en la pobre aceptación de las especies omnívoras como los camarones y langostinos que prefieren fuentes de origen animal.
- 4) Interacción entre nutrientes: se refiere a los factores antinutricionales que pueden afectar la digestión o asimilación de otros componentes en el alimento. Los ingredientes de origen vegetal presentan varios de estos compuestos, como taninos, saponinas, ácido fítico e inhibidores de

proteasas. Algunos son termo lábiles y pueden ser neutralizados con los procesos de extrusión a los que se someten los alimentos comerciales.

- 5) Funcionalidad: los elementos que componen a un alimento deben estar disponibles localmente y ser económicamente accesibles para que la producción sea rentable.

En este sentido, los puntos clave para seguir profundizando son: los procesos fisiológicos involucrados en la ingestión y metabolismo del alimento, explotar la capacidad de los langostinos para aprovechar la productividad natural en sistemas de cultivo tipo biofloc complementados con alimentos balanceados y la búsqueda de ingredientes que puedan sustituir las fuentes proteicas y lipídicas de origen animal sin el detrimento en la productividad de los organismos (Tacon *et al.*, 2013).

Nutrición del langostino

Los langostinos son organismos bentónicos y se consideran tanto omnívoros como detritívoros durante su fase juvenil y adulta. Estudios realizados del contenido estomacal muestran que a pesar de que la omnivoría es un rasgo común a todo el género, existen diferencias entre los hábitos alimenticios de cada especie. En el caso de *M. acanthurus* se ha encontrado que el *detritus* (compuesto por fragmentos rígidos de conchas y exoesqueletos) forma la mayor parte del contenido estomacal, seguido por gusanos poliquetos y oogonios de la macroalga *Chara*; aunque también los insectos son una parte importante de su dieta. Con base en estos hallazgos se determinó que *M. acanthurus* se alimenta principalmente de materia orgánica en descomposición, pero también es un depredador dentro de la macrofauna bentónica (Faria-Albertoni *et al.*, 2003).

Otros estudios que se han realizado para evaluar su capacidad digestiva incluyen análisis enzimáticos de la glándula digestiva. En ella se ha encontrado la presencia de tripsina, amino peptidasas, amilasas, celulasa, proteasas, esterases y lipasas, lo que le confiere una amplia capacidad de digerir y asimilar nutrientes provenientes

de diversas fuentes vegetales o animales. En producciones intensivas, semi-intensivas y extensivas se han probado numerosos ingredientes como las harinas de cabeza de camarón, calamar, carne, hueso, residuos de pescado y pollo (así como sus ensilados), granos de cereales y pastas de semillas oleaginosas, obteniendo mejores resultados con los de origen animal a pesar de su capacidad omnívora (Mukhopadhyay *et al.*, 2003).

1.3.1 Metabolismo de proteínas

La proteína es considerada el nutriente más importante para los crustáceos, dado que se utiliza para el crecimiento así como para la reparación de tejidos. En función de lo anterior, el requerimiento de proteína en el género *Macrobrachium* varía de 30 hasta 45% del alimento. Este valor, a su vez, depende de otros factores tanto extrínsecos como intrínsecos del animal: las condiciones en las que se encuentra (variables físico químicas del agua como temperatura y salinidad), estadio de vida, composición aminoacídica de la fuente proteica, contenido energético del alimento, digestibilidad y tamaño del organismo. Es posible sobreestimar los requerimientos de proteína si el alimento no cumple con las necesidades energéticas de la especie, ya que en este caso el catabolismo de aminoácidos se convertirá en la principal fuente de energía; o también si la calidad de la proteína suministrada (en términos de composición aminoacídica) no es la adecuada para el organismo con el cual se experimenta (Carter & Mente, 2014).

Para los crustáceos existen diez aminoácidos que se consideran indispensables: arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina. Dentro de estos, la metionina es especialmente importante ya que está involucrada no solo en el crecimiento y la supervivencia de los crustáceos, sino que también juega un papel importante durante el proceso de ecdisis o muda (Mukhopadhyay *et al.*, 2003).

En realidad no existe un requerimiento de proteína “*per se*” sino de los aminoácidos que la componen, siendo algunos de ellos esenciales (i.e. no pueden ser sintetizados por los organismos). La cantidad y el tipo de aminoácidos requeridos se pueden estimar mediante la composición química corporal de la especie, ya que ésta es un reflejo de las necesidades proteicas (Mente, 2006).

1.3.2 Metabolismo de lípidos

Los lípidos son una fuente más concentrada de energía que las proteínas y los carbohidratos. Además, también son esenciales para mantener la integridad de las membranas celulares, son precursoras de todas las hormonas ecdisteroides (relacionadas con la muda y la madurez gonadal) y conforman las reservas vitelinas del huevo y de las primeras fases larvarias. Adicionalmente, la inclusión de lípidos en el alimento balanceado facilita la aglutinación de los pellets y aumenta la palatabilidad de los mismos (Davis, 2005).

De acuerdo a Chanmugam *et al.* (1983) los crustáceos marinos son ricos en ácidos grasos n-3, mientras que sus parientes dulceacuícolas poseen una mayor cantidad de ácidos grasos n-6. Todos ellos, sin embargo, son deficientes en la síntesis de ácido linoleico (LA por sus siglas en inglés; 18:2n-6), linolénico (LNA por sus siglas en inglés; 18:3n-3), eicosapentanoico (EPA por sus siglas en inglés; 20:5n-3) y docosahexanoico (DHA por sus siglas en inglés; 22:6n-3) a partir de acetato o ácido palmítico, lo que se traduce en la necesidad de aportarlos en el alimento. El LNA es un precursor de otros ácidos grasos de cadena larga que son sintetizados a partir de enzimas acil desaturasas. Estas enzimas insertan un doble enlace en la cadena de ácidos grasos a elongar y otras enzimas participan en la reacción de condensación, que es necesaria para la adición de dos carbonos al extremo final del grupo carboxilo (Tocher & Glencross, 2015).

LNA también está involucrado en la regulación de la β -oxidación de ácidos grasos y la síntesis *de novo* de éstos, por lo que se ha visto que un aumento en su inclusión

disminuye la reserva de lípidos en el hepatopáncreas, además de disminuir la concentración de DHA, lo que se traduce en un efecto adverso sobre los parámetros productivos del langostino (D'Abramo & Sheen, 1994).

Una buena fuente de lípidos ricos en ácidos grasos poliinsaturados (HUFA's por sus siglas en inglés) es especialmente importante en las hembras, ya que éstos mejoran la tasa de fertilidad y eclosión de los huevos. También se ha reportado que el colesterol es esencial para la mayoría de los crustáceos, debido a su incapacidad de sintetizarlo a partir de precursores; en los langostinos es un precursor de vitamina D. Una suplementación del 0.5% al 1% se considera suficiente para un óptimo desarrollo. Un aporte insuficiente, es causa de mortalidad a partir de los 48 días (Molina-Poveda, 2016).

Los fosfolípidos, abundantes en la lecitina y a una proporción de 8%, se consideran importantes para mejorar la supervivencia en algunos estudios; mientras que en otros no se ha reportado un efecto concreto sobre este parámetro (Boonyaratpalin, 1996; Luo *et al.*, 2017).

1.3.3 Metabolismo de carbohidratos

En vista de que la proteína es el nutriente más caro de proveer, se han buscado alternativas para reemplazar la energía que suministra; los carbohidratos, por su bajo costo y accesibilidad han demostrado ser la opción más viable, a diferencia de los lípidos cuyo principal problema es la deposición excesiva y la disminución en el crecimiento que se presenta cuando se administran en elevadas cantidades a los crustáceos (Ding *et al.*, 2017).

Los estudios enfocados a analizar los efectos de la inclusión de carbohidratos en concentrados de camarones y langostinos han sido muchas veces

contradictorios. En los juveniles de langosta *Jasus edwardsii* no mejoraron ninguno de los parámetros evaluados (Simon & Jeffs, 2011), mientras que en el camarón *Litopenaeus vannamei* el almidón de maíz incrementó el crecimiento en condiciones de baja salinidad (Wang *et al.*, 2014). Este contraste se atribuye a la capacidad de cada especie de utilizar los carbohidratos como sustrato energético, y esta respuesta está ligada, a su vez, a las enzimas digestivas presentes en el hepatopáncreas que permiten reducir los carbohidratos complejos a glucosa y la eficiencia (mediada por hormonas) en la regulación de los niveles de esta en hemolinfa mediante su almacenamiento en reservas de lípidos o glucógeno. El grado de aprovechamiento de los carbohidratos también depende de su complejidad; los polisacáridos como la dextrina y el almidón son mejor tolerados que la glucosa. Esto es debido a que los monosacáridos inducen un pico rápido de glucosa (dentro de los primeros 30 minutos), que sobrepasa la capacidad homeostática de los crustáceos. En cambio, los azúcares de mayor complejidad son digeridos lentamente, lo que retrasa el pico de glucosa hasta varias horas post pandrio. La hormona encargada de regular los niveles de glucosa en hemolinfa se denomina Hormona Hiperglucemiante de los crustáceos (cHH por sus siglas en inglés) y es producida en el tallo ocular (Cuzón *et al.*, 2000).

Ding *et al.*, (2017) reportaron que los crustáceos pueden metabolizar carbohidratos mediante la vía de oxidación de Embden-Meyerhof, shunt de pentosas fosfato y también son capaces de sintetizar quitina a partir de la ruta de N-acetilglucosamina. Las principales enzimas que regulan el metabolismo de este nutriente son la hexoquinasa y la fosfoquinasa, cuya actividad puede incrementarse como consecuencia de la ingesta de carbohidratos, hasta un nivel máximo. Cuando se sobrepasa este nivel, la actividad de estas enzimas disminuye nuevamente, lo que significa que el exceso de carbohidratos no se está aprovechando y puede ocasionar un efecto adverso en los parámetros de crecimiento. La inclusión máxima

de carbohidratos varía para cada especie (NRC, 2011); en *Penaeus monodon* se han trabajado proporciones de hasta 35% (Catacutan, 1991), mientras que *M. nipponense* no tolera más de 15% (Ding *et al.*, 2017).

Por lo anterior, se puede resumir que aunque los carbohidratos no son un nutriente esencial para los langostinos, pueden disminuir los requerimientos de proteína al sustituirla como combustible energético de bajo costo. Sin embargo, es necesario estudiar la respuesta específica a la inclusión de diferentes proporciones de carbohidratos en el alimento, puesto que la capacidad para aprovecharlos varía entre especies (Cuzon *et al.*, 2000).

1.4 Consumo de oxígeno

El consumo de oxígeno es una medida empleada para evaluar el gasto de energía tanto en peces como en crustáceos. Dependiendo de la fuente energética que el organismo utilice consumirá una mayor o menor cantidad de oxígeno. Los carbohidratos, por ejemplo, requieren una menor cantidad para metabolizarse (Dall & Smith, 1986). Gallagher & Mathews (1987) propusieron que conforme la inclusión de proteína en el alimento se acercara al requerimiento para una especie determinada, la tasa metabólica disminuiría.

También se utiliza para obtener un parámetro denominado Acción Dinámica Específica (SDA por sus siglas en inglés) que hace referencia al aumento en la respiración que se observa tras la alimentación. Permite determinar la cantidad de energía empleada durante la ingestión y digestión; un alto coeficiente generalmente se asocia a concentrados proteicos que generan un gasto metabólico más intenso por el catabolismo de aminoácidos y la excreción de productos nitrogenados. Sin embargo, los peces y crustáceos por ser amoniotéticos tienen un SDA más bajo que los uricotéticos y ureotéticos; es por ello que son más eficientes que las aves y los mamíferos al derivar la energía de fuentes proteicas (Hewitt & Irving, 1990).

La tasa de oxígeno:nitrógeno (O:N) es otra forma de emplear el consumo de oxígeno en combinación con la excreción de nitrógeno para evaluar las características de los nutrientes que consume un organismo. De tal modo que una proporción O:N > 25:1 indica un metabolismo predominantemente lipídico y una proporción < 25:1 se refiere al catabolismo de aminoácidos (Jiann-Chu & Sen-Huan, 1993).

1.5 Excreción de nitrógeno

En las especies decápodos el nitrógeno es excretado principalmente en forma de amonio a través del epitelio branquial, representando del 60 -70% del N total, como producto del catabolismo de aminoácidos. Existen varias rutas a través de las cuales se forma el amonio, una de las principales es la desaminación o transaminación; aunque los crustáceos también son capaces de excretar nitrógeno en forma de ácido úrico, se considera que es en cantidades muy pequeñas (Rosas *et al.*, 1995).

La excreción de amonio está directamente relacionada a la cantidad de proteína ingerida por el organismo. Estudios realizados previamente en *Crangon crangon* refieren un aumento en la producción de amonio, conforme se aumentó la proporción proteica en el alimento. Esta tendencia refleja la utilización de los aminoácidos como sustrato energético cuando están presentes en mayor cantidad que otras posibles fuentes como lípidos o carbohidratos (Regnault, 1983).

Debido a su metabolismo amoniotélico, una de las disyuntivas que enfrentan las producciones intensivas de crustáceos es la contaminación de cuerpos acuáticos por la descarga de aguas residuales ricas en nitrógeno. Para disminuir la emisión de estos contaminantes se han propuesto estrategias que involucran la formulación de alimentos con menor contenido proteico, el mejoramiento del perfil de

aminoácidos y una adecuada tasa proteína/energía. La dificultad radica en que algunas especies de crustáceos tienen altos requerimientos de proteína para alcanzar tallas óptimas; además de la falta de conocimiento sobre los requerimientos específicos de carbohidratos, que pueden sustituir a la proteína como fuente energética reduciendo de esta manera la excreción de nitrógeno de los organismos (Rosas *et al.*, 2001).

Otro aspecto a considerar es que la excreción postprandial de nitrógeno está relacionada con la calidad de la proteína suministrada, que a su vez se refleja en una mejora en la tasa de crecimiento. En *Litopenaeus vannamei* se observó una relación inversa entre estos parámetros, de tal modo que los organismos que presentaron un mayor incremento de talla excretaron menores cantidades de nitrógeno (Regnault, 1987). Este patrón es atribuible a que la proteína de mejor calidad es asimilada y retenida en los tejidos del organismo, reduciéndose el desperdicio en forma de amonio. Debido a esto, es comprensible que la medición de la excreción de nitrógeno sea una herramienta útil para evaluar la calidad de un alimento balanceado (Yigit *et al.*, 2005).

2. ANTECEDENTES

Los primeros estudios que se realizaron con el langostino *M. acanthurus*, en la década de los 70s, se enfocaron en la descripción de sus características morfológicas y su ciclo de vida (Choudhury,1970; Dobkin *et al.*, 1975). En los años siguientes se comenzó a profundizar en aspectos de distribución y a evaluar las condiciones óptimas para su supervivencia (Contreras & Campos Lince, 1993; Signoret & Brailovsky, 2004; Bernardi 1990).

En el aspecto nutricional, se le considera como un organismo de hábitos omnívoros/detrítivoros durante la fase juvenil y adulta (Albertoni *et al.*, 2003). En hembras reproductoras se encontró que concentraciones elevadas de lípidos en los tratamientos experimentales (20%) optimizaban el crecimiento y la ganancia de peso, además de favorecer la calidad del huevo (Hernández, 2016).

Un estudio realizado mediante línea de rompimiento sugiere que la inclusión de proteína para juveniles de *M. acanthurus* debe ser de 37% aproximadamente (Mojica *et al.*, 2016), mientras que la de lípidos oscila entre 15 y 20%. El requerimiento de carbohidratos en crustáceos es muy variable (Cuzón *et al.*, 2000) debido a la capacidad de extraer energía de otras fuentes (lípidos y proteínas), por lo que se ha calculado que el mejor aprovechamiento se encuentra dentro del 8 al 20% (Frías, 2017).

