



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología

**CULTIVO EXPERIMENTAL DE JUVENILES TEMPRANOS DE *Octopus maya* MEDIANTE EL USO DE DIETAS PRÁCTICAS: UNA APROXIMACIÓN A LOS REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DE LA ESPECIE**

**T E S I S**

Que para optar por el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA**

Presenta

**Guadalupe Villegas Bárcenas**

Director de Tesis: Dr. Carlos Rosas Vázquez  
UMDI Sisal (Facultad de Ciencias) UNAM

Comité Tutor: Dr. Carlos López Coello  
Facultad de Medicina Veterinaria y  
Zootecnia UNAM  
Dr. Luis Héctor Hernández Hernández  
FES Iztacala UNAM  
Dr. Pedro Pablo Gallardo Espinosa  
UMDI Sisal (Facultad de Ciencias) UNAM  
Dra. Ruth Pedroza Islas  
Universidad Iberoamericana

México, D.F., Agosto 2013



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.

*A Grillo, con alevosía . . .*

*-El mundo es eso- reveló- un montón de gente, un mar de fueguitos.*

*Hay gente de fuego sereno, que no se entera del viento, y gente de fuego loco, que llena el aire de chispas. Algunos fuegos, fuegos bobos, no alumbran ni queman ; pero otros arden la vida con tantas ganas que no se puede mirarlos sin parpadear, y quien se acerca, se enciende . . .*

Eduardo Galeano.

## *DEDICATORIA*

A María Luisa Bárcenas Hernández y Fernando Villegas Grimaldo mis padres, por su eterno espíritu de lucha, mi ejemplo incansable de trabajo y amor.

A mi hermana Margarita, mi mano izquierda, mi Quijote, mi playa más soleada, la ola que rompe con más fuerza, la que da trayectoria a este barco. Porque “en la vida, codo a codo, somos mucho más que dos”.

A Alejandro Gálvez, por contagiarme a muy temprana edad la inquietud y el amor por el conocimiento, por sembrar en mí la rebeldía del arte y los libros, por la entrega y la disciplina con que haces cada cosa.

A mis hermanos, Martín, Bernardo, Mery y Luis con todo amor, esto es con ustedes y para ustedes.

Al pequeño Bandian, uno de mis grandes motivos, porque en la intensidad de darte lo mejor, me haces crecer.

A mis sobrinos, que reinventan ochenta mundos en un día, que revelan una realidad colorida, imaginada, fresca.

A Carlos Enrique Chávez Solís y su mundo grillo, con absoluto amor, con todo lo que Soy. Te regalo y dedico este trabajo, con una sonrisa abierta, con la fracción más grácil e ingrávida de mi alma, esa que tocaste, esa que te guarda.

Todos los días sale el Sol  
todos los días, millones de girasoles en su fototropismo se inclinan a mirarte,  
se giran de cara al cielo para saludarte, para nutrirse, para alegrarse, yo soy uno  
de esos ...

Buenos días señor Sol!

## AGRADECIMIENTOS

A los doctores Pedro Gallardo Espinosa y Carlos Rosas Vázquez por contribuir a materializar mis sueños más etéreos, por trabajar hombro con hombro, creer en mí y apostarme todo. Por permitirme hacer todo cuanto quise en este proyecto, compartiendo conmigo sus conocimientos y su alquimia. Por alimentar mi amor hacia el mar y la ciencia.

Al Biol. Gabriel Taboada, mi gran amigo y compañero, venido desde Macondo para encontrarnos en las playas de Sisal, mi camarada y cómplice de libros e historias.

A los miembros del comité tutorial: Dra. Gabriela Espinosa, Dra. Ruth Pedroza, Dr. Héctor Hernández y Dr. Carlos López por su tiempo y enseñanzas.

A los doctores Maite Mascaró, Gilberto Jerónimo, Cristina Pascual, Gabriela Gaxiola, Sergio Rodríguez, Elsa Noreña, Dra. Rosario Martínez, Biol. Honorio Cruz, por tanto trabajo y ayuda, a cada uno, mi cariño y agradecimiento.

A la Cooperativa Moluscos del Mayab, por el esfuerzo que realizan, por creer, trabajar y arriesgarse, porque son la parte medular de este proyecto.

A la Dra. Gloria Villaclara, por su enorme respaldo, trabajo y amistad.

A Alfredo Pastor quien me acompañó en este y muchos otros caminos, por todo lo compartido, por tu apoyo incondicional y tu mano siempre abierta, con cariño para ti!

Al M. en C. Luis Alfredo Vázquez con profunda admiración, gracias por todo el apoyo. Tus consejos y cariño me han hecho crecer y perseguir nuevas metas.

A más Estelita, por su transparencia, ternura y amor.

A Raquel Vázquez por su ayuda, entusiasmo y valiosos consejos.

A Carlos Gutiérrez de Aquino, mi diablo guardián.

Para mis queridos Silvia San Miguel, Carlos Chávez, Roberto Ortíz, Roberto Arreola, Nikolay Luna, Efraín Chávez y Adán Lara, mis mejores fotos, las postales más coloridas, las más grandes carcajadas, mi aventura más audaz. Gracias a la entropía, por coincidir!

Adriana Fournier, Andrés, Israel, Álvaro, Julio, Daniel, Serch, Radamés, conocerlos, compartir y crecer juntos, enriquece lo que soy. Gracias por el onirismo, el juego, el azar y las letras en voz alta.

Para Antonio Ruiz Soberanes, Alex Puente, Héctor Máximo, Royas Duende, Gerardo Vampir, Miguel Ángel, Petter, Raúl Rojas, Manuel Campos, Regina, Paola y Alba, gracias por estos años de amistad, con mucho aprecio a lo que comparto con cada uno.

A Ricardo Noguera, por tu amistad constante, por contar contigo.

A Efraín Chávez Lomelí, por tu sonrisa siempre dispuesta, por las tardes.

A Daniel Méndez, Gabycha, Lenin, Esther, Anita Kiel, Alí. Manuel, Adri Brasil, Davisinho, Ana Castillo, puras olas, palmeras y baile!. Por el aprendizaje y la buena vida.

A Chiti, por aquello que sin darte cuenta me has acompañado a redescubrir, “Te quiero, te quiero porque eres pueblo, te quiero porque tu voz, sabe gritar rebeldía”.

A Sisal, con sus cielos rasos, su gente blanca y su mar despierto, para ti Ivan Hernández que trabajaste duro conmigo, en cada tarea, que me procuraste en la amistad y me mostraste la costa entera. A Karina Pech, mi hermana progreseña, la maga de los pulpos, con quien trabajé literalmente hasta la alucinación y el delirio. A Talhia, espontánea y alegre, a Guadalupe Chan, que te compartes. A ti Lorenzo que haces de las tardes un manjar de comida, imágenes soleadas y amistad. A mis familias yucatecas, los Hernández y los Pech, gente maravillosa que reinventa la realidad, que curva el espacio y el tiempo con su cosmovisión llena de místicas puertas, por hacerme sentir en casa.

A toda la gente del Oceanográfico de Canarias y de la Universidad de la Laguna que hizo de mi estancia una experiencia única y enriquecedora académica y personalmente. Carmiña, Caty, Tete, Aurora, Benito, Covadonga, Bruno, Marquiños, Ricardo, Chano, Alejandro, Mercedes y los que me faltan. Gracias por sus mares índigo y turquesa, por su calidez.

A mi amada UNAM, *mi alma mater*, mi raíz, mi casa.

*El que yo tenga cariño,  
y muchas veces demasiado cariño a la sabiduría,  
obedece al hecho de que recuerda a la vida*

*Friedrich Nietzsche*

## Agradecimientos

Esta tesis fue parcialmente financiada por el CONACYT a través del proyecto CB-2010-01: 150810 bajo la responsabilidad del Dr. Carlos Rosas Vázquez y por la UNAM a través del proyecto PAPIIT IN207809 bajo la responsabilidad del Dr. Pedro Pablo Gallardo Espinosa

## RESUMEN GENERAL

En el presente estudio se evaluó el efecto de tres fuentes de proteína (jaiba, calamar y ensilado de pescado) en el crecimiento, la sobrevivencia y la actividad digestiva de *Octopus maya*. Estudios previos han demostrado que una dieta a base de carne de jaiba (J) y calamar (C) (1:1 p/p) es la más apropiada para el crecimiento de juveniles de *O. maya*. Teniendo esto en consideración y que la carne de jaiba es un insumo relativamente costoso para una dieta de aplicación al cultivo de pulpo, el presente estudio fue dirigido a conocer los efectos que una reducción en la proporción de carne de jaiba en la dieta tiene en el crecimiento de juveniles tempranos de esta especie de pulpo. En este trabajo la dieta C-J (1:1 p/p) fue usada como control y fue comparada contra seis dietas más, variando el porcentaje de inclusión de ambos insumos en cuatro de ellas (60/40, 70/30, 80/20, 90/10). Así mismo otras dos dietas fueron probadas con el fin de establecer si ensilados obtenidos de carne de pescado podrían sustituir a la carne de jaiba en proporciones de 50/50%, planteando estas dos últimas como fuentes alternativas por su elevado contenido de proteína hidrolizada y bajo costo. Se realizó la caracterización química de insumos y dietas mediante el análisis proximal, perfil de aminoácidos (AA) y perfil de ácidos grasos (AG). Posteriormente se llevó a cabo un bioensayo con 140 juveniles individualizados de *O. maya* (20 por tratamiento) a los que se les alimentó con las diferentes dietas experimentales. Se evaluó el crecimiento y la sobrevivencia durante 60 días, haciendo registros del cambio de peso cada 30 días desde el inicio (T0) y hasta el final del experimento (T60). En los primeros 30 días experimentales se registraron tasas de crecimiento y sobrevivencia positivas para todos los tratamientos; sin embargo, del día 30 al 60 los organismos cuyo alimento incluyó ensilado perdieron peso progresivamente, presentando una sobrevivencia final de cero. Los mayores crecimientos y sobrevivencias, fueron observados en juveniles alimentados con las combinaciones (C-J 50/50, 60/40 y 70/30) sin mostrar diferencias estadísticas entre éstos tres grupos. Se observó una relación directa entre concentración de glucógeno en músculo y glándula digestiva (GD) y la concentración de proteína soluble en GD, con el crecimiento y los valores más altos de estas moléculas en los animales alimentados con las mezclas C-J de 50/50, 60/40 y 70/30. La mayor actividad de las proteasas alcalinas y ácidas se registró en las GD de los organismos alimentados con los tratamientos 60/40 y 90/10 respectivamente sugiriendo una relación inversa entre actividad enzimática y calidad de la dieta. De acuerdo a los análisis químicos de las dietas que produjeron los mayores crecimientos, los juveniles tempranos de *O. maya* requieren cantidades relativamente bajas de lípidos en su alimentación, no obstante demandan ácidos grasos de alta calidad. Los resultados obtenidos en la presente investigación permiten establecer un intervalo dentro del cual podrían ubicarse los requerimientos nutricionales de *Octopus maya*, considerando que puede reducirse hasta en un 30% la cantidad

de jaiba en la dieta. Tomando este resultado como punto de partida es posible enriquecer el alimento o buscar fuentes proteicas alternativas de bajo costo, con características nutritivas similares, que permitan la viabilidad económica del cultivo. De acuerdo a los resultados de este trabajo, una dieta a base de calamar y jaiba en un 70 y 30% respectivamente puede ser considerada como un alimento que satisface los requerimientos nutricionales de la especie; la dieta obtenida se encuentra en proceso de patente.

**Palabras Clave:** *Octopus maya, cultivo, metabolismo, requerimientos nutricionales, dietas prácticas*

## ÍNDICE

Resumen general .....	6
CAPITULO 1 .....	11
INTRODUCCIÓN	
<i>Introducción</i> .....	12
I. ANTECEDENTES GENERALES DE LA ESPECIE .....	15
1.1 <i>Características generales</i> .....	15
1.2 <i>Taxonomía</i> .....	15
1.3 <i>Hábitat y distribución</i> .....	17
1.4 <i>Alimentación</i> .....	18
1.5 <i>Ciclo de vida</i> .....	18
II JUSTIFICACIÓN.....	20
III HIPÓTESIS.....	21
IV OBJETIVOS .....	22
<i>Objetivo General</i> .....	22
<i>Objetivos Particulares</i> .....	23
CAPÍTULO 2 .....	24
Evaluación química de los insumos y valor nutritivo de los alimentos balanceados	
RESUMEN.....	25
I. ANTECEDENTES.....	26
1.1 <i>Composición y requerimientos nutricionales de los Cefalópodos</i> .....	26
1.2 <i>Importancia del análisis químico en insumos y dietas artificiales</i> .....	26
1.3 <i>Requerimientos de aminoácidos en Cefalópodos</i> .....	27
1.4 <i>Requerimientos de ácidos grasos en Cefalópodos</i> .....	27
1.5 <i>Fuentes proteicas y dietas artificiales</i> .....	28
1.6 <i>Ensilados de descartes de pescado y pulpo: fuentes proteicas alternativas</i> ....	29
II. HIPÓTESIS.....	31
III. OBJETIVOS .....	32
<i>Objetivo general</i> .....	32
<i>Objetivos particulares</i> .....	32
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
4.1 <i>Caracterización química de los insumos y las dietas</i> .....	33
4.1.1 <i>Análisis químico proximal</i> .....	33
a) <i>Proteína</i> .....	33
b) <i>Lípidos</i> .....	33
c) <i>Cenizas</i> .....	34
d) <i>Humedad</i> .....	34
4.1.2 <i>Perfil de aminoácidos</i> .....	34
4.1.3 <i>Perfil de ácidos grasos</i> .....	35
4.2 <i>Insumos</i> .....	35
4.2.1 <i>Obtención y procesamiento</i> .....	35

4.2.1.1 Calamar y jaiba.....	35
4.2.1.2 Ensilado de descartes de pescado y vísceras de pulpo.....	36
a) Seguimiento temporal de pH y temperatura.....	36
b) Cuantificación de proteína soluble.....	37
4.2.1.3 Liofilización de los insumos.....	37
4.2.2 Formulación y preparación de las dietas.....	37
4.3 Análisis estadístico.....	39
V. RESULTADOS.....	40
5.1 Composición química proximal de insumos y dietas, y para cultivo experimental de juveniles tempranos de <i>octopus maya</i> .....	40
5.1.1 Análisis de aminoácidos en insumos y dietas.....	42
5.1.2 Análisis de ácidos grasos en insumos y dietas.....	47
5.2 Preparación de los insumos para las dietas experimentales.....	52
5.2.1 Ensilado de pescado y vísceras de pulpo.....	52
a) pH y temperatura.....	52
b) Proteína soluble.....	52
VI. DISCUSIÓN.....	54
CAPÍTULO 3.....	60
Efecto del nivel de sustitución de carne de jaiba por carne de calamar en el crecimiento, sobrevivencia y estado fisiológico de <i>Octopus maya</i>	
RESUMEN.....	61
I. ANTECEDENTES.....	62
1.1 Avances en cultivo de Cefalópodos.....	62
1.2 Crecimiento y sobrevivencia.....	62
1.3 Digestión y metabolismo en Cefalópodos.....	63
1.4 Metabolitos y estado nutricional.....	66
1.5 Enzimas digestivas.....	68
II. HIPÓTESIS.....	70
III. OBJETIVOS.....	70
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	71
4.1 Origen de los organismos.....	71
4.2 Diseño experimental y dietas.....	71
4.3 Condiciones experimentales.....	72
4.4 Crecimiento y sobrevivencia.....	74
4.5 Tasa de ingestión.....	74
4.6 Metabolitos y sustancias de reserva.....	75
a) Glucógeno.....	76
b) Proteína.....	76
c) Glucosa.....	76
d) Colesterol.....	77
e) Acilglicéridos.....	77
4.7 Actividad enzimática.....	77
Proteasas ácidas.....	77

<i>Proteasas alcalinas</i> .....	77
4.8 Análisis estadístico.....	77
V. RESULTADOS.....	79
5.1 Crecimiento y sobrevivencia.....	79
<i>Parámetros fisicoquímicos del sistema</i> .....	79
5.2 Tasa de ingestión y crecimiento.....	80
5.3 Tasa Específica de Crecimiento (TEC).....	82
5.4 Sobrevivencia.....	83
5.5 Metabolitos y sustancias de reserva.....	85
5.6 Actividad enzimática.....	88
VI. DISCUSIÓN.....	89
CAPÍTULO 4.....	95
VINCULACIÓN ENTRE LA CIENCIA BÁSICA Y SU APLICACIÓN PRÁCTICA	
Cooperativa “Moluscos del Mayab”; un caso de éxito en el cultivo piloto	
comercial del pulpo rojo	
<i>Sisal, pueblo de Mar.</i> . . . . .	96
<i>La casa del pulpo maya</i> .....	97
<i>La Tripulación</i> .....	101
<i>El ensamblaje del Lego</i> .....	102
CAPÍTULO 5.....	104
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES	
I. DISCUSIÓN GENERAL.....	105
II. CONCLUSIONES GENERALES.....	112
III. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	114

# Capítulo 1

---

## INTRODUCCIÓN

*La humanidad empezará verdaderamente a merecer su nombre el día en que haya cesado la explotación del hombre por el hombre*

*Julio Cortázar.*

## INTRODUCCIÓN

Los cefalópodos aparecieron en los mares del Cámbrico Superior (Era paleozoica) hace alrededor de 570 millones de años (Kröger, 2005); son organismos cosmopolitas, distribuidos en todo el mundo. Habitan desde aguas someras hasta aguas que llegan a los siete mil metros de profundidad; la mayoría presentan hábitos carnívoros y son predadores activos (Okutani, 1990; Boucher-Rodoni *et al.*, 1987; Lee, 1994). Están ubicados en una posición intermedia en la red trófica, son predadores de otros moluscos, peces, bivalvos y crustáceos, y a su vez son presas de mamíferos marinos, peces de gran tamaño y aves asociadas al ambiente costero (Hanlon y Messenger, 1996).

En México uno de los grupos de cefalópodos de mayor aprovechamiento comercial es el de los pulpos. Su pesquería está centralizada básicamente en dos especies, el “pulpo patón” (*Octopus vulgaris*) y el “pulpo rojo” (*Octopus maya* (Voss y Solís, 1966)), siendo ésta última la de mayor captura por la demanda de consumo que presenta.

Actualmente, el pulpo por su volumen de pesca y valor comercial conforma una de las pesquerías más importantes de la península de Yucatán (Salas *et al.*, 2006). Su captura (incluyendo a *O. vulgaris* y *O. maya*) ocupa el octavo lugar a nivel nacional (Santos *et al.*, 2000) y es la tercera pesquería en orden de importancia en el Golfo de México y el Caribe, apenas superada por el camarón y el atún (Hernández Flores *et al.*, 2001). El 98% de la producción nacional de pulpo proviene de Yucatán, Campeche y Quintana Roo (SEMARNAP, 1999).

La población involucrada en la pesquería de pulpo en la península se calcula entre 10 y 15 mil pescadores incluyendo la flota artesanal y la flota mayor (Solana *et al.* 2005). Aun cuando para realizar las capturas se requiere contar

con permisos de pesca, esta pesquería se puede considerar de libre acceso. La normatividad decretada por el Instituto Nacional de Pesca (INP) para pulpo determina: tallas mínimas de longitud, el establecimiento de cuotas de captura por región para cada temporada de pesca y de los límites permisibles del esfuerzo pesquero, además de un periodo de veda establecido desde 1984 (Salas *et al.* 2006); sin embargo aunado al cumplimiento de la normatividad, es necesaria la implementación de programas que garanticen el reclutamiento de la especie, disminuyendo así el impacto en las poblaciones silvestres.

Como parte de las acciones que podrían ser aplicadas para el aprovechamiento sustentable del pulpo se encuentra la producción de biomasa por cultivo. Desde hace mucho tiempo se ha reconocido que *O. maya* tiene un gran potencial acuícola dado su desarrollo directo, crecimiento rápido, ciclos de vida relativamente cortos, altas tasas de conversión alimenticia y alto valor comercial (Forsythe and Van Heukelem 1987; Domingues *et al.* 2001a, 2003 b). Pese a éstas y otras cualidades, existe una fuerte dependencia de los cultivos por el alimento natural el cual ha sido reconocido como una de sus principales limitantes, ya que éste dificulta la producción industrial debido a los altos costos que involucra (O Dor y Wells, 1987; Lee *et al.*, 1991).

En el medio natural los pulpos se alimentan de diversos crustáceos, bivalvos, peces y cefalópodos entre otros (Boucaud-Camou y Boucher-Rodoni, 1983). En cultivo se han alimentado con dietas que van desde harinas de subproductos avícolas, croquetas para perro y comprimidos de pollo hasta pastas elaboradas a base de pescado (Águila *et al.*, 2007) camarón, bivalvos, y jaiba (Rosas *et al.*, 2008). De esos estudios se ha podido establecer que no es sólo la calidad y cantidad de la proteína suministrada en lo que estriba el éxito del alimento para los pulpos, sino también de la capacidad intrínseca del organismo para aprovechar los nutrientes que éste le provee. Ésta capacidad se mide en

términos de su actividad digestiva y metabólica que a través de complejos procesos ponen a disposición los nutrientes contenidos en las fuentes proteicas para su adecuada asimilación, lo cual está determinado por su morfofisiología digestiva.

Los cefalópodos presentan altas tasas de crecimiento resultado de una elevada actividad de síntesis de proteínas (Houlihan *et al.*, 1990) en las que está basado su metabolismo, siendo ésta su mayor fuente de energía (Lee, 1994). Lípidos y carbohidratos son poco utilizados aunque se ha podido observar que estos animales tienden a utilizar los ácidos grasos poliinsaturados contenidos en sus presas (García-Garrido *et al.*, 2011).

Pero, ¿cuáles son los elementos a considerar para la elaboración de una dieta nutricionalmente adecuada para éstos octópodos?, la respuesta no es simple ni trivial ya que depende de un sin número de variables que inciden sobre el organismo propias de su fisiología y ambiente. La maquinaria enzimática con la que cuentan que les permita la asimilación del alimento, el estadio de desarrollo en el que se encuentran al momento de iniciar el cultivo, y el estado de madurez del sistema digestivo. Así también otras variables como las condiciones físicas del sistema de cultivo, temperatura, intensidad lumínica, disponibilidad del espacio, estrés y densidad de siembra, determinan, entre otras el éxito de un determinado tipo de alimento.

## **I. ANTECEDENTES GENERALES DE LA ESPECIE**

### **1.1 Características generales**

El pulpo rojo, *Octopus maya* (Voss y Solís, 1966) es un molusco cefalópodo carnívoro. Caracterizado por tener un cuerpo blando con un cerebro conspicuo y ocho brazos con dos filas de ventosas en cada uno, posee ojos grandes y complejos que le proporcionan una visión aguda, presenta branquias como órganos respiratorios y un sistema vascular con un corazón tricavitario (CONAPESCA-ITESM, 2004).

### **1.2 Taxonomía**

Phyllum: Molusca

Clase: Cephalopoda

Orden: Octopoda

Familia: Octopodidae

Género: Octopus

Especie: maya (Voss y Solís, 1966)

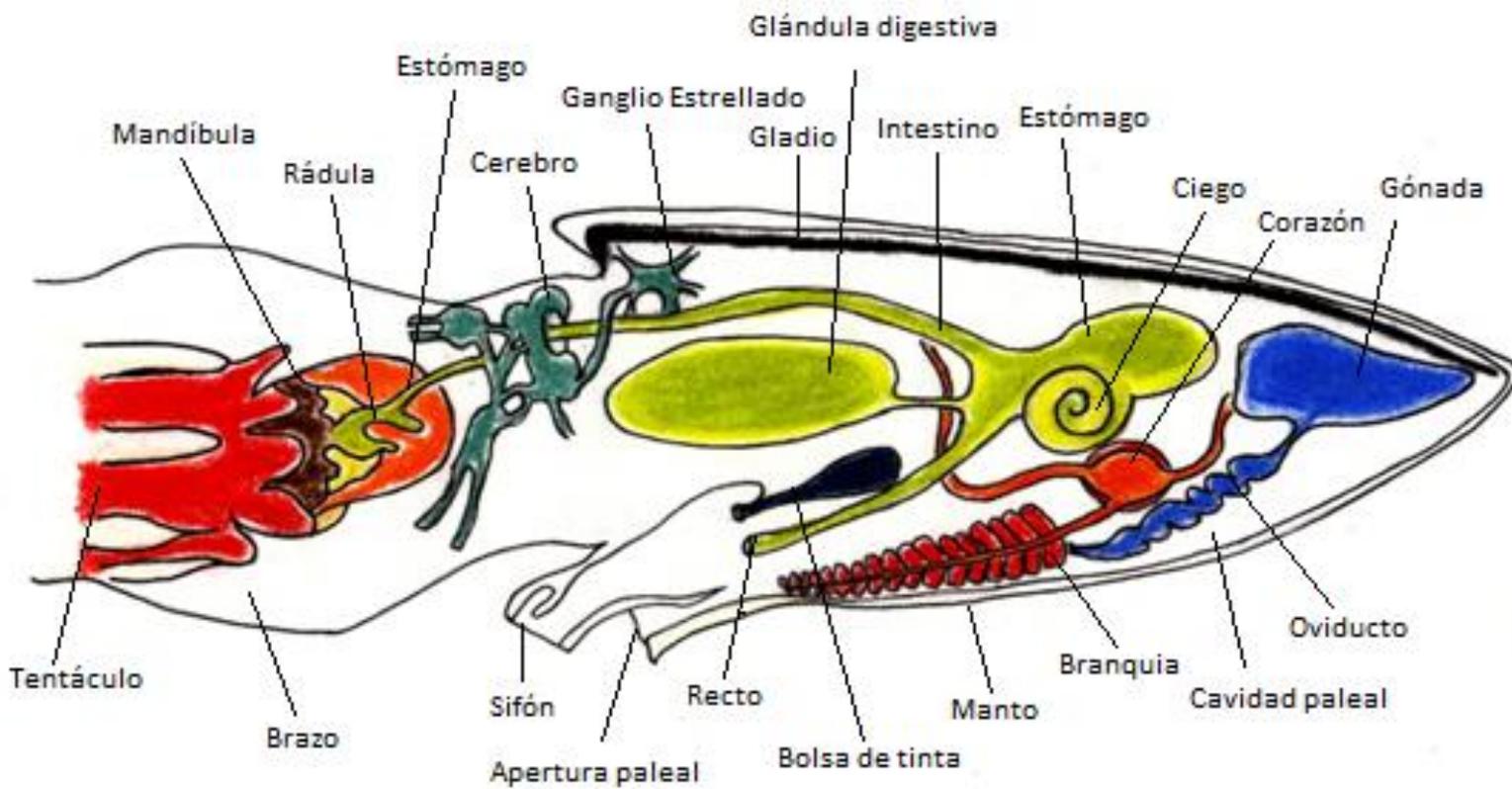


Figura 1. Esquema general de la anatomía interna de un cefalópodo. Adaptado de Rocha, 2003.

### 1.3 Hábitat y Distribución

El pulpo rojo es una especie litoral de aguas someras, se encuentra mayormente de 1 a 4 brazas de profundidad, aunque ha sido reportado hasta 32 brazas. Es un organismo holobentónico que habita en zonas tropicales con sustratos de roca caliza y sustratos finos de arena y limo, cubierto en parte por *Thalassia testudinum* y diversas algas. *Octopus maya* es una especie endémica de la península de Yucatán cuya distribución abarca desde Ciudad del Carmen, Campeche, hasta Isla Mujeres, Quintana Roo (Solís, 1962; Van Heukelem, 1977; Roper, *et al.*, 1984) (Figura 2).

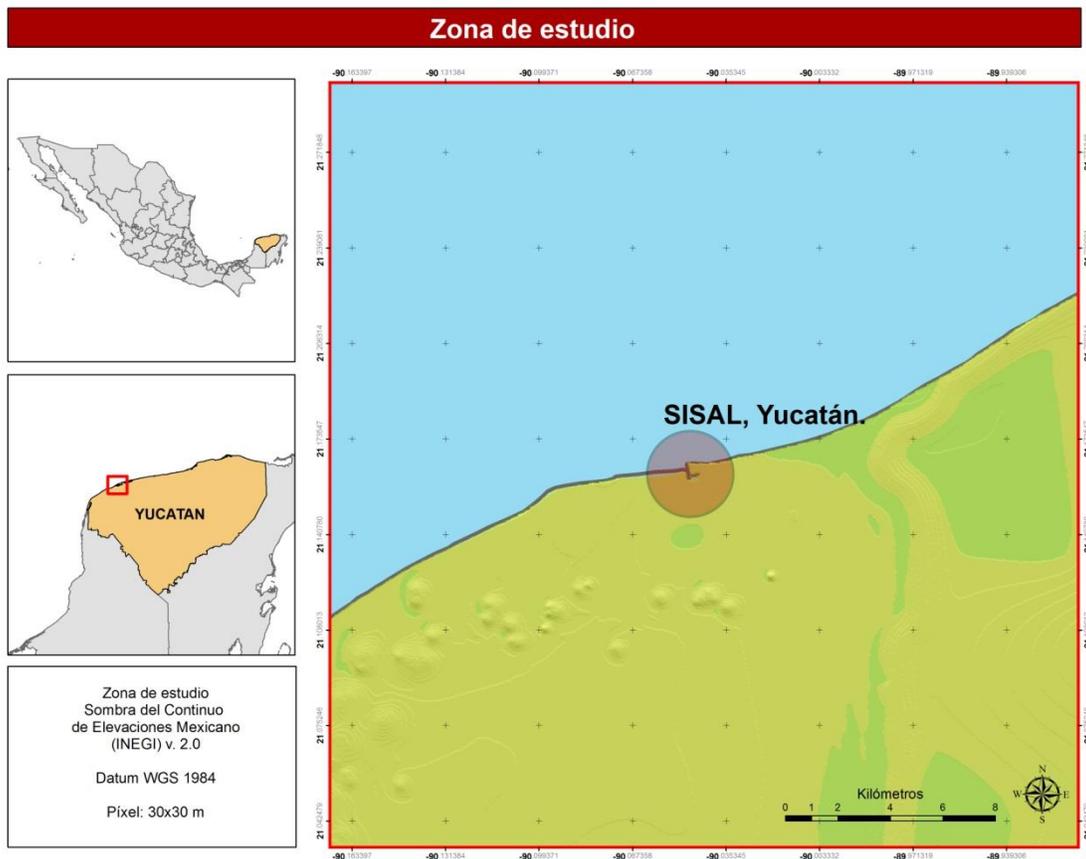


Figura 2. Puerto de Sisal en donde se ubica la Unidad de Docencia e Investigación de la UNAM en la que se realizó el presente trabajo. Se señala una de las áreas de distribución de *O. maya* en el litoral de la península de Yucatán, Golfo de México.

