

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EFFECTO DE ALIMENTOS SECADOS A DIFERENTES TEMPERATURAS  
SOBRE EL CRECIMIENTO, ENZIMAS DIGESTIVAS Y RESERVAS  
NUTRITIVAS DE CRÍAS POST-ECLOSIÓN DEL PULPO ROJO *OCTOPUS*  
*MAYA*

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO  
ZOOTECNISTA

PRESENTA

NÚÑEZ PACHECO JIMENA

Asesores:

Dr. Pedro Pablo Gallardo Espinosa

MC. Fernando Yahir García Gómez



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.

## **DEDICATORIA**

A Norma Pacheco Villaldama y Eduardo Núñez Castañeda, mis padres, el motor de cada una de mis decisiones, la voz de la sabiduría y el abrazo cálido que siempre me recibe en todo momento, a ustedes por existir en mi vida.

A Armando Núñez Pacheco, por abrirme las alas y aventarme a volar en cada etapa de mi vida, mi hermano, mi timón.

A Celia Villaldama Martínez, siendo la raíz principal de los grandes logros, mi ejemplo y por decidir acompañarme en cada aventura que se avecina, gracias por ser mi guía e iluminar mi camino.

A mi familia anexa, María, por resistir desde el inicio hasta el final de este camino, eres grande.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al doctor Pedro Pablo Gallardo Espinosa, por darme la oportunidad de formar parte de su equipo y la gran admiración que forjo en mí, por la dedicación, paciencia y sabiduría al mar y la ciencia.

Al maestro Fernando Yahir García Gómez, por alentarme y su motivación a desarrollar metas.

Al personal, maestros, doctores e investigadores de la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación, Sisal, por brindarme todo el conocimiento y amor por la ciencia, gracias por la oportunidad de pertenecer a ustedes, por su paciencia y dedicación.

A la más grande casa de estudios, la Universidad Nacional Autónoma de México por forjar en mí todo el conocimiento, habilidades y oportunidades que me ha brindado, por no soltarme y permitirme iniciar un camino interminable con la ciencia y el mar, mi más grande sueño.

Agradecimientos

Esta tesis fue parcialmente financiada a través del proyecto PAPIIT IT201117 bajo la responsabilidad del Dr. Pedro Pablo Gallardo Espinosa.

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN .....	1
INTRODUCCIÓN .....	3
ANTECEDENTES .....	6
Características generales del pulpo rojo ( <i>O. maya</i> ) .....	6
Hábitat y distribución .....	6
Alimentación .....	6
Ciclo de vida .....	7
JUSTIFICACIÓN .....	8
HIPÓTESIS .....	10
OBJETIVOS .....	11
Objetivo general .....	11
Objetivos específicos .....	11
MATERIALES Y MÉTODOS .....	12
Origen de los organismos .....	12
Diseño experimental .....	12
Dispositivo experimental .....	13
Formulación y elaboración de dietas .....	13
INDICADORES ZOOTECNICOS .....	15
Crecimiento y Supervivencia. ....	15
Tasa de Ingestión .....	15
INDICADORES BIOQUÍMICOS .....	17
Actividad Enzimática .....	17
Proteasas Ácidas .....	17
Proteasas Alcalinas .....	17
Reservas nutritivas en glándula digestiva .....	17
Proteína total .....	18
Acilglicéridos .....	18
Glucosa .....	18
Glucógeno .....	18
ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	19
RESULTADOS .....	20
Parámetros fisicoquímicos durante el cultivo experimental. ....	20

Crecimiento, Tasa específica de crecimiento e Índice de rendimiento. ....	20
Sobrevivencia .....	21
Tasa de ingestión .....	22
Actividad enzimática .....	23
Metabolitos y sustancias de reserva .....	24
DISCUSIÓN .....	26
CONCLUSIONES. ....	30
LITERATURA CITADA .....	30

## RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó la aceptación y el efecto de alimentos peletizados secados a diferentes temperaturas (40°C, 60°C y 80°C) y comparados con un alimento semihúmedo en forma de pasta, todos basados en la misma formulación alimenticia, sobre el crecimiento, sobrevivencia, actividad de enzimas digestivas y reservas nutritivas en crías post-eclosión del pulpo rojo, *Octopus maya*.

Los resultados mostraron que pulpos tratados con los alimentos peletizados y secados a las diferentes temperaturas (40°, 60° y 80°C) tuvieron menores ganancias en peso (promedio de  $0.12 \pm 0.02$  g) que aquellos alimentados con una pasta semihúmeda basada en la misma formulación alimenticia (promedio de  $0.30 \pm 0.05$  g) ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, una mayor sobrevivencia fue obtenida por los organismos alimentados con la dieta secada a 40°C, con un valor de 85% de individuos vivos, afirmando que con esta temperatura de secado se mejora la sobrevivencia de crías post eclosión de pulpo rojo, *O. maya*. Así también, los pulpos sometidos a este tratamiento dietario, presentaron menores tasas de ingestión ( $0.006 \pm 0.0005$  g h<sup>-1</sup>) en contraste con los pulpos alimentados con la pasta semihúmeda ( $0.009 \pm 0.0005$  g h<sup>-1</sup>). En relación a las reservas nutritivas (proteína soluble, acilglicéridos y glucosa en glándula digestiva y proteína soluble y glucógeno en músculo) y la actividad específica de las lipasas los valores obtenidos fueron similares entre los pulpos mantenidos con las diferentes dietas ( $p > 0.05$ ). Lo anterior permite demostrar, que si una mezcla en particular produce valores mayores o similares a la dieta control, cubre los requerimientos nutricionales de la especie, sin verse afectados con las temperaturas utilizadas para el secado de los mismos. Asimismo, la exposición de los alimentos a baja temperatura pudo haber facilitado la digestibilidad y aprovechamiento por las crías de *O. maya*, por medio del desplegamiento de las proteínas favoreciendo la acción de enzimas digestivas.

En cuanto a la fisiología digestiva, se observó una mayor actividad específica de las proteasas ácidas en la glándula digestiva de los pulpos sometidos a las dietas peletizadas ( $p < 0.05$ ) en relación a la de los animales alimentados con la pasta semihúmeda. Un efecto similar se observó con las proteasas alcalinas, ya que los pulpos alimentados con las dietas secadas a 40 y 60°C exhibieron las mayores actividades, a excepción de los pulpos sometidos al alimento secado a 80°C, cuyo valor de actividad fue similar al mostrado por los pulpos sometidos a la pasta semihúmeda, acertando una vez más en la no interferencia

de la utilización de bajas temperaturas para el secado de dietas utilizadas para la alimentación de pulpo rojo.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se demuestra que los alimentos peletizados secados a baja temperatura permiten un buen rendimiento en el cultivo de las crías post eclosión del pulpo rojo *O. maya*, aportando información valiosa para la industria de la alimentación acuícola, siendo de gran importancia la identificación, aceptación, crecimiento y sobrevivencia de un alimento seco peletizado por esta especie de cefalópodo.



## INTRODUCCIÓN

En México, uno de los grupos de cefalópodos de mayor aprovechamiento comercial es el pulpo. En la península de Yucatán, su pesquería ha logrado consolidarse, ocupando el primer lugar nacional en captura y venta, basada principalmente en dos especies: *Octopus maya* (pulpo rojo) y *O. vulgaris* (pulpo patón o pulpo común), con un volumen de captura de 20,000 ton registradas en el año 2015 (SAGARPA, 2016) entre ambas especies. El “pulpo rojo” (*O. maya*) se produce exclusivamente en la península de Yucatán y representa más del 80% del volumen total de captura de este recurso a nivel nacional (SAGARPA, 2016).