3. JUSTIFICACIÓN

Un estudio llevado a cabo por Lorán en el 2013 demostró la disminución de las poblaciones silvestres de *M. acanthurus* en México, reportando su desaparición en algunas zonas donde antes se encontraba presente como en la laguna de Los Cocos y Los Planes de la Congregación Carlos A. Carrillo, en el municipio de Cosamaloapan, Veracruz. Este descenso se ha atribuido a la sobreexplotación por parte de los pescadores locales y a la degradación de su hábitat por contaminación (Bowles *et al.*, 2000).

Una alternativa para la explotación sustentable del recurso es el establecimiento de un cultivo de ciclo completo con la capacidad de abastecer la demanda sin tener que extraer a los organismos silvestres. Para que esto sea posible, es necesario estudiar ciertos aspectos clave sobre la biología de la especie que nos permitan adaptarla a la acuicultura: uno de ellos es la alimentación y el conocimiento de sus requerimientos nutricionales.

4. HIPÓTESIS

Debido a sus hábitos omnívoros, las poslarvas de langostino *Macrobrachium acanthurus* son capaces de utilizar **lípidos y carbohidratos dietarios como fuente directa de energía, en vez de la degradación proteica, lo que favorecerá el crecimiento, por ende también las respuestas metabólicas y la deposición de nutrientes en los tejidos.**

5. OBJETIVOS

5.1 General

Determinar el efecto de tratamientos que contienen diferentes proporciones de proteínas, lípidos y carbohidratos en el crecimiento, composición química corporal, consumo de oxígeno y excreción de nitrógeno de poslarvas de langostino prieto *M. acanthurus*.

5.2 Específicos

- Determinar la influencia de diferentes proporciones de lípidos, carbohidratos y proteína en el crecimiento de poslarvas *M. acanthurus*.
- Estimar el efecto de los tratamientos con diferentes proporciones de proteína, lípidos y carbohidratos en la composición química corporal (contenido de proteína y lípidos totales) en tejidos de músculo y hepatopáncreas de poslarvas de langostino prieto.
- Determinar el efecto de los tratamientos con diferentes proporciones de proteína, lípidos y carbohidratos en el consumo de oxígeno y en la excreción de nitrógeno de juveniles de langostino prieto.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Obtención de los organismos

Se utilizaron ciento ochenta poslarvas de *Macrobrachium acanthurus* con peso inicial de $62 \text{ mg} \pm 15 \text{ mg}$ obtenidos a partir de reproductores mantenidos en el Laboratorio de Producción Acuícola de la FES Iztacala. Las poslarvas se aclimataron a las condiciones de laboratorio durante 50 días en tanques de vidrio de 20 L, acondicionados con un filtro de grava y un calentador. Durante ese tiempo se alimentaron con un concentrado formulado en el laboratorio que contenía 30% de proteína cruda y 10% de lípidos, elaboradas con harina de pescado y krill, y una combinación 1:1 de aceite de hígado de pescado y aceite de krill.

6.2 Formulación y elaboración de los tratamientos experimentales

Se evaluaron tres concentraciones de proteína (30%, 35% y 40%) con cuatro diferentes proporciones de lípidos y carbohidratos. Todos los tratamientos fueron isonergéticos (400 kcal/100 g) y se elaboraron de acuerdo a la formulación señalada en la **Tabla 1**. Los alimentos se formularon con un contenido de 400 kcal/100 g, considerando lo reportado por varios autores: Zhu *et al.* (2013) quien trabajó con la fase juvenil de la langosta *Cherax quadricarinatus* con formulaciones que contenían $4,112 \text{ kcal kg}^{-1}$ de energía neta; Teshima *et al.* (2006) estudió poslarvas del langostino *M. rosenbergii* y concluyó que un contenido energético de 17.2 MJ kg^{-1} ($4,108 \text{ kcal kg}^{-1}$) en el alimento era óptimo para el crecimiento de los organismos; Pezzato *et al.* (2003) quienes reportaron que un alimento con 15.1 MJ kg^{-1} ($3,606.57 \text{ kcal kg}^{-1}$) promovió el mayor crecimiento para poslarvas de langostino *M. americanum*.

Los alimentos formulados (**Tabla 1**) se prepararon de acuerdo a Hernández *et al.*, (2004) y en breve los ingredientes se pesaron individualmente en una balanza digital (Denver Instrument, modelo TP-6101) para después homogeneizarse en una mezcladora Kitchen Aid (modelo Pro 450). Los ingredientes en polvo se adicionaron

primero, a continuación se agregó una mezcla de aceite de pescado:krill y a la mezcla final se le añadió agua purificada hasta formar una pasta que se procesó con un molino de carne Tor Rey (modelo M-12-F5) equipado con un cedazo de 0.5 mm de diámetro. Los pellets obtenidos se secaron en un horno Prendo (modelo HSCF-46) a 60 °C durante 12 h. El alimento seco se almacenó en bolsas herméticas de plástico y se guardaron en congelación a -24 °C hasta su uso.

Tabla 1. Formulación (en g) de los alimentos que se proporcionaron a los juveniles de langostino prieto *M. acanthurus*

Ingrediente	Clave del alimento											
	P-30 L-20 C-8	P-30 L-15 C-19	P-30 L-12 C-25	P-30 L-10 C-31	P-35 L-20 C-3	P-35 L-15 C-15	P-35 L-10 C-26	P-35 L-5 C-38	P-40 L-15 C-8	P-40 L-10 C-19	P-40 L-5 C-31	P-40 L-1 C-40
Caseína ^a	33.7	33.7	33.7	33.7	39.55	39.55	39.55	39.55	45	45	45	45
Aceite de pescado ^b :krill ^c	20	15	12.5	10	19	14	9	4	14	9	4	0
Colesterol ^d	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Premezcla de carbohidratos ¹	8	19.5	25.3	31	3	14.5	26.2	37.7	8	19.5	31	40.2
Premezcla de vitaminas ²	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9
Premezcla de minerales ³	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Glucosamina-HCl ^e	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
Na Citrato ^f	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Na Succinato ^g	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
BHT ^h	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Gluten de trigo ⁱ	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Celulosa ^j	23.9	17.4	14.1	10.9	24.05	17.55	10.85	4.35	18.6	12.1	5.6	0.4
TOTAL	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL ⁴												
Humedad (%)	0.77	0.69	0.49	0.72	1.76	0.04	0.22	0.56	2.72	2.28	1.42	1.74
Cenizas (%)	4.49	4.24	4.53	4.21	4.82	4.68	4.75	4.75	4.42	4.27	4.32	5.24
Proteína (%)	30.8	30.4	30.3	30.3	36.5	36.1	35.5	36.3	40.0	42.0	40.5	41.1
Lípidos (%)	21.61	16.63	13.81	10.68	20.19	16.3	13.52	5.91	16.82	12.44	7.27	2.86
Fibra cruda (%)	18.09	9.94	8.56	7.16	12.16	12.69	7.25	4.3	13.02	7.55	2.73	0.29

¹ Dextrina:almidón:glucosa:sacarosa (2:3:7:13) (Sigma Aldrich Co., St. Louis MO, EUA.)
² Premezcla de vitaminas (g kg⁻¹ de alimento): ácido p-aminobenzoico, 0.23; biotina, 0.01; mioinositol, 9.1; ácido nicotínico, 0.91; pantotenato de Ca, 1.3; HCL-piridoxina, 0.09; menadione, 0.08; α-tocoferol, 0.4; cianocobalamina, 0.001; calciferol, 0.02; L-ascorbyl-2-fosfato-Mg, 7.1; ácido fólico, 0.001 y cloruro de colina, 12.12. (Sigma Aldrich Co., St. Louis MO, EUA)
³ Premezcla de minerales (g kg⁻¹ de alimento): MgSO₄·7H₂O, 21.4; NaH₂PO₄·2H₂O, 5.6; KH₂PO₄, 14.0; Ca₃(PO₄)₂, 19.0. (Sigma Aldrich Co., St. Louis MO, EUA).
⁴ Los resultados muestran la media de tres réplicas en base seca.
^a Dimapro S.A. de C.V., CDMX, México.
^b Drotasa S.A. de C.V., México.
^c Aker Biomarine ASA, Oslo, Noruega.
^d Sigma Aldrich Co., St. Louis MO, EUA. C8667
^e Sigma Aldrich Co., St. Louis MO, EUA. G4875
^f Sigma Aldrich Co., St. Louis MO, EUA. C8532
^g Sigma Aldrich Co., St. Louis MO, EUA. S9637
^h Sigma Aldrich Co., St. Louis MO, EUA. W218405
ⁱ Sigma Aldrich Co., St. Louis, MO, EUA. G5004
^j Sigma Aldrich Co., St. Louis, MO, EUA. C8002

6.3 Diseño experimental

Las poslarvas de *M. acanthurus* de 50 días se dividieron aleatoriamente en doce tratamientos por triplicado, con cinco organismos por unidad experimental. Se realizaron tres pruebas de alimentación para cada gradiente de proteína. En la primera prueba se suministraron los alimentos P-30 L-20 C-8, P-30 L-15 C-19, P-30 L-12 C-25 y P-30 L-10 C-31; en el segundo bioensayo se probaron los alimentos P-35 L-20 C-3, P-35 L-15 C-15, P-35 L-10 C-26 y P-35 L-5 C-38; en la tercer y última prueba se administraron los alimentos P-40 L-15 C-8, P-40 L-10 C-19, P-40 L-5 C-31, P-40 L-1 C-40.

Para las pruebas de alimentación, se utilizaron tanques de vidrio de 20 L de capacidad, con unas dimensiones de 40 cm de largo x 20 cm de ancho x 25 cm de alto, equipados con un sistema de filtración (filtro de grava) y un calentador sumergible. El alimento se proporcionaba dos veces por día, a las 10 y 18 h, inicialmente a un 15% de la biomasa total, ajustándose al 10% de acuerdo a los residuos dejados por los organismos y las biometrías realizadas. Transcurridos 30 minutos después de la alimentación, los residuos se recolectaban mediante un sifón y se dejaban secar toda la noche en un horno de convección y se pesaban por la mañana para determinar el consumo de alimento. Cada tercer día se realizaba un recambio de agua del 30% del volumen total. Las poslarvas se mantuvieron con un fotoperiodo 14:10 (luz:oscuridad) a una intensidad de ~1500 lux. Con el fin de evitar canibalismo, dentro de los tanques se colocaron refugios hechos con tubos de PVC. Las variables físico químicas del agua durante las tres pruebas se mantuvieron dentro de los siguientes valores: oxígeno disuelto (OD), 3.44 - 5.04 mg L⁻¹; temperatura, 28.31 – 29.11 °C; pH, 8.18 – 8.58; amonio total (N-NH₃), 0.01 - 0.03. Las pruebas de alimentación tuvieron una duración de 60 días. El oxígeno disuelto, la temperatura y el pH fueron determinados con un medidor multiparamétrico modelo YSI 556MPS. El amonio total se registró de acuerdo a la técnica de Nessler (método 8083, reactivos Hach, Hach CO., Colorado, USA), utilizando un espectrofotómetro modelo DR 2800, Hach.

6.4 Determinación de parámetros de crecimiento

Se realizaron biometrías de los organismos cada 15 días, determinándose el peso con una balanza analítica (precisión de lectura de 0.1 mg) y la longitud de la punta del rostrum hasta el extremo final del telson con un vernier. Los parámetros a evaluar para determinar el crecimiento fueron: ganancia de peso (GP), tasa de crecimiento específica (TCE), conversión alimenticia (CA), tasa de eficiencia de la proteína (TEP), supervivencia (S), índice hepatosomático (IHS) y factor de condición corporal (FCC). Las fórmulas empleadas fueron las siguientes:

$$GP = \frac{\text{Peso final} - \text{Peso inicial}}{\text{Peso inicial}} \times 100$$

$$TCE = \frac{\ln \text{Peso final} - \ln \text{Peso inicial}}{\text{tiempo (días)}} \times 100$$

$$S = \frac{\text{Número final de organismos}}{\text{Número inicial de organismos}} \times 100$$

$$CA = \frac{\text{Alimento total consumido (g en base seca)}}{\text{Incremento de peso corregido(g)}}$$

El incremento de peso se corrige en función de la mortalidad y se calcula del siguiente modo, de acuerdo a Kitabayashi (1971):

Incremento de peso corregido, IPC =

$$\text{Biomasa final} + \left(\frac{\text{Peso promedio final} + \text{Peso promedio inicial}}{2} * \text{No. de muertos} \right) - \text{Biomasa inicial}$$

$$TEP = \frac{\text{Incremento de peso corregido (g)}}{\text{Proteína suministrada (g)}}$$

$$IHS = \frac{\text{Peso del hepatopáncreas(g)}}{\text{Peso del organismo (g)}} * 100$$

Para calcular el FCC, primero se realizó una relación del peso y la longitud a través de una ecuación de regresión no lineal expresada de la siguiente manera: $W = a \times BL^b$, donde W = Peso del organismo vivo (g) y BL = Longitud total (cm). Después de obtener el valor de b , se aplicó la siguiente ecuación: (Li *et al.*, 2016)

$$FCC = \frac{\text{Peso del organismo (g)}}{\text{Longitud total (cm)}^b} * 100,$$

donde:

b = Valor derivado de la ecuación $W = a \times BL^b$.

6.5 Consumo de oxígeno y excreción de nitrógeno

Al finalizar cada prueba de alimentación, los organismos se mantuvieron en ayuno por un periodo de 24 horas y se escogieron aleatoriamente tres juveniles de cada tratamiento para realizar la determinación de consumo de oxígeno y excreción de nitrógeno total. Se utilizó un sistema de circulación cerrado, compuesto por frascos de 1 L conectados en serie por medio de mangueras de plástico y un sistema de cierre hermético. Los frascos se llenaron lentamente con agua y una vez completado el proceso, se interrumpió el flujo de agua. Se tomaron muestras para determinar las concentraciones iniciales de oxígeno disuelto (OD) y nitrógeno amoniacal ($N-NH_3$). Se colocó un organismo en cada frasco y se selló herméticamente por un periodo de 60 min. Al finalizar, se extrajeron muestras del agua dentro de los frascos para obtener las concentraciones finales de OD y NH_4 . El OD se determinó utilizando un oxímetro (modelo 85, YSI Incorporated, OH, USA) y el consumo de oxígeno se calculó mediante la siguiente fórmula (Segovia *et al.*, 2012):

$$Ro = \frac{\Delta O_2}{\Delta t \cdot \delta}$$

donde:

Ro = Consumo específico de oxígeno ($mg O_2 kg^{-1} h^{-1}$)

ΔO_2 = Variación de la concentración de oxígeno (mg O₂ L⁻¹)

Δt = Tiempo (h)

δ = Densidad de biomasa (kg L⁻¹)

La excreción de NH₄ se midió mediante el método de Nessler (Eaton *et al.*, 1995) y se calculó de la siguiente forma (Yigit *et al.*, 2003):

$$A = \frac{N_2 - N_1 \times V}{B / T_{2-1}}$$

donde:

A = tasa de excreción de amonio (µg de NH₃-N/ml)

V = Volumen en la cámara respirométrica (ml)

B = Peso húmedo del organismo (g)

T₂₋₁ = Intervalo de tiempo entre mediciones (h)

6.6 Estabilidad del alimento

El porcentaje de materia seca retenido por cada uno de los alimentos experimentales, se determinó mediante una modificación de la técnica descrita por Obaldo *et al.*, (2002). El alimento peletizado se trituró con un mortero, hasta alcanzar el tamaño de partícula con el que se alimentaba a los organismos (aproximadamente 150 micras), y posteriormente se colocaron 500 mg en un matraz Erlenmeyer con 250 ml de agua. Para comparar la hidroestabilidad entre los alimentos experimentales, se dispuso una manguera con aireación (~3 burbujas/s) en cada matraz, y la temperatura se mantuvo constante a 28 °C mediante baño María. Después de 30 min de inmersión, los restos del alimento se filtraron con una malla de 20 micras y se dejaron secar a 80 °C durante 12 h en un horno de convección.