## **1.4 Alimentación**

La mayoría de los pulpos son carnívoros y se mantienen como depredadores activos durante todo su ciclo vital, alimentándose de cangrejos y otros moluscos (Guerra, 1978; Boucaud-Camou y Boucher-Rodoni, 1983; Hanlon y Messenger, 1996). Para alimentarse los pulpos siguen un proceso etológico y fisiológico muy peculiar. Con los brazos captura a su presa, haciendo uso de las ventosas que le permiten la adhesión y una mayor sujeción, fuerza y presión. Desde las glándulas salivales es secretada una cefalotoxina que inmoviliza a la presa la cual ingresa al organismo a través de una abertura que realiza con la rádula. Posteriormente una mezcla de enzimas proteolíticas es vertida sobre los tejidos iniciándose la digestión externa. De este modo, la carne de la presa es prácticamente absorbida por el pulpo.

Al igual que en otros cefalópodos, en *O. maya* las variaciones en la dieta que ocurren durante el ciclo de vida están determinadas por los cambios morfofisiológicos asociados al crecimiento (Hernández-López, 2000; Rocha, 2003). Aunque *O. maya* presenta desarrollo directo, en los estadios más tempranos posteriores a su eclosión se llevan a cabo una serie de cambios en su morfofisiología digestiva, los cuales toman los primeros 20 días después de que eclosionan (Moguel et al., 2009). Durante este lapso y en los primeros 5 días los animales se alimentan de las reservas de vitelo (estadio 1, plaquetas de vitelo), mientras que entre el sexto y el décimo día los pulpos se encuentran en un estadio de transición, una interfase entre el uso de las reservas vitelinas y la asimilación exclusiva de alimento exógeno que tiene lugar alrededor del onceavo día (López-Ripoll, 2010; Martínez et al., 2012).

## **1.5 Ciclo de vida**

Los pulpos tienen ciclos de vida cortos que pueden llegar a los 6 o 9 meses de edad (Okutani, 1990; Forsythe, 1981; Domingues et al., 2001a, 2001b,

2002), aunque algunas especies de cefalópodos como *O. maya* viven entre uno y dos años (Mangold, 1983) (Solís y Chávez, 1986) y llevan a cabo un solo evento reproductivo (Mangold, 1983; Giménez and García, 2002). Una vez concluida la eclosión de los huevos las hembras mueren, debido al desgaste producido por la falta de alimento durante el cuidado parental de los huevos que las hembras realizan. Existen evidencias que sugieren que es la glándula óptica la responsable de la secreción de hormonas asociadas con la alimentación o la falta de ésta durante el cuidado parental.(Wells and Wells, 1959).

## II. JUSTIFICACIÓN

Hoy en día el pulpo es objeto de un número considerable de investigaciones de diversa índole que lo ponderan como uno de los mayores recursos marítimos aprovechables y con gran potencial de cultivo. La protección del reclutamiento a largo plazo de *O. maya* es prioritario como parte de la estrategia de conservación y mantenimiento de las capturas (Hernández Flores et al., 2001). Así, el cultivo de *O. maya* podría ser un paso fundamental para la futura disminución de la presión sobre su pesquería, contribuyendo a la preservación de este importante recurso y al desarrollo económico alternativo en las comunidades que hacen uso de él.

La formulación de un pienso artificial es clave para poder pasar de los cultivos experimentales al cultivo a gran escala (Lee, 1994). En estudios recientes llevados a cabo en la UMDI UNAM Sisal concluyeron que es posible diseñar un alimento balanceado que satisfaga los requerimientos nutricionales de la especie (Martinez, 2010; Martinez et al., 2011a; Martinez et al., 2011b; Martínez et al., 2011). Ese alimento ha sido elaborado con base en dos elementos de alto valor nutricional como son la carne de jaiba (*Callinectes* spp) y la de calamar (*Dosidicus gigas*), ambos presentados en una formulación ligada con grenetina (Rosas et al., 2008) y con proteína nativa liofilizada (Rosas et al., 2012). Aunque esa mezcla (50/50%) permite el crecimiento de los pulpos incluso mejor que la que se obtiene con la dieta control (carne de jaiba fresca y/o liofilizada), por la forma en que se elabora y la proporción tan alta de jaiba en la formulación hacen a esta mezcla una dieta inviable para un cultivo piloto o piloto comercial. Así, el presente estudio ha sido diseñado con dos grandes propósitos. El primero de ellos es el de establecer los niveles de sustitución de jaiba por carne de calamar en una formulación que provea de un buen crecimiento y sobrevivencia a los organismos en cultivo. El segundo es el de aproximarse, mediante el análisis

químico de los alimentos experimentales a los requerimientos de proteína, lípidos totales, amino ácidos y ácidos grasos de juveniles tempranos de *O. maya* mantenidos en condiciones experimentales.

### **Preguntas de Investigación**

1. ¿Existe un nivel de sustitución de la carne de jaiba en la mezcla calamar-jaiba que proporcione crecimientos y sobrevivencias similares o mayores a las obtenidas cuando esta mezcla es 50-50%?
2. ¿Cuáles son las características químicas de la mezcla calamar-jaiba que produce el mejor crecimiento de los juveniles tempranos de *O. maya*?

### **III. HIPÓTESIS**

1. En el medio silvestre los pulpos consumen altas cantidades de crustáceos. En estudios previos se demostró que la jaiba es un alimento que posee cualidades nutricionales apropiadas para el crecimiento, desarrollo y buena condición nutricional de *Octopus maya*. Paralelamente se ha utilizado la carne de calamar (al 100%) en dietas para pulpo ofreciendo resultados en los que si bien se logró el crecimiento y la sobrevivencia de los organismos, éstos fueron menores a los obtenidos en pulpos alimentados con 100% carne de jaiba (Rosas et al., 2012). Consecuentemente, en experimentos en donde los pulpos fueron alimentados con una mezcla Calamar-Jaiba con un porcentaje de inclusión 50-50 se encontró que el crecimiento y la sobrevivencia de los animales alimentados con dicha combinación fueron mayores a los observados con la dieta que contenía 100 % de jaiba (Dieta control). Lo anterior permite suponer que ambas fuentes

proteicas tienen componentes que son complementarios entre sí, proporcionando una calidad superior al alimento cuando están combinados. Por lo tanto es posible suponer que exista una cantidad mínima de jaiba en la dieta que permita mantener estos resultados y que sea suficiente para llevar a cabo de manera adecuada los procesos de absorción de los nutrientes contenidos en la carne de calamar y del alimento en general.

2. Se conoce que al combinar la carne de jaiba con la de calamar se incluyen las propiedades nutricionales de ambos ingredientes en una mezcla que al parecer aumenta el valor nutricional de los ingredientes por separado. Es posible esperar que si una mezcla en particular produce altos crecimientos y sobrevivencias, los contenidos de nutrientes (proteínas, lípidos, minerales, aminoácidos y ácidos grasos) podrían estar cubriendo los requerimientos nutricionales de la especie y dar luz sobre el contenido que deberían tener dietas para pulpo elaboradas con otros insumos frescos, congelados o liofilizados.

#### **IV. OBJETIVOS**

##### ***Objetivo General***

Conocer los efectos de la sustitución parcial de carne de jaiba por calamar en la dieta, con el fin de establecer la proporción que se requiere para el óptimo crecimiento, sobrevivencia y condición nutricional de juveniles tempranos de *Octopus maya* en condiciones de cultivo experimental, así como el análisis químico de las dietas que permita, en conjunto, determinar parcialmente los requerimientos nutricionales de la especie.

### ***Objetivos Particulares***

1. Conocer las características químicas de las dietas con diferentes niveles de sustitución de carne de jaiba mediante el análisis químico proximal , de aminoácidos y de ácidos grasos de los insumos que las constituyen
2. Determinar el efecto de la sustitución de carne de jaiba en el crecimiento y sobrevivencia de juveniles tempranos de *O. maya*
3. Conocer los efectos del tipo de alimento en la condición fisiológica y nutricional de *O. maya* mantenidos en condiciones experimentales.
4. Establecer un intervalo de nutrientes en el alimento que en combinación con los resultados obtenidos en el crecimiento y la sobrevivencia, permitan aproximarse a los requerimientos nutricionales de la especie
5. Formular una dieta para juveniles tempranos de *O. maya* que satisfaga sus requerimientos nutricionales.

### ***Estructura del documento***

El presente documento ha sido dividido en 5 capítulos cada uno de los cuales cuenta con una estructura propia. Esta estructura permitirá al lector comprender mejor los antecedentes específicos, las hipótesis y objetivos de cada uno de los temas facilitando así la lectura de cada una de las partes que conforman esta Tesis. Tomando en cuenta el papel docente que estos documentos tienen, la separación por capítulos permitirá también extraer información específica de acuerdo a los intereses particulares que otros estudiantes o académicos pudieran tener.

### **Evaluación Química de los Insumos y Valor Nutritivo de los Alimentos Balanceados**

## RESUMEN

Se realizó un estudio de las propiedades químicas de los insumos (carne de jaiba, manto de calamar y ensilados de descartes de pescado y pulpo) mediante análisis químico proximal, aminoacídico (AA) y de ácidos grasos (AG) con el objetivo de conocer sus propiedades nutritivas; en función de estos resultados se formularon seis dietas que se utilizarían para alimentar pulpos en condiciones experimentales. Para hacer esto se tomaron en cuenta los porcentajes de proteína, lípidos, cenizas y humedad de los insumos, se asignaron distintos niveles de inclusión de carne de jaiba en la dieta como una vía para modular la respuesta del organismo y con ello conocer el intervalo de concentración de estos componentes en el que los individuos presentan las mejores condiciones nutricionales, y de crecimiento y sobrevivencia. Los porcentajes de inclusión de jaiba en las dietas prácticas (DP) a base de carne de jaiba (J) y calamar (C) se establecieron de la siguiente forma: C-J, 50/50, 60/40, 70/30, 80/20, 90/10 %; en las DP que incluyeron ensilados y calamar la proporción utilizada fue de 1:1; Ensilado de esquilones y cabezas de pescado y vísceras de pulpo(E1) y calamar: E1/C, 50/50 %, por último, Ensilado de esquilones de pescado (E2) y calamar: E2/C, 50/50 %. La dieta control se elaboró según lo indicado por Martínez, (2010). Se dio seguimiento a la temperatura y pH del ensilado (1 a 60 días) y se cuantificó la concentración de proteína soluble. Con la composición química (evaluación químico proximal, y perfiles de AA y AG) se diseñaron las dietas prácticas. Los resultados del análisis químico proximal mostraron que los ensilados contienen altas cantidades de grasa en comparación con la carne de jaiba y calamar pudiendo incidir negativamente en la asimilación y aprovechamiento del alimento que los contienen. Jaiba y calamar son altamente ricos en proteína, hecho que debe ser tomado muy en cuenta dado el antecedente de que el metabolismo de *O. maya* es altamente proteico. El análisis de componentes principales (ACP) de los AA y AG mostró que las dietas experimentales pueden agruparse de la siguiente manera. Las dietas con proporciones de 90:10, 80:20 y 70:30 C-J formaron un grupo mientras que las dietas con 50:50 y 60:40 C-J formaron el otro. Estos grupos se formaron considerando la alta correlación existente (mayor del 90%) en los aminoácidos Met, Lys, Ile, Leu, Phe, Ser y Gly. Cuando el mismo análisis (ACP) se aplicó a los ácidos grasos los grupos formados fueron los que contenían las dietas con 50:50 y 70:30 (grupo 1); 60:40; y 80:20 (grupo 2) y 90:10 C-J, siendo el contenido de PUFA's y la relación DHA/EPA los dos componentes explicativos de la agregación de estas dietas en esos grupos.

## **I. ANTECEDENTES**

### **1.1 Composición y Requerimientos Nutricionales de los Cefalópodos**

El 80% de la composición de los cefalópodos es agua y cerca del 16 % de su peso húmedo son proteínas (Iwasaki y Harada, 1985) que equivale aproximadamente al 85 % en peso seco. Los carbohidratos constituyen alrededor del 1% (Vlieg, 1984) y los lípidos menos del 2%. En comparación con los peces, poseen 20% más de proteína, 80% menos de cenizas, entre 50 a 100% menos de lípidos y entre 50 a 100% menos de carbohidratos (Lee, 1994). Los lípidos neutros son muy poco utilizados (Lee et al., 1998). La asimilación de las proteínas es mayor una vez cubiertas las funciones vitales y de crecimiento, con valores superiores al 90% por lo que sus requerimientos proteicos son sumamente altos (Lee, 1994 (Aguila et al., 2007; Rosas et al., 2011).

### **1.2 Importancia del Análisis Químico en Insumos y Dietas Artificiales**

El adecuado balance en la dieta se fundamenta en los requerimientos nutricionales específicos, por lo que resulta necesario conocer la composición química expresada en la cantidad de proteína, hidratos de carbono, lípidos, vitaminas, minerales y agua que están aportando los insumos a la formulación.

La caracterización química de los componentes de un alimento se realiza por medio del análisis químico proximal en el que se obtienen las concentraciones porcentuales de cada macro componente (Rodríguez, 1999). Con base en estos resultados es posible formular dietas para cefalópodos que contengan la cantidad adecuada de cada macronutriente según sus propios requerimientos, potencializando el éxito que el alimento pueda tener en su aplicación en cultivo.

### **1.3 Requerimientos de Aminoácidos en Cefalópodos**

En consecuencia a la fuerte dependencia proteica los requerimientos de aminoácidos también son altos (Forsythe y Van Heukelem, 1987; Houlihan *et al.*, 1990; Lee *et al.*, 1998) e intervienen en procesos fundamentales para el organismo. En estudios sobre *S. officinalis* se demostró que la Prolina, Alanina e Histidina son usados de forma más inmediata como sustratos en el ciclo del TCA (Ballantyne *et al.*, 1981; Domingues, 1999). De igual forma los aminoácidos libres intervienen significativamente en las vías involucradas con la osmorregulación celular de muchos invertebrados, entre ellos moluscos y crustáceos (Guilles y Pequeux, 1981). En trabajos realizados en *O. maya* se registró una relación entre la presencia de aminoácidos libres en el líquido previtelino y el aumento en peso y volumen de los huevos (Cazares, 2006).

### **1.4 Requerimientos de Ácidos Grasos en Cefalópodos**

Ya se ha mencionado que la principal función de los lípidos no es la de moneda energética; sin embargo, tienen funciones primordiales durante los procesos metabólicos, de crecimiento, conformación de membranas celulares y maduración sexual de los octópodos (Martínez, 2010).

La glándula digestiva y el ciego se encargan de la absorción de lípidos (Takahashi, 1963). Se ha reportado que los cefalópodos presentan una baja digestibilidad de lípidos, con deficiencias importantes a nivel de su movilización, oxidación y almacenamiento (Guerra, 2006).

Altas concentraciones de grasas en la dieta pueden actuar como antinutrientes, disminuyendo la digestibilidad del alimento y obstruyendo o mermando la asimilación de otras biomoléculas. En 2007, Rosas *et al.*, probaron dietas experimentales en *Octopus maya* con un contenido de grasa superior al 20%, resultando en valores de digestibilidad y crecimiento muy pobres.

En 2002 Koueta y colaboradores encontraron que los ácidos grasos Eicosapentanoico (EPA) y Docosahexaenoico (DHA) pertenecientes al grupo de los Omega 3 intervienen en la formación de derivados hormonales y prostaglandinas (Martínez,2010). Estas moléculas actúan en las células de origen y en las células adyacentes, participando como hormonas a nivel autócrino y parácrino respectivamente.

### **1.5 Fuentes Proteicas y Dietas Artificiales**

Estudios recientes han demostrado que una buena fuente de proteína de alta calidad para los cefalópodos son camarones, miscidáceos y calamares (Castro y Lee, 1994; Domingues et al., 2005; Le Bihan et al., 2006; Koueta et al., 2006). Con estos elementos se han obtenido crecimientos superiores al 6% diario, sin embargo esto solo se observa cuando los crustáceos son otorgados vivos o en su defecto congelados. Cuando la misma proteína ha sido sometida a altas temperaturas por métodos de cocción o secado, y es suministrada a los cefalópodos se ha observado que el crecimiento raramente pasa de 0.5% por día (Valero, 2009; Rosas et al., 2012). Algunos estudios refieren que la grenetina usada como aglutinante en dietas a base de jaiba liofilizada, tiene un efecto sobre la digestibilidad y el balance energético con tasas de crecimiento muy similares a las obtenidas con carne de jaiba fresca (Rosas *et al.*, 2008). Se han hecho inclusiones de proteína hidrolizada de pescado (CPSP) con resultados de crecimiento positivos pero que apenas alcanzan el 0.86% diario; empero, no hubo pérdida de peso ni mortalidad lo cual se asoció a una mayor disponibilidad de proteínas y aminoácidos (Aguila *et al.*, 2007).

La relación Proteína/Energía (P/E) que se utiliza en otros animales para determinar la calidad de la dieta no es un buen estimador en cefalópodos; Lee (1994) propone que el balance de aminoácidos en el alimento es el mejor indicador de la calidad en la dieta.

En investigaciones llevadas a cabo en la unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación (UMDI) de la UNAM en Sisal Yucatán se ha alimentado a *O. maya* con adultos de *Artemia salina* o palemónidos en la primera semana posterior a su eclosión y después con pastas de jaiba. Con esta dieta se han logrado tasas de crecimiento del 4% por día (Domingues 2007). Martínez (2010) alimentó a juveniles de *Octopus maya* con dietas producto de diferentes combinaciones de jaiba, calamar y ensilados de pescado, y encontró que con la dieta de calamar y jaiba en proporción 1:1 los organismos se mantuvieron en buena condición nutricional y presentaron los valores de crecimiento y sobrevivencia más altos reportados hasta ese momento. Las dificultades con estas dietas radican en que pese a su alta eficiencia y aporte nutricional los costos siguen siendo muy elevados, incidiendo negativamente en la rentabilidad y viabilidad del cultivo, y en que se desconoce cuál es la cantidad mínima del ingrediente limitante que debe ser incluida para mantener al animal en óptimas condiciones.

En general, la problemática de los alimentos artificiales además de lo referente a las fuentes proteicas y su calidad, está centrada en variables como la digestibilidad y la biodisponibilidad de nutrientes. Aunque las dietas usadas son ricas en proteínas y aminoácidos la cantidad de nutrientes disponibles y la energía que aportan han sido limitadas (Rosas *et al.*, 2007; Aguila, 2007; Domingues *et al.*, -en prensa). A causa de ello, en las últimas investigaciones se ha enfatizado en el análisis de la fisiología digestiva de los octópodos para formular dietas que puedan ser asimiladas eficientemente por los organismos.

### **1.6 Ensilados de Descartes de Pescado y Pulpo: Fuentes Proteicas Alternativas**

Las industrias pesqueras extraen una variedad de recursos alimenticios del mar y los procesan para ser vendidos en el mercado nacional e internacional. Pescados, pulpos, calamares y camarones son de los grupos con mayor

explotación. En las procesadoras, los animales son eviscerados, cortados y empaquetados, y los órganos y tejidos son descartados. Con estos desechos se elaboran harinas que sirven de alimento a cerdos, aves y ganado en general. Muchas de las plantas procesadoras no llevan a cabo un adecuado manejo de residuos sólidos y los descartes de estos animales, regularmente se arrojan en tiraderos de basura a cielo abierto en donde producen serios problemas ambientales.

El ensilado de descartes de la industria pesquera responde a la necesidad del aprovechamiento de esta fuente de proteína animal. El pulpo mismo es comercializado sin vísceras, mismas que con frecuencia son arrojadas al mar o desechadas como se mencionó anteriormente. De acuerdo con estudios realizados en la UNAM, el ensilaje de desechos de pulpo y pescado propicia la hidrólisis de la proteína contenida en los tejidos animales (Ruiz, 2007) facilitando su biodisponibilidad y asimilación en pulpos en edades tempranas.

El ensilaje es una tecnología simple que reduce drásticamente el costo de la dieta y que representa una alternativa en el manejo de desechos que fungen como contaminantes en el medio. Así, subproductos de la industria atunera han sido utilizados en la elaboración de ensilados que han servido de alimento para peces de agua dulce como tilapia (Fagbenro, 1993) y carpa (Goddard, 2001) de manera exitosa. En 2006, Le Bihan y colaboradores, alimentaron sepias con surimi de cangrejo (*Crangon crangon*) y ensilado de pescado, con resultados significativamente mejores que los obtenidos sin ensilado en la dieta. Esta diferencia fue asociada a la presencia de diferentes péptidos y aminoácidos libres en el ensilado, aparentemente por que le aportan una mayor atractabilidad y palatabilidad al alimento (George-Zamora, 2011).

Con base en un estudio realizado sobre 42 componentes hasta la fecha utilizados para alimentar *O. vulgaris* Cerezo-Valverde et al., (2012), señalaron que la arginina y/o leucina podrían ser los aminoácidos limitantes en dietas para pulpo, poniendo énfasis en la importancia que puede tener la caracterización química de los insumos en la determinación de los requerimientos nutricionales de los cefalópodos.

Tomando en cuenta todo lo anterior y considerando que en la actualidad se cuenta con varias mezclas de calamar- jaiba que producen buenos resultados en el crecimiento de *O. maya* surge la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuáles son las características químicas de los insumos utilizados para preparar las dietas utilizadas en el presente estudio y que se utilizarán en la alimentación de juveniles de *O. maya*?

## **II. HIPÓTESIS**

Estudios previos han demostrado que la Treonina, Fenilalanina, Isoleucina, Alanina, Glutamina, y Serina son aminoácidos ampliamente utilizados como fuente de energía metabólica en *O. maya*, George-Zamora et al., 2011). Considerando que se ha identificado que los niveles de estos aminoácidos en la carne de jaiba (6, 4, 2, 10, 6, 6 g/100g, respectivamente) están involucrados en el adecuado crecimiento, sobrevivencia y condición nutricional de los juveniles de *O. maya*, es posible suponer que aquellos insumos mezclados en dietas experimentales que contengan esas concentraciones se aproximarán a los requerimientos nutritivos de esta especie.

1. Para comprobar esa hipótesis se ha planteado el siguiente objetivo:

### III. OBJETIVOS

#### ***Objetivo General***

Caracterizar químicamente los insumos y las dietas elaboradas en el presente estudio con el fin de establecer sus propiedades nutricionales y aportar datos que permitan conocer parcialmente, junto con otras pruebas, los requerimientos nutricionales de los juveniles tempranos de *Octopus maya* mantenidos en condiciones experimentales.

#### ***Objetivos Particulares***

1. Conocer las características químicas de las dietas con diferentes niveles de sustitución de carne de jaiba mediante el análisis químico proximal, de aminoácidos y de ácidos grasos de los insumos que las constituyen
2. Formular una dieta para juveniles tempranos de *O. maya* que satisfaga sus requerimientos nutricionales

## **IV. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1 Caracterización Química de los Insumos y las Dietas**

#### **4.1.1 Análisis Químico Proximal**

A continuación se enlistan los fundamentos de las técnicas utilizadas en el análisis químico proximal (métodos oficiales de la AOAC) de jaiba, calamar y ensilados de pescado, todas las determinaciones se hicieron por triplicado en muestras de harinas liofilizadas a excepción de la prueba de humedad que se midió sobre el insumo fresco.

##### **a) Proteína**

Se analizó con el método Kjeldahl. El proceso consta de tres etapas: digestión, destilación y titulación. En la primera etapa realizada mediante el uso de un digestor Büchi k-435 se determinó la cantidad de nitrógeno combustionando la muestra con ácido sulfúrico concentrado; con el uso de catalizadores (mezcla reactiva de selenio) fue reducido a amoníaco el nitrógeno orgánico contenido y a partir del cual se obtuvo una solución de sulfato ácido de amonio.

En la segunda etapa el producto de la digestión, el amoníaco es extraído o destilado vía arrastre de vapor (destilador Velp Scientific) y colectado con una solución de ácido bórico para ser titulado estequiométricamente adicionando ácido clorhídrico por medio de un titulador automatizado (pH StatMetrohm , Stirier 80).

##### **b) Lípidos**

Los lípidos fueron extraídos por el método Goldfish con el equipo Labconco 050841162 CV. La técnica se basa en lavados con hexano por arrastre de vapor, que es condensado y precipitado repetidamente sobre la muestra para

acarrear la grasa que contenga. Se mantuvo en un mecanismo de recirculación durante 4 horas y transcurrido este tiempo se procedió al secado de la muestra en campana extractora y posteriormente con gas nitrógeno para la volatilización del hexano, permitiendo la cuantificación del extracto lipídico mediante gravimetría.

### **c) Cenizas**

Las cenizas representan la parte inorgánica (minerales) del insumo. Fueron cuantificadas por incineración a 500 °C en una mufla Liber 2024. La muestra es pesada y quemada previamente, una vez incinerada se registra el peso resultante y se obtiene la cantidad de cenizas totales. Es importante considerar que el valor neto obtenido puede verse alterado debido a que si la temperatura es excedida existe pérdida de los elementos más volátiles y la cristalización de algunos otros.

### **d) Humedad**

Para cuantificar la cantidad de agua contenida en los alimentos se pueden implementar varias técnicas de deshidratación, en éste caso se utilizó una termobalanza o balanza de secado (Ohaus modelo 5420) en la que fue colocada la muestra húmeda, la balanza eleva la temperatura en función de la naturaleza del insumo para evaporar toda el agua que contenga arrojando valores porcentuales de humedad, registrando el peso inicial, peso final, la temperatura requerida para la deshidratación y la cantidad de sólidos presentes

#### **4.1.2 Perfil de Aminoácidos**

Se utilizó la técnica de Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC). Para ello las muestras se mantuvieron a 80 °C bajo cero por un periodo de 24 horas, posteriormente fueron hidrolizadas con HCL 6N en una atmósfera de nitrógeno, por 24 horas, a una temperatura de 105 °C. Se utilizó ácido 2-

aminobutírico como estándar interno. Los hidrolizados resultantes fueron derivatizados con el kit AccQ\*Fluor Reagent, de Waters. Se trabajó con un auto-analizador de aminoácidos (*Amersham Pharmacia Biotech, UK*). La cromatografía fue elaborada mediante una columna de Sílica de intercambio catiónico a una temperatura de 38°C (fase estacionaria) y dos soluciones: eluyente A y una mezcla de acetonitrilo y agua HPLC 60:40 (fase estacionaria) (*Biochrom, Cambridge, UK*). Se utilizó ninhidrina como compuesto para coloración en la determinación de los aminoácidos (*Biochrom, Ref. No. 80-2110-76*).

#### **4.1.3 Perfil de Ácidos Grasos**

De las muestras liofilizadas se extrajeron las grasas por el método de Folch. Con base en el método de Metcalfe y colaboradores (1966) fueron preparados los ácidos grasos metil ésteres (FAMES). Una vez extraídos los lípidos se saponificaron para liberar los ácidos grasos y a continuación formar ésteres metílicos que se separaron por cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC-MS). Se utilizó C:19 como estándar interno. Se trabajó con el puerto de inyección y la flama del detector de ionización a 250 °C. Finalmente la identificación de los ácidos grasos fue realizada por comparación en los tiempos de retención con los patrones estándar.

## **4.2 INSUMOS**

### **4.2.1 Obtención y Procesamiento**

#### **4.2.1.1 Calamar y Jaiba**

Las jaibas (*Callinectes sapidus*) fueron obtenidas de la población silvestre que habita en la Ría de Sisal, los ejemplares se mantuvieron en un ultra congelador Revco a 20 °C bajo cero, hasta su análisis. Se extrajo la carne de la jaiba y la pulpa resultante se congeló en cubos para facilitar el proceso de liofilización. Al manto de calamar (*Dosidicus gigas*) le fue retirada la epidermis que tiene un alto contenido de colágeno lo que disminuye su digestibilidad,

después fue cortado en cubos y se mantuvo en congelación para su posterior liofilización.

#### **4.2.1.2 Ensilado de Descartes de Pescado y Vísceras de Pulpo**

Los desechos de pescado mero (*Epinephelus moreus*) fueron proporcionados por la empacadora Industrias pesqueras del sureste S. A. de C. V. en Mérida Yucatán y las vísceras de pulpo se obtuvieron de un muestreo previo de adultos de *O. maya* en la UMDI Sisal.

Para preparar el Ensilado 1 se mezclaron los insumos en una proporción 3:1 esquilón (restos del fileteo): cabezas y 4:1 esquilón-cabeza:vísceras; no se incluyó la cola, aletas y piel del mero. Se pesaron los ingredientes con una balanza Ohaius Av 812 y se molieron en una licuadora JR Lp-12 con 200 ml de agua purificada hasta obtener una mezcla homogénea. Por cada Kg de homogenado se adicionaron 20 ml de ácido fórmico y se mezcló. Para elaborar el Ensilado 2 se siguió el mismo procedimiento excepto que fueron incluidos únicamente esquilones de pescado mero en la preparación.

Por cada 100 g de grasa contenida en 1 Kg de homogenado se adicionaron 0.02 g de BHT. El homogenado de desechos de pescado y pulpo contiene alrededor del 12% de grasa y 20% para el ensilado de esquilones. Se disolvió el BHT en acetona y se mezcló con el homogenado. El proceso de ensilaje duró 7 días. Una parte de los ensilados del día 7 que contenían BHT se congeló en cubos destinados a la preparación de las dietas y el resto se conservó para el seguimiento de pH y temperatura.