En cuanto a su manejo en cautividad, *O. maya* es de fácil adaptación, aceptando dietas artificiales inmediatamente después de eclosionar (Martínez et al., 2014), además presenta un alto precio al mercado (Cabrera & Defeo 2001; Salas et al., 2006), rápido crecimiento y gran eficiencia alimenticia (Rosas et al., 2007). Así también, la ausencia de fase larval facilita su cultivo en condiciones controladas (Van Heukelem, 1983; Moguel et al., 2010).

En cefalópodos, particularmente pulpo, la proteína es el sustrato metabólico más importante, por lo que dietas naturales se basan en crustáceos, moluscos y peces (Alejo-Plata et al., 2009; Krstulović y Vrgoc, 2009; Estefanell et al., 2013). La formulación más eficaz desde el punto de vista productivo, se basa en una mezcla de carne de calamar y cangrejo, presentada en forma de pasta semi-húmeda (Quintana et al., 2011; Rosas et al., 2013, Martínez et al., 2014). Esta combinación de insumos con alto contenido proteínico, adicionada con vitaminas, minerales y grenetina como aglutinante ha sido desarrollada con éxito para juveniles y adultos de *O. maya* en condiciones de laboratorio (Martínez et al., 2014; Tercero-Iglesias et al., 2015) (Patente No. MX 338866B). Este alimento se elabora manualmente, mezclando los ingredientes frescos, previamente molidos, con las vitaminas, minerales y grenetina como aglutinante y posteriormente es colocado en valvas de almeja (como plato), mantenido en congelación antes de ser ofrecido. No obstante, la forma semihúmeda de su presentación conlleva una exposición importante a contaminación bacteriana, con tiempos muy cortos de vida de anaquel, y por tanto de sus cualidades nutritivas. Aunado a ello, cuando es suministrado, y manipulado por los organismos, parte del alimento es perdido en el agua debido a su baja estabilidad e integridad, lo cual conlleva a un bajo aprovechamiento y al deterioro de la calidad del agua por el acúmulo de compuestos nitrogenados provenientes del alimento no consumido. Las características de

este alimento dificultan realizar cultivos a mayor escala debido al trabajo manual que implica la colocación de la pasta durante la preparación de las valvas, el continuo recambio de las mismas en el estanque y el aporte -vía desintegración del alimento en contacto con el agua- de compuestos nitrogenados en el estanque.

Recientemente se probaron dietas secadas a temperaturas menores a 60°C para *O. vulgaris*, con las cuales se obtuvieron tasas de crecimiento similares en comparación con dietas que usaron la congelación para generar los ingredientes secos (Rodríguez-González et al., 2015). No obstante, existe evidencia que demuestra que al exponer el alimento a altas temperaturas (harinas de pescado, harina de calamar) para el secado, se afecta la calidad proteica y lipídica, digestibilidad y biodisponibilidad de los nutrientes (Sante'-Lhoutellier et al., 2008; Domingues et al., 2009; Gatellier & Sante'-Lhoutellier, 2009).

En la actualidad existen pocas alternativas que puedan ser usadas en el cultivo de cefalópodos, hecho que impide su cultivo a gran escala (LaRoe, 1971; DeRusha et al., 1989; DiMarco et al., 1993; Lee, 1994). Por esta razón, la inexistencia de un alimento balanceado, fácilmente almacenable y utilizable para el cultivo de cefalópodos, sigue siendo un impedimento para el efectivo cultivo de diversas especies (O'Dor y Wells, 1983; Domingues, 1999).

*O. maya* es una especie con alta dependencia de proteína y lípidos poli-insaturados para su desarrollo, necesidades que han sido cubiertas con un alimento semihúmedo en forma de pasta, cuyos ingredientes no son sometidos a la acción física del calor (Martínez et al., 2014). No obstante, esta presentación resulta inadecuada para hacer un escalamiento del cultivo a nivel comercial y surge la necesidad de diseñar alimentos más estables que faciliten su aprovechamiento por los organismos en cultivo. Para ello, una forma peletizada y estable del alimento es necesaria, y las condiciones de obtención deben ser definidas, principalmente en la temperatura de secado de los pelets. Considerando lo anterior surgen las siguientes preguntas de investigación:

¿La temperatura de secado del alimento peletizado afectará el crecimiento y sobrevivencia de crías recién eclosionadas del pulpo *O. maya*?

¿Estas respuestas zootécnicas serán reflejadas en la actividad de las enzimas digestivas encargadas de la digestión de proteínas y lípidos?

¿Los alimentos secados a diferentes temperaturas afectarán su digestibilidad y su aprovechamiento por las crías de *O. maya*, y por tanto la concentración de acilglicéridos, glucosa y proteína soluble en glándula digestiva como reservas nutritivas?

## ANTECEDENTES

### **Características generales del pulpo rojo (*O. maya*)**

El pulpo rojo, *Octopus maya*, es un molusco cefalópodo marino, se caracteriza por la presencia en ambos sexos de una mancha oscura u ocelo situado bajo los ojos y entre éstos y la base del segundo y tercer par de brazos, haciéndose menos aparente en los adultos (Voss y Solís-Ramírez, 1966); tienen cuerpo blando con un cerebro bien desarrollado y ocho brazos, cada uno de los cuales posee dos filas de ventosas. 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).

### **Hábitat y distribución**

*O. maya*, es una especie litoral, bentónica, endémica de la península de Yucatán, cuya distribución abarca de Ciudad del Carmen, Campeche, a Isla Mujeres, Quintana Roo (Solís, 1962; Van Heukelem, 1977; Roper, et al., 1984), de aguas someras, habita en zonas tropicales con aguas ligeramente turbias, sustratos finos de arena, limo y roca caliza, cubiertos por diversas algas.

### **Alimentación**

La mayoría de los pulpos se caracterizan por ser carnívoros y presentar altas tasas de crecimiento, resultado de una elevada actividad de síntesis de proteína (Houlihan et al., 1990) en las que está basado su metabolismo (Lee, 1994). Se mantiene como depredador activo durante todo su ciclo vital, alimentándose de crustáceos, moluscos y peces (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 adhesión, mayor sujeción, fuerza y presión. Desde las glándulas salivales es secretada una cefalotoxina que inmoviliza a la presa la cual será ingerida por el pulpo 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 la glándula digestiva y ciego del pulpo.

Aunque *O. maya* presenta desarrollo directo, careciendo de fase larval, 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, abasteciéndose nutricionalmente por la absorción del vitelo interno (Moguel et al., 2009), posteriormente no es necesaria la adaptación a dietas, ya que al nacer presentan todas las características de un adulto y son capaces de atrapar y casar su propio alimento (Moguel et al., 2010).

### **Ciclo de vida**

*O. maya* vive entre uno y dos años (Mangold, 1983) (Solís y Chávez, 1986) el desarrollo embrionario para esta especie varía entre los 50 y los 65 días en el medio natural, presentan huevos grandes con embriones de desarrollo holobentónico (17 mm de longitud y 4,5 mm de ancho) (Voss y Solís-Ramírez, 1966). Es una de las especies de cefalópodos que presenta desarrollo directo (sin etapa de paralarva). Al nacer, las crías tienen todas las características de un adulto; presentan cambios de coloración e incluso expulsan tinta cuando son irritados; sus brazos son suficientemente hábiles para reptar y atrapar alimentos y es normal que adopten la vida bentónica casi de inmediato (Moguel et al., 2010).