El cálculo para la retención de materia seca se realizó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de materia seca retenida} = \frac{\text{Peso seco del alimento residual (g)}}{\text{Peso seco del alimento inicial (g)}} * 100$$

6.7 Análisis químicos proximales

La determinación de proteína cruda en los alimentos experimentales se realizó mediante la técnica de Kjeldahl. Para cuantificar extracto etéreo, humedad, cenizas y fibra cruda las muestras se enviaron al Laboratorio de Nutrición de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, donde se determinaron según los métodos oficiales de la AOAC (2015), por los métodos 920.39, 934.01, 942.05 y 962.09 respectivamente. El análisis químico proximal de los alimentos se detalla en la **Tabla 1**.

Para obtener la composición química corporal, los organismos se eutanasiaron por congelación (AVMA, 2013) y se procedió a diseccionar el músculo y hepatopáncreas. El contenido de proteína en músculo se cuantificó por Kjeldahl y en hepatopáncreas con la técnica de BCA. Los lípidos totales se determinaron con una modificación al método de microgravimetría, descrito en el **Anexo 1** (Lu *et al.*, 2008).

6.8 Análisis estadísticos

El modelo experimental se diseñó de manera aleatoria con tres gradientes de proteína (30%, 35% y 40%) y cuatro combinaciones de lípidos y carbohidratos (L-20 C-8, L-15 C-19, L-12 C-25, L-10 C-31 para P30; L-20 C-3, L-15 C-15, L-10 C-26, L-5 C-38 para P35; L-15 C-8, L-10 C19, L-5 C-31, L-1 C-40 para P40) dando como resultado doce alimentos que se probaron por triplicado. El diseño de los tratamientos se ejemplifica en la **Figura 1**. Se empleó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para comprobar la normalidad de los datos y la prueba de Levene para comprobar la homoscedasticidad, antes de someterse a un ANOVA de una vía. Posteriormente se realizó la prueba post hoc de Tuckey. Posteriormente, se aplicó la prueba post hoc de Tuckey.

Los valores porcentuales se transformaron al arcoseno de la función para someterlas al análisis estadístico con el fin de normalizar los datos (Zahr, 2010).

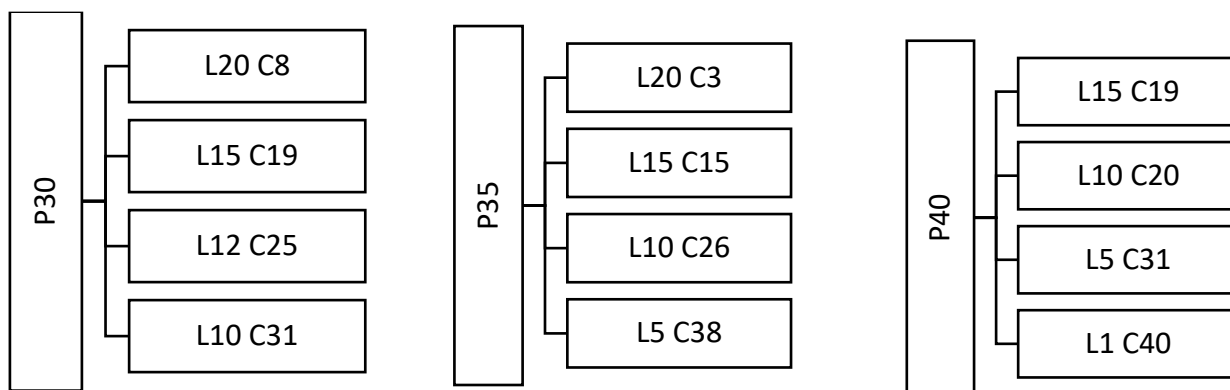


Figura 1. Esquemización del diseño experimental de los 12 tratamientos aplicados a las poslarvas de langostino prieto *M. acanthurus*. La clave de los tratamientos describe el porcentaje de cada uno de los macronutrientes suministrado. P= Proteína; L=Lípidos; C=Carbohidratos.

7. RESULTADOS

7.1. Retención de materia seca en agua

Los alimentos que presentaron mayor hidroestabilidad fueron P-30 L-20 C-8, P-35 L-15 C-3 y P-40 L-15 C-8, con un valor cercano a 80% (**Figura 2**). En P-30 y P-40 se observa una disminución progresiva de la retención de materia seca conforme se reduce la inclusión de lípidos en el alimento, de modo tal que P-30 L-10 C-31 y P-40 L-1 C-40 reportan valores de retención de alrededor de 40%. En P-35 la estabilidad fue baja (40%), en general, para todos los tratamientos con excepción de P-35 L-20 C-3.

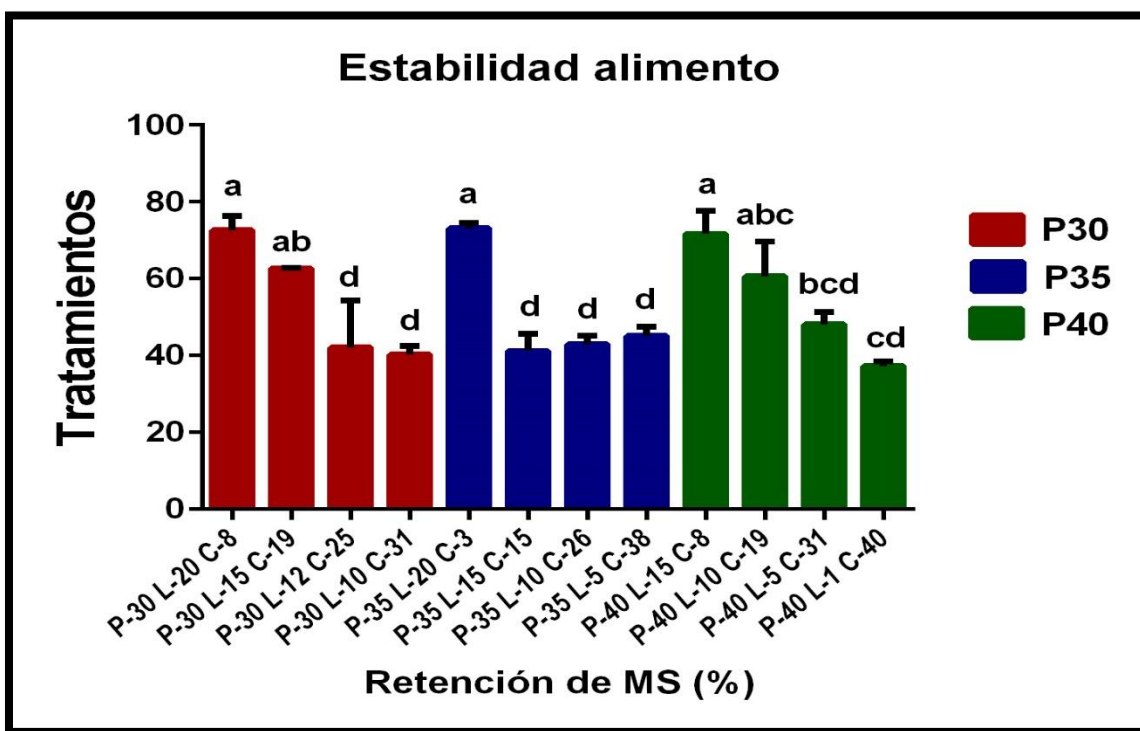


Figura 2. Efecto de la variación de proteína, lípidos y carbohidratos en la retención de materia seca, posterior a una inmersión de 30 min, de los doce alimentos que se suministraron por 60 días a las poslarvas de langostino prieto *M. acanthurus* durante la prueba de alimentación. Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$). Valor promedio de tres réplicas \pm desviación estándar.

7.2. Parámetros de crecimiento

Los parámetros de crecimiento obtenidos después de la prueba de alimentación se muestran en la **Tabla 2**. La mayor ganancia de peso (%) se presentó con los alimentos P-35 L-20 C-3 y P-35 L-15 C-15, que contenían un 35% de proteína y altas concentraciones de lípidos (15% y 20%). Esta ganancia fue estadísticamente significativa ($P= 0.00652$), pues representa aproximadamente el doble de la ganancia alcanzada por los organismos sometidos a los demás tratamientos. El menor desempeño se obtuvo con el tratamiento P-40 L-1 C-40, que no contenía ninguna fuente adicional de lípidos además del colesterol (**Figura 3**).

En consecuencia, la mayor TCE fue de 2.22%/día seguida de 1.96%/día obtenida con los tratamientos P-35 L-15 C-15 y P-35 L-20 C-3, respectivamente (**Figura 4**). Aparentemente, cuando el nivel de proteína es óptimo y cumple con los requerimientos mínimos de los langostinos (que Mojica *et al.* 2016, calcularon en 37%), los lípidos se utilizan como fuente alternativa de energía. En todos los tratamientos que contenían 40% de proteína, se aprecia el aumento en la ganancia de peso y la tasa de crecimiento específica al aumentar el nivel de lípidos en el alimento. En contraste, con las bajas concentraciones de lípidos (< 5%), se obtuvo un pobre rendimiento en la TCE y en la ganancia de peso, independientemente de las altas concentraciones de carbohidratos (> 30%). Sin embargo, en los langostinos que se encontraban en estrés por déficit proteico (30%), la inclusión de 30% de carbohidratos en el alimento aumentó la supervivencia y la TCE. En ese gradiente de proteína (30%), un incremento en el porcentaje de lípidos no derivó en un aumento significativo en el crecimiento, y por el contrario, repercutió en la supervivencia **Figura 5**.

Tabla 2 Parámetros de crecimiento de poslarvas de langostino prieto *M. acanthurus* tratadas con doce alimentos que contenían diferentes proporciones de proteína, lípidos y carbohidratos. Valores promedio de tres réplicas \pm desviación estándar. Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

	Clave del tratamiento											
	P-30 L-20 C-8	P-30 L-15 C-19	P-30 L-12 C-25	P-30 L-10 C-31	P-35 L-20 C-3	P-35 L-15 C-15	P-35 L-10 C-26	P-35 L-5 C-38	P-40 L-15 C-8	P-40 L-10 C-19	P-40 L-5 C-31	P-40 L-1 C-40
PPI (mg)	73.53 \pm 15.79 ^{ab}	67.97 \pm 11.84 ^{abc}	74.97 \pm 19.75 ^{ab}	78.03 \pm 7.74 ^a	57.7 \pm 5.5 ^{abc}	43.27 \pm 13.45 ^c	54.83 \pm 5.34 ^{abc}	47.0 \pm 5.73 ^{bc}	68.85 \pm 5.16 ^{abc}	67.12 \pm 4.42 ^{abc}	63.94 \pm 3.57 ^{abc}	57.89 \pm 9.19 ^{abc}
PPF (mg)	138.05 \pm 77.0 ^{ab}	122.3 \pm 27.65 ^{ab}	120.73 \pm 24.86 ^{ab}	170.9 \pm 16.54 ^{ab}	190.4 \pm 45.2 ^a	167.6 \pm 70.06 ^{ab}	133.33 \pm 35.86 ^{ab}	107.7 \pm 25.69 ^{ab}	168.89 \pm 29.14 ^{ab}	134.78 \pm 17.24 ^{ab}	116.86 \pm 16.06 ^{ab}	82.09 \pm 15.44 ^b
LPI (cm)	1.97 \pm 0.05 ^a	1.99 \pm 0.1 ^a	2.0 \pm 0.11 ^a	1.99 \pm 0.19 ^a	1.83 \pm 0.04 ^a	1.71 \pm 0.15 ^a	1.79 \pm 0.08 ^a	1.71 \pm 0.02 ^a	1.97 \pm 0.09 ^a	1.97 \pm 0.04 ^a	1.92 \pm 0.05 ^a	1.85 \pm 0.14 ^a
LPF (cm)	2.42 \pm 0.3 ^{ab}	2.39 \pm 0.15 ^{ab}	2.34 \pm 0.14 ^{ab}	2.61 \pm 0.18 ^a	2.63 \pm 0.19 ^a	2.56 \pm 0.25 ^{ab}	2.43 \pm 0.19 ^{ab}	2.29 \pm 0.14 ^{ab}	2.58 \pm 0.11 ^a	2.49 \pm 0.02 ^{ab}	2.33 \pm 0.13 ^{ab}	2.07 \pm 0.09 ^b
FCC	1.09 \pm 0.21 ^{bcd}	0.92 \pm 0.01 ^{de}	1.57 \pm 0.10 ^a	0.93 \pm 0.08 ^{cde}	0.91 \pm 0.04 ^{de}	0.75 \pm 0.01 ^e	0.9 \pm 0.06 ^{de}	0.94 \pm 0.04 ^{cde}	1.09 \pm 0.02 ^{bcd}	1.28 \pm 0.15 ^b	1.19 \pm 0.02 ^{bc}	1.22 \pm 0.1 ^b
GP (mg)	69.09 \pm 57.68 ^{ab}	54.31 \pm 18.92 ^{ab}	45.81 \pm 5.94 ^{ab}	92.84 \pm 16.99 ^{ab}	132.86 \pm 50.29 ^a	124.33 \pm 59.07 ^a	78.5 \pm 30.93 ^{ab}	60.74 \pm 20.04 ^{ab}	100.04 \pm 28.72 ^{ab}	67.66 \pm 15.71 ^{ab}	52.93 \pm 15.64 ^{ab}	24.2 \pm 15.01 ^b
GP (%)	107.86 \pm 35.26 ^{ab}	79.71 \pm 24.69 ^{ab}	63.22 \pm 13.07 ^{ab}	120.21 \pm 27.73 ^{ab}	237.31 \pm 106.42 ^a	286.69 \pm 86.05 ^a	140.57 \pm 46.27 ^{ab}	127.13 \pm 26.01 ^{ab}	145.84 \pm 41.41 ^{ab}	100.91 \pm 22.83 ^{ab}	82.92 \pm 24.85 ^{ab}	43.52 \pm 29.48 ^b
TCE (%/día)	1.05 \pm 0.51 ^{bc}	0.97 \pm 0.24 ^c	0.81 \pm 0.13 ^c	1.31 \pm 0.22 ^{abc}	1.96 \pm 0.58 ^{ab}	2.22 \pm 0.4 ^a	1.44 \pm 0.34 ^{abc}	1.36 \pm 0.19 ^{abc}	1.48 \pm 0.29 ^{abc}	1.16 \pm 0.20 ^{bc}	1.0 \pm 0.22 ^c	0.58 \pm 0.36 ^c
Consumo (mg/día/org en BS)	9.66 \pm 0.25 ^{ab}	7.1 \pm 1.5 ^{abc}	4.96 \pm 0.92 ^{bc}	4.43 \pm 1.63 ^c	10.45 \pm 0.58 ^a	9.66 \pm 2.51 ^{ab}	10.63 \pm 2.53 ^a	8.81 \pm 1.51 ^b ^{abc}	6.03 \pm 0.77 ^{abc}	7.24 \pm 0.51 ^{abc}	8.49 \pm 0.43 ^{abc}	8.87 \pm 0.55 ^{abc}
CA	2.85 \pm 1.62 ^b	3.04 \pm 0.18 ^b	3.74 \pm 2.12 ^{ab}	2.56 \pm 1.09 ^b	3.01 \pm 0.88 ^b	2.24 \pm 1.3 ^b	3.59 \pm 0.40 ^{ab}	3.87 \pm 0.49 ^{ab}	1.82 \pm 0.73 ^b	2.42 \pm 0.37 ^b	4.76 \pm 1.37 ^{ab}	7.25 \pm 2.53 ^a
TEP	0.4 \pm 0.33 ^{bcd}	0.39 \pm 0.12 ^{cd}	0.56 \pm 0.01 ^{bcd}	1.23 \pm 0.28 ^a	0.72 \pm 0.29 ^{bc}	0.7 \pm 0.21 ^{bc}	0.4 \pm 0.08 ^{cd}	0.38 \pm 0.06 ^{cd}	0.91 \pm 0.16 ^{ab}	0.51 \pm 0.09 ^{bcd}	0.34 \pm 0.08 ^{cd}	0.15 \pm 0.09 ^d
IHS	1.46 \pm 0.41 ^c	4.0 \pm 0.31 ^{abc}	2.55 \pm 1.34 ^{abc}	4.87 \pm 1.55 ^a	4.05 \pm 0.54 ^{abc}	4.47 \pm 0.55 ^{ab}	2.9 \pm 0.66 ^{abc}	1.76 \pm 0.5 ^{bc}	3.56 \pm 1.73 ^{abc}	4.39 \pm 0.72 ^{ab}	4.39 \pm 0.42 ^{ab}	5.17 \pm 0.99 ^a
Supervivencia (%)	33.33 \pm 23.09 ^c	46.67 \pm 11.55 ^{bc}	73.33 \pm 30.55 ^{abc}	73.33 \pm 11.55 ^{abc}	86.67 \pm 23.09 ^{abc}	86.67 \pm 23.09 ^{abc}	100 \pm 0 ^a	93.33 \pm 11.55 ^{ab}	86.67 \pm 11.55 ^{abc}	100 \pm 0 ^a	86.67 \pm 11.55 ^{abc}	86.67 \pm 11.55 ^{abc}

PPI= Peso promedio inicial; PPF= Peso promedio final; LPI= Longitud promedio inicial; LPF= Longitud promedio final; FCC= Factor de condición corporal; GP= Ganancia de peso; TCE= Tasa de crecimiento específica; CA= Conversión alimenticia; TEP= Tasa de eficiencia proteica; IHS= Índice hepatosomático.