##### **a) Seguimiento Temporal de pH y Temperatura**

Se midieron la temperatura y el pH del homogenado con un potenciómetro Orion 250A. Se vertió al homogenado 2 ml de ácido fórmico por

cada Kg para estabilizar el pH en las próximas 24 h evitando registrar valores mayores a las 4 unidades. Se hicieron mediciones diarias por la mañana de pH y temperatura de ambos ensilados durante los primeros 7 días (moviendo la mezcla para mantenerla homogénea) y posteriormente al día 15, 30, 45 y 60.

### **b) Cuantificación de Proteína Soluble**

Se cuantificó la concentración de proteína soluble en muestras de homogenados, ensilados (de los días 1-7, 15, 30, 45, 60) y dietas (C-J 50/50, 60/40, 70/30, 80/20, 90/10; E1-C, E2-C 50/50). Para esta prueba fueron colocados 70 mg de la muestra en 500 µL de agua libre de pirógenos, se maceró la muestra con un homogenizador KB y fue centrifugada a 500 rpm durante 15 minutos (centrífuga Eppendorf 541516). Finalmente los valores fueron registrados con un espectrofotómetro Thermo Scientific Genesys 10 uv.

#### **4.2.1.3 Liofilización de los Insumos**

La liofilización es una técnica de deshidratación a temperaturas de congelación de hasta 80 °C bajo cero mediante un mecanismo generador de alto vacío. Se colocaron los cubos congelados de la carne de jaiba, calamar y ensilados en la liofilizadora Labconco/ Free zone 2.5 por un periodo de 72 horas a -35 °C.

#### **4.2.2 Formulación y Preparación de las Dietas**

Las dietas se diseñaron disminuyendo porcentualmente la cantidad de jaiba en la mezcla con calamar de acuerdo a lo siguiente (J/C, 50/50, 60/40, 70/30, 80/20, 90/10 %). En el caso de los ensilados éstos se utilizaron como un sustituto total de la carne de jaiba agregándose en una proporción 1:1 en la mezcla con carne de calamar (E1:C, E2:C). Se probaron dos tipos de ensilados. El E1 fue elaborado a partir de proporciones iguales de cabezas de pescado, esquilones de pescado y vísceras de pulpo. El E2 fue obtenido utilizando

solamente esquilones de pescado. Ambos ensilados fueron elaborados con toda la materia prima en fresco, una vez concluido el proceso de ensilaje, cada uno de los ensilados resultantes fue deshidratado por liofilización.

Para la preparación de las dietas prácticas los ingredientes (ensilados 1y 2, manto de calamar y pulpa de jaiba) fueron molidos y tamizados a 500 micras, las harinas resultantes fueron adicionadas en las siguientes cantidades (Tabla 1). La mezcla se enriqueció con vitaminas, minerales y grenetina como agente ligante. Se mezclaron todos los ingredientes en seco con una batidora kitchen Aid K45ss, y luego se agregó agua purificada a 40 °C para disolver y facilitar la integración de la grenetina mezclándose hasta obtener una pasta. La pasta se refrigeró durante al menos 1 hora, posteriormente fue colocada en valvas de almejas de diferentes especies que sirvieron de soporte al alimento. Estas valvas fueron colectadas en la línea de costa de las playas de la población de Sisal. Previo a la alimentación las conchas con la dieta se mantuvieron en congelación para retardar la disolución y lixiviación del alimento en el agua y mantenerlo viable para ser ingerido por el pulpo.

Tabla 1.- Formulación de dietas con harinas liofilizadas y premezcla de vitaminas y minerales

<b>Ingrediente</b>	<b>Dietas experimentales</b>						
	<b>50/50</b>	<b>60/40</b>	<b>70/30</b>	<b>80/20</b>	<b>90/10</b>	<b>E1</b>	<b>E2</b>
	<b>g/100 g dieta</b>						
<b>JL</b>	45	36	27	18	9	0	0
<b>CL</b>	45	54	63	72	81	45	45
<b>E1</b>	0	0	0	0	0	45	0
<b>E2</b>	0	0	0	0	0	0	45
<b>Vitaminas</b>	1	1	1	1	1	1	1
<b>Minerales</b>	2	2	2	2	2	2	2
<b>Grenetina</b>	7	7	7	7	7	7	7
<b>Total</b>	100	100	100	100	100	100	100

JL: Jaiba liofilizada; CL: Calamar liofilizado; E1: Ensilado de cabezas y esquilones de pescado y vísceras de pulpo liofilizado; E2: ensilado de esquilones de pescado liofilizado. 50/50: C-J (50/50%); 60/40: C-J (40/60%); 70/30 C-J (70/30%); 80/20: C-J (80/20%); 90/10 C-J (90/10%); E1: EC-Calamar (50/50%); E2: EE-Calamar (50/50%).

### 4.3 Análisis Estadístico

Se realizó una prueba M de Box ( $p < 0.05$ ) para verificar homogeneidad de varianzas-covarianzas y un análisis de discriminación canónica (DCA por sus siglas en inglés) para los datos obtenidos de los perfiles de aminoácidos y de ácidos grasos utilizando el programa SPSS.

## V. RESULTADOS

### 5.1 Composición Químico Proximal de Insumos y Dietas para Cultivo Experimental de Juveniles Tempranos de *O. maya*

La carne de calamar contiene la mayor cantidad de proteína (95.04 %), seguido de la carne de jaiba con 83.66% (base seca). En contraste, en los ensilados se encontraron niveles de proteína menores, cercanos al 73 y 61% para E1 y E2 respectivamente. Los lípidos en jaiba y calamar fueron (3%), en los ensilados son muy abundantes (20.95 y 18.05 %) debido a que están elaborados con desechos de pescado. En cuanto a cenizas el calamar, la jaiba y el ensilado de esquilones (E2) presentaron un porcentaje mayor, no así el ensilado de cabezas de pescado (E1). La cantidad de agua es mayor en el manto de calamar y la carne de jaiba, ambas contienen más del 84% (Tabla 2).

Con los resultados proximales de los insumos en base seca se formularon las dietas. La diferencia porcentual de proteína entre dietas con C-J resultó ser mínima, por lo que prácticamente fueron consideradas como isoproteicas. Las deficiencias de proteína que tienen los ensilados como insumo se ven amortiguadas cuando estos son combinados con calamar en la dieta. Así mismo los lípidos en las formulaciones con C-J se mantuvieron relativamente en la misma relación que cuando estuvieron de manera independiente en los insumos.

En los ensilados se observó una reducción importante asociada a la mezcla con calamar en un 50%; es decir que al ser incluidos en la dieta con el manto de calamar, el contenido total de grasa en el alimento disminuye de un 20.95% a un 12.20% en la fórmula que incluye el ensilado 1 y de un 18.05% a un 12.75% en la que incluye el ensilado 2. En cenizas no hay diferencias de importancia excepto en el alimento E1-C en la que el 13.46% de su contenido total son

cenizas, casi del doble que en el resto de las dietas, debido al 20% de cenizas que aporta el insumo E1 (Tabla 2).

Tabla 2. Composición química proximal (en base seca) de los insumos y las dietas elaboradas para los juveniles tempranos de *O. maya*. Valores como promedio  $\pm$  D.E. (P < 0.05)

INSUMO	HUMEDAD		PROTEÍNA		LÍPIDOS		CENIZAS		TOTAL	PROTEÍNA SOLUBLE
					g/100g					mg/ml
<b>Manto de calamar</b> ( <i>D. gigas</i> )	84.96	c	95.04	D	3.45	c	6.91	A	105.40	
	$\pm 0.96$		$\pm 0.48$		$\pm 0.07$		$\pm 0.01$			
<b>Jaiba</b> ( <i>C. sapidus</i> )	84.21	c	83.66	C	3.14	c	10.71	C	97.51	
	$\pm 0.03$		$\pm 0.70$		$\pm 0.13$		$\pm 0.01$			
<b>Ensilado 1</b>	73.67	b	54.78	A	20.95	a	20.00	D	95.73	14
	$\pm 1.02$		$\pm 1.26$		$\pm 0.14$		$\pm 0.33$			
<b>Ensilado 2</b>	61.76	a	77.75	B	18.05	b	8.91	B	104.71	--
	$\pm 0.32$		$\pm 2.50$		$\pm 1.51$		$\pm 0.12$			
<b>Grenetina</b>	13		85.6		0		--		85.60	--
<b>DIETAS</b>										
<b>Calamar - Jaiba</b>										
50 - 50	77.04		86.41		2.97		8.81		98.18	20
60 - 40	77.10		87.43		3.33		8.43		99.19	16
70 - 30	77.17		88.46		3.36		8.05		99.86	15
80 - 20	77.24		89.48		3.39		7.67		100.54	20
90 - 10	77.31		90.50		3.42		7.29		101.21	11
<b>Calamar - Ensilado 1</b>										
50 - 50	72.29		73.41		12.20		13.46		99.07	12
<b>Calamar - Ensilado 2</b>										
50 - 50	66.934		83.748		12.75		7.91		100.41	10

### 5.1.1 Análisis de Aminoácidos en Insumos y Dietas

El perfil de aminoácidos (cuantificada en g/100g de proteína) de los insumos (Tabla 3) muestra diferencias en la concentración de algunos aminoácidos, el valor de la Histidina en el perfil de juveniles de *O. maya* es de 5.574 g/100g de proteína, superior al observado en el ensilado 1 el cual presenta el contenido más alto de los insumos con 2.287 g/100g , la jaiba contiene 2.187 g/100g , seguido de calamar con 1.25 g/100g. Se observó una concentración de Treonina de 6.673 g/100g en el perfil de pulpo, el ensilado apenas superó las dos unidades mientras que jaiba y calamar reportaron cantidades superiores 5 y 7 g/100g de proteína para este mismo aminoácido. La concentración de Fenilalanina, Serina y Alanina de todos los insumos está por debajo de lo reportado en el perfil del juvenil de pulpo. En el perfil de las dietas (Tabla 4) las carencias de aminoácidos observadas en los insumos se balancean debido a la abundancia de ciertos aminoácidos presentes en uno de los ingredientes de mayor inclusión en la dieta, tal es el caso de Treonina cuyo valor reportado en juveniles de pulpo es de 6.673 g/100g de proteína, el ensilado1 presenta deficiencia en el mismo, con 2.693 g/100g P, que son minimizadas al ser mezclado con carne de calamar en la dieta E1-C, dado que éste último insumo contiene 7.194 g/100g P de Thr. Lo anterior también ocurre, aunque en menor proporción, en los alimentos con jaiba y calamar ya que la pulpa de jaiba tiene 5.246 g/100g de proteína. La concentración de Fenilalanina es deficiente en E1 (1.882 g/100g de proteína), al combinarse con calamar (con 2.513 g/100g de proteína) la cantidad resultante de Phe en la dieta es más cercana a lo reportado en el perfil de juveniles de pulpo para este aminoácido (4.354 1.882 g/100g de proteína). La concentración de Alanina encontrada en el perfil de los juveniles de *O. maya* es muy alta (10.16 g/100g ) y los insumos jaiba y calamar apenas alcanzan los 5. 907 y 3.875 g/100g respectivamente, en la dieta que combina calamar con el ensilado el valor de Alanina es de 1 5.523 g/100g de proteína en donde el ensilado está aportando a mayor concentración del

aminoácido a la mezcla, pues de modo individual contiene 7.154 g/100g de proteína del aminoácido Alanina.

En el análisis de discriminación canónica de los aminoácidos en las dietas prácticas (Fig.3.) es posible observar que las combinaciones de calamar-jaiba 50/50 y 60/40 se agrupan y separan de la dieta 70/30 que a su vez tiene una intersección con 80/20 y 90/10, indicando las diferencias en la cantidad de algunos aminoácidos para cada formulación. La dieta a base de ensilado y calamar se muestra separada por completo de las dietas anteriores. Esos resultados también muestran que la distribución del contenido de aminoácidos en las dietas fue determinada fuertemente por los aminoácidos Metionina, Lisina, Leucina, Isoleucina, Fenilalanina y Serina.

No fue posible realizar el análisis de AA del Ensilado 2 debido a fallas en la columna de inyección utilizada en la técnica de HPLC.

Tabla 3. Comparación entre el perfil de aminoácidos de juveniles tempranos de *Octopus maya* y el perfil de los insumos utilizados en la elaboración de las dietas experimentales (mg/100g de proteína en base seca). Media±D.E.

		INSUMOS				
		Jaiba	Calamar	Ensilado 1	Grenetina	Pulpo juvenil
<b>AAE</b>	Asp	9.368 ± 0.034	6.268 ± 0.489	5.976 ± 0.122	5.257 ± 0.011	6.379 ± 0.436
	His	2.187 ± 0.003	1.25 ± 0.117	2.287 ± 0.003	0.631 ± 0.044	5.574 ± 0.225
	Thr	5.246 ± 0.15	7.194 ± 0.111	2.693 ± 2.958	1.384 ± 0.129	6.673 ± 0.035
	Arg	6.517 ± 1.212	3.023 ± 0.015	4.337 ± 0.263	6.604 ± 0.018	2.132 ± 0.002
	Val	3.561 ± 0.03	2.307 ± 0.064	2.658 ± 0.072	2.09 ± 0.013	1.475 ± 0.07
	Met	2.749 ± 0.018	2.683 ± 2.654	2.195 ± 0.125	0.603 ± 0.004	1.907 ± 0.009
	Lys	7.992 ± 0.075	5.236 ± 0.271	3.782 ± 0.112	3.345 ± 0.163	0.101 ± 0.004
	Ile	3.878 ± 0.047	2.364 ± 0.057	2.093 ± 0.062	1.176 ± 0.025	2.56 ± 0.542
	Leu	7.076 ± 0.023	5.107 ± 0.276	4.347 ± 0.149	2.428 ± 0.037	4.357 ± 0.014
	Phe	3.56 ± 0.059	2.513 ± 0.081	1.882 ± 0.008	1.733 ± 0.006	4.354 ± 0.031
<b>ANE</b>	Ser	3.876 ± 0.064	2.764 ± 0.19	2.69 ± 0.048	2.603 ± 0.004	5.41 ± 0.083
	Glu	13.97 ± 0.155	10.02 ± 0.986	8.897 ± 0.196	8.771 ± 0.025	5.66 ± 0.026
	Gly	8.873 ± 0.09	2.821 ± 0.239	9.533 ± 0.278	19.05 ± 0.004	2.385 ± 0.008
	Ala	5.907 ± 0.163	3.875 ± 0.288	7.154 ± 1.701	8.005 ± 0.006	10.16 ± 0.207
	Cys			9.524 ± 10.56	0 ± 0	0 ± 0
	Pro	4.173 ± 0.049	1.607 ± 0.086	6.218 ± 0.621	12.29 ± 0.005	2.204 ± 0.081
	Tyr	3.431 ± 0.04	4.45 ± 0.252	1.539 ± 0.622	0.302 ± 0.002	1.463 ± 0.001
<b>TOTALES</b>						
AAE		52.13	37.94	32.25	25.25	35.51
ANE		40.23	25.53	45.55	51.02	27.28

Tabla 4. Perfil de aminoácidos de las dietas experimentales para juveniles tempranos de *Octopus maya* (mg/100g de proteína en base seca). Media±D.E.

		DIETAS					
		50/50	60/40	70/30	80/20	90/10	E1/C
<b>AAE</b>	Asp	7.404 ± 0.234	7.125 ± 0.275	6.846 ± 0.316	6.568 ± 0.357	6.289 ± 0.398	5.878 ± 0.274
	His	1.591 ± 0.055	1.507 ± 0.065	1.422 ± 0.076	1.338 ± 0.087	1.254 ± 0.097	1.636 ± 0.057
	Thr	5.695 ± 0.026	5.87 ± 0.003	6.045 ± 0.021	6.221 ± 0.044	6.396 ± 0.068	4.546 ± 1.29
	Arg	4.755 ± 0.54	4.441 ± 0.429	4.126 ± 0.319	3.812 ± 0.208	3.497 ± 0.098	3.774 ± 0.124
	Val	2.787 ± 0.043	2.674 ± 0.046	2.561 ± 0.049	2.448 ± 0.052	2.335 ± 0.055	2.38 ± 0.062
	Met	2.48 ± 0.018	2.473 ± 0.018	2.465 ± 0.018	2.458 ± 0.019	2.451 ± 0.019	2.231 ± 0.047
	Lys	6.187 ± 0.076	5.939 ± 0.108	5.691 ± 0.139	5.443 ± 0.17	5.195 ± 0.201	4.293 ± 0.161
	Ile	2.891 ± 0.006	2.755 ± 0.015	2.619 ± 0.025	2.482 ± 0.034	2.346 ± 0.043	2.088 ± 0.055
	Leu	5.652 ± 0.132	5.475 ± 0.155	5.298 ± 0.177	5.12 ± 0.2	4.943 ± 0.223	4.424 ± 0.189
	Phe	2.854 ± 0.01	2.76 ± 0.023	2.665 ± 0.036	2.571 ± 0.048	2.477 ± 0.061	2.099 ± 0.04
<b>ANE</b>	Ser	3.17 ± 0.057	3.07 ± 0.079	2.97 ± 0.102	2.87 ± 0.125	2.77 ± 0.148	2.636 ± 0.063
	Glu	11.41 ± 0.515	11.05 ± 0.59	10.7 ± 0.665	10.34 ± 0.74	9.985 ± 0.815	9.125 ± 0.534
	Gly	6.595 ± 0.067	6.051 ± 0.096	5.506 ± 0.126	4.961 ± 0.156	4.417 ± 0.185	6.892 ± 0.018
	Ala	4.962 ± 0.203	4.779 ± 0.214	4.597 ± 0.225	4.414 ± 0.237	4.231 ± 0.248	5.523 ± 0.895
	Cys	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4.286 ± 4.753
	Pro	3.461 ± 0.017	3.23 ± 0.029	2.999 ± 0.041	2.768 ± 0.053	2.537 ± 0.065	4.382 ± 0.241
	Tyr	3.567 ± 0.095	3.659 ± 0.121	3.751 ± 0.148	3.842 ± 0.174	3.934 ± 0.2	2.716 ± 0.393
<b>TOTALES</b>							
AAE		42.3	41.02	39.74	38.46	37.18	33.35
ANE		33.16	31.84	30.52	29.2	27.87	35.56

AAE: aminoácidos esenciales, ANE: aminoácidos no esenciales

	Factor 1	Factor 2
Asp	0.890	0.380
Hys	-0.270	0.840
Thr	0.600	-0.700
Arg	0.510	0.650
Val	0.740	0.670
Met	0.910	-0.250
Lys	0.990	0.170
Ile	0.940	0.330
Leu	0.960	0.240
Phe	0.960	0.100
Ser	0.900	0.400
Glu	0.880	0.280
Gly	-0.220	0.950
Ala	-0.400	0.800
Cys	-0.690	0.430
Pro	-0.600	0.800
Tyr	0.750	-0.520

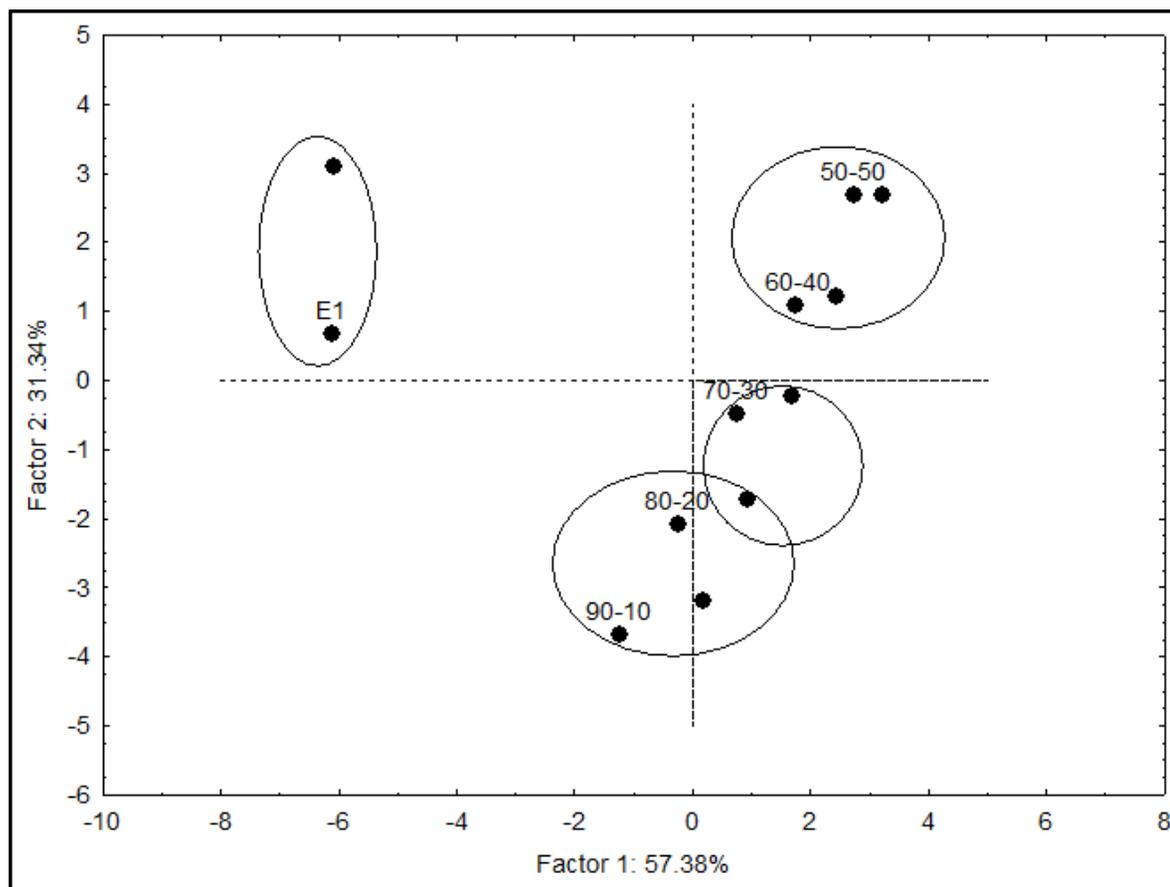


Fig.3. Análisis de discriminación canónica de los AA presentes en dietas. En amarillo, los aminoácidos que están determinando la distribución.

### 5.1.2 Análisis de Ácidos Grasos en Insumos y Dietas

En el perfil de los insumos (Tabla 5) se indica un alto contenido de AG saturados en el ensilado 2. Los poliinsaturados cuya importancia ya ha sido denotada resultaron ser muy abundantes en la carne de jaiba, representados en más del 10%. En el resto de los insumos se observaron niveles menores del 2% para este tipo de AG. Los HUFAS fueron los AG más abundantes, entre los cuales destacó el ácido araquidónico, AG fuertemente representado en jaiba y pobremente incluido en el resto de los insumos. Se registró un alto contenido de DHA, (17%) en el manto de calamar y muy escaso en el ensilado 2, con menos del 1%. El EPA fue abundante en la jaiba pero no en el resto de los insumos.

En el perfil de AG de las dietas (Tabla 6) se hacen evidentes los aportes de los AG más abundantes en jaiba o en clamar. En general se pudo observar que los AG poliinsaturados aumentaron en todas las combinaciones, predominando en donde la carne de jaiba está en un porcentaje de inclusión más alto. Por esa razón, en las dietas ensilado-calamar, el porcentaje de poliinsaturados sigue siendo muy bajo. El calamar disminuye las carencias de DHA en la dieta, aportando un gran porcentaje de este AG a todas las combinaciones de manera proporcional al aumento en su nivel de inclusión.

En el análisis de discriminación canónica (ADC) de los insumos (Fig. 4) se diferenciaron cuatro grupos bien definidos cada uno de los cuales está fuertemente afectado por el contenido de AG que integraron los cuatro insumos usados. De acuerdo con el análisis estadístico efectuado los AG fueron los elementos que orientaron la formación de grupos en el factor 1 mientras que los monoésteres fueron los responsables de la orientación de los grupos en el factor 2. En ADC de las dietas se forman cuatro grupos uno que incluye los tratamientos 50/50 y 70/30, otro con 80/20 y 90/10, uno más con el tratamiento 60/40 y finalmente las dos dietas ensilado-calamar (1 y 2) en otro grupo. Esta configuración está determinada por los poliinsaturados en ambas funciones canónicas.

Tabla 5. Perfil de ácidos grasos en insumos para la elaboración de dietas experimentales para cultivo de juveniles de pulpo. Los valores están expresados en unidades porcentuales.

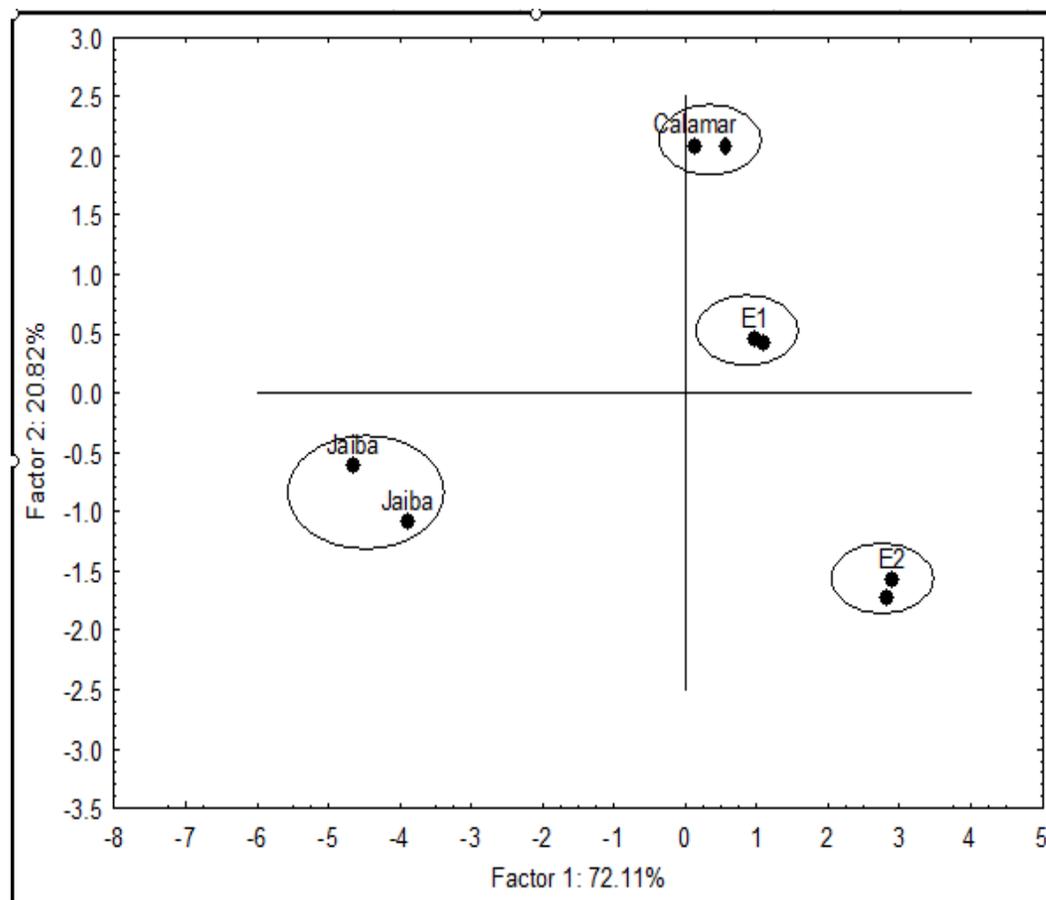
Nivel Saturación	Tipo AG	H. Jaiba		H. Calamar		H. Ensilado 1		H. Ensilado 2					
		Prom.	DE	Prom.	DE	Prom.	DE	Prom.	DE				
SATURADOS	C10:0	0.086	±		±	0.009	±	0.005	0.003	±	0.001		
	C11:0		±	0.012	±	0.009	±	0.005	0.008	±	0.005		
	C12:0	0.315	±	0.033	±	0.061	±	0.078	0.178	±	0.001		
	C13:0	0.069	±	0.014	±	0.005	±	0.004	0.148	±	0.007		
	C14:0	1.090	±	0.137	1.579	±	0.503	0.164	±	0.125	0.178	±	0.085
	C15:0	0.678	±	0.196	0.469	±	0.077	1.458	±	0.019	1.731	±	0.018
	C16:0	13.764	±	0.080	30.295	±	5.044	32.076	±	0.372	44.002	±	0.683
	C17:0	1.950	±	0.189	1.663	±	0.196	0.362	±	0.001	0.014	±	0.007
	C18:0	9.682	±	0.109	13.187	±	2.168	10.338	±	0.228	13.474	±	0.133
	C19:0	13.353	±	0.316	9.452	±	13.367	0.120	±	0.015	0.449	±	0.016
	C20:0	1.047	±	1.042	0.349	±	0.020	0.878	±	0.023	1.330	±	0.552
	C22:0	0.035	±	0.006	0.209	±	0.039	0.393	±	0.062	0.396	±	0.054
	C23:0	0.325	±	0.152	0.142	±		0.050	±	0.000	0.021	±	0.005
C24:0		±		0.424	±	0.051	1.046	±	0.035	0.060	±		
MONOINSATURADOS	C14:1	0.479	±		0.014	±		0.385	±	0.013		±	
	C15:1	1.827	±	1.867	0.063	±	0.001	0.298	±	0.004	0.015	±	0.002
	C16:1	3.476	±	0.242	1.511	±	0.506	11.087	±	0.034	12.592	±	0.211
	C17:1	2.622	±	0.815	0.246	±	0.061	0.123	±	0.001	0.116	±	0.011
	C18:1n9c	15.049	±	1.257	3.417	±	1.304	20.528	±	0.525	21.680	±	1.165
	C20:1n9	0.448	±	0.222	8.796	±	1.062	0.058	±	0.013	1.607	±	0.042
	C22:1n9		±		0.118	±	0.002	0.329	±	0.059	0.200	±	0.029
C24:1n9		±		0.010	±		0.089	±		0.004	±	0.002	
PUFA	C18:2n6c	7.033	±	0.545	0.088	±	0.010	0.115	±	0.026	0.453	±	0.008
	C18:2n6t		±			±		0.223	±	0.004	0.066	±	0.005
	C18:3n6		±			±		0.411	±	0.024		±	
	C18:3n3	1.995	±	0.118	0.339	±	0.059	0.065	±	0.089	0.138	±	0.129
	C20:2	0.793	±	0.014	0.236	±	0.003	0.028	±	0.008	0.055	±	0.065
	C20:3n6	0.223	±	0.112		±			±			±	
	C20:3n3		±		0.213	±	0.017	0.013	±	0.003	0.014	±	0.015
C22:2		±		0.214	±	0.040	0.040	±	0.023		±		
HUFAS	C20:4n6 (AA)	10.367	±	1.346	1.558	±	0.755	0.088	±	0.015	0.087	±	0.039
	C20:5n3 (EPA)	11.270	±	0.339		±			±			±	
	C22:5n3	9.888	±	1.490	8.588	±	0.517	6.695	±	0.179	0.046	±	0.053
	C22:6n3 (DHA)	3.838	±	0.585	16.875	±	1.217	12.434	±	0.047	0.179	±	0.136
MAX	15.049			30.295			32.076			44.002			
MIN	0.035			0.010			0.005			0.003			
% Total AG	Saturados	111.701			100.112			99.978			99.246		
	Monoesteres	42.393			57.828			46.968			61.993		
	Poliinsaturados	23.901			14.173			32.898			36.214		
	HUFAS	10.044			1.090			0.895			0.727		
		35.363			27.021			19.217			0.312		

HUFAS: ácidos grasos altamente insaturados, PUFAS: ácidos grasos poliinsaturados (con más dos o más insaturaciones), AA: ácido araquidónico, DHA: ácido Docosahexaenoico, EPA: ácido eicosapentanoico

Tabla 6. Perfil de ácidos grasos en dietas experimentales para cultivo de juveniles de pulpo. Los valores están expresados en unidades porcentuales.