Llevan a cabo un solo evento reproductivo a lo largo de toda su vida (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 (Wells and Wells, 1959).

## JUSTIFICACIÓN

Hoy en día el pulpo es ponderado 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 (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 existencia de dietas apropiadas y económicas es uno de los requisitos básicos para el éxito en acuicultura comercial. Actualmente, en cefalópodos, las tasas de crecimiento de organismos alimentados con dietas artificiales han tenido resultados menos favorables que con presas naturales (Domingues, 2004, Domingues et al., 2005), indicando que la información disponible para formular adecuadamente las dietas para estos organismos es escasa (Rosas, 2007).

En estudios recientes llevados a cabo en la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación (UMDI), UNAM Sisal, concluyeron que es posible diseñar un alimento balanceado que satisfaga los requerimientos nutricionales de la especie (Martínez, 2010; Martínez et al., 2011a; Martínez et al., 2011b; Martínez et al., 2011). Ese alimento ha sido elaborado con base en dos elementos de alto valor nutricional, la carne de jaiba (*Callinectes* spp.) y músculo de manto de calamar (*Dosidicus gigas*), ambos presentados en una formulación ligada con grenetina (Rosas et al., 2008) y mezcla mineral y vitamínica (Rosas et al., 2012). Aunque esa mezcla permite el crecimiento de los pulpos de manera eficiente comparada con la dieta control (carne de jaiba fresca y/o liofilizada) (Martínez et al., 2014), es una mezcla inviable para la dieta de los pulpos en cultivos o comerciales porque al elaborarse manualmente tiene una corta vida de anaquel, se hace difícil su manipulación y presenta baja estabilidad en el medio acuoso; además el uso de una alta proporción de jaiba en la formulación eleva los costos de producción.

Así, observamos que se han desarrollado esfuerzos en la búsqueda de dietas alternativas artificiales para cefalópodos, estableciendo una base para el diseño de un alimento que promueva la capacidad digestiva y al mismo tiempo satisfaga los requerimientos

nutricionales para el crecimiento de los pulpos en particular, contribuyendo al desarrollo de la tecnología para su cultivo.

Por lo que el presente trabajo se ha diseñado para conocer los efectos del alimento peletizado y secado a diferentes temperaturas en el crecimiento, la supervivencia y la actividad de las enzimas digestivas en crías post-eclosión de *O. maya*.

## HIPÓTESIS

Las temperaturas de secado mayores a 60°C, alteran y afectan las cualidades nutritivas del alimento, lo cual repercute en el valor nutritivo de elementos importantes como las proteínas, lípidos y vitaminas. El alimento peletizado secado a baja temperatura (40°C) no afectará la calidad de los nutrientes y permitirá una mayor capacidad de digestión, biodisponibilidad de los nutrientes y aprovechamiento por las crías de *O. maya*, beneficiando de esta manera su crecimiento y supervivencia, así como actividades de enzimas digestivas y contenidos de reservas nutritivas en los organismos de forma similar o mayor a la que se obtenga cuando estos son alimentados con alimento en forma semi-húmeda (pasta).



## OBJETIVOS

### Objetivo general

Evaluar el efecto de la temperatura de secado (40°C, 60°C y 80 °C) sobre la respuesta zootécnica y fisiología digestiva en ejemplares juveniles del pulpo rojo, *Octopus maya*.

### Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de alimentos peletizados y secados a diferentes temperaturas (40°C 60°C y 80 °C) sobre la tasa de ingestión, el crecimiento y supervivencia en crías de pulpo rojo, *Octopus maya*.
- Determinar el efecto del uso de alimentos peletizados y secados a distintas temperaturas (40°C 60°C y 80 °C) sobre las actividades específicas de proteasas ácidas y alcalinas de crías de *O. maya*.
- Determinar el efecto del uso de alimentos peletizados secados a distintas temperaturas (40°C 60°C y 80 °C) sobre el contenido de acilglicéridos, colesterol y proteína soluble en la glándula digestiva de juveniles de *O. maya*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Origen de los organismos

Los organismos se obtuvieron de un desove en el laboratorio de ecofisiología de la UMDI de la Facultad de Ciencias de la UNAM, localizada en Sisal, Yucatán, México, de reproductores obtenidos del medio natural en la zona costera del mismo lugar. Para su captura se utiliza una lancha con motor fuera de borda, dotada de varas de bambú (conocidas localmente como "jimbas"). Estas jimbas llevan atadas líneas con carnada (Cangrejo Moro, *Menippe mercenaria*; Jaiba Azul, *Callinectes* spp. y Cangrejo araña, *Libinia* spp.) (Salas et al., 2008). Este método es por naturaleza selectivo, ya que no captura hembras que acaban de desovar y se encuentran en cuidado parental, dado que estas generalmente no se alimentan en ese periodo (Solís-Ramírez et al., 1997). A esta arte de pesca se le conoce como "Gareteo".

Los reproductores capturados fueron trasladados al laboratorio, colocados en estanques externos de 26 m<sup>3</sup> para su aclimatación y el aseguramiento de la cópula, posteriormente las hembras fueron llevadas al área de maduración, en estanques donde se les colocó cajas con tapa móvil de fibra de vidrio, cumpliendo la función de refugio y nido para el desove, por hembra. La tapa removible permite retirar los huevos una vez ocurrido el desove, y así colocarlos en incubadoras con un sistema de recirculación de agua a 26°C, durante 45 a 50 días para la eclosión.

### Diseño experimental

Se utilizó un diseño con 4 tratamientos, CT, T40, T60 y T80, donde el tratamiento "CT" correspondió a la dieta control (pasta semihúmeda, sin tratamiento térmico previo), los tratamientos T40, T60 y T80 representaron a las dietas peletizadas secadas a distintas temperaturas (40°C, 60°C y 80 °C, respectivamente). Los tratamientos se colocaron en estanques por separado, es decir, estanque 1 (CT), estanque 2 (T80), estanque 3 (T60) y estanque 4 (T40), con el fin de evitar la interferencia y contaminación entre tratamientos, específicamente evitando la disolución y lixiviación del alimento en el agua.

Un total de 20 pulpos recién eclosionados por tratamiento fueron utilizados. Para el experimento, se utilizaron un total de 80 individuos de juveniles de *O. maya*, con una duración del experimento de 55 días.

### **Dispositivo experimental**

Los 80 organismos recién eclosionados, tuvieron un peso inicial en el rango de 0.09 a 0.11g. Cada tratamiento contó con 20 organismos, colocándolos de manera individualizada en recipientes cuadrados de plástico de 12 cm x 12 cm con ventanas de malla con tapa. En cada recipiente se colocó un tubo pvc (1/2") para ser utilizado como refugio. Estos recipientes se colocaron en tanques de 1.50 m x 2 m, con una profundidad de 30 cm, los cuales contaron con un sistema de recirculación de agua y aireación. Cada tratamiento fue colocado en su respectivo tanque experimental.

Para mantener la calidad del agua, se realizó una limpieza diaria de los restos de alimento no consumido y las heces de los pulpos en cada recipiente individual por sifoneo. Así también, la malla de las ventanas de los recipientes fue cepillada diariamente para favorecer el intercambio y flujo del agua de mar del tanque experimental. El alimento se suministró 2 veces al día, a las 9 y 17 horas a razón del 20% de la biomasa del pulpo (Quintana et al., 2011) con los tratamientos respectivos. La cantidad de alimento brindado estuvo en función de los sólidos totales contenidos en el mismo, es decir, el alimento semihúmedo se secó a 60°C durante 24 horas para extraer la totalidad de humedad presente en los ingredientes utilizados para la elaboración de la pasta semihúmeda, obteniendo la materia seca que permanece, posterior a la remoción del agua en el alimento.