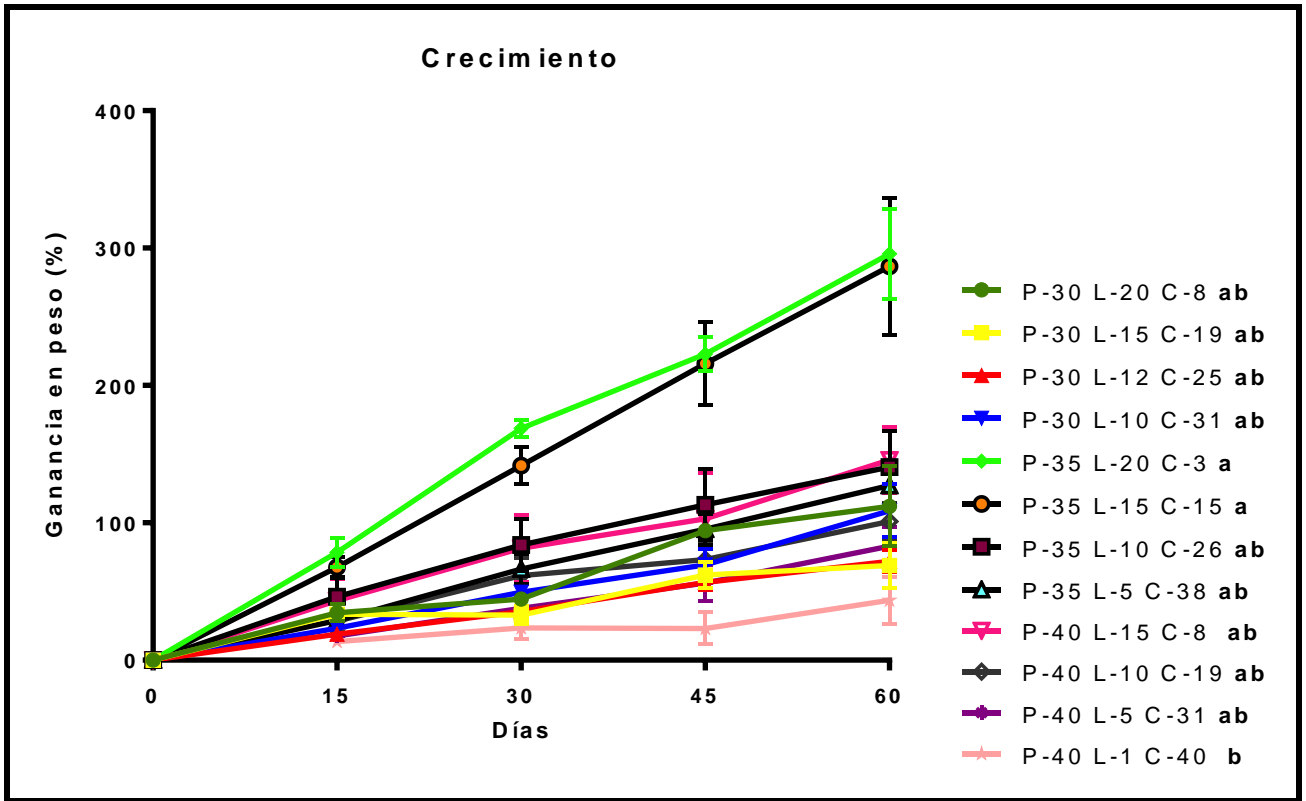


Figura 3. Efecto de la variación de proteína, lípidos y carbohidratos en la retención de materia seca, posterior a una inmersión de 30 min, de los doce alimentos que se suministraron por 60 días a las postlarvas de langostino prieto *M. acanthurus* durante la prueba de alimentación. Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$). Valor promedio de tres réplicas \pm desviación estándar.

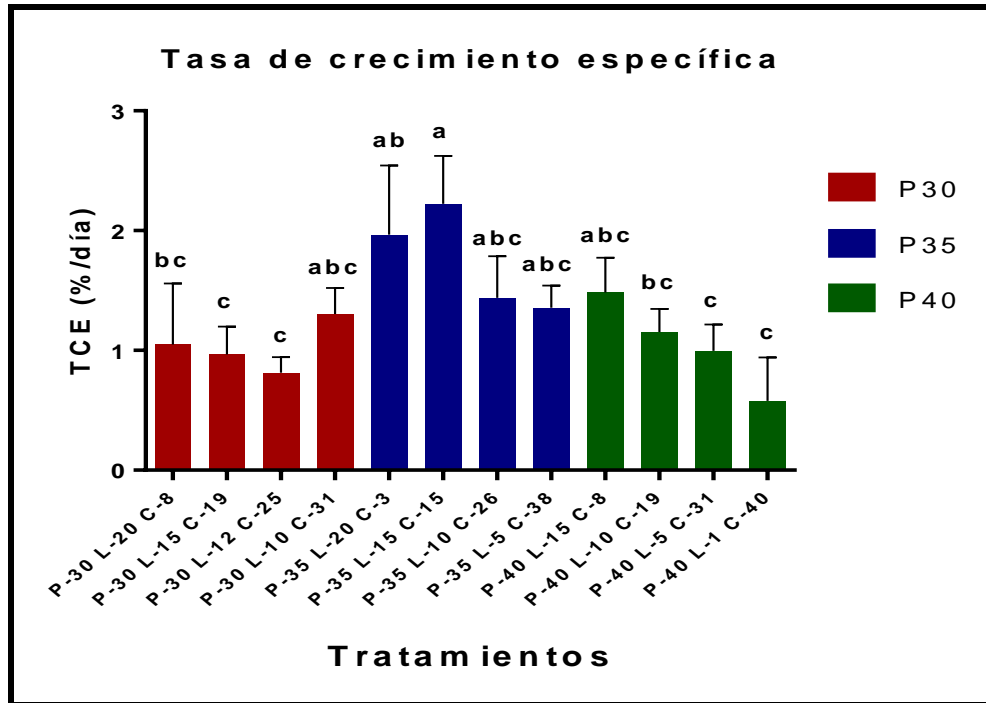


Figura 4. Efecto de la variación de proteína, lípidos y carbohidratos en la tasa de crecimiento específica (%/día) en poslarvas de langostino prieto *M. acanthurus* al finalizar los 60 días de la prueba de alimentación. Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$). Valor promedio de tres réplicas \pm desviación estándar.

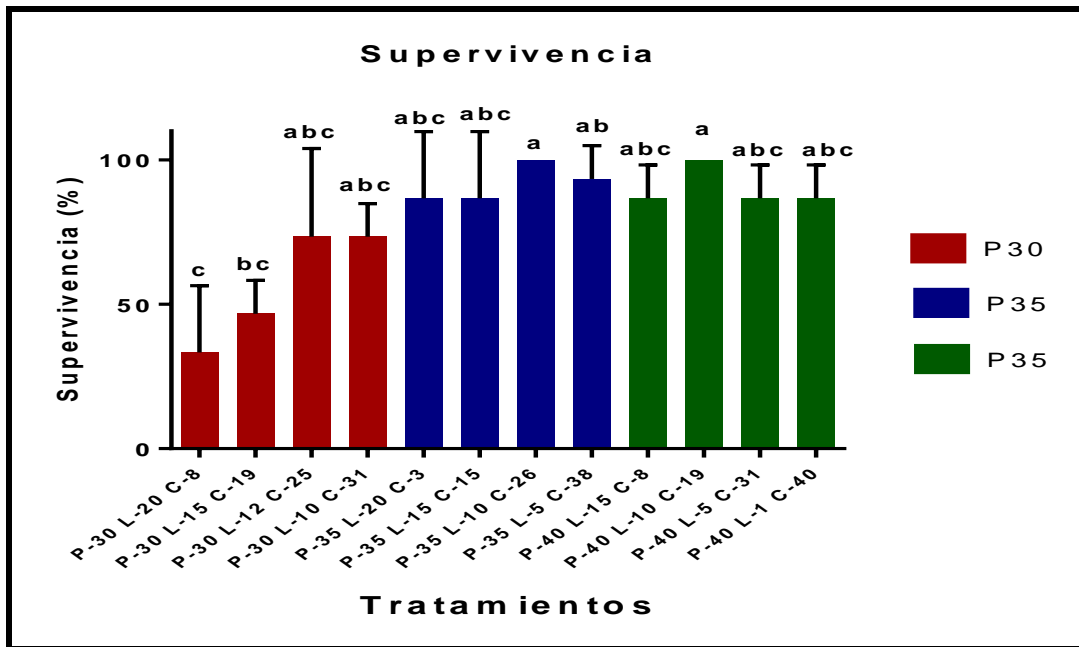


Figura 5. Efecto de la variación de proteína, lípidos y carbohidratos en la supervivencia (%) de poslarvas de langostino prieto *M. acanthurus* al finalizar los 60 días de la prueba de alimentación. Valor promedio de tres réplicas \pm desviación estándar.

En el consumo alimenticio se puede apreciar que los tratamientos con 35% de proteína estimularon una mayor ingestión, reflejándose en la ganancia de peso (**Figura 6**). Los organismos alimentados con los tratamientos P-35 L-20 C-3 y P-35 L-15 C-15 consumieron casi un tercio más que aquellos alimentados con los concentrados P40, pero tuvieron el doble de ganancia en peso.

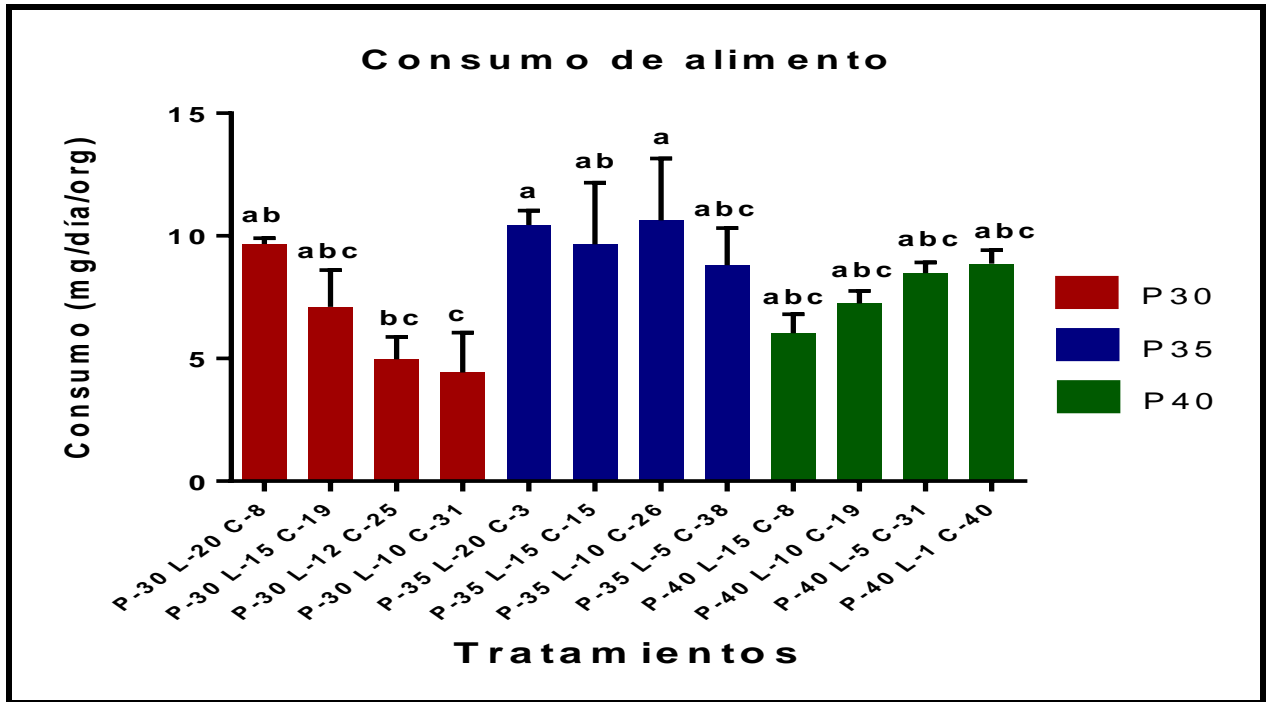


Figura 6. Efecto de la variación de proteína, lípidos y carbohidratos en el consumo (mg de alimento en base seca (BS)/día/organismo) en poslarvas de langostino prieto *M. acanthurus* al finalizar los 60 días de la prueba de alimentación. Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$). Valor promedio de tres réplicas \pm desviación estándar.

La conversión alimenticia se mantuvo por debajo de 4 en todos los tratamientos, con excepción de P-40 L-5 C-31 y P-40 L-1 C-40. Los alimentos P-40 L-15 C-8 y P-40 L-10 C-19 obtuvieron la menor conversión alimenticia (1.82 y 2.42 respectivamente), presentando además menor variabilidad en los resultados (**Figura 7**). En el caso de P-40 L-1 C-40 la conversión alimenticia aumentó hasta 7, en promedio.