Nivel Saturación	Tipo AG	50/50 Prom.	60/40 Prom.	70/30 Prom.	80/20 Prom.	90/10 Prom.	E1/C Prom.	E2/C Prom.
SATURADOS	C10:0	0.039	0.031	0.023	0.016	0.008	0.004	0.001
	C11:0	0.005	0.006	0.007	0.008	0.010	0.007	0.009
	C12:0	0.156	0.131	0.106	0.080	0.055	0.059	0.095
	C13:0	0.037	0.033	0.028	0.023	0.018	0.005	0.073
	C14:0	1.201	1.245	1.289	1.333	1.377	0.139	0.790
	C15:0	0.516	0.497	0.479	0.460	0.441	0.988	0.990
	C16:0	19.826	21.314	22.802	24.290	25.778	21.735	33.434
	C17:0	1.626	1.600	1.574	1.548	1.522	0.245	0.755
	C18:0	10.291	10.607	10.922	11.238	11.553	7.029	11.998
	C19:0	14.516	15.016	15.515	16.015	16.514	0.085	8.709
	C20:0	0.628	0.565	0.503	0.440	0.377	0.598	0.756
	C22:0	0.110	0.125	0.141	0.156	0.172	0.279	0.272
	C23:0	0.210	0.193	0.177	0.161	0.144	0.034	0.073
C24:0	0.191	0.229	0.267	0.306	0.344	0.714	0.218	
MONOINSATURADOS	C14:1	0.222	0.180	0.138	0.096	0.054	0.263	0.006
	C15:1	0.850	0.691	0.533	0.374	0.215	0.202	0.035
	C16:1	2.244	2.067	1.890	1.713	1.536	7.492	6.346
	C17:1	1.291	1.077	0.863	0.649	0.435	0.083	0.163
	C18:1n9c	8.310	7.263	6.216	5.169	4.122	13.975	11.294
	C20:1n9	4.160	4.911	5.663	6.414	7.165	0.042	4.681
	C22:1n9	0.053	0.064	0.074	0.085	0.095	0.236	0.143
	C24:1n9	0.004	0.005	0.006	0.007	0.008	0.080	0.006
PUFA	C18:2n6c	3.204	2.579	1.954	1.329	0.704	0.083	0.244
	C18:2n6t	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.100	0.030
	C18:3n6	0.038	0.031	0.023	0.015	0.008	0.185	0.198
	C18:3n3	1.050	0.901	0.752	0.603	0.454	0.064	0.214
	C20:2	0.463	0.413	0.362	0.312	0.262	0.021	0.131
	C20:3n6	0.101	0.080	0.060	0.040	0.020	0.060	0.076
	C20:3n3	0.096	0.115	0.134	0.154	0.173	0.009	0.102
	C22:2	0.096	0.116	0.135	0.154	0.173	0.032	0.100
HUFA	C20:4n6 (AA)	5.366	4.574	3.781	2.988	2.195	0.063	0.741
	C20:5n3 (EPA)	5.072	4.057	3.043	2.029	1.014		0.000
	C22:5n3	8.314	8.197	8.080	7.963	7.846		3.885
	C22:6n3 (DHA)	9.321	10.494	11.667	12.841	14.014	13.189	7.674
	% Total AG	99.608	99.408	99.208	99.008	98.808	54.910	94.242
	Saturados	49.353	51.593	53.833	56.073	58.313	31.919	58.173
	Monoesteres	17.133	16.258	15.382	14.507	13.631	22.372	22.674
	Poliinsaturados	5.048	4.235	3.421	2.608	1.794	0.556	1.095
	HUFAS	28.073	27.322	26.571	25.820	25.070	0.063	12.300
	Sumatoria n-3	23.852	23.764	23.677	23.589	23.501	13.262	11.876
	Sumatoria n-6	8.710	7.264	5.819	4.373	2.927	0.492	1.288
	n3 / n6	2.739	3.271	4.069	5.394	8.028	26.971	9.224
	PUFA n-3	1.146	1.016	0.886	0.756	0.627	0.073	0.317
	PUFA n-6	3.343	2.691	2.038	1.385	0.732	0.429	0.547
	DHA / EPA	1.838	2.587	3.834	6.330	13.816		

HUFAS: ácidos grasos altamente insaturados, PUFAS: ácidos grasos poliinsaturados (con más dos o más insaturaciones), AA: ácido araquidónico, DHA: ácido Docosahexaenoico, EPA: ácido eicosapentanoico



	Factor 1	Factor 2
% Total AG	-0.947	-0.314
Saturados	0.784	0.039
Monoesteres	0.463	-0.747
Poliinsaturados	-0.937	-0.340
HUFAS	-0.883	0.463
n-3	-0.717	0.681
n-6	-0.962	-0.226
PUFA n-3	-0.948	-0.181
PUFA n-6	-0.905	-0.418
n3 / n6	-0.717	0.681
DHA / EPA	-0.936	-0.339

Fig.4. Análisis de discriminación canónica de los AG presentes en los insumos para la elaboración de las dietas prácticas.

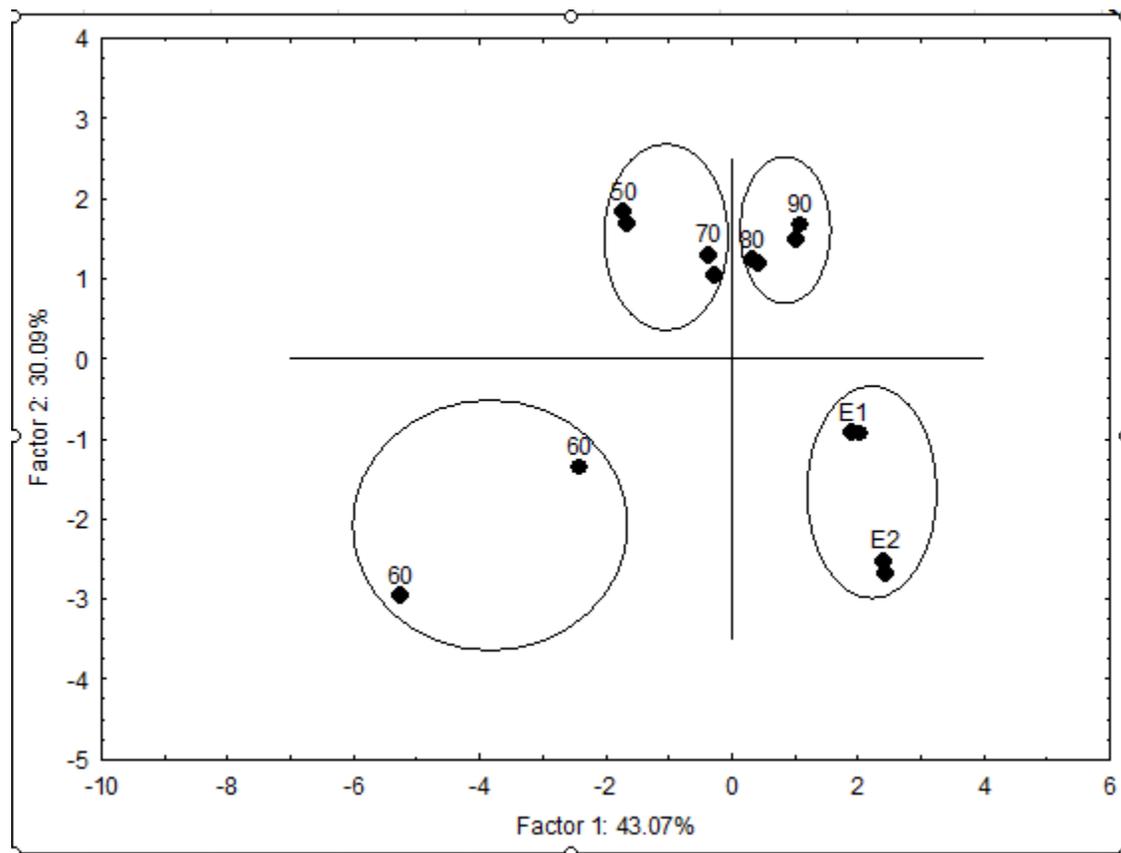


Fig. 5. Análisis de discriminación canónica de los ácidos grasos de las dietas prácticas.

	Factor 1	Factor 2
<i>% Total AG</i>	<i>0.652</i>	<i>0.611</i>
<i>Saturados</i>	<i>0.854</i>	<i>0.332</i>
<i>Monoesteres</i>	<i>0.546</i>	<i>-0.421</i>
<i>Poliinsaturados</i>	<i>-0.951</i>	<i>0.190</i>
<i>HUFAS</i>	<i>-0.267</i>	<i>0.929</i>
<i>n-3</i>	<i>0.068</i>	<i>0.950</i>
<i>n-6</i>	<i>-0.248</i>	<i>0.306</i>
<i>PUFA n-3</i>	<i>-0.888</i>	<i>0.385</i>
<i>PUFA n-6</i>	<i>-0.960</i>	<i>0.086</i>
<i>n3 / n6</i>	<i>-0.716</i>	<i>-0.454</i>
<i>DHA / EPA</i>	<i>0.142</i>	<i>0.627</i>

## 5.2 Preparación de los insumos para las dietas experimentales

### 5.2.1 Ensilado de Pescado y Visceras de Pulpo

#### a) pH y Temperatura

El homogenado presentó un pH y una temperatura de 3.9 y 25°C respectivamente. El pH del ensilado se mantuvo por debajo de las 4 unidades en un rango de 3.87 a 3.94 a excepción de los días 5, 45 y 60 en los que alcanzó valores de 4; para disminuir el pH se adicionaron 2 ml de ácido fórmico en cada ocasión. La temperatura del ensilado osciló entre 22.5 y 27°C. Las variaciones en ambos parámetros se observaron del día 1 al 7, durante el proceso de ensilaje, una vez terminado tanto la temperatura como el pH se estabilizaron (Fig. 6, a) y b))

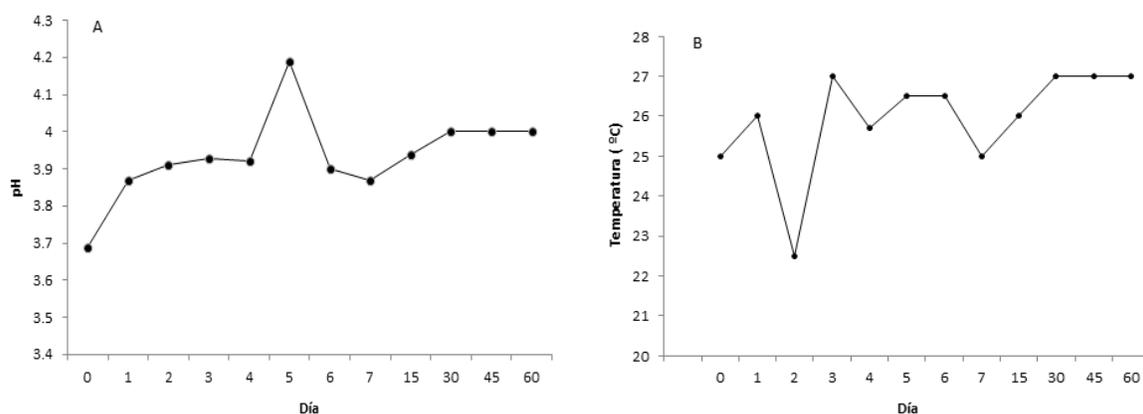


Fig. 6. Valores de pH (a) y temperatura (b) registrados durante el proceso de ensilaje a lo largo de 60 días.

#### b) Proteína Soluble

La proteína soluble fue en aumento conforme transcurrieron los días en el proceso de ensilaje. En el homogenado la concentración de proteína soluble se duplicó a 0.8 mg/ml en el día 1 del ensilaje, en el día 2 se registró un pico de 1.4 mg/ml que se mantuvo hasta el día 7, para el tiempo 15, 30 y 45, hubo un segundo pico con concentraciones de 1.6, 1.7 y 1.8 mg/ml respectivamente (Fig.7).

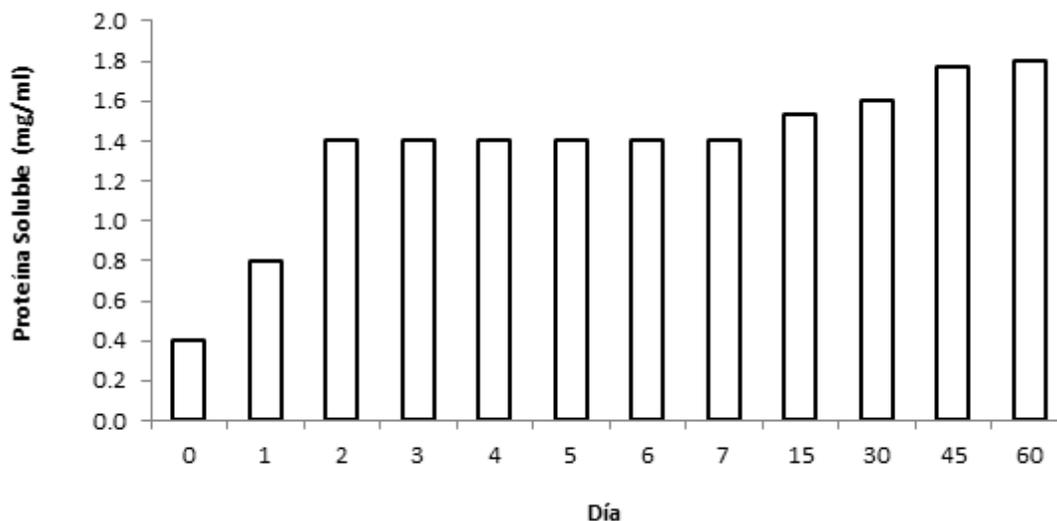


Figura 7. Variación en la concentración de proteína soluble a lo largo del proceso de ensilaje.

En las dietas se observó que a medida que la carne de jaiba disminuye, la concentración de proteína soluble también es menor; los alimentos a base de calamar y ensilados contienen menos proteína soluble que las anteriores.

Tabla 7. Valores de proteína soluble en dietas. Media  $\pm$  D.E.

<i>Dieta</i>	<i>Proteína Soluble (mg/ml)</i>
50/50	2.0 $\pm$ 0
60/40	2.0 $\pm$ 0
70/30	1.6 $\pm$ 0
80/20	1.5 $\pm$ 0
90/10	1.1 $\pm$ 0.1
E1/C	1.2 $\pm$ 0
E2/C	1.0 $\pm$ 0

50/50: C-J (50/50%); 60/40: C-J (60/40%); 70/30 C-J (70/30%); 80/20: C-J (80/20%); 90/10 C-J (90/10%); E1: Ensilado1-Calamar (50/50%); E2: Ensilado2-Calamar (50/50%).

## VI. DISCUSIÓN

Además de la calidad de los insumos, las condiciones fisicoquímicas en las que se procesan los ingredientes que se utilizan para la elaboración de alimentos son cruciales, de ello dependerá en gran medida la respuesta al alimento de los organismos en cultivo. Podemos contar con ingredientes de alta calidad pero si estos no son tratados adecuadamente perderán algunas de sus cualidades nutritivas en el proceso. En un ambiente de cultivo, la aceptación del alimento, la tasa de ingestión y los valores de digestibilidad de las dietas están altamente relacionados con el tratamiento que recibieron las fuentes alimenticias utilizadas.

Para la elaboración de las dietas se puso especial interés en el manejo de los insumos. Tanto la carne de calamar, jaiba y ensilados de pescado fueron deshidratados por liofilización, un proceso de secado en frío (- 35 °C) que conserva mejor la estructura y la calidad de la proteína; mientras que los métodos de secado por calor a altas temperaturas (mayores a 60°C) la desnaturalizan alterando su configuración; modifican los enlaces de estructuras secundarias, terciarias y cuaternarias, quedando cadenas lineales que se pliegan dado que pierden su arreglo espacial tridimensional, dificultando considerablemente su digestión (Santé-Lhoutellier et al., 2008)

En trabajos anteriores, al alimentar a los juveniles de *O. maya* con manto de calamar se obtuvo una baja digestibilidad de la dieta a causa de la gran cantidad de colágeno que contiene el insumo. Por esta razón, en el presente estudio se retiró en fresco la capa de piel más externa del manto de calamar previo a la liofilización. En 2010, Martínez reportó valores de digestibilidad superiores cuando al manto de calamar le fue retirada la dermis.

En la formulación de las dietas prácticas se empleó grenetina como agente ligante, promoviendo la cohesión del resto de los ingredientes en una pasta semihúmeda homogénea, al tiempo que permite la adhesión de la mezcla a la valva en la que es

suministrada. Aunque la grenetina en la dieta está representada apenas en un 7%, es una fuente adicional de proteína con un valor superior al 80% de su composición total.

Como fuentes proteicas alternativas propusimos la incorporación de ensilados en la dieta ya que mediante el ensilaje es posible aprovecharlos con un costo mínimo. En los ensilados que se elaboraron para las dietas se consideró que los aumentos en la temperatura y el pH, no comprometieron la calidad de la proteína ahí obtenida. El factor temperatura tiene una incidencia directa sobre la calidad del ensilado ya que de elevarse, las grasas contenidas pueden experimentar cambios en sus caracteres organolépticos derivando en la rancidez oxidativa. En este caso y para evitar ese efecto se utilizó un aditivo alimentario como agente antioxidante, BHT (Butil-Hidroxitolueno). Al secar el ensilado a una temperatura inferior a los 35°C fue posible mantener esta condición dado que a temperaturas superiores a los 40 °C los antioxidantes disminuyen su eficiencia. Aunque el ensilado fue deshidratado, el BHT es un antioxidante poco polar, razón por la que no se pierde en la fase acuosa.

En el análisis químico proximal, si observamos los resultados individuales de los insumos es posible advertir deficiencias de proteína en los ensilados y un mayor contenido en la carne de calamar, seguida de la pulpa de jaiba. Estas posibles deficiencias (teniendo el antecedente de que el metabolismo de *O. maya* es altamente proteico (Aguila et al., 2007; Martinez et al., 2011b; Martínez et al., 2011; Rosas et al., 2011; Rosas et al., 2008; Rosas et al., 2012) son amortiguadas, debido a que todas las dietas prácticas contienen calamar en menor o mayor proporción.

Se encontró que los ensilados contienen porcentajes de lípidos muy superiores (20 y 18 %) a los registrados en el resto de los insumos (2 a 3%). Como se sabe, los cefalópodos utilizan muy poco de los lípidos de la dieta los cuales , se ha reportado que pueden a llegar a jugar el papel de anti-nutrientes (Cerezo-Valverde et al., 2012;

García-Garrido et al., 2011). Es interesante hacer notar que al combinar la carne de jaiba o la de calamar con ensilado los lípidos bajan de manera importante, sugiriendo que es posible reducir este componente de la dieta utilizando insumos que, por su composición, modulen la concentración final de una dieta.

Más del 20% de la composición total del ensilado son minerales, si bien son fundamentales para el organismo, al ser un residuo inorgánico, cuando se encuentran en grandes cantidades en el alimento el resto de los insumos podrían no ser asimilados adecuadamente. Las dietas finales ensilado-calamar contienen entre 7 y 14 % de cenizas, condición que podría derivar en un efecto negativo en la alimentación de los pulpos.

La proteína soluble en las dietas prácticas es mayor conforme aumenta el porcentaje de inclusión de jaiba. Como se sabe, la proteína soluble funciona como un nutriente que facilita la digestión de proteína miofibrilar (Santé-Lhoutellier et al., 2008). Estudios realizados recientemente en *O. maya* han demostrado que las proteínas solubles llegan a la glándula digestiva al inicio de la digestión participando en la preparación de los sitios de absorción del quimo en el borde de las células que conforman los acinos (Martinez et al., 2011a). Por esta razón es posible pensar que los niveles de proteína soluble favorecen en gran medida la digestibilidad de la dieta y por ende los efectos que ésta pudiera tener en el crecimiento y la sobrevivencia de los animales (Rosas et al., 2012). Comparar el perfil de aminoácidos de la especie objeto de estudio con el perfil de las dietas utilizadas en su alimentación puede darnos una idea de las necesidades del organismo. Sin embargo, no necesariamente los AA que están presentes en los tejidos son indicadores absolutos de las concentraciones que demanda el organismo; en 2011 George-Zamora reportó los aminoácidos utilizados en el metabolismo energético de *O. maya*. En ese estudio se identificaron a la Treonina, Fenilalanina, Isoleucina, Alanina, Glutamina y Serina como fuentes de energía metabólica en periodos de ayuno corto. Estos aminoácidos fueron altamente

movilizados para mantener al organismo sin daño fisiológico, demostrando que los requerimientos aminoacídicos para las demandas energéticas podrían estar influenciados por este grupo de aminoácidos, más que por aquellos AA con mayor abundancia en los tejidos de *Octopus maya*.

De acuerdo con el análisis de discriminación canónica de las dietas Metionina, Lisina, Isoleucina, Leucina, Fenilalanina y Serina son los aminoácidos que están determinando la distribución observada sugiriendo un papel importante en la nutrición de *O. maya*. De esos amino ácidos Isoleucina y Serina fueron identificados también como amino ácidos energéticos lo que sugiere que podrían ser los aminoácidos de mayor importancia como fuente de energía metabólica.

En este sentido Villanueva y colaboradores determinaron en *Octopus vulgaris*, la existencia de una relación directamente proporcional entre la concentración total de aminoácidos y el peso de paralarvas en transición entre la vida planctónica y la bentónica. Ellos observaron que los aminoácidos asociados aumentan con la síntesis de proteínas la cual se origina en el proceso de elongación de los brazos y la multiplicación celular, justo cuando comienza el crecimiento exponencial de esta especie. En comparación con los aminoácidos, los lípidos son menos abundantes tanto en el organismo como en la dieta natural de los octópodos. No obstante, su presencia y adecuado balance en el alimento son imprescindibles para el desarrollo de los cefalópodos, desde la etapa embrionaria, hasta las etapas finales de su ciclo vital.

En un ensayo realizado con juveniles de *O. maya* se advirtió una relación inversamente proporcional entre la concentración de lípidos y el peso, con una reducción de los mismos al tiempo que había una ganancia en la masa corporal. Los requerimientos de lípidos y particularmente de AG son diferenciales durante el ciclo de vida, en adultos hay abundancia de PUFAS de cadena larga (Nash *et al.*, 1978) tales como los ácidos docosahexaenoico (DHA), el eicosapentanoico (EPA) y el

araquidónico (AA). En las etapas más tempranas la proporción que guardan estos tres AG es determinante debido a que en este momento fisiológico están ocurriendo múltiples procesos a nivel estructural en el organismo. Los insumos que utilizamos en la preparación de los alimentos para *O. maya* son ricos en estos ácidos grasos. En nuestros resultados ha sido reportado un alto contenido de DHA, (17%) en el manto de calamar y muy escaso en el ensilado 2, con menos del 1%. El EPA fue abundante en la jaiba pero no en el resto de los insumos. En la literatura se ha establecido la presencia de este AG en prácticamente todos los insumos de origen marino, por lo que se sugiere que la ausencia de este ácido graso en los perfiles no corresponde con un valor de cero, si no que no fue registrado el pico del DHA durante la inyección de las muestras. La relación n3/n6 es de 2:1, proporción indicada como buena en términos de nutrición.

En una visión global del comportamiento, movilización y concentración de los principales AG en *Octopus maya*, el porcentaje de lípidos totales y monoinsaturados tiene una tendencia a la alza en las primeras etapas de vida, mientras que el de los poliinsaturados o PUFAS tiende a la disminución.

Se ha establecido que en un periodo aproximado de diez días después de la eclosión, en los octópodos hay una transición metabólica que va de una condición dependiente de las reservas lipídicas (contenidas en el saco de vitelo) a un metabolismo dependiente de las proteínas ((Moguel et al., 2010)Cázares, 2006). A partir de este punto, los lípidos son utilizados pobremente en comparación con las proteínas que participan en todos los procesos estructurales a nivel celular, de tejidos y órganos y como moneda energética. Aunque en todos los textos referentes al metabolismo en cefalópodos se hace sumo hincapié en el metabolismo altamente protéico de *Octopus maya* y en el papel secundario de los lípidos, es indispensable indicar que si bien el enunciado anterior es cierto y los requerimientos de grasas en la especie son muy bajos, consideramos que ambos nutrientes deben ser tomados en cuenta para el

balance en la dieta, pues todo parece indicar, que al igual que otros animales marinos, los pulpos requieren de pocos lípidos pero de alta calidad y en la proporción adecuada. Esto fue corroborado con los resultados del cultivo experimental en donde se llevaron a la práctica las dietas y en el posterior análisis de la condición nutricional de los juveniles obtenidos, lo cual se describe en el siguiente capítulo. Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que son los PUFAS y principalmente los PUFAS-n6 los AG más importantes para el crecimiento de los juveniles de *O. maya*. Valores de entre 0.88 y 1,44 (% de los lípidos totales) de PUFAS-n6 resultaron ser con los que los juveniles crecieron mejor. Estos valores podrían ser considerados de referencia para establecer los límites del requerimiento de AG de cadena larga para juveniles de *O. maya*.

Se registró un alto contenido de DHA, (17%) en el manto de calamar y muy escaso en el ensilado 2, con menos del 1%. El EPA fue abundante en la jaiba pero no en el resto de los insumos.

**Efecto del Nivel de Sustitución de la Carne de Jaiba por Carne de Calamar en el Crecimiento, Supervivencia y Estado Fisiológico de Juveniles Tempranos de *Octopus maya***

## RESUMEN

En este capítulo se describe el bioensayo en el que fueron probadas las dietas prácticas (DP) formuladas. Se probó la eficiencia de los alimentos balanceados en cultivo experimental de juveniles tempranos de *O. maya* mediante la sustitución parcial de carne de jaiba por carne de calamar o ensilados de pescado y vísceras de pulpo, para lo cual se seleccionaron 140 pulpos con 30 días de edad a los que se les asignaron 7 tratamientos en grupos de 20 organismos cada uno. Los animales fueron individualizados y colocados en un sistema de recirculación de agua. Las dietas experimentales fueron: C/J (%/%), 50/50, 60/40, 70/30, 80/20, 90/10 y E1/C, (50/50) y E2/C, (50/50). Los animales se alimentaron a razón del 30% de su biomasa viva dividida en dos tomas, entregadas a las 8 de la mañana y a las 6 de la tarde. Se midieron la tasa de ingestión y el crecimiento, éste último con biometrías individuales efectuadas cada 30 días. Durante los 60 días que duró el experimento fue registrada la sobrevivencia. Los resultados obtenidos indican que las mayores tasas de crecimiento fueron observadas entre los pulpos alimentados con las dietas C/J, 50/50, 60/40 y 70/30 y las menores en aquellos alimentados con las dietas de 80/20 y 90/10%. Los pulpos alimentados con ensilados respondieron positivamente a las dietas solo durante los primeros 30 días del experimento, después de los cuales los animales perdieron peso y finalmente murieron. La condición nutricional de los pulpos fue determinada en los animales después de los 60 días de experimento. De estos animales se tomaron muestras de tejido (glándula digestiva y músculo) las cuales permitieron la cuantificación de la actividad de proteasas ácidas y alcalinas en la glándula digestiva (GD); proteína total, proteína soluble, glucosa y acilglicéridos en GD, y concentración de glucógeno en músculo y en GD. Se encontró que los niveles de proteína en GD de los animales procedentes de los tratamientos 50/50 y 70/30 fueron los únicos que presentaron diferencias significativas con respecto a los valores registrados en el resto de los tratamientos. Así mismo se observó que los acilglicéridos no parecen variar en la GD por efecto de la dieta. Se observó una relación entre la concentración de glucógeno en músculo y glándula digestiva y la cantidad de proteína en la GD también en los animales alimentados con 50/50 y 70/30. El análisis de las enzimas digestivas mostró que la mayor actividad de las proteasas alcalinas se llevó a cabo en la GD de los organismos cuyo tratamiento fue 60/40; en el caso de las proteasas ácidas el tratamiento 90/10 registró la mayor actividad.