### **Formulación y elaboración de dietas**

La pasta utilizada como alimento control, se elaboró con ingredientes frescos de jaiba (Cuadro 1) capturada en el puerto de sisal (*Callinectes* spp.) sin caparazón dorsal y músculo de manto de calamar comercial, adquirido en supermercado (*Dosidicus gigas*) retirando previamente el colágeno. A estos ingredientes homogenizados con la ayuda de un molino, se agregó una premezcla de vitaminas y minerales, Vitamina C (Stay C) y grenetina, esta última utilizada como aglutinante. Los ingredientes fueron pesados previamente con ayuda de una báscula (Adventurer Pro, OHAUS), colocados en un recipiente hondo para proceder a homogeneizarlos perfectamente con una mezcladora (Kitchen Aid 300 watts, 10 velocidades). La masa obtenida se colocó en valvas de almeja, que sirvieron de soporte al alimento y almacenada en refrigeración para evitar su descomposición.

En el caso de los alimentos experimentales se elaboraron de la misma manera que la pasta, con la excepción de pasar la pasta homogenizada por un molino manual, para así obtener tiras en forma tubular, las cuales fueron colocadas y secadas en un horno TERLAB (RIOSSA®, no. 181932, modelo: ec, serie: ecme, 12 volts) previamente establecido a la temperatura correspondiente de los tratamientos requeridos (40°C, 60°C, 80°C). Las temperaturas del horno para el secado de los diferentes alimentos experimentales se monitorearon con un termómetro de mercurio Brannan LO-tox. Los pelets obtenidos se colocaron en bolsas ziploc® en refrigeración hasta su utilización.

La formulación de los alimentos peletizados fue la misma que se utilizó para la dieta control (pasta semihúmeda) de acuerdo a lo establecido por Martínez et al. (2014).

Cuadro 1. Formulación basal de las diferentes dietas experimentales.

<b>Ingredientes</b>	<b>g/100 g de alimento</b>
<b>Jaiba fresca (<i>Callinectes</i> spp.)</b>	45 g
<b>Músculo de manto de calamar fresco (<i>Dosidicus gigas</i>)</b>	45 g
<b>Grenetina comercial</b>	7 g
<b><sup>1</sup>Stay C (DSM México)</b>	2 g
<b><sup>2</sup>Premezcla de vitaminas y minerales</b>	1 g

1. Vitamina C: Stay-C® por productos nutricionales DSM L-ascorbyl-2-polyfosfato, 35% activo.
2. Vitaminas y minerales sin vit C hecho por DSM de México. Mezcla mineral: Co, 2 g kg<sup>-1</sup>; Mn, 16 g kg<sup>-1</sup>; Zn, 40 g kg<sup>-1</sup>; Cu, 20 g kg<sup>-1</sup>; Fe, 0.001 g kg<sup>-1</sup>; y Se, 0.1 g kg<sup>-1</sup>.

## INDICADORES ZOOTECNICOS

### Crecimiento y Supervivencia

El crecimiento se evaluó semanalmente de manera aleatoria (n=5) y la supervivencia diariamente con el conteo de los pulpos vivos por tratamiento. Los organismos se mantuvieron en ayuno por un periodo de 12 horas previos a cada biometría con el fin de asegurar el vacío estomacal y evitar la posible interferencia de este alimento en el peso. Los juveniles de *O. maya* fueron pesados en una balanza Ohaus Pionner.

Se realizó una biometría al inicio del experimento para conocer el peso de los pulpos recién eclosionados (n=80).

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

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.

### Tasa de Ingestión

Se midió semanalmente con ejemplares tomados al azar por tratamiento (n=5) a partir de la diferencia entre la cantidad de alimento entregado y el recuperado después de 7 h. El alimento recuperado se obtuvo mediante sifón y fue retenido en un papel filtro pre-pesado. El filtro con el alimento remanente se secó en un horno a 60°C por 24 h. La tasa de ingestión se corrigió por el porcentaje de alimento lixiviado.

Para obtener ese dato se realizó el siguiente procedimiento:

- 3 porciones de alimento previamente pesadas se colocaron en un matraz de 250 ml con agua de mar.

- El matraz fue agitado en un agitador rotatorio durante 1 h.
- El alimento se obtendrá al filtrar toda el agua a través de un papel filtro pre-pesado.
- El alimento recuperado fue secado a 60°C por 24 h hasta peso constante.

Así, la tasa de ingestión se calculó como:  $TI = [(A_i - A_s)/T] \text{ Lix. (abs.)} = \text{g/h}$ , donde:

TI = Tasa de ingestión g de alimento ingerido/ hora

$A_i$  = Alimento inicial entregado (g/animal/toma)

$A_s$  = Alimento sobrante (no ingerido) (g/animal/toma)

T= Tiempo

Lix = Alimento lixiviado (valor absoluto 0-1)

## INDICADORES BIOQUÍMICOS

### Actividad Enzimática

#### Proteasas Ácidas totales

Se realizó siguiendo el método de Anson (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  $\lambda = 280\text{nm}$  en una cubeta de cuarzo, utilizando agua destilada como blanco.

#### Proteasas Alcalinas totales

Se llevó a cabo el mismo procedimiento, con la diferencia de utilizar caseína al 1% como sustrato, así como el uso de una solución amortiguadora a pH de 8.

#### Lipasas

La actividad de las lipasas fue medida de acuerdo a la metodología descrita por Gjellesvik et al. (1992) ajustada a microplacas: 5 de homogenado diluido (1:6) en buffer TRIS 0.5 M a pH 7.4 fueron mezclados con 200 microlitros de solución de sustrato (TRIS 0.5 M, pH 7.4, taurocolato de sodio 5 mM, cloruro de sodio 100 mM, 4 nitrophenyl octanato 0.35 mM). La absorbancia fue medida a 415 nm, cada minuto, durante 12 minutos.

La actividad enzimática fue expresada como actividad específica: las unidades de actividad son expresadas como el cambio en la absorbancia por minuto por mg de proteína ( $\text{IU} = \text{Abs nm min}^{-1}\text{mg}^{-1}$  proteína).

#### Reservas nutritivas en glándula digestiva

La cuantificación de metabolitos y sustancias de reserva se llevó a cabo una vez terminada la etapa de bioensayo. Los organismos fueron llevados al laboratorio y se colocaron en una tina con agua de mar a 10 °C, procedimiento tipo anestesia (Andrews & Tansey, 1981). Una vez anestesiados (2 a 3 min) los organismos se eutanasiaron inmediatamente realizando la desconexión cerebral a través de un corte profundo en la región interocular (Gleadall, 2013) para posteriormente extraer la glándula digestiva, y segmentos de brazo y manto. Las muestras se introdujeron en nitrógeno líquido y posteriormente se congelaron a -80 °C hasta su análisis. En esos tejidos se realizaron mediciones colorimétricas de

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.

### **Proteína total**

Se determinó la concentración de proteína solubilizada a través de una solución de azul 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.

### **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-fosfato 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.