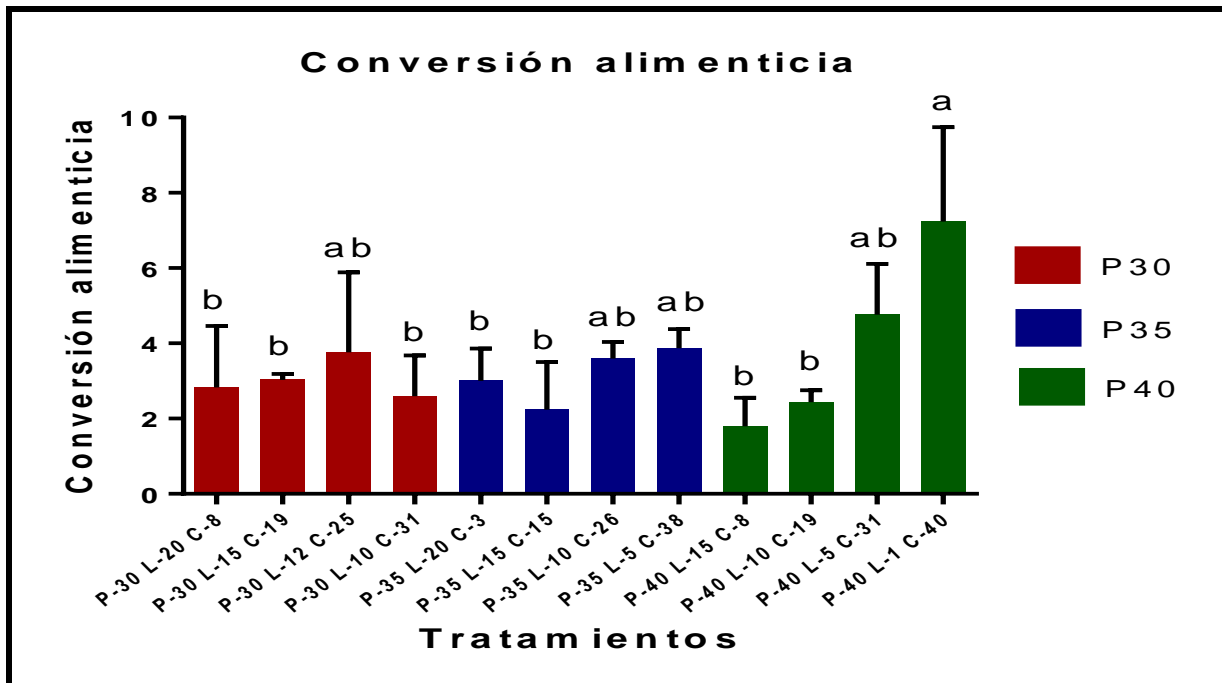


Figura 7. Efecto de la variación de proteína, lípidos y carbohidratos en la conversión alimenticia de poslarvas de langostino prieto *M. acanthurus* al finalizar los 60 días de la prueba de alimentación. Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$). Valor promedio de tres réplicas \pm desviación estándar.

Con respecto al TEP, el tratamiento P-30 L-10 C-31 obtuvo el mejor rendimiento (1.23), y el crecimiento no fue significativamente diferente al de otros alimentos con mayor contenido proteico (tratamientos P-35 L-10 C-26, P-35 L-5 C-38, P-40 L-15 C-8 y P-40 L-10 C-19) (**Figura 8**). La supervivencia para la mayoría de los tratamientos con 30% de proteína estuvo por debajo del 80%, lo que no se considera óptimo en los bioensayos con crustáceos (Cuzón & Guillaume, 1997). En los concentrados que contenían 35 % y 40% de proteína, la supervivencia se encontró por encima del 80% y llegó a 100% con los tratamientos P-35 L-10 C-26 y P-40 L-10 C-19 que contenían ambas 10% de lípidos y entre 20 y 26% de carbohidratos (**Figura 5**).

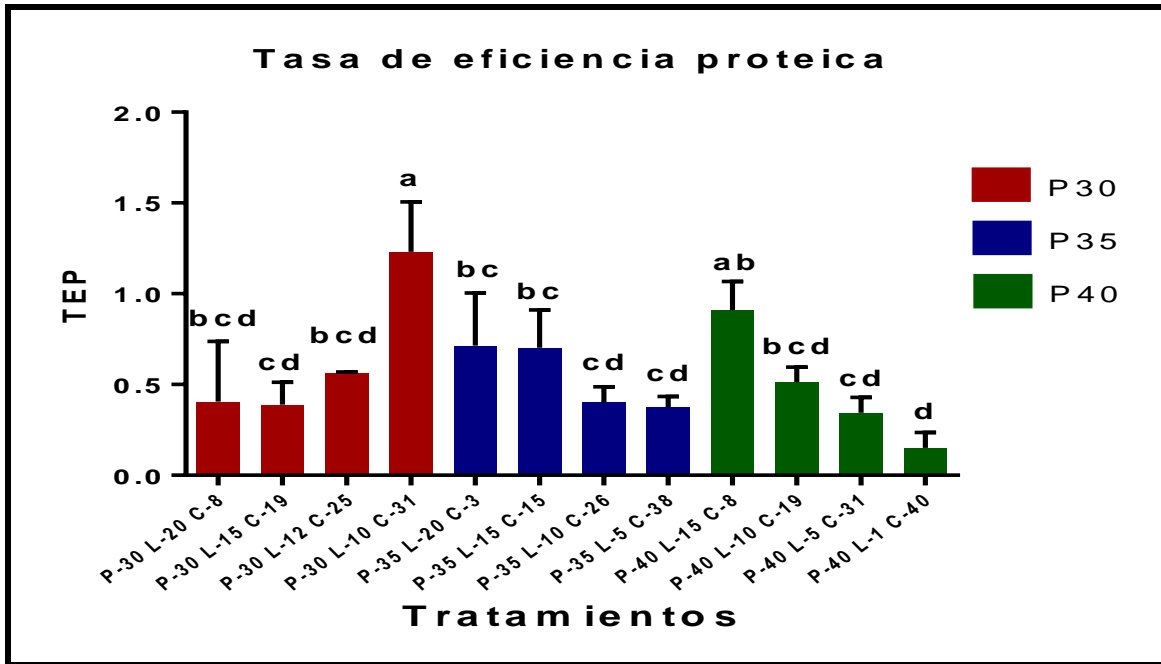


Figura 8. Efecto de la variación de proteína, lípidos y carbohidratos en la tasa de eficiencia proteica de poslarvas de langostino prieto *M. acanthurus* al finalizar los 60 días de la prueba de alimentación. Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$). Valor promedio de tres réplicas \pm desviación estándar.

El índice hepatosomático en los concentrados con 30% de proteína aumentó a medida que se disminuía el contenido de lípidos en el alimento: el menor IHS (≤ 2) se encontró con 20% de lípidos en el alimento y el mayor IHS (6) con 10% de lípidos en el alimento. En los alimentos con 35% de proteína, el IHS se reduce conforme el aporte de lípidos en el alimento disminuye; el mayor IHS (4) se encuentra con los tratamientos P-35 L-20 C-3 y P-35 L-15 C-15 que contienen 20% y 15% de lípidos en el alimento respectivamente, mientras que el menor IHS (1.76) se reportó con 5% de lípidos en el alimento. En todos los alimentos con 40% de proteína, el IHS se mantuvo, en promedio, por encima de 4 sin que hubiera diferencia significativa entre ellos (**Figura 9**).

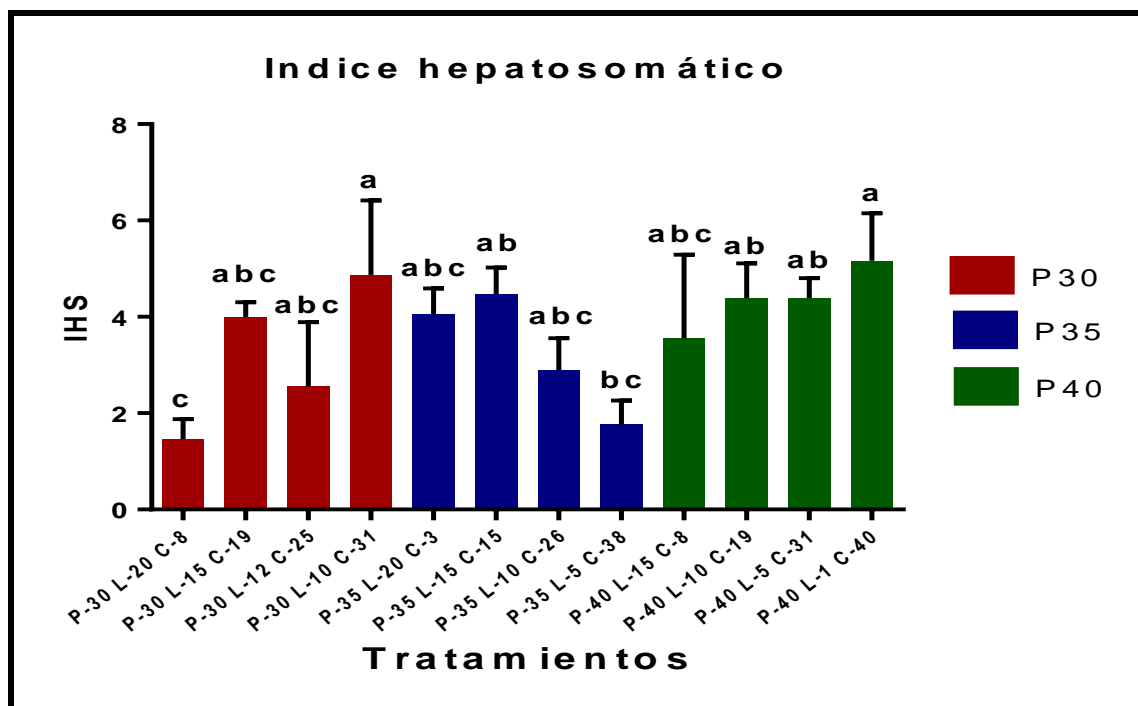


Figura 9. Efecto de la variación de proteína, lípidos y carbohidratos en el índice hepatosomático (IHS) de poslarvas de langostino prieto *M. acanthurus* al finalizar los 60 días de la prueba de alimentación. Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$). Valor promedio de tres réplicas \pm desviación estándar.

7.3. Parámetros metabólicos

El consumo de oxígeno es similar en todos los niveles de proteína, con excepción de los tratamientos P-40 L-1 C-40 y P-35 L-20 C-3, que registraron el menor valor (por debajo de $0.5 \text{ mg L}^{-1} \text{ g}^{-1}$). El mayor consumo de oxígeno reportado se presentó con el alimento P-30 L-12 C-25, que fue de $2 \text{ mg L}^{-1} \text{ g}^{-1}$ en promedio (**Figura 10**).

Con respecto a la excreción de nitrógeno amoniacal (N-NH_3), se observa una ligera tendencia creciente con los alimentos P-30 al aumentar los porcentajes de carbohidratos y disminuir los lípidos. Con los alimentos P-35 la excreción amoniacal se mantuvo por encima de los $5 \mu\text{g L}^{-1} \text{ g}^{-1}$, lo que sugiere el catabolismo de aminoácidos como principal sustrato energético. En P-40 la menor excreción amoniacal se observó con el tratamiento L-15 C-8 y la mayor excreción con L-1 C-40 (**Figura 11**).

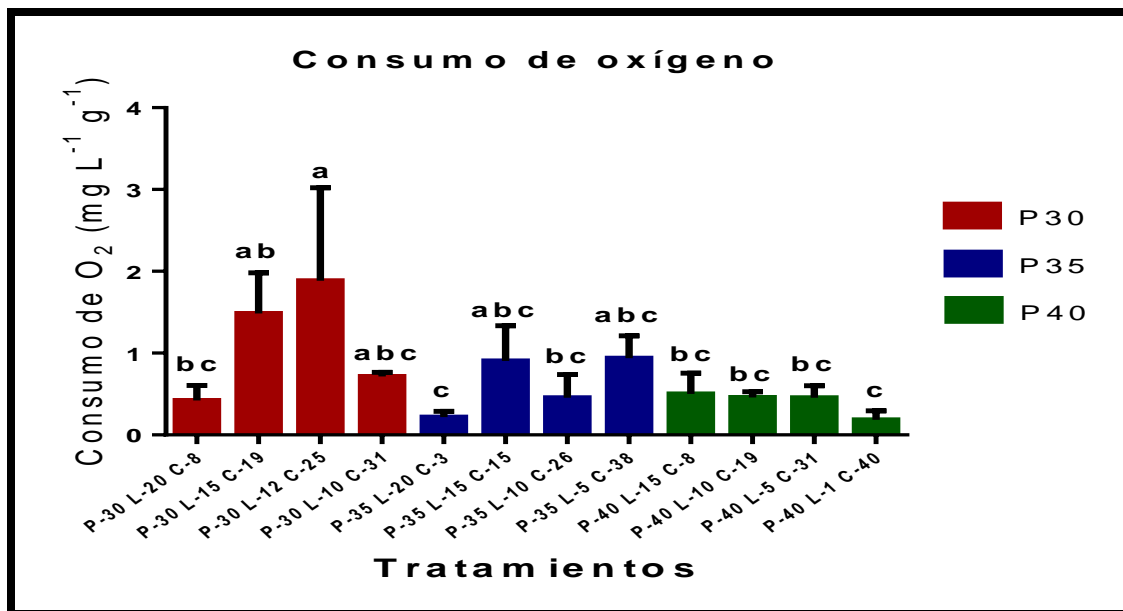


Figura 10. Efecto de la variación de proteína, lípidos y carbohidratos en el consumo de oxígeno de poslarvas de langostino prieto *M. acanthurus* al finalizar los 60 días de la prueba de alimentación. Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$). Valor promedio de tres réplicas \pm desviación estándar.

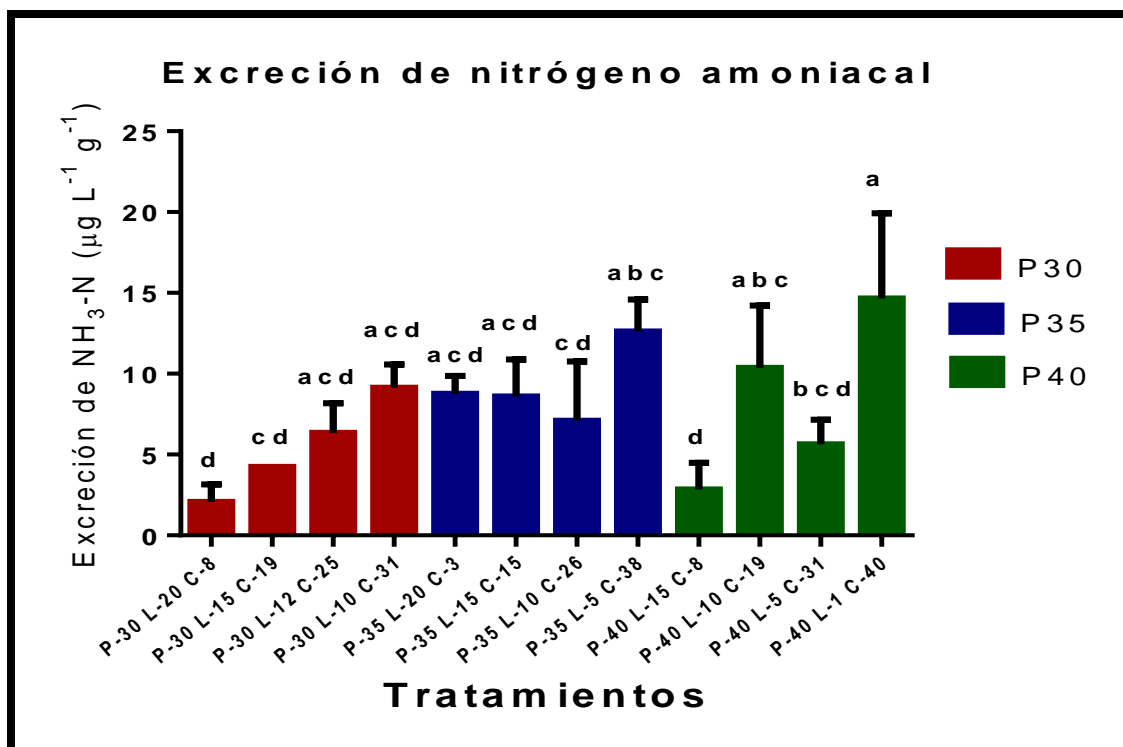


Figura 11. Efecto de la variación de proteína, lípidos y carbohidratos en la excreción de nitrógeno amoniacal (N-NH₃) de poslarvas de langostino prieto *M. acanthurus* al finalizar los 60 días de la prueba de alimentación. Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$). Valor promedio de tres réplicas \pm desviación estándar.