## I. ANTECEDENTES

### 1.1 Avances en el Cultivo de Cefalópodos

En acuicultura comúnmente se ha alimentado a los pulpos con cangrejos, peces y moluscos en apego a su dieta natural (Guerra, 1978; Mather, 1991). Los primeros intentos con dietas artificiales se llevaron a cabo con surimi, pescado congelado, croquetas de perro, pollo congelado entre otros (Hanlon and Forsythe, 1985a; Hanlon and Forsythe, 1985b; Aguado-Giménez and García-García, 2003; Vaz-Pires et al., 2004; Miliou et al., 2005; Petza et al., 2006; Pérez et al., 2006; Rosas et al., 2007; Domingues et al., 2007) con resultados de crecimiento y sobrevivencia muy pobres debido a la poca o nula aceptación de los alimentos suministrados.

### 1.2 Crecimiento y Sobrevivencia

El crecimiento en pulpos está diferenciado en dos fases, la primera de tipo exponencial (FE) con crecimiento acelerado y la segunda potencial (FL). La FE se presenta generalmente hasta los primeros tres meses de vida y la FL el resto del tiempo del ciclo del vital del pulpo (Forsythe y Van Heukelen, 1987; Semmens *et al.*, 2004). En la actualidad se sabe que el periodo de tiempo que dura cada fase estará regulado por aspectos intrínsecos a la biología de la especie y los factores abióticos que inciden en su medio (Semmens *et al.*, 2004), así como por la cantidad de alimento disponible (Koueta y Boucaud-Camou, 1999; André *et al.*, 2008; Briceño, 2009).

Los pulpos presentan una tasa metabólica alta que contribuye al rápido aumento de talla que va del 3 al 10% del peso corporal por día en adultos (Domínguez *et al.*, 2002; Sykes *et al.*, 2003) y superior al 10%  $d^{-1}$  en las primeras etapas del ciclo (Domingues *et al.*, 2001b; 2001b, 2002, 2003, 2004). Estos animales también realizan conversiones alimenticias altas y eficientes, las cuales pueden oscilar entre el 35 y 50% del peso vivo  $d^{-1}$ , (Domingues 2001a, 2004). Estudios previos han demostrado que las tasas de crecimiento en los cefalópodos fluctúan entre el 6 y el 20% de su peso total al día

(Calow, 1987; Rocha, 2003), las cuales están relacionadas con su metabolismo altamente dependiente de proteínas (Lee, 1994). Se ha estimado que en pulpos más del 90% de las proteínas ingeridas son retenidas y utilizadas para el crecimiento (Houlihan *et al.*, 1990; Mangold y Boletzky, 1973). En un estudio reciente, realizado en juveniles de *O. maya* alimentados con jaibas congeladas (*Callinectes sapidus*) los animales mantuvieron tasas de crecimiento cercanas al 6% diario, con una capacidad de convertir los nutrientes del alimento en energía digerible con un 95% de eficiencia y de canalizar la mayor cantidad de proteína sintetizada a la producción de biomasa muscular. En otro experimento, pulpos alimentados con dietas preparadas con 40% de proteína, 11% de lípidos y 20% de carbohidratos, no promovieron crecimiento alguno, demostrando que los lípidos y carbohidratos no representan una fuente energética importante para los pulpos (Hochachka *et al.*, 1975; Vlieg, 1984).

En octópodos la tasa de ingestión depende de la temperatura del agua, (Richard, 1971; Boletzky, 1975; Domingues *et al.*, 2002) del tipo de presas potenciales y de la cantidad de alimento disponible (Mangold, 1983). En cefalópodos la tasa de ingestión puede llegar al 50% peso  $día^{-1}$  (Mangold, 1983; Boucher-Rodoni *et al.*, 1987; Domingues *et al.*, 2001a) y disminuye con la edad (Nixon, 1966; Domingues *et al.*, 2002).

### **1.3 Digestión y Metabolismo en Cefalópodos**

La digestión involucra una serie de procesos clave para la adecuada asimilación del alimento, permitiendo que los distintos componentes presentes en la dieta sean convertidos en elementos disponibles para ser utilizados en el metabolismo y crecimiento.

El alimento pasa de la cavidad bucal al esófago y por movimientos peristálticos al estómago, en donde comienza a ser degradado por acción de las enzimas provenientes de la glándula digestiva, y en algunos casos, de las glándulas salivales; en la etapa final del proceso digestivo el fluido resultante pasa al ciego a través de los canales y la

glándula digestiva en donde es absorbido. En calamares como *Loligo* sp., el alimento no entra a la glándula digestiva y se absorbe en ciego e intestino (Bidder, 1966).

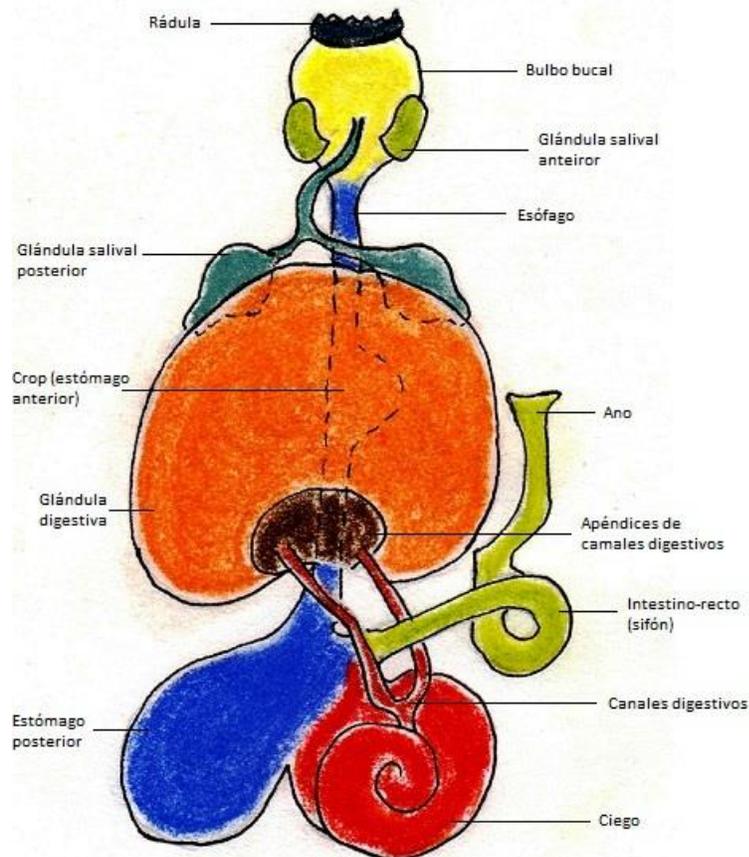


Figura 8. Anatomía digestiva de *Octopus vulgaris*. Boucaud-Camou y Boucher\_Rodoni (1983) adaptado de Martínez 2010.

La digestión en cefalópodos es más rápida que en peces (Boucher-Rodoni, 1975). El tiempo que tarda en llevarse a cabo el proceso digestivo está influenciado por la temperatura y varía entre grupos de octópodos y aún entre especies del mismo grupo. Otro factor importante en la duración de la digestión es el hábito del cefalópodo (bentónico, semi-bentónico o pelágico, siendo generalmente asociados a este tipo de hábitat pulpos, sepias y calamares, respectivamente). A una determinada temperatura el tiempo de digestión es mayor para una especie bentónica, comparado con una

especie pelágica (Boucaud-Camou and Boucher-Rodoni, 1983). La cantidad de alimento ingerido no parece tener un efecto significativo sobre el tiempo de digestión. En todas las especies de cefalópodos la velocidad de digestión es muy elevada en las primeras etapas, disminuyendo considerablemente en fases posteriores.

Los pulpos pueden ingerir otra presa aún antes de haber terminado la absorción de la anterior (Bidder, 1966), esto es posible gracias a que los procesos digestivos se llevan a cabo en fases sucesivas, en el estómago, el ciego y en la glándula digestiva lo que confiere a los cefalópodos una capacidad digestiva de extraordinaria eficiencia (Bidder, 1966; Boucaud-Camou and Boucher-Rodoni, 1983).

Lee (1994) señaló que la digestibilidad de proteínas en cefalópodos es de alrededor del 96% misma que es producto de una alta actividad proteolítica, en cefalópodos, esta actividad se presenta a lo largo del aparato digestivo, desde el esófago al intestino, usualmente más cerca del epitelio (Boucaud Camou, 1973). En *Sepia officinalis* la actividad proteolítica es llevada a cabo por las glándulas salivales y digestivas, el ciego y el intestino. Un incremento en el nivel de glucosa en sangre proporcional a la concentración de carbohidratos en la dieta fue descrito por Boucaud-Camou (1969). En *Sepia* sp., *Todarodes* sp., *Loligo* sp. y *Eledone* sp. la actividad enzimática de digestión de carbohidratos se realiza en el lumen intestinal (Boucaud-Camou, 1969; 1973) y en la glándula digestiva (Romijn, 1935; Takahashi, 1960; 1963; Boucaud-Camou, 1969; 1973). Romanini (1952) encontró que en la digestión de carbohidratos por los pulpos las glándulas salivares tienen una participación muy activa.

La glándula digestiva y el ciego son los mayores órganos de absorción de lípidos, aunque esta actividad sea reducida (Romijn, 1935; Takahashi, 1960; 1963). Lee (1994) encontró tasas de digestión del 46% para *O. vulgaris*. (O'Dor *et al.*, 1983). Así mismo

refiere que los cefalópodos tienen baja digestibilidad de lípidos y pobre eficacia para oxidarlos. Diversos autores (Giménez and Garcia, 2002; Petza et al., 2006; Pérez et al., 2006; Rosas et al., 2007; Domingues et al., 2007) encontraron que en *O. vulgaris*, *O. maya* y *Enteroctopus megalocyatus*, dietas con altos contenidos lipídicos afectan negativamente el crecimiento, posiblemente como resultado de la saturación de los sitios de absorción de proteínas en la glándula digestiva.

#### **1.4 Metabolitos y Estado Nutricional**

Una vez que los nutrientes son absorbidos son rápidamente distribuidos a los tejidos en donde se utilizan como fuente de energía metabólica o para la síntesis de moléculas. El glucógeno contenido en la glándula digestiva y en el músculo de *O. maya* se utilizó como indicador de este proceso (Aguila et al., 2007). Los resultados obtenidos en el estudio de Aguila demostraron una relación estrecha entre el glucógeno y el crecimiento indicando una mayor acumulación de nutrientes en los animales que mayor producción de biomasa. En un trabajo realizado en paralarvas de *O. vulgaris* (Villanueva et al 2004) se reportó que los amino ácidos juegan un papel importante como reserva de energía y son la base para la formación de glucógeno lo cual indica que las vías gluconeogénicas son altamente eficientes en cefalópodos. Este mecanismo de la formación de glucógeno a partir de proteínas ha sido observado en otros invertebrados. Cuzon et al (2001) y Rosas et al (2002), señalaron que el glucógeno del hepatopáncreas de camarones peneidos es sintetizado a partir de las proteínas de la dieta y que es utilizado en la síntesis de N-acetil-glucosamina, molécula base para la síntesis de quitina. La baja síntesis de glucógeno en los juveniles de *O. maya* alimentados con alimentos balanceados fabricados con harinas de baja digestibilidad indica que una menor cantidad de proteínas fue absorbida y por tanto poco glucógeno fue sintetizado lo que demuestra la relación tan estrecha que hay entre proteínas, glucógeno y crecimiento.

Estudios realizados en diferentes especies de cefalópodos han demostrado que los brazos y los tentáculos son los sitios de mayor crecimiento lo que implica una alta demanda de energía a nivel celular (Rocha 2003). Por su parte (Koueta 2002) reportaron que en *Sepia officinalis* la energía para el crecimiento es derivada del glucógeno sintetizado a partir de proteínas por vías gluconeogénicas.

Una forma de conocer los efectos nutricionales del alimento es a través de la forma en que los metabolitos solubles son acumulados en los diversos tejidos de un organismo. Estudios realizados en camarones peneidos han demostrado que algunos componentes de la sangre son útiles para establecer la condición nutricional de estos organismos (Pascual *et al* 2003). Aguila et al., (2006) observaron que los niveles sanguíneos de la glucosa en los juveniles de *O. maya* no presentaron ninguna relación con los tipos de alimentos ensayados mostrando que en estos organismos, al igual que en otros invertebrados la glucosa es un indicador limitado del estado nutricional.

Aunque no hay muchas referencias sobre el uso del colesterol como sub producto del metabolismo en cefalópodos, las evidencias mostradas por Aguila et al., (2006) sugieren que cuando hay una degradación de proteínas musculares en situaciones de estrés nutricional, aparecen elevadas concentraciones de colesterol como consecuencia de la liberación de esta molécula ya sea como sustituto de membranas o como sub producto de la degradación de éstas (Pascual *et al* 2006.) Aguila et al., (2006) también midieron los niveles de acil gliceroles en sangre de pulpos alimentados con diferentes dietas. Estos autores observaron un patrón irregular en los niveles de acil glicéridos el cual podría indicar que, tal y como ha sido reportado para otras especies de pulpos, el metabolismo de lípidos es limitado en estos organismos (Romjin 1935,; Takahashi 1963). Así, utilizando los metabolitos acumulados en tejido y en sangre Aguila et al (2006) pudieron establecer algunas de las explicaciones que permiten entender las razones por las cuales los alimentos

fabricados con harinas industriales no son bien aprovechadas para el crecimiento en esta especie de pulpos.

### **1.5 Enzimas Digestivas**

Las enzimas son un catalizador presente en todos los procesos metabólicos. Su actividad se ha observado prácticamente en todo el aparato digestivo de los cefalópodos (Perrin, 2004). El ciego, el estómago, las glándulas salivales posteriores y la glándula digestiva tienen una gran actividad enzimática aunque son estas dos últimas estructuras las principales responsables de una intensa secreción de enzimas. No se ha registrado secreción enzimática en el estómago y el esófago. Los cefalópodos hacen uso de diversos tipos de enzimas; amilásicas, proteolíticas y lipolíticas (Boucaud-Camou y Boucher-Rodoni, 1983). La actividad enzimática se lleva a cabo en función de las condiciones del medio fisiológico del organismo es decir, el estadio de madurez del sistema digestivo, de la maquinaria enzimática con la que se cuenta, el pH, la temperatura, el tipo y cantidad de sustrato y la etapa del proceso digestivo en la que se encuentre. En 2010, López-Ripoll determinó para *O. maya* que la glándula digestiva sigue un proceso de maduración posterior a la eclosión del organismo entre el día 1 y 12 aproximadamente. Posterior a este periodo el animal presenta cambios estructurales y fisiológicos en la glándula digestiva que modula la actividad enzimática y la digestión del alimento ingerido.

En cefalópodos ocurren dos tipos de digestión, la extracelular y la intracelular con la presencia de enzimas ácidas y alcalinas. Se ha encontrado, que la tripsina y la quimotripsina se encargan de la hidrólisis de cadenas de polipéptidos (Murray *et al.*, 2001).

En 2010, Martínez presentó los resultados de un estudio sobre los efectos de diferentes tipos de alimento en el crecimiento, bioquímica digestiva y estado fisiológico de juveniles de *Octopus maya*. En ese trabajo se probaron pastas

semihúmedas a base de jaiba, calamar, jaiba-calamar, ensilado de pescado-calamar, ensilado-jaiba y ensilado-jaiba-calamar (todas en una proporción 1:1). Los resultados del estudio mostraron que las tasas de crecimiento y sobrevivencia más bajas fueron obtenidas con la combinación ensilado-jaiba-calamar y las más altas en jaiba-calamar. Valores intermedios fueron registrados en combinaciones de ensilado-jaiba y en animales alimentados con jaiba sola. La combinación jaiba-calamar superó los resultados observados en estudios anteriores en donde se usó únicamente carne de jaiba como alimento (Rosas et al., 2008). Desde entonces, la mezcla jaiba-calamar se ha considerado como la opción proteica más adecuada para el cultivo de esta especie, aunque se despertó también el interés de seguir explorando el papel de los ensilados en la nutrición de los pulpos debido al resultado positivo observado por Martínez (2010).

Existen varias hipótesis que explican las razones por las que la carne de jaiba mejora la absorción de proteínas provenientes de la carne de calamar. Se ha planteado, por ejemplo que la jaiba aporta proteína soluble que facilita la digestión de la proteína de calamar abriendo los sitios de absorción en la glándula y promoviendo la secreción de enzimas que realizan el trabajo de digestión de proteínas estructurales. Si esta hipótesis es cierta entonces deberá de haber una combinación mínima de carne de jaiba que facilite la digestión de la carne de calamar. Esto es particularmente importante si se considera la dificultad de obtener la carne de jaiba cruda, lo que hace inviable al cultivo a una escala mayor que la experimental. Tomando en cuenta lo anterior y con la necesidad de reducir la proporción de carne de jaiba en la dieta para *Octopus maya* en esta fase del estudio se ha planteado las siguientes preguntas de investigación:

1. ¿Existe un nivel de sustitución de la carne de jaiba en la mezcla calamar-jaiba que proporcione crecimientos y sobrevivencias similares o mayores a las obtenidas cuando esta mezcla es 50-50%?

2. ¿Los ensilados elaborados a partir de desechos de pescado pueden ser una fuente que sustituya completamente la carne de jaiba en la dieta para *O. maya*?

Para contestar esas preguntas se ha planteado la siguiente hipótesis:

## **II. HIPÓTESIS**

Si la carne de calamar favorece el crecimiento de *Octopus maya* cuando se combina con una proporción 50-50% con la carne de jaiba, es probable que exista una combinación mínima de este insumo que sea suficiente para que el sistema digestivo de los pulpos aproveche de manera adecuada los procesos de absorción de los nutrientes contenidos en la carne de calamar y del alimento en general, promoviendo el crecimiento. Esto podría ser igualmente válido si el ensilado elaborado con desechos de pescado se comporta como una fuente de proteína similar a la que proporciona la carne de jaiba.

## **III. OBJETIVOS**

1. Determinar los efectos de la sustitución de carne de jaiba en el crecimiento, sobrevivencia de juveniles tempranos de *O. maya*
2. Conocer los efectos del tipo de alimento en la condición fisiológica y nutricional de *O. maya* mantenidos en condiciones experimentales.

## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Origen de los Organismos

Se utilizaron organismos recién eclosionados provenientes del mismo desove de una hembra silvestre copulada en condiciones controladas en la Unidad Experimental de Producción de pulpo de la UMDI. Los huevos fueron incubados por alrededor de 47 días controlando la temperatura, calidad del agua, aireación y fotoperiodo (Fig. 6, d)).

Los primeros 3 días posteriores a su eclosión los juveniles fueron alimentados con adultos de *Artemia salina ad libitum*. A partir del sexto y hasta el día 30 los pulpos se alimentaron con la dieta control (pasta de jaiba y calamar en proporción 1:1). Este alimento fue proporcionado hasta que los animales alcanzaron una talla mínima de 0.020 g. Una vez obtenido este peso se procedió a separar a los pulpos en grupos a los que les fueron asignados al azar diferentes dietas.

### 4.2 Diseño Experimental y Dietas

Los pulpos fueron separados en 7 grupos cada uno de los cuales contenía 20 animales individualizados a los que se les asignaron los siguientes tratamientos disminuyendo porcentualmente la cantidad de jaiba (J) en la mezcla con calamar (C) o ensilado (E): 50 C : 50J, 60C : 40J, 70C : 30J, 80C : 20J, 90C : 10J, 50E1: 50C y 50E2: 50C. Los ensilados se utilizaron como un sustituto total de la carne de jaiba agregándose en una proporción 1:1 en la mezcla con carne de jaiba (E1-C, E2-C). Se probaron dos tipos de ensilados, el E1 fue elaborado a partir de proporciones iguales de cabezas de pescado, esquilones de pescado y vísceras de pulpo. El E2 fue obtenido utilizando solamente esquilones de pescado. Todas las dietas fueron elaboradas a partir de las harinas obtenidas de los insumos (pulpa de jaiba, manto de calamar y ensilados 1 y 2). Cada ingrediente fue liofilizado y molido para después ser integrado en cada dieta formulada.

### 4.3 Condiciones Experimentales

Los juveniles de pulpo se mantuvieron individualizados en botes de plástico de 500 ml (Fi. 10, a)) colocados dentro de tanques de plástico rectangulares de 70 L de capacidad conectados a un sistema de recirculación de agua de mar (Fig. 9, b)). El agua de mar del sistema se analizó periódicamente (1 vez a la semana en el primer mes y cada 15 días a partir del segundo) para conocer los niveles de nitratos, nitritos y amonio. Todos los días se determinaron los niveles de oxígeno disuelto y la temperatura. Para mantener la calidad del agua se conectó al sistema un espumador y un filtro para evitar proliferación de bacterias nocivas y eliminar la materia orgánica disuelta. En estas condiciones los parámetros fisicoquímicos variaron entre 5 y 6 mg/L de oxígeno disuelto, 36 ups, 22 a 27 °C. Los niveles de nitratos, nitritos y amonio se mantuvieron en 10, 0.15 y 0.6 mg/L respectivamente. En el sitio de cultivo se mantuvo una iluminación con ciclos de 12 h luz/12 h oscuridad y una intensidad luminosa de 75 lux/cm<sup>2</sup>.

A cada cámara experimental se le hicieron un par de ventanas con malla plástica para permitir un flujo de agua continuo. A los pulpos se les proporcionaron conchas de caracoles (*Melongena corona bispinosa*) como refugios (una por pulpo). El tamaño de las conchas de los caracoles fue ajustado conforme el organismo aumentó de talla (Fig. 10, c). Para promover la circulación del agua dentro de cada bote, se diseñó un sistema de distribución de agua de mar con tubos perforados que corrían a lo largo y ancho de cada tanque. Estos tubos abastecieron a los botes de una corriente permanente de agua de mar filtrada. Los botes y sus respectivos tratamientos fueron colocados al azar en el dispositivo experimental. Una vez hecho esto y después de los primeros 30 días posteriores a la eclosión se procedió a alimentar a los animales con las dietas experimentales. Estos alimentos fueron proporcionados dos veces al día (a las 10:00 am y 6:00 pm) por un periodo de 60 días. Para mantener la calidad del agua y del ambiente de cada pulpo, todos los días, después de cada comida (por la mañana y por la tarde) se retiraron los restos de alimento no consumido de cada cámara

experimental. El alimento fue suministrado a razón del 30% de la biomasa del pulpo (Quintana et al., 2011) utilizando una valva como superficie de adhesión (Fig. 10, b)). Las conchas se seleccionaron por tamaños en proporción a la talla del organismo.



Figura 9. a) pulpo recién eclosionado, b) sistema para cultivo experimental de *O. maya*, c) juvenil temprano de 42 días de edad, d) huevos de *Octopus maya* durante desarrollo embrionario en incubadora del área experimental de la UMDI

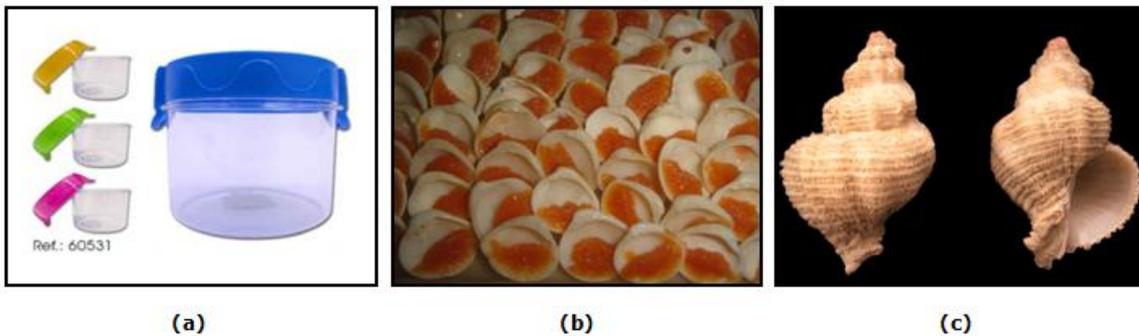


Figura 10. a) bote de 500 ml de capacidad para individualizar a los organismos, en la parte central se hizo una ventana con maya plástica para permitir el flujo de agua, b) raciones de alimento en valvas, c) caracoles de gastrópodos (*Melongena corona bispinosa*) ofrecidas como refugio para los juveniles de *O. maya*.

#### **4.4 Crecimiento y Supervivencia**

Para determinar el crecimiento y la supervivencia de los pulpos se realizaron biometrías y conteos (respectivamente) cada 30 días. La primera se llevó a cabo al inicio para conocer el peso de los pulpos recién eclosionados. La segunda se realizó durante el primer mes cuando se proporcionó la dieta control. Se realizaron dos biometrías más durante el periodo en que los animales fueron alimentados con las dietas experimentales. Los organismos se mantuvieron en ayuno por un periodo de 12 horas previos a cada biometría con el objetivo de asegurar el vacío estomacal y evitar la posible interferencia de este alimento en el peso. En cada caso y antes de determinar el peso fue retirado el exceso de agua acumulada en el manto. Los animales fueron pesados en una balanza Ohaus Pioneer PA214.

Para medir el crecimiento se tomaron en cuenta los valores netos de la ganancia en peso y la tasa específica de crecimiento calculada mediante la siguiente fórmula:

$$\text{TEC\% día} = \{[(\ln Pf - \ln Pi)]/T\} * 100$$

donde:

ln = logaritmo natural

Pf = peso final

Pi = peso inicial

T = tiempo

La supervivencia se calculó a partir de la diferencia entre el número de animales al inicio y al final del experimento

#### **4.5 Tasa de Ingestión**

La tasa de ingestión se midió a partir de la diferencia entre la cantidad de alimento entregado y el recuperado después de 1 h. El alimento recuperado fue obtenido mediante un sifón y retenido en un papel filtro pre-pesado. El filtro con el alimento remanente fue secado en un horno a 60°C por 48 h. La tasa de ingestión fue

corregida por el porcentaje de alimento lixiviado. Para obtener ese dato 3 valvas con cada alimento experimental fueron colocadas en un matraz de 250 ml con agua de mar. El matraz fue agitado en un agitador rotatorio durante 1 h. Posteriormente el alimento fue obtenido al filtrar toda el agua a través de un papel filtro pre pesado. El alimento recuperado fue secado a 60°C por 48 h hasta peso constante. Así, la tasa de ingestión se calculó como:

$$TI = Ae - (Ar \times AL\%)/Pc,$$

Donde **TI** es la tasa de ingestión g de alimento ingerido/g de pulpo por toma, **Ae** es el alimento entregado (g/animal/toma), **Ar** el alimento recuperado (g/animal/toma), **AL** el alimento lixiviado (%) y **Pc** el peso corporal (g de pulpo).

#### **4.6 Metabolitos y Sustancias de Reserva**

La cuantificación de metabolitos y sustancias de reserva se llevó a cabo al término de la etapa de cultivo. Los organismos fueron llevados al laboratorio y se colocaron en una tina con agua de mar a 10 °C (2 a 3 min) para anestésarlos, después se extrajo la glándula digestiva, y segmentos de brazo. Las muestras se introdujeron en nitrógeno líquido y posteriormente fueron congeladas a -40 °C hasta su análisis. No fue posible realizar las pruebas de metabolitos y enzimas en los tratamientos que incluyen ensilados dado que al final del cultivo experimental la sobrevivencia de estos tratamientos fue de cero, tampoco para el tratamiento 80/20 debido a que no hubo una cantidad suficiente de muestra en GD, solo se realizó la prueba de glucógeno en brazo.

En los tejidos muestreados se realizaron mediciones colorimétricas de glucosa, colesterol, acil-glicéridos y proteína utilizando Kits comerciales (Bayer Sera Paak Plus B014507-01). El principio para todos los metabolitos se basa en los cambios de color

diferencial, identificados espectrofotométricamente a través de la absorbancia de la solución en la longitud de onda correspondiente y registrada en densidades ópticas.

#### **a) Glucógeno**

El glucógeno de la glándula digestiva fue extraído mediante ácido sulfúrico y fenol (Dubois et al., 1965). La glándula digestiva y el músculo fueron homogenizados en ácido tricloro acético (TCA, 5%) por 2 min a 3,340 g. Después de la centrifugación (7000 g) el sobrenadante fue cuantificado dos veces. El sobrenadante fué pipeteado y mezclado con 5 volúmenes de etanol al 95%. Se colocaron los tubos a 37-40 °C por 3 h. Después de la precipitación los tubos fueron centrifugados a 7000 g por 15 min. El pellet de glucogeno fue disuelto al adicionar 0.5 mL de agua hirviendo, entonces, 5 mL de ácido sulfúrico concentrado y fenol (5%) fueron adicionados y mezclados. El contenido de los tubos fue transferido a una placa y leído en un lector de placas a 490 nm.

#### **b) Proteína**

Se determinó la concentración de proteína solubilizada a través de una solución de Coomassie, el cual se liga a los aminoácidos primariamente básicos y aromáticos, especialmente la arginina. La absorbancia máxima para esta solución ocurre de 465-595 nm, cuando sucede el enlace con proteínas. Las lecturas de absorbancia se realizaron en un lector de micro placas Biorad 550.

#### **c) Glucosa**

La glucosa fue medida bajo el principio de que ésta es transformada por la glucosa oxidasa en ácido glucónico y peróxido de hidrogeno. Este último, en presencia de peroxidasa, oxida el sistema cromógeno (4-aminofenazona/fenol) convirtiéndolo en un compuesto de color rosa.

#### **d) Colesterol**

Los ésteres del colesterol son hidrolizados por el colesterol éster hidrolasa para liberar colesterol y ácidos grasas. Se determina el colesterol libre existente, conjuntamente con el producido por el colesterol oxidasa a.