### **Glucosa**

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

### **Glucógeno**

Para cuantificar el glucógeno del músculo, se extrajo un trozo (0.0200 - 0.0600 g de peso) del tentáculo de los pulpos. El trozo fue colocado en un tubo eppendorf de 1.5 ml y se homogenizó en ácido tricloro acético (TCA, 5%) por 2 min a 4,550 g. Después de la centrifugación (7000 rpm) el sobrenadante se calculó por duplicado. La primera vez, el sobrenadante se pipeteó y mezcló con 5 volúmenes de etanol al 95%. Se colocaron los tubos a 37-40 °C por 3 h. Después de la precipitación, se realizo una segunda centrifugación a 7000 g por 15 min. El contenido de los tubos fue transferido a una placa y se realizó la lectura en placas a 490 nm.



## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se realizaron análisis de varianza de una vía (ANDEVA) para los resultados de la tasa de crecimiento, tasa de ingestión y reservas nutritivas y de dos vías de clasificación (MANDEVA) para los resultados obtenidos en las enzimas digestivas. Una prueba pos-hoc de Bonferroni se aplicó cuando se encontraron diferencias estadísticas en los resultados. Se usaron programas estadísticos como Stata 11.0 utilizando un nivel de confianza de 95% y un programa para generar gráficos Origin Pro 8.6.

De acuerdo a la sobrevivencia, al tener como unidad muestral a los organismos y no al tanque como en los resultados anteriores, no se realizó análisis estadístico, con el fin de evitar la interferencia de la degradación del alimento en el tanque de cultivo, hablando específicamente de la disolución y lixiviación (pérdida de materia seca) del alimento en el agua.

## RESULTADOS

### Parámetros fisicoquímicos durante el cultivo experimental

Los resultados mostraron que los parámetros fisicoquímicos así como el registro de compuestos nitrogenados del agua de mar se mantuvieron dentro de los rangos, considerados como óptimos para esta especie en cultivos de laboratorio similares a los reportados por Martínez et al. (2014) cuyos valores fueron, oxígeno disuelto  $>5.0$  mg/L, temperatura  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ , pH  $>8$ , salinidad 38 (ups). Las mediciones fueron realizadas semanalmente y los valores promedio registrados son los siguientes:  $\text{O}_2$  ( $7.01 \pm 0.08$  mg/L), temperatura ( $25.96 \pm 0.11^\circ\text{C}$ ), salinidad ( $39.25 \pm 0.0$  ups), pH ( $7.48 \pm 0.02$ ), amonio ( $0.30 \pm 0.07$  ppm), nitritos ( $0.09 \pm 0.0$  ppm) y nitratos ( $0.34 \pm 0.03$  ppm).

### Crecimiento, Tasa específica de crecimiento (TEC) e Índice de rendimiento

El peso promedio inicial de los pulpos fue de  $0.10 \pm 0.001$  g para todos los tratamientos experimentales que se obtuvieron del mismo desove. Después de 55 días de tratamiento, las mayores ganancias en peso fueron para los organismos alimentados con la dieta control (pasta semihúmeda) con un valor promedio de  $0.30 \pm 0.05$  g, el cual resultó significativamente mayor al obtenido por los pulpos alimentados con las dietas peletizadas ( $p < 0.05$ ). No obstante, los individuos alimentados con el tratamiento de secado a  $40^\circ\text{C}$  obtuvieron el peso final numéricamente más alto ( $0.15 \pm 0.02$  g), aunque iguales estadísticamente a los pulpos alimentados con las dietas peletizadas ( $0.12 \pm 0.02$  g) (Figura 1a).

Con respecto a la Tasa específica de crecimiento (Figura 1b), se observa nuevamente, aunque no hay diferencias estadísticas, que el valor más alto es mostrado por los organismos alimentados con la pasta semihúmeda ( $2.28 \pm 0.005$  %día<sup>-1</sup>) seguido por los individuos tratados con el alimento secado a  $40^\circ\text{C}$  ( $p > 0.05$ ). Los organismos sometidos al tratamiento de secado a  $80^\circ\text{C}$  obtuvieron la TEC más baja ( $1.06 \pm 0.007$ ;  $p < 0.05$ ). Entre los pulpos mantenidos con las dietas peletizadas se observan diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) en la TEC, siendo los alimentados con la dieta secada a  $40^\circ\text{C}$  los de mayor tasa con respecto a los mantenidos con la dieta secada a  $80^\circ\text{C}$  (Figura 1b).

De acuerdo al índice de rendimiento (IR), los organismos alimentados con el tratamiento control (pasta semihúmeda) y tratamiento experimental secado a  $40^\circ\text{C}$ , muestran los

rendimientos más altos ( $p < 0.05$ ) comparados con los de 60 y 80°C ( $1.01 \pm 0.07$  y  $0.45 \pm 0.11$  %día<sup>-1</sup>, respectivamente) (Figura 1c).

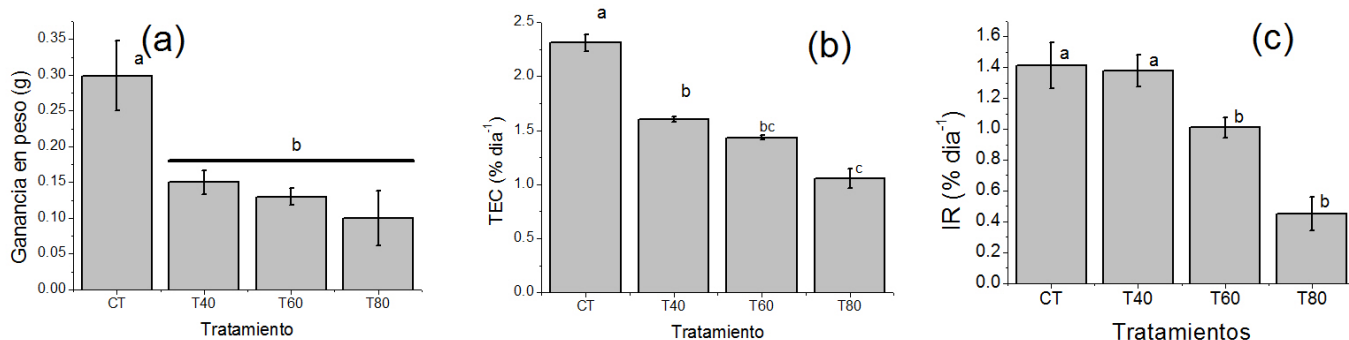


Fig. 1.- (a) Ganancia en peso (g), (b) tasa específica de crecimiento (% día<sup>-1</sup>) y (c) índice de rendimiento (% día<sup>-1</sup>) de crías post eclosión del pulpo *O. maya* mantenidas con diferentes dietas. Promedio  $\pm$  E.S. N=10. Tratamientos: CT= control pasta semihúmeda; T40= pelet secado a 40°C; T60= pelet secado a 60°C y T80= pelet secado a 80°C. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos. Promedio  $\pm$  desviación estándar.

### Sobrevivencia

De acuerdo a la sobrevivencia, al tener como unidad muestral a los organismos y no al tanque como en los resultados anteriores, no se realizó análisis estadístico, con el fin de evitar la interferencia de la degradación del alimento en los estanques de cultivo, hablando específicamente de la disolución y lixiviación del alimento en el agua.

La mas alta sobrevivencia fue obtenida por los pulpos alimentados con la dieta secada a 40°C, con un valor de 85%, seguida por los organismos mantenidos con la dieta experimental secada a 60°C (70% de sobrevivientes). Los pulpos mantenidos con la pasta semihúmeda (tratamiento control) y aquellos sometidos al alimento secado a 80°C, obtuvieron valores de 60% y 40% de sobrevivencia respectivamente al final del experimento. Los resultados son mostrados en la Figura 2.