7.4. Composición química corporal

La variación de proteína, lípidos y carbohidratos en los alimentos suministrados a los organismos no ocasionó diferencias significativas en el porcentaje de retención de lípidos en tejido muscular (**Figura 12**), que osciló entre 3% y 7% en promedio para todos los tratamientos.

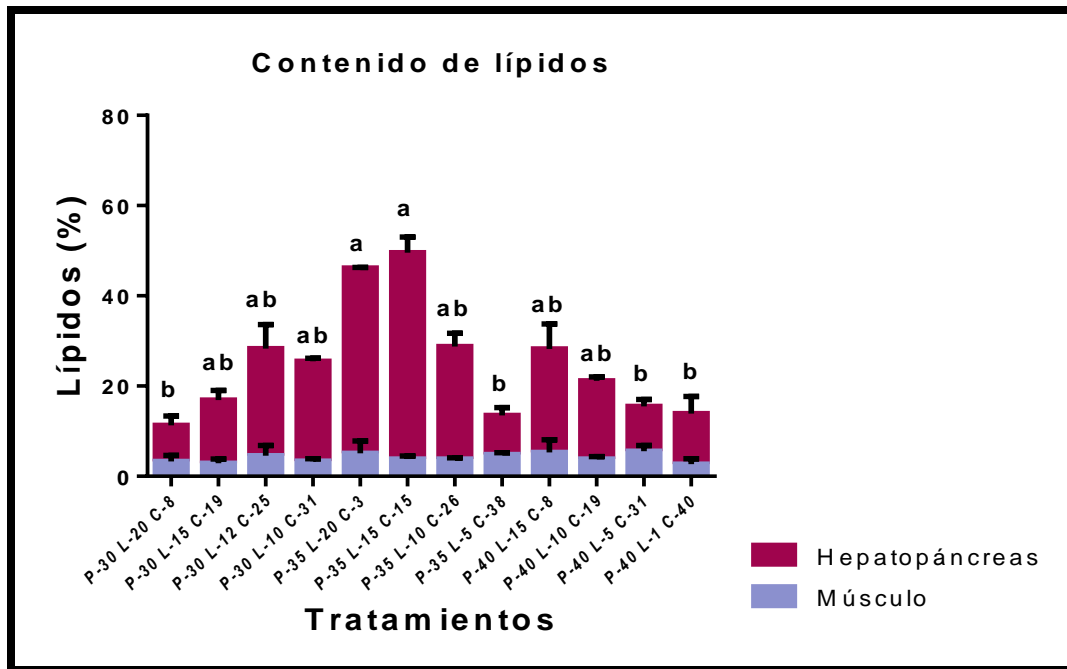


Figura 12. Contenido (en %) de lípidos en músculo y hepatopáncreas de poslarvas de langostino prieto *M. acanthurus* al finalizar la prueba de alimentación con tratamientos que contenían diferentes cantidades de proteína, lípidos y carbohidratos. Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$). Valor promedio de tres réplicas \pm desviación estándar.

Por el contrario, en el hepatopáncreas, los concentrados P-35 L-20 C-3 y P-35 L-15 C-15 presentaron una acumulación lipídica cercana al 40%, que representa más del doble del valor reportado para los tratamientos P-30 L-20 C-8, P-35 L-5 C-38, P-40 L-5 C-31 y P-40 L-1 C-40. La deposición de lípidos en este órgano se corresponde con la tendencia de IHS observada anteriormente, donde los tratamientos con 30% de proteína registran un aumento de lípidos en el hepatopáncreas conforme disminuye el aporte de lípidos en el alimento. Al aumentar el nivel de proteína a 35%

y 40%, la retención lipídica disminuye al reducirse también el aporte de lípidos en el alimento (**Figura 12**).

Por el contrario, no se observaron diferencias significativas en el contenido de proteína en las muestras de músculo y hepatopáncreas evaluados, como se muestra en la **Figura 13**. En músculo, los valores se mantuvieron entre 15%, que fue el valor mínimo registrado con P-35 L-5 C-38, y un máximo de 19% obtenido con P-35 L-20 C-3. En hepatopáncreas, el contenido de proteína fue menor, oscilando entre 1.9% y 2.5%.

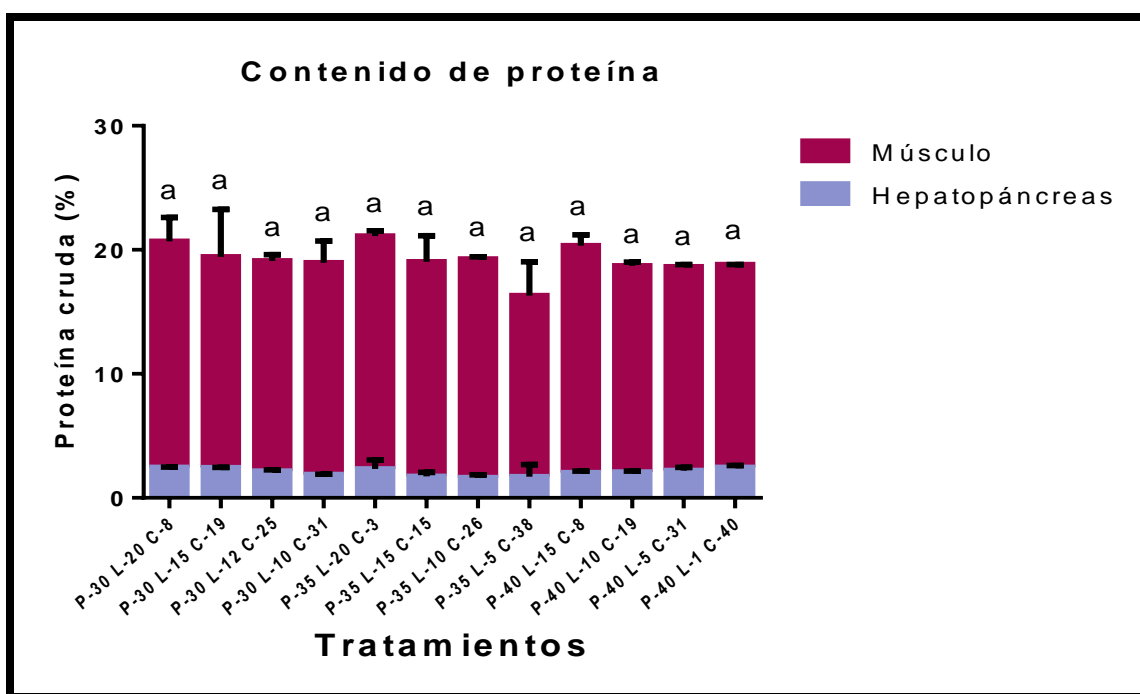


Figura 13. Contenido (en %) de proteína en músculo y hepatopáncreas de poslarvas de langostino prieto *M. acanthurus* al finalizar la prueba de alimentación con tratamientos que contenían diferentes cantidades de proteína, lípidos y carbohidratos. Valor promedio de tres réplicas \pm desviación estándar.

8. DISCUSIÓN

8.1 Estabilidad del alimento

La capacidad de un alimento de retener materia seca en inmersión es de suma importancia para los crustáceos, debido a las particularidades que manifiestan estos organismos durante la ingestión: son bentónicos, por lo que el pellet debe hundirse rápidamente, y mantenerse estable durante la manipulación que hace el animal previa a la ingestión. La pérdida de nutrientes propicia el deterioro de la calidad del agua y afecta la disponibilidad del alimento para el organismo (Meyers & Zein-Eldin, 1972). La estabilidad física y nutricional de un alimento peletizado depende de su composición, la calidad de los ingredientes y el método de procesamiento (Dominy *et al.*, 2004).

Debido a esta necesidad de mejorar la hidroestabilidad de los alimentos balanceados, se han incorporado a las formulaciones aglutinantes que permitan retener los nutrientes en una matriz orgánica durante la inmersión. Algunos aglutinantes que se han probado con buenos resultados en alimentos purificados o semipurificados son la celulosa y la carragenina (Meyers *et al.*, 1972) que lograron retener un mayor porcentaje de materia seca en comparación al agar y la gelatina. El uso de la carragenina como aglutinante posee, además, la ventaja de que es una fuente nutricional para los crustáceos, al contrario de la celulosa. Otro factor que influye en la estabilidad post inmersión, es el método de procesamiento de los alimentos; los concentrados secados en hornos de convección muestran una mejor retención de nutrientes porque el proceso de secado con calor gelatiniza los almidones, lo que permite una mejor aglutinación de los ingredientes (Ruscoe *et al.*, 2005; Meyers & Zein-Eldin, 1972).

Otra variación en el procesamiento de los alimentos balanceados es el método de peletizado. Un estudio, realizado por Rout & Bandyopadhyay (1999) afirma que al

utilizar un molino de carne se obtiene menor hidroestabilidad que con un extrusor comercial. En el estudio, tras 30 min de inmersión, el alimento obtenido en molino de carne tuvo una estabilidad ligeramente superior al 80% lo que coincide con los resultados obtenidos en el presente trabajo, donde también se utilizó un molino de carne para obtener los pellets. Los alimentos que fueron extruídos mostraron una mejora significativa en la estabilidad, muy cercana al 100%, que no se alcanzó en el presente estudio.

De acuerdo a lo reportado por Argüello & Molina (2013), la pérdida de materia seca no debería exceder el 10% después de 60 min de inmersión, lo que no se logró con las formulaciones realizadas en el laboratorio del presente estudio, posiblemente debido al método de procesamiento y tipo de ingredientes utilizados (purificados), y a la cantidad de aglutinante utilizado que varió de 0.4% en el alimento P-40 L-1 C-40 hasta 20% en los alimentos P-30 L-20 C-8, P-35 L-20 C-3 y P-40 L-15 C-8. Aparentemente la inclusión de celulosa influyó de manera positiva en la estabilidad de los alimentos, tal como lo menciona Ruscoe *et al.*, (2005). Al parecer, la inclusión de 20% es adecuada para mejorar la estabilidad, como demuestra la mejora significativa en la retención de nutrientes con respecto a los demás tratamientos.

8.2 Parámetros de crecimiento

Debido a la capacidad que poseen los langostinos de aprovechar una amplia variedad de ingredientes como sustrato energético para el mantenimiento de su metabolismo, han logrado adaptarse a diferentes hábitats y distribuirse en todas las zonas templadas del mundo. Como resultado de esta diversidad, cada especie del género *Macrobrachium* tiene requerimientos nutricionales específicos, que es necesario determinar para el establecimiento de un cultivo comercial (Méndez-Martínez *et al.*, 2017).

En el caso de *M. acanthurus* se ha definido como un omnívoro con base en estudios previos de contenido gástrico (Albertoni *et al.*, 2003), por lo que en el presente trabajo se determinó el efecto de los lípidos y carbohidratos en el crecimiento de la etapa poslarvaria bajo tres diferentes concentraciones de proteína. Los parámetros de crecimiento (TCE, TEP, CA y FCC) fueron similares a los reportadas para otras especies de langostino, como *M. americanum* (Méndez-Martínez *et al.*, 2017) y *M. malcomsonii* (Saravana *et al.*, 2012) aunque la GP fue ligeramente menor en comparación a *M. americanum*. En comparación al camarón blanco del Pacífico, *Litopenaeus vannamei*, el crecimiento de *M. acanthurus* es menor; en camarón la TCE suele ser superior a 2%/día y la CA raramente pasa de 1 (Zhou *et al.*, 2012; Nimrat *et al.*, 2019).

Otras especies del género *Macrobrachium* también presentan un crecimiento más acelerado, como es el caso del langostino gigante *M. rosenbergii*, que alcanza ganancias de peso de 7.7 g en 12 semanas, y la tasa de crecimiento específico fue superior a 5%/día en todos los tratamientos analizados (Goda, 2008). Estas diferencias pueden ser atribuibles a características propias de la especie (*M. rosenbergii* es uno de los langostinos más grandes del género) y a las condiciones de manejo del bioensayo, donde se menciona la posibilidad de que los organismos complementaran su dieta con alimento natural. Bajo las condiciones descritas, se concluye que *M. rosenbergii* se desempeña mejor con alimentos que contienen una baja proporción de lípidos (< 10%), que contrasta con lo observado en el presente trabajo, donde en la mayoría de los casos (excepto en los alimentos que contenían 30% de proteína), el mayor crecimiento se observó con un aporte de lípidos superior al 10%.

De acuerdo a Cortés-Jacinto *et al.* (2005), en *Cherax quadricarinatus* el consumo de alimento no se vio afectado por la variación de proteína y lípidos en los tratamientos experimentales y tampoco se encontró interacción significativa entre el nivel de proteína y lípidos en el alimento, siendo la proteína la única variable que

tenía relación con la tasa de crecimiento. En contraste a estos resultados, en el presente trabajo se observó un mayor consumo en los organismos alimentados con 35% de proteína, independientemente de la cantidad de lípidos. Este aumento en el consumo podría atribuirse a la menor estabilidad de los alimentos, que obligaría a los organismos a compensar esta pérdida aumentando la ingesta para lograr saciarse, como ha sido reportado por Ali (1988).

Con respecto al papel que desempeñan los lípidos en el crecimiento y la supervivencia de los crustáceos, existe un debate en la literatura sobre el requerimiento de ácidos grasos de cadena larga (PUFAs por sus siglas en inglés) como el ácido eicosapentanoico (EPA) y docosahexanoico (DHA), pues se cree que la síntesis *de novo* de estos compuestos es insuficiente para satisfacer las demandas metabólicas de la mayoría de las especies de camarones, langostas y langostinos (D'Abramo, 1998). La falta de estos ácidos grasos esenciales repercute gravemente en la capacidad inmune, el crecimiento y la tolerancia a factores de estrés (como bajas temperaturas, altas salinidades, ayuno, entre otras) se ve seriamente comprometida, pues los PUFA's cumplen funciones vitales en el organismo, tales como el transporte de vitaminas liposolubles, son componentes estructurales de las membranas celulares, protegen a las células de los efectos oxidantes de los radicales libres y son necesarios para sintetizar hormonas involucradas en el proceso de muda y maduración gonadal para la reproducción (Tocher & Glencross, 2015; Ayisi *et al.*, 2017). Debido a esto, es posible deducir que la menor tasa de crecimiento en el tratamiento P-40 L-1 C-40 se deba a una falta de ácidos grasos esenciales, aunque no existe ningún estudio reportado donde se analice el efecto de la supresión total de lípidos en el alimento. Sin embargo, es interesante destacar que la deficiencia mencionada no causó un aumento significativo de la mortalidad con respecto a los demás tratamientos durante los 60 días que duró la prueba de alimentación. Dicha situación podría atribuirse a que la capacidad de sintetizar ácidos grasos de cadena larga a partir de otras fuentes energéticas, como proteínas y carbohidratos, varía en cada especie.