#### **e) Acilglicéridos**

El glicerol liberado en la hidrólisis de los triglicéridos, por acción de la lipoproteín-lipasa, se convierte, mediante la glicerol-3-fosfato, que se oxida por la glicerol-fofato oxidasa en dihidroxiacetona y peróxido de hidrógeno. Ante la peroxidasa, el peróxido de hidrogeno oxida al cromógeno 4-aminoantiripina/p-clorofenol, en un compuesto de color naranja pálido.

### **4.7 Actividad Enzimática**

#### *Proteasas Ácidas*

Se realizó siguiendo el método de Ansor (1938) usando Hemoglobina al 1% como sustrato, diluida (1:10) en una solución Stauffer a pH 3. Extractos de glándula digestiva fueron incubados durante 10 min a 37 °C deteniendo la reacción con TCA (ácido tricloroacético) al 20%. Se dejó reposar la mezcla 15 min a 4 °C para precipitar la proteína, se centrifugó a 12000 rpm durante 15 min. Se midió la absorbancia del sobrenadante en el espectrofotómetro a  $\lambda = 280$  nm en una cubeta de cuarzo; se utilizó agua destilada como blanco.

#### *Proteasas Alcalinas*

Método de Ansor (1938). Se llevó a cabo tal y como en el procedimiento anterior pero con Caseína al 1% como sustrato a un pH de 8.

### **4.8 Análisis Estadístico**

Se realizó el análisis exploratorio de todos los datos. Los resultados de crecimiento fueron modelados con GLMM (Generalized Linear Mixed Models) basado

en una regresión lineal que incorpora variable temporal a los valores de crecimiento obtenidos; es decir, la variación del peso en función del tiempo. Para los resultados referentes a las pruebas de metabolitos y sustancias de reserva se aplicó un ANOVA y un análisis de discriminación canónica (ADC) (previa prueba M de Box ( $p < 0.05$ )) para verificar homogeneidad de varianzas-covarianzas. La actividad de las enzimas digestivas fue analizada con un ANOVA.

Para el ADC se usó el programa SPSS el resto de los análisis se hicieron con el paquete estadístico STATISTIC 7.0.

## V. RESULTADOS

### 5.1 Crecimiento y Supervivencia

#### *Parámetros fisicoquímicos del sistema*

Los parámetros fisicoquímicos del sistema se mantuvieron dentro de rangos considerados como óptimos para la especie en condiciones experimentales, excepto la temperatura, ya que osciló considerablemente en el mes de Diciembre debido al cambio estacional. Durante dos semanas el flujo de agua entrante al sistema se mantuvo en 22 grados por lo que fue necesario colocar calentadores de vidrio para elevar la temperatura del agua y mantenerla en un intervalo de 25 a 27 °C.

Tabla 8. Parámetros fisicoquímicos registrados en el sistema durante el bioensayo.

<i>Parámetros fisicoquímicos</i>			
<b>Semana</b>	<b>T</b>	<b>O2 (mg/L)</b>	<b>Salinidad (ups)</b>
	<b>(°C)</b>		
<b>1</b>	27	6	36
<b>2</b>	27	6	36
<b>3</b>	24	6	36
<b>4</b>	24	6	36
<b>5</b>	21	5.1	36
<b>6</b>	22	5.1	36
<b>7</b>	22	5.4	36
<b>8</b>	25	5.7	36
<b>9</b>	27	6	36
<b>10</b>	25	6	36
<b>11</b>	27	6	36
<b>12</b>	27	6	36

## 5.2 Tasa de Ingestión y Crecimiento

Los datos referentes a la ganancia en peso muestran que los organismos tienen un patrón de crecimiento exponencial por lo menos para los primeros 90 días de vida (T60 experimental). Al día marcado como cero (T0: eclosión) todos se encontraron en un rango de peso entre 0.06 y 0.11 g. En esta etapa las variaciones en talla entre los grupos fueron menores; sin embargo, conforme transcurrió el tiempo las diferencias se fueron acentuando dado que la ganancia en peso y por tanto la tasa específica de crecimiento, no guardan una relación lineal. Entre el día 0 y el 30 de vida, cuando los animales fueron alimentados con el alimento control C-J 50/50, no se encontraron diferencias en el crecimiento entre los diferentes organismos experimentales.

Del día 60 al 90 fue evidente el efecto de las dietas sobre los grupos experimentales. Los pulpos pertenecientes a los tratamientos 50/50, 60/40, y 70/30 mostraron la mayor ganancia de peso respectivamente. Los animales alimentados con las proporciones 90/10 y 80/20 mostraron tasas de crecimiento significativamente menores a las observadas en los pulpos alimentados con proporciones de jaiba mayores al 30%. Los animales alimentados con ambos ensilados perdieron peso y al final del experimento murieron (Figura 11).

Los resultados de la tasa de ingestión (Fig. 12) no mostraron diferencias significativas entre los animales alimentados con las mezclas de calamar-jaiba. Se observó que la cantidad de alimento ingerido de los pulpos alimentados con los ensilados aumentó significativamente, por lo que su tasa de ingestión fue alta, sin embargo, tuvieron un crecimiento, lo cual es indicativo de una mayor demanda de alimento debido a que no había una buena cobertura de sus demandas energéticas y nutritivas.

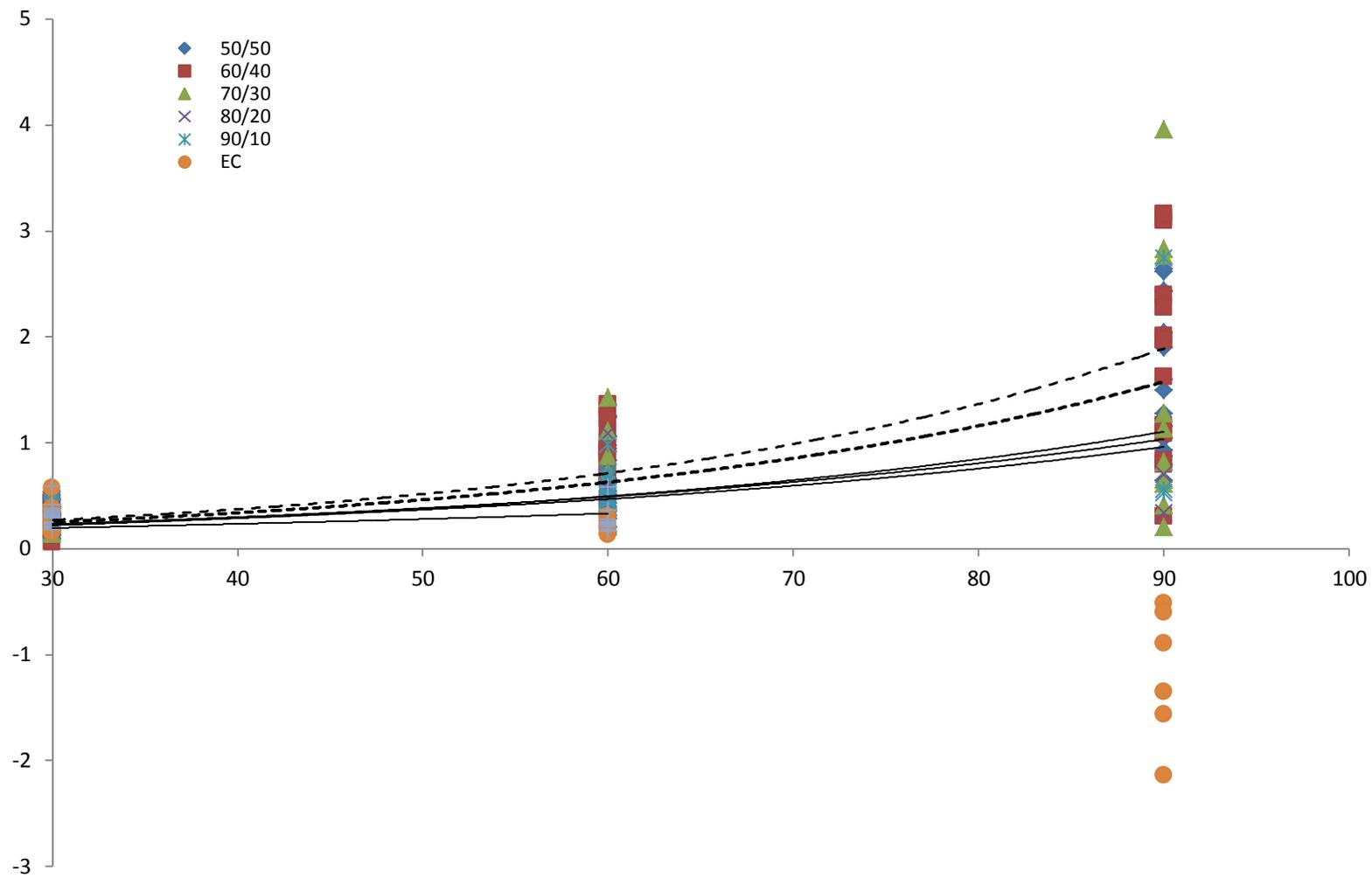


Fig. 11. Crecimiento de *Octopus maya* durante el cultivo experimental. Alimentación de 30 (T30) a 90 (T90) días de edad con dietas experimentales.

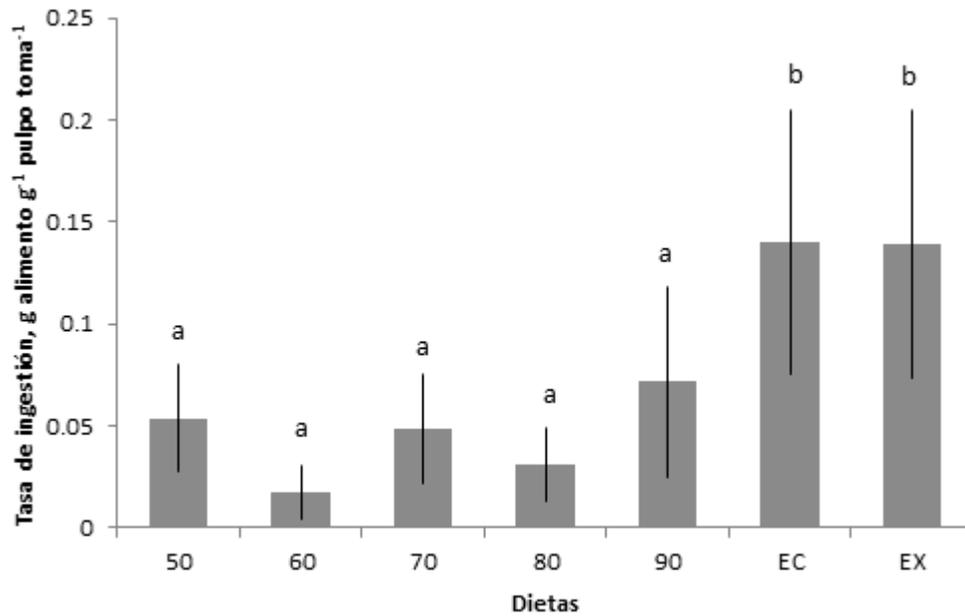


Figura 12. Tasa de ingestión de las dietas durante el bioensayo( (g) alimento/(g<sup>-1</sup>) de pulpo).

### 5.3 Tasa Específica de Crecimiento (TEC)

La TEC fue significativamente afectada por el tipo de alimento suministrado, con los valores mayores para los pulpos alimentados con la proporciones 50/50, 60/40 y 70/30 (3.5 % d<sup>-1</sup>), en comparación con los obtenidos de los organismos alimentados con las dietas 80/20 y 90/10 (1.5% por día).

Los animales alimentados con ensilados mostraron valores negativos de entre -0.5 y -1% por día (Fig. 6 (a)). Del día 30 al 60 de alimentación la TEC en todos los tratamientos mostró valores inferiores a los observados los primeros 30 días (entre 2.5y 2.7% de crecimiento diario para 50/50, 60/40 y 70/30) y de 0.5% para 80/20 y 90/10). Pese a ello se mantuvo la misma tendencia estadística entre los grupos.

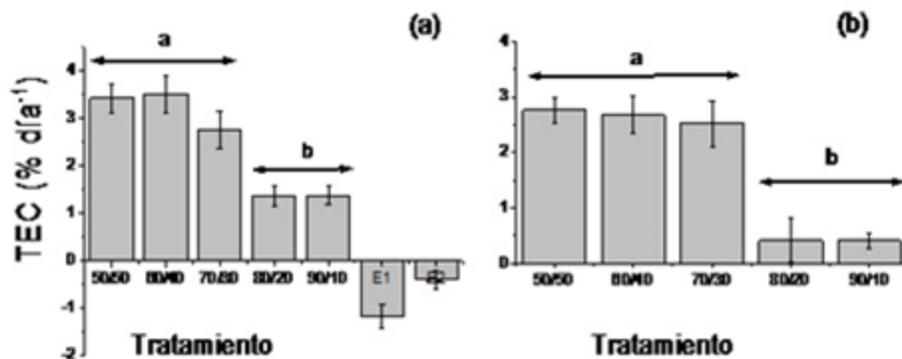


Figura 13. Tasa específica de crecimiento (% día<sup>-1</sup>) a los 30 (a) y 60 días (b).

#### 5.4 Supervivencia

Durante los primeros 30 días de tratamiento la supervivencia de todos los grupos alimentados con jaiba-calamar fue superior al 80% y del 30% y 70% para los ensilados 1 y 2 respectivamente (Tabla 9). Para la biometría del día 60 la supervivencia de los juveniles alimentados con ensilados fue de cero. (Fig. 14).

Tabla 9. Peso inicial, peso final (promedio) y porcentaje de sobrevivencia por tratamiento de juveniles de *O. maya* a los 30 días de engorda y durante los primeros 30 días de tratamiento (60 días de edad) con las dietas experimentales (periodo previo al descenso de la temperatura en el sistema)

	DIETAS													
	50 / 50		60 / 40		70 / 30		80 / 20		90 / 10		Ensilado 1 / C		Ensilado 2 / C	
Peso inicial, g	0.29	± 0.08	0.31	± 0.09	0.26	± 0.09	0.32	± 0.08	0.30	± 0.09	0.20	± 0.09	0.26	± 0.09
N	20		20		20		20		20		20		20	
	<b>a</b>		<b>a</b>		<b>a</b>		<b>a</b>		<b>a</b>		<b>A</b>		<b>a</b>	
Peso final, g	0.75	± 0.34	0.90	± 0.31	0.56	± 0.31	0.49	± 0.19	0.47	± 0.19	0.27	± 0.06	0.30	± 0.10
N	20		20		18		16		17		6		14	
	<b>cd</b>		<b>d</b>		<b>bc</b>		<b>b</b>		<b>b</b>		<b>A</b>		<b>a</b>	
Sobrevivencia,														
%	100		100		90		80		85		30		70	

Letras indican significancia estadística entre tratamientos (P < 0.05)

Tabla 10. Porcentaje de Supervivencia de juveniles tempranos de *O. maya* al finalizar el bioensayo después de 60 días de cultivo experimental (90 días de vida)

SOBREVIVENCIA							
TRATAMIENTO	50/50	60/40	70/30	80/20	90/10	EC	EXC
día 1	20	20	20	20	20	20	20
día 30	20	20	18	17	17	6	14
día 60	15	15	9	2	4	0	0
Porcentaje (%)	75	75	45	10	20	0	0

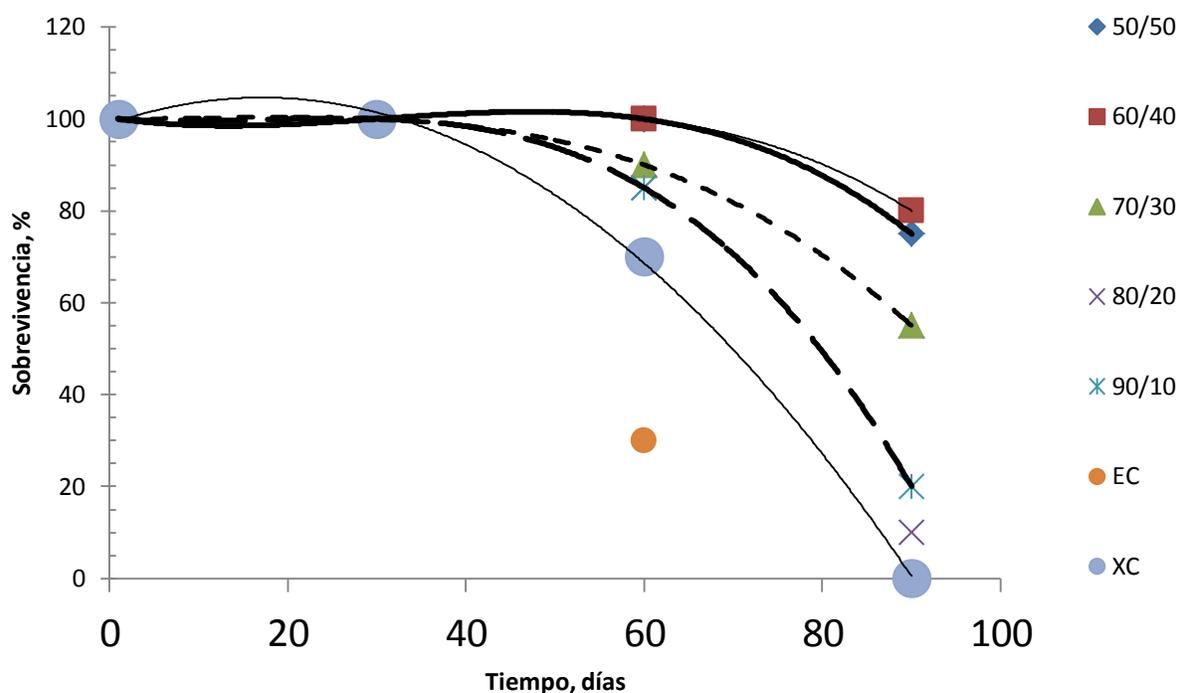


Figura 14. Mortalidad de los juveniles de *O. maya* alimentados con las diferentes dietas, a los 0, 30, días de pre-engorda y 60 y 90 días experimentales.

### 5.5 Metabolitos y Sustancias de Reserva

A continuación se muestran los valores obtenidos en la evaluación de metabolitos y sustancias de reserva (Proteína, Glucosa, Acilglicéridos y glucógeno) en muestras de glándula digestiva y músculo de los juveniles tempranos de *O. maya* obtenidos mediante cultivo experimental (Tabla 11)

Tabla 11. Concentración de metabolitos (mg/g) en glándula digestiva (GD) y músculo (MUSC) de *O. maya* cultivados con las dietas experimentales. Valores promedio  $\pm$  D.E.

Tratamiento	PROTEÍNA GD		GLUCOSA GD		COLESTEROL GD		ACILGLICÉRIDOS GD		GLUCÓGENO GD		GLUCÓGENO MUSC	
50/50	4.726	$\pm$ 0.021	1.610	$\pm$ 0.002	1.532	$\pm$ 0.002	1.827	$\pm$ 0.003	1.233	$\pm$ 0.010	0.582	$\pm$ 0.003
60/40	4.272	$\pm$ 0.013	1.648	$\pm$ 0.002	1.596	$\pm$ 0.002	2.114	$\pm$ 0.005	1.672	$\pm$ 0.026	0.614	$\pm$ 0.007
70/30	3.702	$\pm$ 0.034	1.764	$\pm$ 0.004	1.560	$\pm$ 0.003	1.553	$\pm$ 0.003	0.757	$\pm$ 0.010	0.328	$\pm$ 0.002
90/10	3.928	$\pm$ 0.015	1.288	$\pm$ 0.002	1.470	$\pm$ 0.002	2.081	$\pm$ 0.010	1.532	$\pm$ 0.011	0.251	$\pm$ 0.002

Se cuantificó la concentración de metabolitos únicamente en los grupos 50/50, 60/40, 70/30 y 90/10 debido a que en los animales mantenidos con las dietas que incluyeron ensilados la sobrevivencia al término del experimento fue de cero. En el caso de los animales alimentados con la mezcla 80/20 no fue posible obtener una cantidad de muestra suficiente para correr la pruebas.

Los resultados del análisis de discriminación canónica muestran la interacción entre los cinco metabolitos evaluados en la glándula digestiva y/o músculo de los juveniles cultivados. Como se puede apreciar los tratamientos 50/50, 60/40 y 70/30 aparecen diferenciados debido a los efectos de la concentración de glucosa, proteína, y glucógeno de la glándula digestiva y al glucógeno del músculo (Fig. 15).

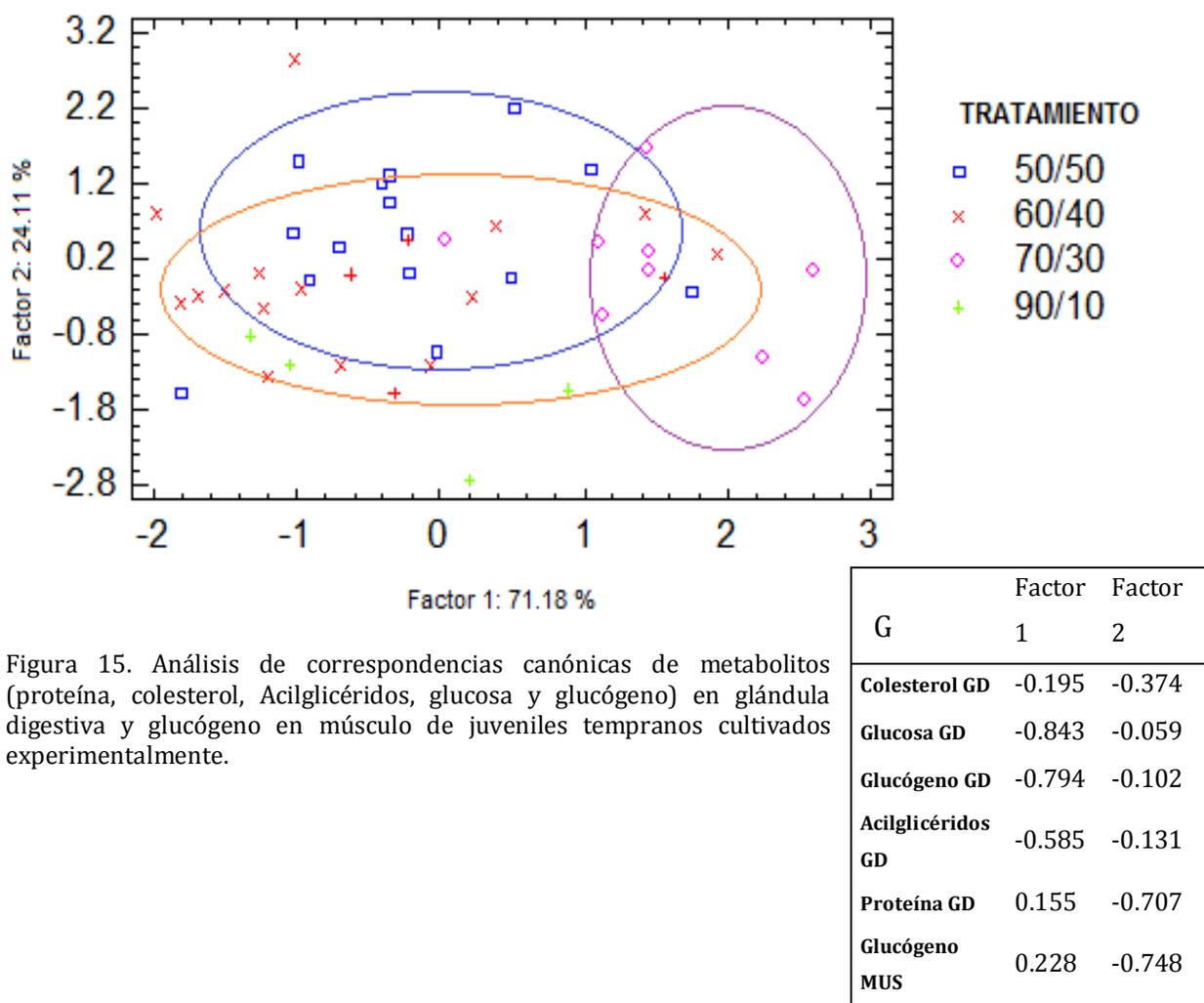


Figura 15. Análisis de correspondencias canónicas de metabolitos (proteína, colesterol, Acilglicéridos, glucosa y glucógeno) en glándula digestiva y glucógeno en músculo de juveniles tempranos cultivados experimentalmente.

## 5.6 Actividad Enzimática

Los picos más altos de la actividad enzimática se registraron en la GD de los tratamientos 90/10 y 60/40 para proteasas ácidas y alcalinas respectivamente (Fig. 16).

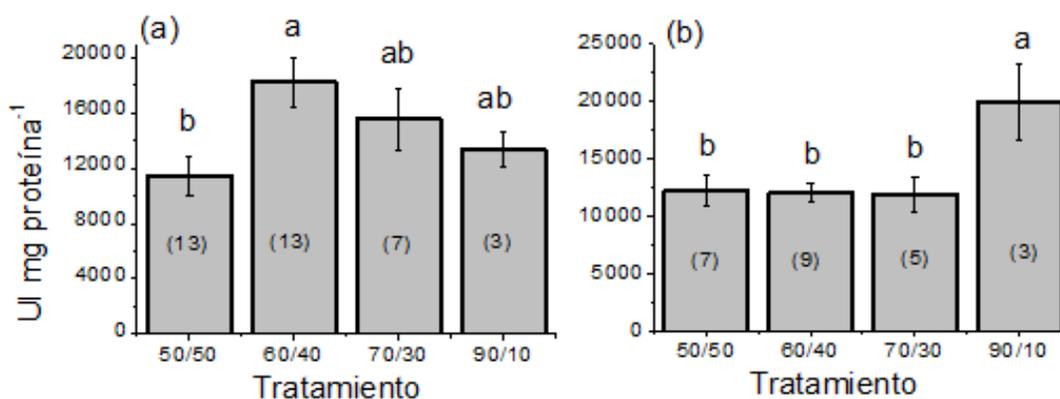


Figura 16. Diferencias estadísticas en la concentración de enzimas alcalinas (a) y ácidas (b) de juveniles de pulpo sometidos a distintos tratamientos (UI mg/proteína).

Los resultados del análisis enzimático de las proteasas alcalinas indica que el grupo de animales 50/50 tuvo la menor actividad en la glándula digestiva y que en la dinámica enzimática de los animales alimentados con la mezcla 90/10 hubo una actividad mayor de las proteasas ácida ( $P < 0.05$ ; Fig. 16)

## VI. DISCUSIÓN

En los resultados obtenidos en el presente estudio quedo en evidencia que es posible reducir la proporción de carne de jaiba en la mezcla hasta ahora utilizada para alimentar juveniles tempranos de *O. maya* sin que se afecte significativamente el crecimiento y la sobrevivencia. Una proporción que contenga 70% de carne de calamar y 30% de carne de jaiba aparece como el límite mínimo de reducción de la carne de jaiba en esa mezcla. Así mismo, los resultados obtenidos ahora demuestran que es necesario seguir investigando en el uso de ensilados como fuente de proteína en sustitución de la carne de jaiba ya que éstos (después de los primeros 30 días en los que si hubo crecimiento) lejos de producir resultados positivos, provocaron la mortalidad en el 100% de los organismos alimentados con este tipo de alimento.

Estudios llevados a cabo en otras especies de cefalópodos indican que el crecimiento de los juveniles tempranos de *O. maya* se encuentra dentro de los valores esperados para este tipo de organismos. Domingues et al., (2004) reportaron valores de TEC,% de 2.6% día<sup>-1</sup> en animales alimentados con camarón fresco, poniendo en evidencia que la proteína nativa de crustáceo es una fuente adecuada para la nutrición de estos organismos. En *O. maya* también se ha observado que cuando los juveniles tempranos son alimentados con dietas con base en crustáceos los animales muestran tasas de crecimiento aceleradas. Rosas et al., (2008) reportaron tasas de crecimiento de 2.0% día<sup>-1</sup> en juveniles tempranos alimentados con carne de jaiba liofilizada. En otro estudio (George Zamora et al., 2011) reportaron tasas de crecimiento de 2.6% día<sup>-1</sup>, mientras que Rosas et al., (2012) obtuvieron valores de crecimiento de entre 1.55 y 4.46% dependiendo de la forma de presentar la carne de jaiba como alimento. Es interesante hacer notar que estas tasas de crecimiento pueden ser aún mayores en esta especie. Baeza-Rojano et al., (2012) encontraron tasas de crecimiento de hasta 7% día<sup>-1</sup> en animales mantenidos con una mezcla de pasta de calamar y jaiba y gamáridos marinos vivos.

Los resultados obtenidos ahora pusieron nuevamente en evidencia que los mayores crecimientos se obtienen en combinación con aumentos en los niveles de glucosa, glucógeno y proteínas en la glándula digestiva y glucógeno en el músculo de *O. maya*. En este sentido Martínez (2010) reportó también que en los juveniles tempranos de *O. maya* el mejor crecimiento se relacionó con la acumulación de glucógeno en músculo y en la glándula digestiva sugiriendo que, favorecido por las rutas gluconeogénicas, los pulpos utilizan los carbohidratos como fuente de energía para satisfacer las demandas del crecimiento.

El metabolismo de los pulpos es esencialmente proteico (Lee, 1994) lo que implica que los aminoácidos, además de ser utilizados como base para la construcción de proteínas, son utilizados como fuente de energía metabólica. En ese proceso los esqueletos de carbono derivados de la degradación de los amino ácidos siguen la ruta hacia el piruvato y otras moléculas intermediarias del ciclo de Krebs las cuales tienen el potencial de producir glucosa via gluconeogénica a través de la producción de fosfoenolpiruvato (D'Mello, 2003; Murray *et al.*, 2001; Lehninger *et al.*, 1993). Se ha reportado que la carne de calamar tienen una mayor proporción de alanina, glicina, methionina, histidina y arginina que la carne de jaiba (Martínez, 2010). Estos amino ácidos cuando son deaminados pueden ser utilizados para la producción de glucosa. Alanina y glicina ingresan al ciclo de Krebs como piruvato y son convertidos en oxalacetato justo cuando el grupo amino de la methionina es eliminado y formada la succinil CoA. Histidina y arginina forman glutamato ingresando al ciclo de Krebs como  $\alpha$ -cetoglutarato (Murray *et al.*, 2001; Lehninger *et al.*, 1993). Teniendo en consideración los amino ácidos que los juveniles de *O. maya* pueden obtener de la mezcla calamar-jaiba, es posible sostener la idea de que la composición química de estos componentes producen una sinergia tal que promueve la síntesis de proteína y glucógeno que al final se traducen en un mejor crecimiento.