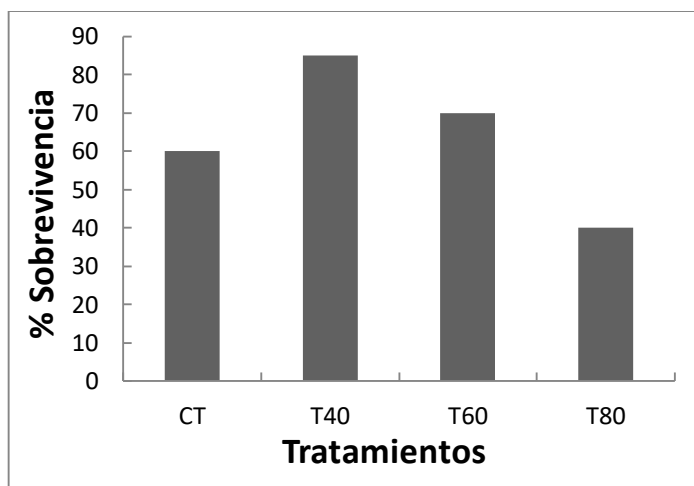


Figura 2.- Supervivencia de crías post eclosión del pulpo *O. maya* mantenidas con diferentes dietas. Tratamientos: CT= control pasta semihúmeda; T40= pelet secado a 40°C; T60= pelet secado a 60°C y T80= pelet secado a 80°C. N inicial: 20 organismos por tratamiento.

### Tasa de ingestión

En la Figura 3 se muestran los valores promedio de la tasa de ingestión obtenida por los pulpos alimentados con las diferentes dietas. Los organismos alimentados con la pasta semihúmeda (control) presentaron la tasa de ingestión más elevada ( $0.009 \pm 0.00055 \text{ g h}^{-1}$ ), cuyo valor promedio fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) a los obtenidos por los pulpos sometidos a las dietas peletizadas ( $0.006 \text{ g h}^{-1}$ ).

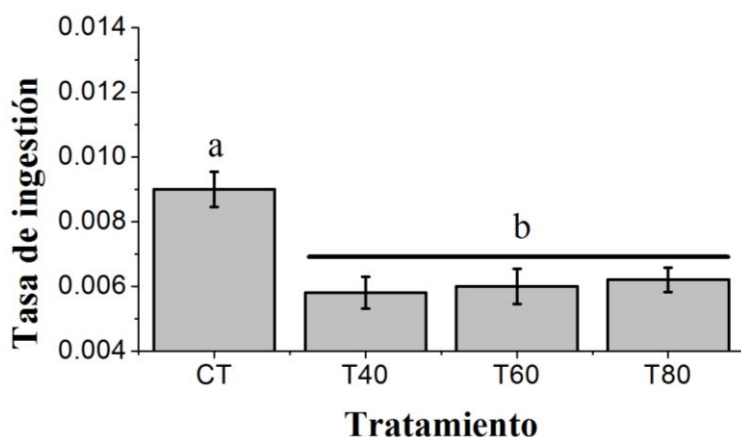


Figura 3.- Tasa de ingestión (g/h) de crías post eclosión del pulpo *O. maya* mantenidas con diferentes dietas. Promedio  $\pm$  E.S. N=20. Tratamientos: CT= control pasta semihúmeda; T40= pelet secado a 40°C; T60= pelet secado a 60°C y T80= pelet secado a 80°C. Diferentes letras indican diferencias significativas.

## Actividad enzimática

En la Figura 4 se muestran las actividades específicas de las enzimas digestivas. Los mayores valores de actividad de las lipasas (Figura 4a) fueron observados en los pulpos alimentados con las dietas peletizadas, específicamente la secada a 40°C, aunque no se observaron diferencias estadísticas con respecto a la mostrada por los pulpos mantenidos con la pasta semihúmeda ( $p>0.05$ ).

En cuanto a las proteasas ácidas (Figura 4b), los mayores actividades fueron mostradas por los pulpos mantenidos con las dietas de secado a 40 y 60°C, cuyos valores fueron mayores estadísticamente con respecto a los mostradas por los pulpos alimentados con la pasta semihúmeda y la dieta secada a 80°C ( $p<0.05$ ).

En el caso de las actividades de las enzimas alcalinas (Figura 4c), no se observaron diferencias entre pulpos alimentados con las dietas secadas a las diferentes temperaturas, cuyo valor promedio (23712 U mg proteína<sup>-1</sup>) resultó superior al mostrado por los pulpos mantenidos con la pasta semihúmeda (13743 U mg proteína<sup>-1</sup>) ( $p<0.05$ ).

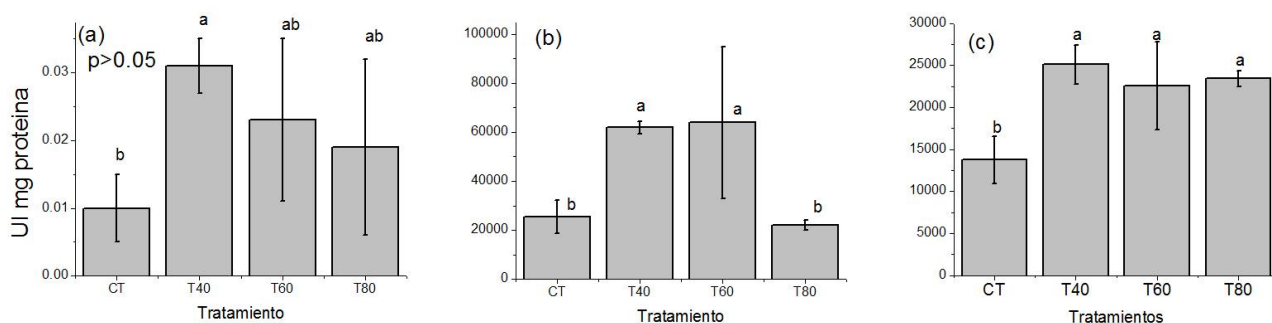


Fig. 4.- Actividad específica de (a) lipasas totales (U mg proteína<sup>-1</sup>), (b) proteasas ácidas (U mg de proteína<sup>-1</sup>) y (c) proteasas alcalinas en glándula digestiva de crías post eclosión del pulpo O. maya mantenidas con diferentes dietas. Promedio  $\pm$  E.S. N=3. Tratamientos: CT= control pasta semihúmeda; T40= pelet secado a 40°C; T60= pelet secado a 60°C y T80= pelet secado a 80°C. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos.

### Metabolitos y sustancias de reserva

Los contenidos de proteína soluble, glucosa y acilglicéridos en glándula digestiva son mostrados en la Figura 5. Aunque se observan mayores contenidos de proteína soluble y glucosa (Fig. 5a y Fig. 5b) en la glándula digestiva de los pulpos alimentados con la pasta semihúmeda, no se observaron diferencias estadísticas ( $p>0.05$ ). Así también, el contenido de acilglicéridos (Fig. 5c) de los pulpos resultantes de los diferentes tratamientos dietarios no mostraron diferencias estadísticas ( $p>0.05$ )