Por otro lado, el porcentaje de lípidos en el alimento no solo afecta la supervivencia, también se relaciona directamente con el IHS en los crustáceos; de tal modo que al aumentar la concentración de este nutriente en el alimento, el IHS también se incrementa pues el hepatopáncreas es el órgano que almacena la mayor reserva de lípidos. En algunos casos, cuando se exceden los requerimientos, esta sobre acumulación puede ser patológica y provoca cambios histológicos y daño en los túbulos del órgano (Araújo *et al.*, 2019; Xu *et al.*, 2017). En este caso sería necesario descartar que el alto IHS de los tratamientos P-35 L-20 C-3 y P-35 L-15 C-15 no esté relacionado con un proceso patológico similar. En la mayoría de los casos, el IHS fue similar al reportado en camarón *L. vannamei* (Xu *et al.*, 2017) pero menor que el de la langosta, *C. quadricarinatus* que oscila entre 7 y 9 (Zhu *et al.*, 2013).

Otro factor por considerar es la variación en las cantidades de celulosa, que es una fuente de fibra, empleada para la formulación de los diferentes alimentos (que oscila de 0.29% en el tratamiento P-40 L-1 C-40, hasta cerca de 18% en P-30 L-20 C-8). Un estudio con juveniles de *M. nipponense* demostró que la inclusión de 5% a 15% de fibra puede beneficiar la ganancia de peso de los organismos, al aumentar el tiempo de permanencia del alimento en el intestino, lo cual mejora la absorción de nutrientes y también estimula el crecimiento de la microbiota intestinal, que permite un mejor aprovechamiento de la proteína particularmente (Ding *et al.*, 2017). Sin embargo, otro bioensayo realizado con *M. rosenbergii* encontró que la inclusión de diferentes porcentajes de fibra cruda (0% hasta un máximo de 30%), no influía significativamente en el crecimiento de las poslarvas. pero sí beneficiaba al siguiente estadio de juveniles (Fair *et al.*, 1980).

8.3 Metabolismo

En crustáceos decápodos, como el camarón, el consumo de oxígeno y la excreción de nitrógeno han sido relacionados con la tasa de crecimiento (Ponce-Palafox,

2017). En la presente investigación, la excreción amoniaca en el tratamiento P-40 L-1 C-40 fue significativamente mayor al de los demás, lo que sugiere un catabolismo de aminoácidos para obtener energía, como respuesta a la ausencia de lípidos en el alimento y también, probablemente, a un exceso de carbohidratos que satura el sistema enzimático de los organismos e imposibilita su correcta asimilación (Wang *et al.*, 2016). En cambio, los tratamientos P-30 L-20 C-8, P-40 L-15 C-8 y P40 L15 C31 presentaron la menor tasa de excreción amoniaca, lo que podría sugerir un metabolismo basado principalmente en el aprovechamiento de lípidos y carbohidratos como sustrato energético. En los tratamientos P-30 L-15 C-19 y P-30 L-12 C-25, a pesar de que la excreción amoniaca fue muy similar a los tratamientos anteriormente mencionados, el consumo de oxígeno fue significativamente mayor, posiblemente porque en estos tratamientos también se están catabolizando proteínas, ya que este nutriente requiere mayor cantidad de oxígeno para ser oxidado.

El llamado “protein sparing effect” hace referencia a la posibilidad de reducir los requerimientos proteicos, utilizando como sustrato energético los lípidos y carbohidratos. Los crustáceos, a diferencia de los mamíferos, tienden a utilizar como principal fuente de energía el catabolismo de aminoácidos, recurso que tiene como consecuencia una mayor demanda de estos nutrientes en el alimento. En especies como *L. vannamei*, *L. stylirostris* y *Penaeus monodon* se ha observado que al aumentar la inclusión de carbohidratos se puede disminuir el de proteína sin afectar la tasa de conversión alimenticia y otros parámetros de crecimiento. Sin embargo, en otros crustáceos decápodos, como las langostas, los carbohidratos no son tan digestibles como los lípidos (60% en comparación al 90%). En estas especies se sugiere que los lípidos son la fuente de energía alternativa más apropiada (Verri *et al.*, 2001). En *L. vannamei* se ha visto que un nivel de lípidos de hasta 10% favorece el crecimiento, pero el aumento a 12% y valores superiores no beneficia en éste, presentándose después un detrimento en la ganancia de peso; aunque algunos

parámetros inmunológicos, como la cuenta total de hemocitos, se ven favorecidos con porcentajes de hasta 14% (Zhang *et al.*, 2013).

8.4 Composición química corporal

Saravana (2008) analizó la composición química corporal en diferentes órganos de *M. malcomsonii* capturados en vida libre. En músculo reportó porcentajes de entre 3% y 5%, mismos que se corresponden con nuestro estudio en donde el promedio máximo fue de 5% y el mínimo de 3%. En hepatopáncreas encontró valores de entre 7.5% y 8.75%. Porcentajes similares se encontraron en el presente estudio con los tratamientos P-30 L-20 C-8, P-35 L-5 C-38 y P-40 L-5 C-31. Pero en los tratamientos P-35 L-20 C-3 y P-35 L-15 C-15 el contenido de lípidos se elevó hasta un máximo de 40%. La diferencia se debe posiblemente a que los organismos fueron capturados en vida libre, mientras que en el experimento se les administraron alimentos con niveles variables de macronutrientes.

Cortés-Jacinto *et al.*, (2005), encontraron que el porcentaje de lípidos en músculo de *C. quadricarinatus* variaba de 5% hasta un máximo de 8%, en función del contenido de lípidos y proteína en el alimento. La mayor acumulación de lípidos en tejido muscular se presentó con un tratamiento que contenía 36% de PC y 8% de lípidos. En el presente estudio se encontraron valores similares a estos, sin embargo, no se detectaron diferencias significativas por la cantidad de nutrientes en los tratamientos.

El IHS está directamente relacionado con la cantidad de lípidos presentes en el órgano y con el estado nutricional de los crustáceos (Hernández-Vergara *et al.*, 2003). En el presente trabajo los tratamientos P-30 L-20 C-8 y P-35 L-5 C-38 tuvieron el IHS más bajo (≤ 2) y, como resultado, la acumulación de lípidos en el órgano también fue menor ($\leq 10\%$). En contraste, los tratamientos P-35 L-20 C-3 y P-35 L-15 C-15 que retuvieron el mayor contenido de lípidos en el hepatopáncreas

(cercano al 40%), mostraron un mayor IHS (4 o ligeramente superior). Los tratamientos que no siguieron esta tendencia fueron P-30 L-15 C-19, P-40 L-5 C-31 y P-40 L-1 C-40 los cuales presentaron un alto IHS, pero bajos niveles de lípidos en el hepatopáncreas, tal vez debido a una acumulación preferente de glucógeno en el tejido.

El IHS de los tratamientos P-30 L-20 C-8 y P-35 L-5 C-38 fue menor a 2, lo cual es similar al valor reportado en otro crustáceo carideo, *Palaemonetes argentinus*, cuando se encuentra bajo condiciones de ayuno (los valores normales son similares a los observados en el presente experimento), lo que podría sugerir que se están consumiendo las reservas energéticas de este órgano para satisfacer las demandas nutricionales. Esto también explicaría las bajas concentraciones de lípidos encontrados en el órgano. En estos tratamientos se cree que podrían utilizarse los lípidos como fuente de energía, por encima de otros nutrientes. Así mismo, Sacristán *et al.*, (2017) reporta que no hay movilización de reservas energéticas en el músculo de ninguno de los crustáceos estudiados, lo que coincide con lo encontrado en el presente trabajo donde el porcentaje de lípidos en músculo es similar en todos los tratamientos.

9. CONCLUSIONES

- Los tratamientos que promovieron mayor crecimiento, dentro de los parámetros evaluados en el estudio, fueron aquellos con 35% de proteína, altas concentraciones de lípidos (entre 15% y 20%) y niveles intermedios de carbohidratos (de 8% a 20%).
- Dichos tratamientos, favorecieron la mayor acumulación de lípidos en el hepatopáncreas de los organismos, aunque ninguno de los tratamientos modificó significativamente el contenido en músculo.
- La excreción de nitrógeno y el consumo de oxígeno no variaron significativamente entre los tratamientos, pero con el alimento que contenía 30% de proteína, 20% de lípidos y 8% de carbohidratos se obtuvo la menor excreción de nitrógeno, lo que sugiere el aprovechamiento de fuentes no proteicas, lípidos probablemente, como sustrato energético. Por otra parte, en los demás tratamientos aparentemente se utilizan proteína, lípidos y carbohidratos para los procesos metabólicos, excepto con el tratamiento P-40 L-1 C-40 donde se observó la mayor excreción de nitrógeno amoniacal, sugiriendo que los aminoácidos participan de forma importante como fuente energética.

10. ANEXO 1

Técnica de microgravimetría para extracción de lípidos

1. Pesar entre 10 y 50 mg de tejido congelado.
2. Colocar 100-500 µl de una mezcla 2:1 de cloroformo:metanol en un tubo Eppendorf limpio.
3. Homogeneizar el tejido en la mezcla cloroformo:metanol con un homogenizador de tejido.
4. Centrifugar los tubos a 13,500 rpm durante 1 minuto.
5. Retirar la fase líquida con una micropipeta dejando la pastilla sólida en el fondo. Transferir a un nuevo tubo Eppendorf limpio.
6. Agregar solución NaCl (0.9%) al 20% del volumen que se tiene de la fase líquida.
7. Homogenizar la mezcla con un vórtex durante 5-10 segundos.
8. Centrifugar nuevamente a 13,500 rpm durante 1 minuto. Se obtendrán dos fases líquidas: la superior conformada por metanol y elementos no lipídicos (transparente) y en la inferior se encuentran los lípidos con el cloroformo (ligeramente turbia y espesa).
9. Retirar la fase superior con una micropipeta y desechar.
10. Transferir la fase inferior a un vial de cristal limpio y previamente tarado.
11. Airear el contenido durante 1 hora para permitir que el cloroformo se evapore y los lípidos formen una costra en el fondo del vial.
12. Pesar el vial.

La fórmula para determinar el contenido de lípidos es la siguiente:

$$\% \text{ lípidos totales} = \left(\frac{\text{Peso total de los lípidos}}{\text{Peso de la muestra}} \right) \times 100$$

11. BIBLIOGRAFÍA

- Albertoni E.F., Palma-Silva C., Esteves F.A. 2003. Overlap of dietary niche and electivity of three shrimp species (Crustacea, Decapoda) in a tropical coastal lagoon Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia* 20:135–140.
- Ali S.A. 1988. Water stability of prawn feed pellets prepared using different binding materials with special reference to tapioca. *Indian Journal of Fisheries* 35(1):46-51.
- Araújo B.C., Mata S.J.A., Viana M.T., Tinajero A., Braga A. 2019. Fish oil-free diets for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*: the effects of DHA-EPA supplementation on juvenile growth performance and muscle fatty acid profile. *Aquaculture* 511:1-5.
- AOAC. 2015. Official Methods of Analysis, 15th ed. Assoc. Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, USA. 771 pp.
- Argüello G.W., Molina P.C. 2013. Effect of binder type and concentration on prepared feed stability, feed ingestión and digestibility of *Litopenaeus vannamei* broodstock diets. *Aquaculture Nutrition* 19:515-522.
- American Veterinary Medical Association (AVMA). 2013. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals. 13th ed. Disponible en: [<https://www.avma.org/sites/default/files/resources/euthanasia.pdf>]
- Ayisi C.L., Hua X., Apraku A., Afriye G., Kyei B.A. 2017. Recent studies toward the development of practical diets for shrimp and their nutritional requirements. *HAYATI Journal of Biosciences* 24:109-117.
- Bernardi N. 1990. Temperature influence upon food ingestion and spontaneous locomotion of the freshwater prawn *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). *Journal of Thermal Biology* 15:33–36.

- Bondad-Reantaso M.G., Subasinghe R.P., Josupeit H., Cai J., Zhou X. 2012. The role of crustacean fisheries and aquaculture in global food security: past, present and future. *Journal of Invertebrate Pathology* 110:158-165.
- Boonyaratpalin M. 1996. Nutritional requirements of commercially important shrimps in the tropics. Proceedings of the National Seminar-Workshop on Fish Nutrition and Feeds. Aquaculture Department. 10-28
- Bowles D.E., Aziz K., Knight C. 2000. *Macrobrachium* (Decapoda: Caridea: Palaemonidae) in the contiguous United States: a review of the species and an assessment of threats to their survival. *Journal of Crustacean Biology* 20(1): 158-171.
- Carter C.G., Mente E. 2014. Protein synthesis in crustaceans: a review focused on feeding and nutrition. *Central European Journal of Biology* 9(1):1-10.
- Casas S.R., Vaillar N.Y., Re A.A.D. 1995. Nutrición en juveniles del langostino *Macrobrachium carcinus* (Crustacea:Decapoda) con dietas de residuos vegetales y marinos. *Revista de Biología Tropical* 43(1-3):251-256.
- Catacutan MR. 1991. Apparent digestibility of diets with various carbohydrate levels and the growth response of *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 95:89-96.
- Chanmugam P., Donovan J., Wheeler C.J., Hwang D.H. 1983. Differences in the lipid composition of freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) and marine shrimp. *Journal of Food Science* 48(5): 1440-1441.
- Choudhury P.C. 1970. Complete larval development of the palaemonid shrimp *Macrobrachium acanthurus* (Weigmann, 1836), reared in the laboratory. *Crustaceana* 18:113–32
- CONAPESCA, 2013. Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca 2013. SAGARPA, México. Disponible en: [<https://www.gob.mx/conapesca/documentos/anuario-estadistico-de-acuicultura-y-pesca>].
- Contreras R., Campos-Lince L.S. 1993. Aspectos reproductivos y aproximación a un modelo de crecimiento para una población de *Macrobrachium acanthurus*

(Wiegmann, 1836) en el Río Palizada, Campeche, México. Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México 20(1):55–65.

Cortés-Jacinto E., Villareal C.H., Cruz S.L.E., Civera C.R., Nolasco S.H., Hernández L.A. 2005. Effect of different dietary protein and lipid levels on growth and survival of juvenile Australian redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens). Aquaculture Nutrition 11:283-291.

Cuzón G., Guillaume J. 1997. Energy and protein: energy ratio. En: Crustacean Nutrition (eds L.R. D'Abramo, D.E. Conklin, D.M. Akiyama), pp. 51-70. Baton Rouge, LA, USA: Advances in World Aquaculture Vol. 6, World Aquaculture Society.

Cuzón G., Rosas C., Gaxiola G., Taboada G., Van Wormhoudt A. 2000. Utilization of carbohydrates by shrimp. Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Mérida, Yucatán; México.

Davis DA. 2005. Nutrient requirements of penaeid shrimp. Global Aquaculture Advocate 72-74. Disponible en: [<http://fisheries.tamu.edu/files/2013/09/Nutrient-Requirements-of-Penaeid-Shrimp.pdf>]

D'Abramo LR. 1998. Nutritional requirements of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*: comparisons with species of penaeid shrimp. Review in Fisheries Science 6:153-163.

D'Abramo LR, Sheen SS. 1994. Nutritional requirements, feed formulation, and feeding practices for intensive culture of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Reviews in Fisheries Science 2(1):1-21.

Dall W., Smith D.M. 1986. Oxygen consumption and ammonia-N excretion in fed and starved tiger prawns, *Penaeus esculentus* Haswell. Aquaculture 55:23-33.