Existe también la posibilidad de que los aminoácidos liberados a la hemolinfa además de ser usados para la síntesis de proteína sean usados como substratos energéticos

directamente en el músculo. Esto puede ocurrir a través de una vía alternativa en donde el músculo transforma algunos amino ácidos en glucosa. En cefalópodos se ha podido observar que la treonina y la glicina pueden ser transformadas en D-lactato debido a la acción de las enzimas glioxalasa I glioxalasa II, teniendo la aminoacetona y al metilglioxal como intermediarios (Akagi and Ohmori, 2004). Así, de acuerdo con estos autores la ruta para la obtención de glucosa y glucógeno en *O. maya* podría ser a través de los siguientes pasos: D-lactato → piruvato → glucosa. Esto explica por que los niveles de glucógeno en GD y músculo concuerdan con los animales que presentaron el mayor crecimiento.

En trabajos anteriores se ha propuesto a los metabolitos en la glándula digestiva (GD) y en el músculo, como fuertes indicadores del estado nutricional de pulpos (Aguila et al., 2007). La presencia y proporción en la que se encontraron los metabolitos en músculo y glándula digestiva son indicadores de la condición fisiológica del organismo. Se ha demostrado en el presente estudio que las diferentes dietas sí tienen efecto sobre el crecimiento, sobrevivencia y condición nutricional de *Octopus maya*. La revisión individual de la concentración de cada metabolito en los tejidos muestreados enfatizó el resultado obtenido en el análisis de discriminación canónica; si bien cada metabolito tiene una función específica propia en los procesos fisiológicos, cada una de las rutas metabólicas en las que participan, están interrelacionadas; es decir, la glucosa, proteína, colesterol y glucógeno no actúan de forma aislada en el organismo, sino que se acoplan como productos o sustratos a diversas vías metabólicas, actuando de manera conjunta en los complejos procesos orgánicos (Martínez et al., 2011a).

El proceso digestivo en *O. maya* comprende la digestión extracelular, que tiene lugar a un pH aproximado de 6 y la digestión intracelular a un pH alrededor de 3-4 siendo la cathepsina D (del grupo de las proteasas ácidas) una de las enzimas con un rol más relevante durante estos procesos (Martínez, et al., 2011). De acuerdo con resultados previos la actividad de las proteasas ácidas y alcalinas es modulada por el alimento ingerido (Moguel et al., 2009) lo que implica que el animal hará uso mayoritario de

unas u otras en función del tipo de sustrato que constituya la dieta. En este trabajo se encontró que la mayor actividad de proteasas alcalinas está presente en la GD de los juveniles alimentados con la dieta 60/40; la tripsina y la quimotripsina. Estas enzimas son las que se encargan de degradar las proteínas y son altamente movilizadas en el metabolismo de *Octopus maya*. Aunque la baja actividad de tripsina y quimotripsina ha sido interpretada como un indicador de una dieta pobre para los pulpos (Villanueva et al., 2002) los resultados obtenidos en este y otros estudios demuestran que esta baja actividad podría estar relacionada con el hecho de que *O. maya* utiliza más bien enzimas ácidas para la digestión del alimento.

La respuesta de los pulpos alimentados con ensilado podría estar vinculada a la cantidad tan elevada de grasa en la dieta y a los procesos de rancidez oxidativa en la misma. Estas grasas podrían estar actuando como anti-nutrientes en el alimento afectando la calidad. Otro factor importante a considerar en los ensilados es la elevada cantidad de minerales, que si bien podrían ser incorporados por el organismo, en grandes cantidades también podrían disminuir la digestibilidad del alimento (Villalobos, 2007). Es importante denotar que en los animales alimentados con 80/20 y 90/10, C-J el crecimiento resultó ser significativamente menor al observado en los demás tratamientos (excepto los ensilados) sugiriendo que algún componente en la carne de jaiba es requerido siempre y cuando este ese insumo en una proporción mayor al 30%.

Es necesario enfatizar que presentamos los resultados de sobrevivencia por separado, en la primera tabla se encuentran los porcentajes que corresponden al primer mes experimental y en la segunda los correspondientes a los siguientes 30 días. Esto se hizo con el objetivo de resaltar el efecto de la temperatura en la tasa de ingestión y el crecimiento de los juveniles. El experimento se inició en el mes de noviembre cuando la temperatura del agua en los sistemas experimentales estaba dentro de un intervalo de entre 24 y 27 °C. Debido a la entrada de frentes fríos, la temperatura descendió a 21 °C por lo que fue necesario introducir calentadores al sistema para elevar la

temperatura y mantenerla dentro del rango con el que se dio inicio al bioensayo. Este cambio drástico en la temperatura coincidió con un breve periodo (una semana) durante el cual la mortalidad aumentó considerablemente para todos los tratamientos. Es decir, del total de los organismos que no sobrevivieron, para todos los tratamientos, la mayoría murió en este periodo, poniendo en evidencia el posible efecto que las temperaturas extremas bajas podrían tener en estos organismos.

La temperatura tiene un efecto ponderante sobre la fisiología de los organismos (Cerezo 2005; Melzner 2006), interviniendo en su reproducción, desarrollo embrionario, crecimiento, sobrevivencia y distribución (Noyola, 2010). A partir de los resultados de un estudio realizado por Noyola et al., (2013) se propuso un polígono térmico para *Octopus maya*. En ese trabajo se señala que el crecimiento es afectado por la temperatura de aclimatación con los niveles óptimos en animales mantenidos entre 22 y 26°C y los menores en los mantenidos en 30°C.

El crecimiento de *Octopus maya* sugiere un comportamiento en dos etapas, de tipo exponencial en la primera fase, y logarítmico para una segunda, tal como fue descrito por Briseño en 2009, esta dinámica se ve delineada en la gráfica de crecimiento. En las observaciones sobre los datos de la tasa específica de crecimiento (TEC) los grupos 60/40, 50/50 y 70/30 tuvieron los valores más altos, demostrando así que la carne de calamar y jaiba en estos porcentajes de inclusión funciona de manera adecuada para hacer crecer a estos animales; los ensilados nuevamente mostraron valores positivos en la TEC únicamente durante el primer mes de alimentación.

Según López-Ripoll (2010), la glándula digestiva de los pulpos recién eclosionados sigue su proceso de maduración durante los primeros 12 días posteriores a su nacimiento. Basados en esta observación, es posible que para la primera etapa del ciclo de vida de *O. maya* los nutrientes contenidos en la formulaciones ensilado-calamar sean suficientes para satisfacer sus requerimientos y promover el crecimiento, y una vez que el organismo crece, termina de conformar la glándula

digestiva y de constituir su maquinaria enzimática, los aportes nutricionales que otorgan los ensilados resulten insuficientes e ineficientes en el proceso de asimilación de nutrientes.

### VINCULACIÓN ENTRE LA CIENCIA BÁSICA Y SU APLICACIÓN PRÁCTICA

#### Cooperativa “Moluscos del Mayab”; un Caso de Éxito en el Cultivo Piloto Comercial del Pulpo Rojo

*La caridad es humillante porque  
se ejerce verticalmente y desde arriba;  
la solidaridad es horizontal  
e implica respeto mutuo*

*Eduardo Galenano.*

### *Sisal, pueblo de Mar. . .*

Sisal es un pueblo pequeño, pesquero por antonomasia, en sus calles a diario hay compra y venta de pulpo rojo, pescados frescos, camarones, y según la temporada, hasta pepino de mar y escasamente alguna langosta. Hay venta directa del pescador al habitante del pueblo o intercambio de los productos marinos por otros alimentos del mercado. En temporada de pesca de pulpo llegan comerciantes de varias partes de la República a comprar toneladas de pulpo rojo y pepino de mar para su comercio y exportación extensiva. A este temporal le sigue un lapso de veda que corre de Agosto al mes de Diciembre, durante este periodo, las actividades remuneradas se centran en la pesquería de otros animales marinos, en combinación con otras actividades productivas mediante oficios diversos, ya sea en la comunidad o en el poblado vecino.

En la región la pesca es artesanal, los saberes tradicionales se materializan en las actividades cotidianas; sus usos y costumbres son un reflejo del conocimiento de su medio a través de generaciones. Hay una división del trabajo, de manera común los hombres salen a pescar y las mujeres salen a vender los productos del mar que fueron colectados durante la jornada, guardando una parte para el consumo en casa; empero, aunque pocas, también hay mujeres que participan de las artes de pesca.

El pulpo maya es de los recursos más abundantes en la región, el más demandado y por lo tanto el más explotado, manteniendo su pesquería en el estrecho límite anterior al decaimiento de su población, en una amenaza tangible y constante, por ende, existe una imperiosa necesidad por disminuir las presiones de pesca con planes que contemplen la extracción sustentable del recurso sin comprometer a la especie, priorizando y anteponiendo su conservación.

El cultivo de pulpo en la península de Yucatán se plantea a largo plazo como una actividad complementaria a la pesca tradicional, en un equilibrio eco-social entre el medio y su biota, y las comunidades cuya supervivencia, desarrollo y cultura han

estado anclados profundamente al mar durante cientos de años. En 2005, se gesta el proyecto pulpo en el que la UNAM por medio de la UMDI (Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación) en Sisal, Yucatán, convoca a las mujeres a formar parte de un nuevo proyecto, una cooperativa que motivada por la conservación de la especie, su aprovechamiento sostenible y una alternativa a las actividades económicas de la región, da inicio a lo que años después se haría llamar “*Moluscos del Mayab S. A. de C. V.*”

### *La casa del pulpo maya*

Silvia Canul, Genny Uicab, Antonio Cob, Julio Sierra, Juana Maldonado y Luisa Yam, están a cargo de la cooperativa, cuyos recursos para infraestructura, desarrollo y mantenimiento provienen de apoyos federales, estatales y de la UNAM, vía los proyectos de investigación involucrados en las líneas de estudio de nutrición y acuicultura de pulpo en la UMDI.

La cooperativa está integrada por varias secciones, el área de reproducción en dónde se lleva a cabo la producción de huevos, producto de la cópula en cautiverio de reproductores silvestres, que después serán llevados a la sección de maduración para ser incubados durante el desarrollo embrionario; días después tiene lugar la eclosión, las crías emergen del huevo y son ubicadas en el área de pre-engorda, aquí se combina el alimento preparado con presas vivas de tamaño menor, como pequeños crustáceos. Finalmente pasan al área de engorda y una vez que alcanzan un peso entre 80 y 100 g son cosechados para ser comercializados como “pulpo baby”.



Área de maduración para la incubación, desarrollo embrionario y eclosión de las crías de *Octopus maya*.



Estanques exteriores del área de engorda.

El mantenimiento del cultivo implica la pesca de reproductores silvestres, la preparación y abastecimiento del alimento, la limpieza de estanques y reservorios, el pesaje periódico de los organismos cultivados y su monitoreo continuo para procurar la mayor sobrevivencia desde la obtención del huevo hasta el levantamiento de la cosecha. Estas tareas implican un trabajo arduo y constante en las que se involucran

los miembros de la cooperativa, su técnico Claudia Caamal, e Iván Hernández en mantenimiento de sistemas. El esfuerzo mayoritario recae directamente sobre las mujeres de la cooperativa, que dedican gran parte del día en todas las tareas necesarias para que el cultivo de pulpo hoy por hoy, sea una realidad en Sisal, de México para el mundo.

Moluscos del Mayab es la primera granja de pulpo baby a nivel mundial, las incubadoras usadas en su sistema de producción están patentadas a favor de la UNAM desde el año 2010.



Imagen superior: Huevos de pulpo en incubadora. Imagen inferior: Juvenil de pulpo de aproximadamente 5g de peso cultivado en la cooperativa



La gran mayoría de los pulpos baby que aquí se producen son destinados a la alimentación, unos pocos son solicitados a la cooperativa para acuarios de divulgación o particulares. El mercado más fuerte de ésta especie es el que involucra el ramo restaurantero, en México está prohibida la comercialización de pulpos juveniles silvestres, el pulpo baby, al ser producto de la acuicultura, puede consumirse como alimento exótico, esto le otorga un valor agregado que aporta una mejor ganancia en el mercado gourmet. El pulpo baby, es más pequeño no solo en tamaño, sino también en edad, tiene menor desarrollo muscular en los brazos, lo que se traduce en una carne más tierna y suave, una delicia al paladar que permite versatilidad en las formas de cocción y por ende, diversidad en los modos de prepararlo; un pulpo adulto necesariamente debe estar bien cocido para poderlo consumir, o la carne se torna dura y viscosa, un pulpo baby puede ser incluso encurtido. Cultivar pulpo baby es más rentable, la relación costo de producción-beneficio es mayor, se invierten menos recursos en criarlo porque es menos tiempo el que se cultiva y alcanza un precio más alto en el mercado.



Reproductor de *Octopus maya*

## *La Tripulación*

Carlos Rosas, Pedro Gallardo, Maite Mascaró, Cristina Pascual, y sus estudiantes, forman parte de la tripulación, aportando sus ideas, conocimiento, creatividad y continuo esfuerzo a la investigación del pulpo maya. En la UMDI hay un área experimental destinada a la investigación en ecología, fisiología, nutrición, acuicultura, inmunología y conducta de cefalópodos, la cooperativa se encuentra en una parte de esta área, de tal modo que se comparten algunos recursos entre la ciencia básica y el sector piloto productivo.



Área experimental del a UMDI Sisal destinada para la investigación en pulpo

En esta línea de investigación trabajan tesis de todos los grados, estudiantes de intercambio, servicios sociales, estancias de investigación y prácticas profesionales aportando conocimiento que pasa como una estafeta a la cooperativa y ahí se lleva a la práctica, logrando la vinculación de la ciencia básica y el sector productivo, en este caso a nivel piloto comercial, en un flujo de ideas bidireccional entre conocimiento y experiencia.

### *El ensamblaje del Lego*

La mancuerna beneficia a ambas partes, por un lado la cooperativa obtiene las herramientas y los fundamentos para poder llevar a cabo sus actividades de modo eficiente, al tiempo que los proyectos de investigación se nutren de la magnífica posibilidad de tener un mesocosmos en dónde observar cómo se comportan los fenómenos y variables analizadas, poniendo a prueba lo obtenido mediante la investigación, lo cual sirve de base para imaginar y prospectar el siguiente paso.

La dieta 70/30 desarrollada durante la presente investigación fue probada por las señoras de la cooperativa, los resultados no se hicieron esperar y el alimento funcionó con resultados superiores a los proyectados durante el cultivo experimental del pulpo rojo en la tesis, los organismos crecen más debido a condiciones como la formación de biofloc en estanques abiertos o semicerrados que al no tener las condiciones controladas que requiere un área experimental, se da por ejemplo, la formación de filamentos algales que sirven de refugio para los animales, disminuyendo el estrés entre ellos por el hecho de estar en contacto todo el tiempo, pues en el cultivo no son individualizados, la disminución del estrés implica un mayor crecimiento.

Cultivar pulpo podría, en un futuro muy ambicioso, disminuir la presión en la pesquería del recurso, permitiendo el reclutamiento a largo plazo impactando en menor grado su población; se ha pensado en la posibilidad de introducir organismos cultivados en el medio marino, sin embargo, aún no alcanza los niveles de rentabilidad para ello, y lo más importante, se requieren estudios rigurosos de la ecología de la especie, para modelar y pronosticar cuáles serían las repercusiones de esta actividad sobre las poblaciones de *O. maya*.

Hoy por hoy, pese a que ya se logró lo más importante que es el cultivo de la especie en cautiverio, el principal reto al que se enfrenta la cooperativa es la rentabilidad para generar ganancias que permitan la producción extensiva comercial, el crecimiento de

la cooperativa para poder involucrar a más personas en el proyecto y con ello tener una mayor incidencia en el sector social y biológico, ejes en los que el “kraken” sigue avanzando . . .

## Capítulo 5

---

### **DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES**

*Yo me multiplico incansablemente.  
estreno manos y bocas todos los días,  
cambio de piel, de ojos y de lengua,  
y me pongo un alma cada vez que es preciso*

*Jaime Sabines.*

## I.DISCUSIÓN GENERAL

Los presentes resultados de las evaluaciones de la condición nutricional de los juveniles cultivados aunado a los resultados obtenidos del análisis químico proximal en donde se exponen las propiedades químicas y nutritivas de los alimentos balanceados, permitieron determinar los intervalos de la composición química de las dietas con los cuales los organismos crecen y sobreviven mejor, con una buena condición nutricional. Estos rangos se han considerado como una aproximación a los requerimientos nutricionales de la especie y fueron establecidos a partir de las respuestas de *O. maya* obtenidas con las dietas 50:50, 40:60 y 70:30, calamar-jaiba, respectivamente.

El hecho de que el bloque de dietas conformado por los grupos 50/50, 60/40 y 70/30 se diferencian y separan del resto de los grupos permite hipotetizar que dentro de estos grupos de dietas es posible que se ubique el límite inferior de los requerimientos de la especie; es decir, la cantidad mínima de cada insumo que debe contener el alimento para cultivar el pulpo rojo. Esta hipótesis se basa en el hecho de que con estas mezclas los pulpos mostraron los mayores crecimientos y sobrevivencias. Así mismo los niveles de glucógeno y proteínas de la GD y el músculo sugieren que en esas condiciones se favorece la gluconeogénesis, vía metabólica esencial para el abastecimiento de energía en organismos que tienen un metabolismo proteico (Katsanevakis et al., 2005; Lee, 1994; Martinez et al., 2011a).

A continuación se muestran las tablas con los intervalos de humedad, proteína, lípidos y cenizas (Tabla 12), así como el balance de AA (Tabla 13) y AG (Tabla 14) que proponemos debe contener la dieta para *O. maya*

Tabla 12. Intervalos de requerimientos de macromoléculas para elaboración de dietas para cultivo de *O. maya*

Mezcla	HUMEDAD %	PROTEÍNA %	LIPIDOS %	CENIZAS %	TOTAL %	PROTEÍNA SOLUBLE mg/ml
C:j						
50:50:00	77.04	86.41	2.97	8.81	98.18	20
60:40:00	77.1	87.43	3.33	8.43	99.19	16
70:30:00	77.17	88.46	3.36	8.05	99.86	15

Tabla 13. Intervalo de requerimientos de aminoácidos en la dieta para cultivo de juven de *Octopus maya*.

Mezcla calamar : jaiba, %										
		50:50			60:40			70:30		
<b>AAE</b>	Asp	7.40	±	0.23	7.13	±	0.28	6.85	±	0.32
	His	1.59	±	0.06	1.51	±	0.07	1.42	±	0.08
	Thr	5.70	±	0.03	5.87	±	0.00	6.05	±	0.02
	Arg	4.76	±	0.54	4.44	±	0.43	4.13	±	0.32
	Val	2.79	±	0.04	2.67	±	0.05	2.56	±	0.05
	Met	2.48	±	0.02	2.47	±	0.02	2.47	±	0.02
	Lys	6.19	±	0.08	5.94	±	0.11	5.69	±	0.14
	Ile	2.89	±	0.01	2.76	±	0.02	2.62	±	0.03
	Leu	5.65	±	0.13	5.48	±	0.16	5.30	±	0.18
Phe	2.85	±	0.01	2.76	±	0.02	2.67	±	0.04	
<b>AAANE</b>	Ser	3.17	±	0.06	3.07	±	0.08	2.97	±	0.10
	Glu	11.41	±	0.52	11.05	±	0.59	10.70	±	0.67
	Gly	6.60	±	0.07	6.05	±	0.10	5.51	±	0.13
	Ala	4.96	±	0.20	4.78	±	0.21	4.60	±	0.23
	Cys		±			±			±	
	Pro	3.46	±	0.02	3.23	±	0.03	3.00	±	0.04
	Tyr	3.57	±	0.10	3.66	±	0.12	3.75	±	0.15
<b>TOTALES</b>										
	AAE	42.3			41.02			39.74		
	AAANE	33.16			31.84			30.52		

Tabla 14. Intervalo de requerimientos de ácidos grasos en la dieta para cultivo de juveniles tempranos de *Octopus maya*.

Saturación	AG	50:50:00	60:40:00	70:30:00
SATURADOS	C10:0	0.039	0.031	0.023
	C11:0	0.005	0.006	0.007
	C12:0	0.156	0.131	0.106
	C13:0	0.037	0.033	0.028
	C14:0	1.201	1.245	1.289
	C15:0	0.516	0.497	0.479
	C16:0	19.826	21.314	22.802
	C17:0	1.626	1.6	1.574
	C18:0	10.291	10.607	10.922
	C19:0	14.516	15.016	15.515
	C20:0	0.628	0.565	0.503
	C22:0	0.11	0.125	0.141
	C23:0	0.21	0.193	0.177
	C24:0	0.191	0.229	0.267
MONOINSATURADOS	C14:1	0.222	0.18	0.138
	C15:1	0.85	0.691	0.533
	C16:1	2.244	2.067	1.89
	C17:1	1.291	1.077	0.863
	C18:1n9c	8.31	7.263	6.216
	C20:1n9	4.16	4.911	5.663
	C22:1n9	0.053	0.064	0.074
	C24:1n9	0.004	0.005	0.006
PUFA	C18:2n6c	3.204	2.579	1.954
	C18:2n6t	0	0	0
	C18:3n6	0.038	0.031	0.023
	C18:3n3	1.05	0.901	0.752
	C20:2	0.463	0.413	0.362
	C20:3n6	0.101	0.08	0.06
	C20:3n3	0.096	0.115	0.134
	C22:2	0.096	0.116	0.135
HUFA	C20:4n6 (AA)	5.366	4.574	3.781
	C20:5n3 (EPA)	5.072	4.057	3.043
	C22:5n3	8.314	8.197	8.08
	C22:6n3 (DHA)	9.321	10.494	11.667
% Total AG		99.608	99.408	99.208
Saturados		49.353	51.593	53.833
Monoesteres		17.133	16.258	15.382
Poliinsaturados		5.048	4.235	3.421
HUFAS		28.073	27.322	26.571

A continuación se muestran las tablas con la comparación entre el límite inferior de los requerimientos nutricionales que planteamos para *Octopus maya*, es decir, la cantidad mínima de humedad, proteína, lípidos, cenizas (Tabla 15), AA y AG (Tabla 16 y 17 respectivamente) que debe ser incluida en la dieta, y los requerimientos que se han propuesto para otros cefalópodos (calamares y pulpos) con los que nuestra especie de estudio tiene similitudes biológicas.

Tabla 15. Límite inferior de los requerimientos de macromoléculas en la elaboración de dietas para cultivo de *O. maya* comparado con los requerimientos de otros cefalópodos.

	Humedad	Proteína	Lípidos	Cenizas
<i>Loligo pealeii</i> *	74.80	65.29	3.22	2.02
<i>Dosidicus</i> <i>gigas</i>	84.96	95.04	3.45	6.91
<i>Octopus</i> <i>vulgaris</i> **	79.40	72.70	8.10	9.74
<i>Octopus</i> <i>maya</i>	77.17	88.46	3.36	8.05

(\*Martínez, C., 1999), (\*\*García- Garrido et al.,2011).

En los trabajos realizados por Contreras, M., 1999, García- Garrido et al.,2011, Cerezo et al., Estefanell, J., 2013 con *Loligo pealeii* , *Octopus vulgaris* y *Loligo gahi*, *Octopus vulgaris* y *Todarodes sagittatus*, y *Octopus vulgaris*, respectivamente, se han propuesto los requerimientos nutricionales de las especies mencionadas.

Al comparar los requerimientos de estas especies de calamares y de pulpos observamos similitudes importantes en los perfiles de AA y de AG, así como en las macromoléculas (lípidos, proteína, minerales) con respecto a lo recomendado para *Octopus maya* en el presente trabajo de investigación. Los requerimientos nutricionales del pulpo rojo son consecuentes con los de otros cefalópodos, lo cual puede ser un indicador de que las propiedades químicas de la dieta (70/30, con el límite inferior de los requerimientos nutricionales del pulpo rojo) y su valor nutritivo son adecuadas para el cultivo de este organismo.

Tabla 16. Límite inferior de los requerimientos de aminoácidos en la dieta para cultivo de *Octopus maya* comparado con los requerimientos de otros cefalópodos. (\*Cerezo et al., 2011).

		<i>Todarodes sagittatus</i> *	<i>Dosidicus gigas</i>	<i>Octopus vulgaris</i> *	<i>Octopus maya</i>
<b>AAE</b>	Asp	10.24	6.268	10.2	6.846
	His	1.95	1.25	1.71	1.422
	Thr	4.48	7.194	3.76	6.045
	Arg	8.9	3.023	18.9	4.126
	Val	4.1	2.307	3.64	2.561
	Met	2.04	2.683	1.82	2.465
	Lys	7.35	5.236	7.25	5.691
	Ile	4.3	2.364	3.75	2.619
	Leu	7.66	5.107	6.43	5.298
	Phe	3.09	2.513	2.65	2.665
<b>AANE</b>	Ser	4.43	2.764	4.62	2.97
	Glu	14.5	10.02	14.24	10.7
	Gly	8.65	2.821	6.27	5.506
	Ala	6.35	3.875	5.1	4.597
	Cys	1.9		2.14	
	Pro	5.07	1.607	3.58	2.999
	Tyr	2.59	4.45	2.39	3.751

Tabla 17. Límite inferior de los requerimientos de ácidos grasos en la dieta para cultivo de *Octopus maya*. (\*\* Estefanell, J., 2013), (García- Garrido et al., 2011).

	<i>Loligo gahi</i> *	<i>Dosidicus gigas</i>	<i>Octopus vulgaris</i>	<i>Octopus maya</i>
			**	
<b>Saturados</b>	15.030	57.828	32.100	53.833
<b>Monoesteres</b>	5.490	14.173	29.700	15.382
<b>Poliinsaturados</b>	19.050	1.090	9.220	3.421
<b>HUFAS</b>	17.360	27.021	18.000	26.571
<b>n-3</b>	17.800	25.462	20.000	23.677
<b>n-6</b>	0.930	9.415	6.600	5.819
<b>PUFA n-3</b>	17.010	0.552	8.180	4.069
<b>PUFA n-6</b>	0.610	0.088	0.910	0.886
<b>n3 / n6</b>	19.139	2.704	3.030	2.038
<b>LA</b>	0.530	0.088	1.200	1.954
<b>AA</b>	0.610	1.558	10.600	3.781
<b>DHA</b>	11.100	16.875	11.600	11.667
<b>EPA</b>	5.910		5.400	3.043
<b>DHA / EPA</b>	1.878		2.148	3.834

En suma, la relevancia intrínseca de *Octopus maya* como especie, así como el impacto ecológico de las actividades pesqueras sobre sus poblaciones y los diversos sectores sociales que dependen directa o indirectamente de la explotación de este recurso marítimo, demandan de manera importante el desarrollo de su cultivo.

En acuicultura existe una lista muy grande de variables físicas, químicas y biológicas a considerar para poder cultivar una especie; la dieta es quizá el factor más crucial para tener éxito en el cultivo. Garantizar la sobrevivencia y el crecimiento con una buena condición nutricional del animal es un reto importante que se mantiene a lo largo de todo el proceso.

El alimento es un factor limitante, los altos costos de la dieta a base de presas vivas, prácticamente imposibilitan el cultivo en términos de rentabilidad; la relación costo-beneficio está determinada en gran medida por la cantidad de alimento que requiere ingerir la presa para satisfacer sus necesidades alimenticias y nutricionales, el costo *per se* de los insumos, el valor agregado en el proceso debido a la mano de obra para su elaboración y las horas de trabajo humano remunerado que se requieren. Todos estos puntos y muchos otros deben ser evaluados para determinar la viabilidad económica del cultivo de este organismo.

Los resultados obtenidos durante la presente investigación, ponderan al bloque 50/50, 60/40 y 70/30 como los grupos en los que pueden establecerse los requerimientos nutricionales de la especie; recapitulando los datos del análisis químico proximal, tasas y porcentajes de crecimiento y sobrevivencia durante el cultivo y la respuesta fisiológica a la dieta, se advierte que estas dietas otorgan los mejores elementos nutricionales para el cultivo del octópodo, sin mostrar diferencias estadísticas entre ellos, por lo que se sugiere sean establecidos como el intervalo de aproximación a los requerimientos nutricionales del pulpo rojo.

En consecuencia, disminuir en un 20 % la cantidad de carne de jaiba en el alimento impacta fuertemente en los costos de producción, con un mayor rango de ganancia en su comercialización.

## II. CONCLUSIONES GENERALES

Se ha sugerido una complementariedad a nivel aminoacídico y de ácidos grasos (AG) en el caso de las combinaciones a base de C-J (jaiba y calamar); de modo individual en ambos insumos se observan diferencias en aminoácidos (AA) y AG puntuales, que al combinarse en la dieta, las posibles deficiencias son amortiguadas y equilibradas cuando estas fuentes proteicas se encuentran juntas.

De acuerdo a lo observado estos organismos requieren cantidades bajas de lípidos en su alimentación, no obstante demandan ácidos grasos de alta calidad, los insumos marinos implementados en la elaboración de las dietas son ricos en PUFAS, esenciales para el buen funcionamiento del organismo.

Los ensilados son una fuente proteica alternativa de bajo costo que puede ser utilizada en la primera fase de cultivo (los primeros 30 días), en la que el organismo continúa aún el proceso de maduración del sistema digestivo por lo que sus demandas nutritivas pueden ser cubiertas con la energía y nutrientes que para esta etapa en particular aporta el ensilado. De los dos ensilados utilizados recomendamos el uso del ensilado 1, pese a que cotejado con el E2, este contiene menos proteína y más cenizas, al ser combinado con carne de calamar en una proporción 1:1, la dieta resultante presenta una adecuada cantidad tanto de proteína como de cenizas. El ensilado 2 muestra un escaso contenido de PUFAS, por ello se propone el uso del E1 procurando un insumo de mejor calidad.