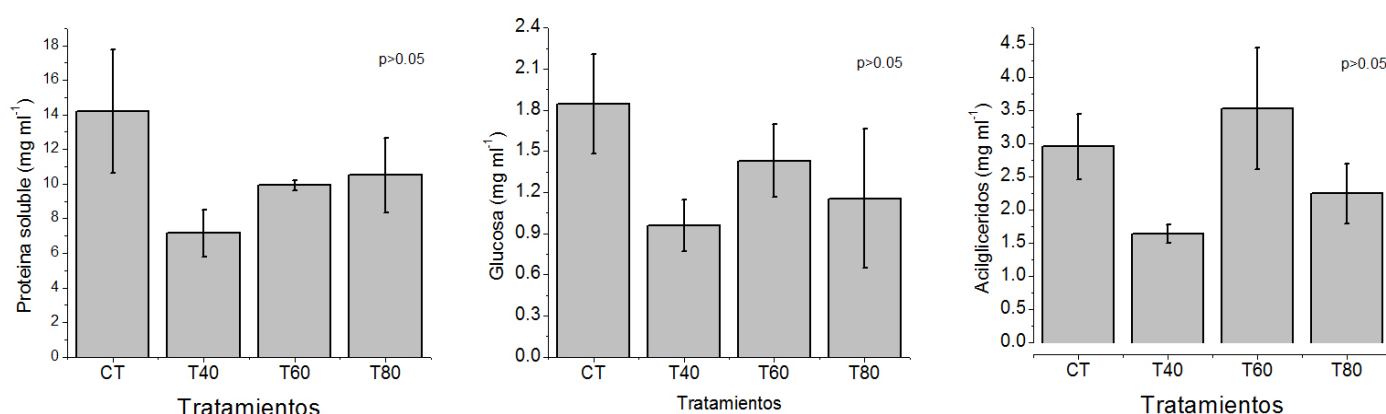


Fig. 6.- Contenido de proteína soluble (mg ml<sup>-1</sup>), glucosa (mg ml<sup>-1</sup>) y acilglicéridos en glándula digestiva del pulpo *O. maya* mantenidas con diferentes dietas. Promedio  $\pm$  E.S. N=3. Tratamientos: CT= control pasta semihúmeda; T40= pelet secado a 40°C; T60= pelet secado a 60°C y T80= pelet secado a 80°C.

Aunque mayores valores de contenidos de proteínas soluble en el músculo del brazo fueron obtenidos por los pulpos alimentados con las dietas peletizadas y secadas a diferentes temperaturas, principalmente a 40°C (Fig. 6a), sus valores no fueron estadísticamente distintos a los obtenidos por los pulpos mantenidos con la pasta semihúmeda ( $p>0.05$ ). En relación a los valores del contenido de glucógeno (Figura 6b) obtenido en este mismo tejido, tampoco se observaron diferencias estadísticas ( $p>0.05$ ).

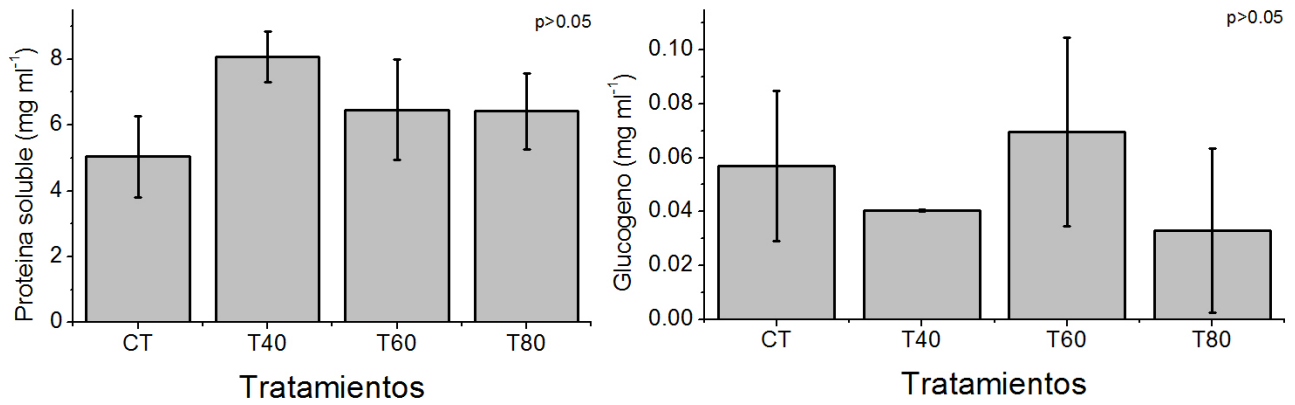


Fig. 7.- Contenido de proteína soluble (mg ml<sup>-1</sup>) y glucógeno (mg ml<sup>-1</sup>) en músculo del pulpo *O. maya* mantenidas con diferentes dietas. Promedio  $\pm$  E.S. N=3. Tratamientos: CT= control pasta semihúmeda; T40= pelet secado a 40°C; T60= pelet secado a 60°C y T80= pelet secado a 80°C.

## DISCUSIÓN

En el análisis de los resultados zootécnicos, se observa que los pulpos mantenidos con el tratamiento control de pasta semihúmeda presentaron ganancias en peso significativamente más altas con respecto a los organismos mantenidos con las dietas peletizadas secadas a las diferentes temperaturas. Estos resultados confirman por qué este alimento semihúmedo es el preferido por la industria, ya que mantiene las cualidades nutritivas (de la jaiba y el calamar) y claramente fue el preferido por los animales de experimentación, ya que supone un menor esfuerzo digestivo para ellos. Además, el alimento semihúmedo favorece la absorción y asimilación de los nutrientes, pese a su inestabilidad en el medio acuoso, como ha sido señalado por Cerezo-Valverde et al. (2008).

Con respecto a la tasa específica de crecimiento ( $TEC \% \text{ día}^{-1}$ ) se observan las tasas más altas en los organismos mantenidos con la pasta semihúmeda (control). Estos valores son menores a los reportados por Martínez et al. (2014), quienes utilizaron alimentos artificiales similares a los empleados en este trabajo, con la diferencia de que los insumos frescos fueron liofilizados. Este proceso de secado, posiblemente favorece una mayor integridad de los nutrientes contenidos tanto en la jaiba como en el músculo del calamar, favoreciendo con ello, la respuesta de los organismos en cultivo. Por otra parte, Agüero Urquía (2014) reporta que los juveniles de *O. maya* individualizados crecen a la mitad de la velocidad que la que se registra en animales mantenidos en estanques externos y en colectivo. Con estos resultados es posible afirmar que existen otros factores, además de la dieta, en el cultivo de los organismos que afectan la tasa de crecimiento. Es interesante hacer notar que, aunque en condiciones de cultivo este factor está supuestamente resuelto a través de la tasa de alimentación y del manejo de una densidad apropiada, los resultados obtenidos indican que posiblemente alguno de los factores podría no estar operando apropiadamente, dando lugar a la necesidad poblacional de ajustar a los individuos que conforman la comunidad de un estanque de cultivo.

Sin embargo, los resultados zootécnicos más relevantes los podemos observar en el índice de rendimiento ( $IR \% \text{ día}^{-1}$ ), ya que los organismos sometidos al alimento secado a  $40^{\circ}\text{C}$  muestran similitudes a los mantenidos con la dieta control ( $p > 0.05$ ).



El índice de rendimiento es un indicador que permite observar de manera integral los efectos en los tratamientos de alimentación utilizados en este trabajo, ya que además del crecimiento, involucra la sobrevivencia de las poblaciones de pulpo de cada tratamiento dietario. Este índice ha sido utilizado para evaluar el efecto de diferentes condiciones y tipos de alimento en larvas de peneidos (Gallardo et al., 1995), donde además del crecimiento y la sobrevivencia involucra la calidad (supervivencia) de las postlarvas sometidas a un estrés salino.