- Ding Z.L., Kong Y.Q., Li J.F., Cao F., Zhang Y.X., Du Z.Y., Ye J.Y. 2017. Growth and metabolic responses of juvenile *Macrobrachium nipponense* to different dietary carbohydrate levels. *Aquaculture Nutrition* 1:1-9.
- Dobkin S., van Montfrans J., Holland D.H. 1975. Selective breeding of the fresh and brackishwater *Macrobrachium acanthurus*. *Proceedings of the World Mariculture Society* 6:33–6.
- Dominy W.G., Cody J.J., Terpstra J.H., Obaldo L.G., Chai M.K., Takamori T.I., Larsen B., Forster I.P. 2004. A comparative study of the physical and biological properties of commercially available binders for shrimp feeds. *Journal of Applied Aquaculture* 14(3-4):81-99.
- Eaton A.D., Clesceri L.S., Greenberg A.E. 1995. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 19th ed. Washington, DC: American Public Health Association, American Water Works Association, & Water Environment Federal.
- Escobedo-Bonilla C.M. 2016. Emerging infectious diseases affecting farmed shrimp in Mexico. *Austin Journal of Biotechnology & Bioengineering* 3(2):1062.
- Fair P.H., Fortner A.R., Millikin M.R., Sick L.V. 1980. Effects of dietary fiber on growth, assimilation and cellulase activity of the prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). *Proceedings of the World Mariculture Society* 11:369-381.
- FAO. 2020. *Fishstat Plus* (v. 4.00.8) issued Feb 2020. FAO, Rome, Italy.
- FAO Fisheries Technical Paper 428. 2002. *Farming freshwater prawns: A Manual for the culture of the giant river prawn (Macrobrachium rosenbergii)*. Rome
- FAO. 2018. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 – Meeting the sustainable development goals*. Rome.
- Faria-Albertoni E., Palma-Silva C., de Assis-Esteves F. 2003. Natural diet of three species of shrimp in a tropical coastal lagoon. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 46(3):395-403.

- Frías G.S.A. 2017. Efecto de la concentración de lípidos y carbohidratos sobre el crecimiento y la composición química corporal de juveniles de langostino prieto *Macrobrachium acanthurus* bajo condiciones de laboratorio. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.
- Gallagher M.L., Mathews A.M. 1987. Oxygen consumption and ammonia excretion of the American eel *Anguilla rostrate* fed diets with varying protein energy ratios and protein levels. *Journal of the World Aquaculture Society* 18:107-112.
- García-Guerrero M., Becerril M.F., Vega V.F., Espinosa C.L.D. 2013. Los langostinos del género *Macrobrachium* con importancia económica y pesquera en América Latina: conocimiento actual, rol ecológico y conservación. *Latin American Journal of Aquatic Research* 41(4):651-675.
- García-Guerrero M., de los Santos-Romero R., Vega-Villasante F., Cortes-Jacinto E. 2015. Conservation and aquaculture of native freshwater prawns: the case of cauque river prawn *Macrobrachium americanum* (Bate, 1868). *Latin American Journal of Aquatic Research*. 43(5):1-9.
- Glencross B.D., Booth M., Allan G.L. 2007. A feed is only as good as its ingredients – a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. *Aquaculture Nutrition* 13:17-34.
- Goda A.M. 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. *Aquaculture Research* 39:891-901.
- Hernández A.G.Y. 2016. Diferentes niveles de lípidos en la dieta de hembras del langostino nativo *Macrobrachium acanthurus* y su efecto en la calidad del huevo. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

- Hernández H.L.H., Teshima S.I., Ishikawa M., Koshio S. 2004. Effects of dietary vitamin A on juvenile red sea bream *Chrysophrys major*. Journal of World Aquaculture Society 35:436-444.
- Hernández-Vergara M.P., Rouse D.B., Olvera N.M.A., Allen D.D. 2003. Effects of dietary lipid level and source on growth and proximate composition of juvenile redclaw (*Cherax quadricarinatus*) reared under semi-intensive culture conditions. Aquaculture 223:107-115.
- Hewitt D.R., Irving M. 1990. Oxygen consumption and ammonia excretion of the brown tiger prawn *Penaeus esculentus* fed diets of varying protein content. Comparative Biochemistry and Physiology 96A(3):373-378.
- INAPESCA. 2012. Acuacultura – Langostino malayo. Disponible en: [<https://www.gob.mx/inapesca/acciones-y-programas/acuacultura-langostino-malayo>].
- Jiann-Chu C., Sen-Huan L. 1993. Effects of temperature and salinity on oxygen consumption and ammonia-N excretion of juvenile *Penaeus japonicas* Bate. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 165:161-170.
- Kitabayashi K., Kurata H., Shudo K., Nakamura K., Ishikawa S. 1971. Studies of formula feed for kuruma prawn I: On the relationship among glucosamine, phosphorus and calcium. Bull Tokai Regional Fisheries Resource Lab 65:91-107.
- Kutty M.N. 2005. Towards sustainable freshwater prawn aquaculture – lessons from shrimp farming, with special reference to India. Aquaculture Research. 36:255-263.
- Laubier A., Laubier L. 1993. Marine crustacean farming: present status and perspectives. Aquatic Living Resources 6(4):319-329.
- Li Y., Zhou F., Ma Z., Huang J., Jiang S., Yang Q., Li T., Qin J.G. 2016. Length-weight relationship and condition factor of giant tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798) from four breeding families. SpringerPlus 5, 1279.

- López-Uriarte E., Robles-Jarero E.G., Vargas-Ceballos M.A., Vega-Villasante F. 2018. Freshwater prawns of the genus *Macrobrachium* (Decapoda: Palaemonidae) from the San Pedro-Mezquital River, Nayarit, Mexico. *Latin American Journal of Aquatic Research*. 46(3):593-598.
- Lorán N.R.M. 2013. Aspectos poblacionales del langostino *Macrobrachium acanthurus* (Wiegman, 1836) en algunos lugares de la cuenca baja del río Papaloapan, Veracruz, México. Tesis de maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.
- Lu Y., Ludsin S.A., Fanslow D.L., Pothoven S.A. 2008. Comparison of three microquantity techniques for measuring total lipids in fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 65:2233-2241.
- Luo N., Ding Z.L., Kong Y.Q., Zhang R.F., Zhang Y.X., Wu C.L., Jiang, Z.Q., Ye J.Y. 2017. An evaluation of increasing linolenic acid level in the diet of *Macrobrachium nipponense*: lipid deposition, fatty acid composition and expression of lipid metabolism-related genes. *Aquaculture Nutrition* 1:1-10.
- Méndez-Martínez Y., Yamasaki G.S., García G.M.U., Martínez C.L.R., Rivas V.M.E., Arcos O.F.G., Cortés J.E. 2017. Effect of dietary protein content on growth rate, survival and body composition of juvenile cauque river prawn, *Macrobrachium americanum* (Bate 1868). *Aquaculture Research* 48:741-751.
- Mente E. 2006. Protein nutrition in crustaceans. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* 43:1-7.
- Meyers S.P., Butler D.P., Hastings W.H. 1972. Alginates as binders for crustacean rations. *The Progressive Fish Culturist* 34(1):9-12.
- Meyers S.P., Zein E.Z.P. 1972. Binders and pellet stability in development of crustacean diets. *Journal of the World Aquaculture Society* 3(1-4):351-364.
- Mojica V.A., Hernández H.L.H., Fernández A.M.A., Ángeles L.O. 2016. Contribution to the knowledge of nutrient requirements of the native freshwater prawn (*Macrobrachium acanthurus*). *Hidrobiología* 26(1):15-22.

- Molina-Poveda C. 2016. Nutrient requirements. En: *Aquafeed Formulations* (p.p. 75-216). MA, USA: Academic Press.
- Mukhopadhyay P.K., Rangacharyulu P.V., Mitra G. 2003. Applied nutrition in freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, culture. *Journal of Applied Aquaculture* 13(3):317-340.
- National Research Council (NRC). 2011. *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp*. Washington, DC: The National Academies Press.
- New M.B., Nair M. 2012. Global scale of freshwater prawn farming. *Aquaculture Research* 43:960-969.
- New M.B., Valenti W.C. 2000. *Freshwater Prawn Culture: The farming of Macrobrachium rosenbergii*. Blackwell Science. London, UK.
- Nimrat S., Khaopong W., Sangsong J., Boonthai T., Vuthiphandchai V. 2019. Improvement of growth performance, water quality and disease resistance against *Vibrio harveyi* of postlarval whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) by administration of mixed microencapsulated *Bacillus* probiotics. *Aquaculture Nutrition*. 0:1-12.
- Nunan L., Lightner D., Pantoja C., Gómez-Jimenez S. 2014. Detection of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in Mexico. *Diseases of Aquatic Organisms* 111:81-86.
- Obaldo L.G., Tacon G.A. 2002. Method for determining the physical stability of shrimp feeds in water. *Aquaculture Research*, 33:369-377.
- Pérez-Sánchez T., Mora S.B., Balcázar J.L. 2018. Biological approaches for disease control in aquaculture: advantages, limitations and challenges. *Trends in Microbiology* 1575:1-8.
- Pezzato L.E., Barros M.M., Sampaio F.G., Falcon D.R., Gonçalves G.S., Hisano H. 2003. Relação energia:proteína dietária para pós-larvas de *Macrobrachium amazonicum* (Crustacea, Decapoda). *Acta Scientiarum. Animal Sciences* 25(2):235-241.

- Ponce-Palafox J.T., Esparza L.H., Arredondo F.J.L., Martínez P.C.A., Ross L.G. 2017. The effect of protein and lipid level on the specific Dynamic action and post-prandial nitrogen excretion in subadult of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 52(1):131-141.
- Regnault M. 1987. Nitrogen excretion in marine and freshwater crustacea. *Biological Reviews* 62:1-24.
- Regnault M. 1983. Influence à long terme du taux protéique du régime sur l'excrétion d'azote et le métabolisme de la crevette *Crangon crangon*. *Oceanis* 9:241-255.
- Romano N., Zeng C. 2017. Cannibalism of decapod crustaceans and implications for their aquaculture: a review of its prevalence, influencing factors, and mitigating methods. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*. 25(1):42-69.
- Rosas C., Sanchez A., Díaz E., Soto L.A., Gaxiola G., Brito R., Baes M., Pedroza R. 1995. Oxygen consumption and ammonia excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum* and *P. notialis* postlarvae fed purified test diets: effect of protein level on substrate metabolism. *Aquatic Living Resources* 8:161-169.
- Rosas C., Cuzon G., Taboada G., Pascual C., Gaxiola G., Van Wormhoudt A. 2001. Effect of dietary protein and energy levels on growth, oxygen consumption, haemolymph and digestive gland carbohydrates, nitrogen excretion and osmotic pressure of *Litopenaeus vannamei* (Boone) and *L. setiferus* (Linne) juveniles (Crustacea, Decapoda; Penaeidae). *Aquaculture Research* 32:531-547.
- Rout R.K., Bandyopadhyay S. 1999. A comparative study of shrimp feed pellets processed through cooking extruder and meat mincer. *Aquacultural Engineering* 19:71-79.
- Ruscoe I.M., Jones C.M., Jones P.L., Caley P. 2005. The effects of various binders and moisture content on pellet stability of research diets for freshwater crayfish. *Aquaculture Nutrition* 11:87-93.

- Sacristán H.J., Rodríguez Y.E., Pereira N.A., López G.L.S., Lovrich G.A., Fernández G.A.V. 2017. Energy reserves mobilization: strategies of three decapod species. *PLoS ONE* 12(9):1-19.
- Saravana B.P., Radhakrishnan S. 2012. Nutritional indices and biochemical constituents in the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* fed with formulated feeds. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 3(2):327-336.
- Saravana B.P., Yuvaraj C., Leena M., Sangeetha M. 2008. Concentrations of total protein, lipid and carbohydrate in juveniles and sub adults of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* collected from the Cauvery river. *Indian Journal of Fisheries* 55(4):323-325.
- Segovia E., Muñoz A., Flores H. 2012. Water flow requirements related to oxygen consumption in juveniles of *Oplegnathus insignis*. *Latin American Journal of Aquatic Research* 40(3):766-773.
- Signoret G.P.B., Brailovsky D.S. 2004. Adaptive osmotic responses of *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann) and *Macrobrachium carcinus* (Linnaeus) (Decapoda, Palaemonidae) from the southern Gulf of Mexico. *Crustaceana* 77:455–65.
- Simon C.J., Jeffs A. 2011. The effect of dietary carbohydrates on the growth response, digestive gland glycogen and digestive enzyme activities of early spiny lobster juveniles, *Jasus edwardsii*. *Aquaculture Nutrition* 17:613–626.
- Stentiford G.D., Sritunyalucksana K., Flegel T.W., Williams B.A.P., Withyachumnarnkul B., Itsathitphaisarn O., Bass D. 2017. New paradigms to help solve the global aquaculture disease crisis. *PLoS Pathogens*. 13(2):e1006160.
- Tacon A.G.J., Jory D., Nunes A. 2013. Shrimp feed management: issues and perspectives. In M.R. Hasan and M.B. New, eds. *On-farm feeding and feed management in aquaculture*. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 583. Rome, FAO. 481-488.

- Teshima S., Koshio S., Ishikawa M., Shah A.M., Hernández H.L.H. 2006. Protein requirements of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* evaluated by the factorial method. *Journal of the World Aquaculture Society* 37(2):145-153.
- Tocher D.R., Glencross B.D. 2015. Lipids and fatty acids. En: Lee C., Lim C., Gatlin III D.M., Webster C.D. (Ed), *Dietary Nutrients, Additives, and Fish Health* (pp. 47-95). New Jersey, USA: Wiley Blackwell.
- Verri T., Mandal A., Zilli L., Bossa D., Mandal P.K., Ingrosso L., Zonno V., Vilella S., Ahearn G.A., Storelli C. 2001. D-Glucose transport in decapod crustacean hepatopáncreas. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 130:585-606.
- Wang X., Li E., Chen L. 2016. A review of carbohydrate nutrition and metabolism in crustaceans. *North American Journal of Aquaculture* 78(2):178-187.
- Wang X, Li E, Qin JG, Wang S, Chen X, Cai Y, Chen K, Hou Y, Yu N, Zhan M, Du Z, Chen L. 2014. Growth, body composition, and ammonia tolerance of juvenile white shrimp *Litopenaues vannamei* fed diets containing different carbohydrate levels at low salinity. *Journal of Shellfish Research* 33(2):511-517.
- Xu C., Li E., Liu Y., Wang S., Wang X., Chen K., Qin J.G., Chen L. 2017. Effect of dietary lipid level on growth, lipid metabolism and health satuts of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at two salinities. *Aquaculture Nutrition* 24(1):204-214.
- Yigit M., Ergün S., Türker A., Karaali B., Bilgin S. 2005. Using ammonia nitrogen excretion rates as an index for evaluating protein quality of prawns in turbot (*Psetta maeotica*) nutrition. *The Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 29:1343-1349.
- Yigit M., Koshio S., Aral O., Karaali B., Karayucel S. 2003. Ammonia nitrogen excretion rate – an index for evaluating protein quality of three feed fishes for the black sea turbot. *The Israeli Journal of Aquaculture* 55(1):69-76.

- Zar J.H. 2010. Biostatistical Analysis. 5th ed. New Jersey, USA: Pearson Prentice Hall.
- Zhang S., Li J., Wu X., Zhong W., Xian J., Liao S., Miao Y., Wang A. 2013. Effects of different dietary lipid level on the growth, survival and immune-relating genes expression in Pacific White shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Fish & Shellfish Immunology 1-8.
- Zhou Q., Zeng W., Wang H., Wang T., Wang Y., Xie F. 2012. Dietary arginine requirements of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*.
- Zhu H., Jiang Q., Wang Q., Yang J., Dong S., Yang J. 2013. Effect of dietary carbohydrate to lipid ratios on growth performance, body composition, hepatic enzyme activities, and digestive enzyme activities of juvenile Australian redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens). Journal of the World Aquaculture Society 44(2):173-186.