El metabolismo de *Octopus maya* es altamente proteico, la movilización de estas biomoléculas otorga la energía y sustratos para mantener todas sus funciones durante el ciclo vital, las dietas experimentales son ricas en proteínas de alta calidad que modulan la respuesta en la condición fisiológica del organismo. La cantidad de proteína y glucosa en la glándula digestiva (GD) y la concentración de glucógeno en GD y músculo son fuertes indicadores de la condición nutricional del pulpo.

La dieta desarrollada en este trabajo fue probada a nivel piloto comercial por los miembros de la Cooperativa Moluscos del Mayab S. A. de C. V. con resultados de crecimiento superiores a los obtenidos en este trabajo en cultivo experimental.

Observando las respuestas a nivel bioquímico y fisiológico de los juveniles cultivados de *O. maya* encontramos que en general el bloque compuesto por los tratamientos 50/50, 60/40 y 70/30 involucró los valores más altos de crecimiento, sobrevivencia y mejor condición nutricional, sin diferencias significativas entre ellas. Los resultados obtenidos en la presente investigación permiten establecer un intervalo en el que se ubican los requerimientos nutricionales de *Octopus maya*, tomando esto como punto de partida es posible enriquecer la dieta o buscar fuentes proteicas alternativas de bajo costo con características nutritivas similares, permitiendo la viabilidad económica del cultivo.

Una dieta a base de jaiba y calamar en un 30 y 70% respectivamente puede ser considerada como un alimento que satisface los requerimientos nutricionales de la especie; la dieta obtenida se encuentra en proceso de patente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguado-Giménez,F., García-García,B., 2003. Growth and food intake models in *Octopusvulgaris* Cuvier (1797): influence of body weight, temperature, sex and diet. *Aquaculture International* 10, 361-377.

Aguila,J., Cuzon,G., Pascual,C., Domingues,P., Gaxiola,G., Sánchez,A., Maldonado,T.,Rosas,C., 2007a. The effects of fish hydrolysate (CPSP) level on *Octopus maya* (Voss and Solis) diet: Digestive enzyme activity, blood metabolites, and energy balance. *Aquaculture* 273, 641-655.

Aguila,J., Cuzon,G., Pascual,C., Domingues,P.M., Gaxiola,G., Sánchez,A., Maldonado,T., Rosas,C., 2007b. Effect of dietary protein level on digestive capacity and energy balance of *Octopus maya* (Voss and Solis). *Aquaculture Nutrition* In press.

Akagi, S., Ohmori, S., 2004. Threonine is the best substrate for D-lactate formation in octopus tentacle. *Amino Acids* 26 169-174.

Almansa, E., Cejas, M.J., Badía, P., Villamandos, J.R., Lorenzo, A., 1999. Influence of broodstock gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) dietary fatty acids on egg quality and egg fatty acid composition throughout the spawning season. *Aquaculture* 170, 323-336.

Anzaldúa, A. 1994. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y práctica. Ed. Acribia. Zaragoza.198 p.

Areche,N; Z. Berenz; G. León. 1992. Desarrollo de ensilado de residuo de pescado utilizando bacterias lácticas de yogurt en engorde. En: Segunda Consulta de Expertos sobre Tecnología de Productos Pesqueros en América Latina. 11-15 de diciembre de 1989. Informe de Pesca. FAO. Roma. 441: 51-63.

Arts, M.T., Ackman, R.G. and Holub, B.J., 2001. Essential fatty acids. In: Aquatic ecosystems. A crucial link between diet and human health and evolution. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 58, 122-137.

Ávalos, C. M. 2006. Digestibilidad ileal estandarizada de la proteína y aminoácidos del sorgo en lechones recién destetados y cerdos en crecimiento. Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. 67p.

Avdalov N; N. Barlocco; R. Bauza; E. Bertullo; C. Corengia; L. Giacommeti; A. Panucio. 1992. Evaluación del ensilado biológico de pescado en la alimentación de cerdos en engorde. En: Segunda Consulta de Expertos sobre Tecnología de Productos Pesqueros en América Latina. 11-15 de Diciembre de 1989. Informe de Pesca. FAO. Roma. 441: 88-98.

AOAC. 2000. Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemistry. Washington, USA, pp. 1018.

Ballantyne J. S., Hochachka P. W., Mommsen T. P. 1981. Studies on the metabolism of the migratory squid, *Loligo opalescens*: enzymes of tissues and heart mitochondria. Mar. Biol. Letts. 2, 75-85.

Berenz, Z. 1998. Ensilado de residuos de pescado. En: Procesamiento de Ensilado de Pescado. XIV Curso Internacional de Tecnología de Procesamiento de Productos Pesqueros. 7 de Enero-27 de Febrero. ITP-JICA. Callao. p 18-70.

Best, E. H. M. 1981. Aspects of the digestive system and its control in *Octopus vulgaris*. Ph. D. Thesis, Cambridge University, England.

Bidder, A. M. 1966. Feeding and digestion in cephalopods. In: Wilbur, K. M., Young, C. M. (Ed.), Physiology of Mollusca, vol. 2, Academic Press, New York & London, pp. 97-124.

Blackburn, S. W., Sauer, H. H., Lipinski, M. R. 1998. The embryonic development of the chokka squid *Loligo vulgaris reynaudii* d'Orbigny 1845. *The Veliger* 41, 249-258.

Boletzky, S. V., Hanlon, R. T. 1983. A review of the laboratory maintenance, rearing and culture of cephalopod molluscs. *Memoirs of the National Museum of Victoria*, 44, 147-187.

Boletzky, S. V. 1974. The "larvae" of Cephalopoda: A review. *Thalassia jugoslavica*, 10(1/2), 45-76.

Boucaud-Camou, E., 1973. Etude de l'appareil digestif de *Sepia officinalis* L (Mollusque Céphalopode). Essai d'analyse expérimentale des phénomènes digestifs. Thèse doc. Sci. Nat., Université de Caen. 208pp.

Boucaud-Camou, E., Yim, M., Tregots, A., 1985. Feeding and digestion of young *Sepia officinalis* L. (Mollusca: Cephalopoda) during post hatching development. *Vie Milieu* 35, 263-266.

Boucher-Rodoni, R., Boucaud-Camou, E., Mangold, K., 1987. Feeding and digestion. *Cephalopod life cycles* Vol. II, 85-108. Academic Press.

Briseño, F.A. 2009. Moguel, C.G. 2008. Análisis de la variabilidad intraespecífica durante la fase exponencial del crecimiento de los juveniles de *Octopus maya* a través de los modelos de crecimiento, marcadores moleculares y balance de energía. Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. 123p.

Calva, F.R. 2010. Caracterización histológica del aparato reproductivo de juveniles cultivados de *Octopus maya* (Molusca; Cephalopoda). Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. 68 p.

Canseco, L. G. 2007. Concentracion de aminoacidos libres en plasma y musculo en animales nutridos y desnutridos. Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. 51 p.

Castro,B., 1991. Can *Sepia officinalis* L. Be reared on artificial food? Mar. Behav. Physiol. 19, 35-38.

Castro,B., DiMarco,F.P., DeRusha,R., Lee,P.G., 1993. The effects of surimi and pelleted diets on the laboratory survival, growth and feeding rate of the cuttlefish *Sepia officinalis*. J. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 170, 241-252.

Castro,B., Lee,P.G., 1994. The effects of semi-purified diets on growth and condition of *Sepia officinalis* L. (Mollusca: Cephalopoda). Comp. Biochem. Physiol. 109A , 1007-1016.

Cerezo-Valverde, J., Hernández, M.D., Aguado-Giménez, F., Morillo-Velarde, P.S., García-García, B., 2012. Performance of formulated diets with different level of lipids and glutamate supplementation in *Octopus vulgaris*. Aquaculture Research In press, doi:10.1111/j.1365-2109.2012.03201.x.

Chávez , T.M. 2009. Estudio de la composición de ácidos grasos insaturados (oleico, linoleico y linolénico) en aceites de oliva extra virgen de venta en el mercado mexicano, por cromatografía de gases. . Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. 97 p.

Córdova-Murueta,J., Garcia-Carreno,F.L., 2002. Nutritive value of squid and hydrolyzed protein supplement in shrimp feed. Aquaculture 210, 371-384.

Correa, H. 1994. Determinación de la digestibilidad de insumos energéticos proteicos y fibrosos en cuyes. Tesis Bachillerato. Facultad de Zootecnia. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima. 61 p.

Domingues,P., 1999. Development of alternative diets for the mass culture of the European cuttlefish *Sepia officinalis*. University of the Algarve, Portugal, pp. 1-95.

Domingues, P.M., Kingston, T., Sykes, A., and Andrade, J.P., 2001a. Growth of Young cuttlefish, *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758) at the upper end of the biological distribution temperature range. *Aquacult. Res.* 32, 923-930.

Domingues, P.M., T., Sykes, A., and Andrade, J.P., 2001b. The use of artemia or mysids as food for hatchlings of the cuttlefish *Sepia officinalis* Linnaeus, 1758; effects on growth and survival throughout the life cycle. *Aquacult. Int.* 9, 319-331.

Domingues, P.M., T., Sykes, A., and Andrade, J.P., 2002. The effects of temperature in the life cycle of two consecutive generations of the cuttlefish *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758), cultured in the Algarve (South Portugal). *Aquacult. Int.* 10, 207- 220.

Domingues,P., Sykes,A., Sommerfield,A., Almansa,E., Lorenzo,A., Andrade,P., 2004. Growth and survival of cuttlefish, *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758) of different ages fed crustaceans and fish. Effects of frozen and live prey. *Aquaculture* 229, 239-254.

Domingues,P., DiMarco,F.P., Andrade,J.P., Lee,P.G., 2005. Effect of artificial diets on growth, survival and condition of adult cuttlefish, *Sepia officinalis* Linnaeus, 1758. *Aquaculture International* 13, 423-440.

Domingues,P., López,N., Muñoz,J.A., Maldonado,T., Gaxiola,G., Rosas,C., 2007. Effects of an artificial diet on growth and survival of the Yucatan octopus, *Octopus maya*. *Aquaculture Nutrition* 13, 1-9.

Ensminger, M.E; C.G. Olentine. 1978. Feeds and nutrition. The Ensminger Publishing Company. California. 682 p.

Espe, M., Raa, J., Njaa, L. R., 1989. Nutritional value of stored fish silage as a protein source for young rats. J. Sci. Food Agric. 49, 259–270.

Ezquerro, J.M., Garcia-Carreno, F.L., Carrillo, O., 1998. In vitro digestibility of dietary protein sources for white shrimp (*Penaeus vannamei*). Aquaculture 163(1-2), 123-136.

Fagbenro, A. O., Bello-Olusoji, A. O., 1997. Preparation, nutrient composition and digestibility of fermented shrimp head silage. Food Chem. 60, 489-493.

Florkin, M., Bricteux-Grégoire, S., 1972. Nitrogen metabolism in mollusks. In: Florkin, M., Scheer, B. T. (Eds.), Chemical Zoology, Mollusca, vol. 7, Academic Press, London, pp. 301-348.

Forsythe, J.W., Hanlon, R.T., 1980. A closed marine culture system for rearing *Octopus joubini* and other large-egged benthic octopods. Laboratory Animals 14, 137-142.

Forsythe, J. W. 1981. A study on the growth of *Octopus joubini* Robson, 1929 reared in controlled closed seawater systems. M. Sc. Thesis, Texas A&M University, College Station, Texas, 79 p.

Forsythe, J. W. and Van Heukelen, W.F. 1987. Growth. In: Boyle, P.R. (Ed.), Cephalopod Life Cycles. Vol. II. Academic Press, London, Pp: 135-156.

García-García, B., Aguado-Giménez, F., 2002. Influence of diet on growing and nutrient utilization in the common octopus (*Octopus vulgaris*). Aquaculture 211, 173-184. 74

García-Garrido, S., Domingues, P., Navarro, J.C., Hachero-Cruzado, I., Garrido, D., Rosas, C., 2011. Growth, partial energy balance, mantle and digestive gland lipid composition of *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) fed with two artificial diets. *Aquaculture Nutrition* 17, e174-e187.

García-Garrido, S., *et al.*, 2011. Effects of fish hydrolyzate (CPSP) on growth and digestive gland lipid composition of *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) juveniles. *Aquaculture Nutrition*, 17e.

Giménez, F.A., Garcia, E., 2002. Growth and food intake models in *Octopus vulgaris* Cuvier (1797): Influence of body weight, temperature, sex and diet. *Aquaculture International* 10, 361-377.

Gomi, F., Yamamoto, M., Nakazawa, T., 1986. Swelling of egg during development of cuttlefish *Sepia japonica*. *Zoological Science* 3, 641-645.

Guerra, A. 1978. Sobre la alimentación y comportamiento alimentario de *Octopus vulgaris*. *Investigación Pesquera*, 42, 351-364.

Guevara, P.J. 2011. Comparación del efecto de dos aceites empleados en dieta para gallinas sobre el contenido de lípidos y ácidos grasos del huevo durante el primer ciclo de postura. Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. 62.p

Hanlon, R.T., Forsythe, J.W., 1985a. Advances in the laboratory culture of Octopuses for biomedical research. *Laboratory Animal Science* 35(33), 40.

Hanlon, R.T., Forsythe, W., 1985b. Advances in the laboratory culture of octopuses for biomedical research. *Lab. Anim. Sci.* 35, 33-40.

Hochachka PW, Moon TW, Mustafa T. and Storey KB. 1975. Metabolic sources of

Power for mantle muscle of a fast swimming squid. *Comp. Biochem. Physiol.* 52B, 151-158.

Houlihan DF, McMillan DN, Agnisola C, Genoio IT, Foti L. 1990. Protein synthesis and growth in *Octopus vulgaris*. *Mar. Biol.*, 106, 251-259. Iwasaki M, Harada R. 1985. Proximate and amino acid composition of the roe and muscle of selected marine species. *J. Food Sci.* 1585 (50).

Katsanevakis, S., Stephanopoulou, S., Miliou, H., Moraitou-Apostolopoulou, M., Verriopoulos, G., 2005. Oxygen consumption and ammonia excretion of *Octopus vulgaris* (Cephalopoda) in relation to body mass and temperature. *Marine Biology* 146, 725-732.

Koueta,N., Alorend,E., Noël,B., Boucaud-Camou,E., 2006. Earlier acceptance of frozen prey by juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* in experimental rearing: effect of previous enriched natural diet. *Vie et Millieu* 56, 147-152.

Koueta,N., Boucaud-Camou,E., Noel,B., 2002. Effect of enriched natural diets on survival and growth of juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* L. *Aquaculture* 203, 293-310.

Lee,P.G., Forsythe,J.W., DiMarco,F.P., DeRusha,R., Hanlon,R.T., 1991. Initial palatability and growth trials on pelleted diets for cephalopods. *Bull. mar. Sci.* 49, 362-372.

Lee,P.G., 1994. Nutrition of cephalopods: fueling the system. *Mar. Freshw. Behav. Physiol.* 25, 35-51.

Lee P.G., Turk P.E., Forsythe J.W. and DiMarco, F.P., 1998. Cephalopod Culture: Physiological, Behavioral and Environmental requirements. *Suisan Zoshoku* 46(3), 417-422.

Lessi E; A. Ximenes; H. Lupin. 1992. Obtención de ensilado biológico de pescado. En: Segunda Consulta de Expertos sobre Tecnología de Productos Pesqueros en la América Latina. 11-15 de diciembre de 1989. Informe de Pesca. FAO. Roma. 441: 64-65.

López-Ripoll, E. 2010. Descripción del desarrollo y el efecto de la alimentación en la estructura de la glándula digestiva de juveniles tempranos de *Octopus maya* (Mollusca: Cephalopoda) Voss y Solís-Ramírez, 1966. Tesis Profesional. Universidad de Bogotá Jorge Taedo Lozano. 84p.

López, R.E. 2006. Concentración de colesterol y ácidos grasos omega 3 en el huevo de gallinas alimentadas con algas marinas y aceite de pescado. Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. 109 p.

Mangold K., 1983. Food, feeding and growth in cephalopods. *Memoirs of the National Museum Victoria* 44, 81-93.

Martínez, C. T. M. 1999. Evaluación del crecimiento de juveniles del bagre de canal (*Ictaurus punctatus*) alimentado con desechos del procesamiento de calamar. Tesis profesional. Universidad de Colima, Facultad de Ciencias Marinas. México. 97p.

Martínez, R., 2010. Bioquímica digestiva, cinética celular y fisiología energética de *Octopus maya* (Voss y Solís, 1966). Universidad Autónoma de Yucatán, 1-215.

Martínez, R., López-Ripoll, E., Avila-Poveda, O., Santos-Ricalde, R., Mascaró, M., Rosas, C., 2011a. Cytological ontogeny of the digestive gland in post-hatching *Octopus maya*, and cytological background of digestion in juveniles. *Aquatic Biology* 11, 249-261.

Martínez, R., Santos, R., Álvarez, A., Cuzon, G., Arena, L., Mascaró, M., Pascual, C., Rosas, C., 2011b. Partial characterization of hepatopancreatic and extracellular digestive

proteinases of wild and cultivated *Octopus maya* *Aquaculture International* 19, 445-457.

Martínez, R., Santos, R., Mascaró, M., Canseco, L., Caamal-Monsreal, C., Rosas, C., 2011. Digestive dynamics during chyme formation of *Octopus maya* (Mollusca, Cephalopoda). *Aquaculture Research* doi:10.1111/j.1365-2109.2011.02915.x.

Michel, B. J. 2008. Tolerancia térmica en los juveniles tempranos del pulpo rojo *Octopus maya* y su efecto sobre el crecimiento. Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. 69 p.

Miliou, H., Fintikaki, M., Kountouris, T., Verriopoulos, G., 2005. Combined effects of temperature and body weight on growth and protein utilization of the common octopus *Octopus vulgaris*. *Aquaculture* 249, 245-256.

Moguel, C.G. 2008. Efecto de una dieta artificial en la fisiología digestiva y el crecimiento de juveniles tempranos de *Octopus maya* (Voss y Solis). Tesis Profesional. Universidad Autónoma de Yucatán. 90 p.

Moguel, C. Mascaró, M. Ávila-Poveda O., Caamal-Monsreal C., Sanchez, A. Pascual, C. Rosas, C. 2010. Morphological, physiological and behavioral changes during post-hatchling development of *Octopus maya* (Mollusca: Cephalopoda) with special focus on the digestive system. *Aquatic Biology* 9:35-48.

Moltschaniwskyj, N., Johnston, D., 2006. Evidence that lipid can be digested by the dumpling squid *Euprymna tasmanica*, but is not stored in the digestive gland. *Marine Biology* 149, 565-572.

Nash, D.M., Eaton, C.A. and Crewe, N.F., 1978. Lipid classes and fatty acid composition of squid (*Illex illecebrosus*). Technical Report of the Fisheries and Marine Service of Canada. 8 p.

National Research Council. NRC. 1995. Nutrient Requirements of Laboratory Animals. 4ta ed. National Academy Press. Washington D C. p 103-124.

Navarro, J.C. and Villanueva, R., 2000. Lipid and fatty acid composition of early stages of cephalopods: an approach to their lipid requirements. *Aquaculture* 183, 161-177.

Navarro, J.C., Villanueva, R., 2003. The fatty acid composition of *Octopus vulgaris* paralarvae reared with live and inert food: deviation from their natural fatty acid profile. *Aquaculture* 219, 613-631.

Noyola, R. J. 2011. Efecto de la temperatura de aclimatación en la capacidad térmica y el balance energético de juveniles tempranos de *Octopus maya* (Voss y Solís). Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de Yucatán. 37p.

O'Dor, R.K. and Wells, M.J. 1987. Energy and nutrient flow. In: *Cephalopod life cycles* (Boyle, P.R. ed) Vol 2, 109-133. Academic Press, London.

Okutani, T. 1990. Squids, cuttlefish and octopuses. *Mar. Behav. Physiol.* 18, 1-17. Van Heukelen, W.F. 1983. *Octopus maya* In: Boyle, P.R. (Ed.), *Cephalopod Life Cycles*. Vol. I. Academic Press, London, pp: 311-323.

Ottati, G.; R. Bello 1992. Ensilado microbiano de pescado en la alimentación porcina. I. Valor nutritivo del producto en dietas para cerdos. En: Segunda Consulta de Expertos sobre Tecnología de Productos Pesqueros en América Latina. 11-15 de Diciembre de 1989. Informe de pesca. FAO. Roma. 441: 69-79.

Pérez, M.C., López, D.A., Aguila, K., González, M.L., 2006. Feeding and growth in captivity of the octopus *Enteroctopus megalocyathus*. *Aquac Research* 37, 550-555.

Perrin, A. 2002. Etude expérimentale des capacités digestives chez la seiche, *Sepia officinalis* L. (Mollusque, Cephalopode): Impact de l'alimentation, indice de condition nutritionnelle et formulation d'un aliment artificiel. Thèse Dr. Université de Caen. 152 p.

Petza, D., Katsanevakis, S., Verriopoulos, G., 2006. Experimental evaluation of the energy balance in *Octopus vulgaris*, fed *ad libitum* on a high-lipid diet. *Mar. Biol.* 148, 827- 832.

Portela, R.E. 2011. Caracterización de la conducta selectiva de alimentación en juveniles del pulpo rojo *Octopus maya*. Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. 73 p.

Quintana, D., Rosas, C., Moreno-Villegas, E., 2011. Relationship between nutritional and rearing parameters of *Octopus maya* juveniles fed different rations of crab paste. *Aquaculture Nutrition* 17e, 379-388.

Reyes, G. 1997. Evaluación de algunos parámetros que afectan la obtención del ensilado microbiano de pescado. En: Trabajos técnicos. Resumen. ITP. Lima. p 81-84.

Rosas-Vázquez, C. 2005. Bases biológicas para el cultivo del pulpo *Octopus maya*. Informe Técnico. Fortalecimiento de la operación e infraestructura para la reproducción de especies cultivables. Fondo de Fomento Agropecuario del Estado de Yucatán. Universidad Nacional Autónoma de México. Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación. Facultad de Ciencias. pp. 36.

Rosas, C., Caamal C., et al. 2006. Manual preliminar para el cultivo del pulpo *Octopus maya*. UNAM

Rosas,C., Cuzon,G., Pascual,C., Gaxiola,G., López,N., Maldonado,T., Domingues,P., 2007. Energy balance of *Octopus maya* fed crab and artificial diet. Marine Biology 152, 371-378. 76

Rosas, C., Tut, J., Baeza, J., Sánchez, A., Sosa, V., Pascual, C., Arena, L., Domingues, P. y Cuzon, G. 2008. Effect of type of binder on growth, digestibility, and energetic balance of *Octopus maya*. Aquaculture 275, 291–297 p.

Rosas, C., Sanchez, A., Pascual, C., Aguila y Elvira, J., Maldonado, T., Domingues, P., 2011. Effects of two dietary protein levels on energy balance and digestive capacity of *Octopus maya* Aquacult Int. 19, 165-180.

Rosas, C., Valero, A., Caamal-Monsreal, C., Uriarte, I., Farias, A., Gallardo, P., Sánchez, A., Domingues, P., 2012. Effects of dietary protein sources on growth, survival and digestive capacity of *Octopus maya* juveniles (Mollusca: Cephalopoda). Aquaculture Research in press, doi:10.1111/j.1365-2109.2012.03107.x.

Portela, R.E. 2011. Caracterización de la conducta selectiva de alimentación en juveniles del pulpo rojo *Octopus maya*. Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. 73 p.

Ruiz, M. E., 2007. Elaboración y evaluación nutrimental de un ensilado de pescado diablo( *Hypostomus plecostomus* ) . Tesis profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. 87 p.

Santamaria, L. R. 2000. Efecto del contenido de taninos en el grano de sorgo sobre la digestibilidad de la energia, proteina, aminoacidos y energia metabolizable verdadera

corregida por nitrogeno en aves. Tesis Posgrado. Universidad Nacional Autónoma de México. 79 p.

Santé-Lhoutellier, V., Astruct, T., Marinova, P., Greve, E., Gatellier, P., 2008. Effect of meat cooking on physicochemical state and in vitro digestibility of myofibrillar proteins. *J.Agric.Food.Chem.* 56, 1488-1494.

Sargent, J.R., Bell, M.B., Bell, J.G. Henderson, R.J., Tocher, D.R., 1995. Origins and function of n-3 polyunsaturated fatty acids in marine organisms. In: *Phospholipids: characterizations, metabolism and novel biochemical applications*. American Oil Chemical associations Press, Champaign, IL., USA, 248-259.

Solis,M., 1997. The *Octopus maya* fishery of the Yucatán Peninsula. The Fishery and Market Potential of Octopus in California, *CMSC* 10, 1-10.

Solís-Ramírez, M. J. 1967. Aspectos biológicos del pulpo *Octopus maya* Voss y Solís. *Inst. Nal. de Invest. Biol. Pesq. México*, D. F. Public. Núm. 18.

Solís-Ramírez, M. J. 1962. Contribución al estudio del pulpo (*Octopus vulgaris*, Lamarck) de la Sonda de Campeche. *Trab. Divulg.* vol. 3 (24), 1-36.

Solís-Ramírez, M. J., Chávez, E. A. 1986. Evaluación y régimen óptimo de pesca del pulpo de la península de Yucatán. *An. Inst. Cienc. Mar y Limnol. UNAM.* vol. 13 (3),1-18.

Solís-Ramírez, M. J. 1994. La pesquería del pulpo del Golfo de México y Caribe Mexicano. En: *Atlas Pesquero y Pesquerías Relevantes de México*. C. D. Multimedia. Secretaría de Pesca, INP. CENEDIC. Univ. de Colima, México.

Storey, K. B., Storey, J. M. 1978. Energy metabolism in the mantle muscle of the squid *Loligo pealei*. J. Comp. Physiol. 123B, 311-319.

Storey, K. B., Storey, J. M. 1983. Carbohydrate metabolism in cephalopod molluscs. In: Hochachka, P. W. (Ed.), The Mollusca. Metabolic Biochemistry and Molecular Biomechanics, vol. 1, Academic Press, New York, pp. 91-136.

Tacon, A. G. J. 1994. Feed ingredients for carnivorous fish species: Alternatives to fishmeal and other fishery resources. FAO Fisheries Circular No. 881. FAO, Rome, Italy. pp. 35.

Takahashi, T. 1960. Biochemical studies on the viscera of cuttlefish, *Omastrephes sloani pacificus*. III. Nippon Suisan Gakkaishi. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 26, 500-507.

Takahashi, T. 1963. Studies on the viscera enzymes of cuttlefish *Omastrephes sloani pacificus*. J. Fac. Fish. Prefect. Univ. Mie. 5, 384-411.

Tinoco, M. C. 2009. Identificación y cuantificación de diferentes aminoácidos por cromatografía de gases capilar. Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. 74 p.

Tatterson, I. N. 1982. Fish silage-preparation, properties and uses. Anim. Feed Sci. Technol. 7, 153-159.

Valero, J.A. 2009. Efecto del tipo de alimento en el crecimiento y la actividad de las enzimas digestivas de juveniles cultivados de *Octopus maya* (Voss y Solis). Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. 84 p.

Van Heukelen, W.F., 1976. Growth, bioenergetics and life span of *Octopus cyanea* and *Octopus maya*. Univ. Hawaii, pp. 1-224.

Van Heukelen,W.F., 1977. Laboratory maintenance, breeding , rearing and biomedical research potential of the Yucatan octopus (*Octopus maya*). Lab. Anim. Sci. 27, 852-859.

Vaz-Pires,P., Seixas,P., Barbosa,A., 2004. Aquaculture potential of the common octopus *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797): a review. Aquaculture 238, 221-238.

Vecchione, M. 1991. A method for examining the structure and contents of the digestive tract in paralarvas squids. Bull. Mar. Sci. 49, 300-308.

Vidal, E., DiMarco, P., Wormuth, J.H. and Lee, P.G. 2002. Influence of temperature and food availability on survival, growth, and yolk utilization in hatchling squid. Bulletin of Marine Science 71 (2):915-931

Villanueva, R., Koueta, N., Riba, J., Boucaud-Camou, E., 2002. Growth and proteolytic activity of *Octopus vulgaris* paralarvae with different food uptakes during first feeding using *Artemia nauplii* and compound diets. Aquaculture 205, 269– 286.

Villanueva,R., Riba,J., Ruíz-Capillas,C., González,A.V., Baeta,M., 2004. Aminoacid composition of early stages of cephalopods and effects of amino acid dietary treatments on *Octopus vulgaris* paralarvae. Aquaculture 242, 455-478.

Vizcarra-Magaña, L. A., Ávila, E. Sotelo, A. 1999. Silage preparation from tuna fish wastes and its nutritional evaluation in broilers. J. Sci. Food and Agricult. 79, 1915 1922.

Voet Donald y Judith; Bioquímica; editorial Omega; Barcelona 1992;pp 704-711

Voss, G.L. & Solís, M.1966. *Octopus maya*, a new species from the bay of Campeche, Mexico. Bulletin of Marine Science. 6(3): 615-625

Wells, M.J., Wells, j., 1959. Hormonal control of sexual maturity in *Octopus*. Exp. Biol. 36, 1 - 36.

Wells. M.J.& Clarke, A.1996. Energetics: The cost of living and reproducing for an individual cephalopod. Philosophical Transactions: Biological Sciences . 351(1343):1083-1104

Wodinsky, J. 1977. Hormonal inhibition of feeding and death in Octopus: Control by optic gland secretion. Science, 198, 948-951.

Zuñiga R. O., Olivares, P. A., Ossandón, R. 1995. Influencia de la luz en la maduración sexual de hembras de *Octopus mimus* (Abstract). Estud. Oceanol.