Así también, los pulpos mantenidos con las dietas experimentales secadas a las diferentes temperaturas, mostraron una tasa de ingestión más baja, en comparación con los pulpos alimentados con la dieta semihúmeda ( $p < 0.05$ ). Este menor consumo de alimento refleja que las dietas peletizadas satisfacen los requerimientos nutritivos de los juveniles de *O. maya* y que la afectación nutritiva es menor a la temperatura más baja de secado, 40°C. La dieta peletizada, debido a su estabilidad en el medio acuoso aporta más nutrientes a los individuos, a diferencia del alimento semihúmedo, el cual sufre una pérdida mayor de nutrientes por su inestabilidad en el agua de mar, así como por la acción de la manipulación durante el proceso de alimentación de los pulpos (Gallardo et al., 2017).

Las temperaturas de secado elevadas (60 y 80°C) de las dietas experimentales pudieron afectar la calidad nutritiva de las mismas debido a la desnaturalización proteica, oxidación lipídica y cambios estructurales de los alimentos, modificando la digestibilidad y por tanto la disponibilidad de los nutrientes (Navarro y Villanueva, 2000; Rosas et al., 2013; Gallardo et al., 2017). Estos cambios reducen la calidad nutritiva de los alimentos para el pulpo *O. maya* como ha sido demostrado por Rosas et al. (2013). Esta afectación nutritiva por la exposición térmica del secado de las dietas, ha sido también reportada en otros trabajos de alimentación de pulpo. Así, alimentos formulados con harinas de pescado y otros ingredientes de origen vegetal o animal procesados a altas temperaturas ( $\approx 100$  °C) promovieron bajas o negativas tasas de crecimiento en *Octopus vulgaris* (Estefanell et al., 2012; Morillo – Velarde et al., 2015). La oxidación lipídica por el tratamiento térmico, favorece la pérdida de lípidos polares (ácidos grasos poliinsaturados), esenciales para los cefalópodos como para otros organismos (Navarro y Villanueva 2000; Koueta et al., 2002; Domingues et al., 2003 a, b; Almansa et al., 2006). Por lo tanto, con respecto a la ganancia en peso, la TEC y el IR se obtuvieron valores inferiores a los esperados, justificando así las temperaturas de secado con las que se trataron los alimentos peletizados.

Un 85% de individuos vivos se obtuvieron con la dieta secada a 40°C, en contraste con lo observado en los organismos alimentados con la pasta semihúmeda, y con los individuos alimentados con el tratamiento de secado a 60° y 80°C justificando de nuevo la baja calidad nutritiva de los alimentos sometidos a temperaturas elevadas de secado como fue señalado por Rosas et al. (2013).

Las proteasas ácidas y alcalinas son las responsables de la degradación de las proteínas contenidas en el alimento, ya que permiten la hidrólisis de las proteínas que posteriormente serán absorbidas y asimiladas por el organismo de los pulpos (Gallardo et al., 2017). Las proteasas ácidas, son las principales enzimas participantes en la digestión, absorción y asimilación de nutrientes como ha sido reportado en diferentes especies de pulpos (Morishita et al., 1974, Linares et al., Ibarra-García et al., 2018). De este grupo de enzimas, destacan las catepsinas que han sido mayormente descritas en cefalópodos (Gallardo et al., 2017). En cuanto a las proteasas alcalinas, se ha encontrado, que la tripsina y la quimotripsina son enzimas alcalinas que también juegan un papel importante en la degradación proteica en cefalópodos (Murray *et al.*, 2001; Gallardo et al, 2017).

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 mayor actividad de proteasas ácidas que alcalinas, en pulpos alimentados con las dietas peletizadas secadas a 40, 60 y 80°C, difiriendo con los individuos alimentados con el tratamiento control de pasta semihúmeda ( $p < 0.05$ ), lo cual demuestra que esta baja actividad podría estar relacionada con el hecho de que *O. maya* utiliza más bien enzimas ácidas para la digestión del alimento como ha sido reportado por Gallardo et al. (2017).

Por otra parte, Rosas et al. (2013) nos indica que la actividad enzimática *in vitro*, aumenta en glándula digestiva de animales alimentados con ingredientes previamente calentados o sometidos a cocción, puesto que dicho alimento presenta actividad digestiva baja, en comparación con la presentación de alimentos frescos con nutrientes altamente disponibles, facilitando la actividad enzimática y digestiva de la dieta brindada.

Los metabolitos de reserva estudiados en GD (proteína soluble, glucosa y acilglicéridos) y músculo (proteína soluble y glucógeno) de los organismos estudiados, nos arrojan

resultados semejantes entre los pulpos alimentados con las distintas dietas experimentales ( $p>0.05$ ).

En este sentido, la cantidad de proteína y glucosa en la glándula digestiva (GD) y la concentración de glucógeno en músculo son fuertes indicadores de la condición nutricional del pulpo. Lee determinó que las altas demandas de contenidos de proteínas en los alimentos por los cefalópodos, son asociados a que utilizan este nutriente como fuente de energía, así como para la síntesis muscular y los mecanismos de hiperplasia involucrados en el crecimiento, permitiendo una mayor tasa específica de crecimiento y posibilidad de reservas energéticas (Lee, 1994).

## CONCLUSIONES

- Las temperaturas de 60°C y 80°C para el secado del alimento afectaron su viabilidad nutritiva para el mantenimiento de crías post-eclosión del pulpo rojo *O. maya*, ya que se obtuvieron menores crecimientos e índices de rendimiento. No obstante, la mayor ganancia en peso y tasa de crecimiento específica obtenida por los pulpos sometidos a la alimentación con pasta semihúmeda, la mayor sobrevivencia fue observada en los pulpos mantenidos con la dieta peletizada secada a 40°C, lo cual favoreció el índice de rendimiento. La baja temperatura de secado (40°C) de este alimento resultó benéfica, favoreciendo la sobrevivencia y por tanto el índice de rendimiento.
- Una menor actividad proteolítica ácida es mostrada por los pulpos mantenidos con el alimento semihúmedo y el peletizado secado a la mayor temperatura (80°C), lo cual puede estar asociado a la baja estimulación digestiva.
- Por otra parte, las ventajas competitivas del alimento peletizado se ven reflejadas en una alta estabilidad en el medio acuoso en el estanque de cultivo, hablando específicamente de la degradación y pérdida de materia seca en el tanque. Así también, este alimento seco puede ser mejor almacenado en refrigeración a diferencia de la congelación necesaria para el mantenimiento de la pasta semihúmeda y es posible brindarlo más rápidamente en organismos individualizados o en masas, reduciendo la selección y desperdicio del mismo.
- En términos generales, los resultados obtenidos del presente estudio evidencian que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos experimentales secados a las diferentes temperaturas, en contraste con la pasta semihúmeda, siendo posible en un futuro la sustitución de una dieta semihúmeda por un alimento seco peletizado para alimentar crías recién eclosionadas de *O. maya*, dando pie a la continua investigación de dichas dietas, pudiendo fortalecer el protocolo de investigación ampliando el conocimiento en la nutrición de cefalópodos y al mismo tiempo buscar un alimento con el cual se puedan obtener ganancias en peso mayores que las obtenidas hasta el momento, haciendo búsqueda de insumos mucho más económicos para la industria y la producción en masas de un alimento comercial.

## LITERATURA CITADA

- Agüero, J. 2014. Efecto del tipo de alimento en el crecimiento y el acondicionamiento reproductivo de las hembras de *O. maya* de segunda generación. Tesis Maestría. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. Sisal, Yucatán. 77 p.
- Alejo-Plata, M. C., Gómez-Marquez, J. L., Ramos-Carrillo, S., and HerreraGalindo, J. E. (2009). Reproducción, dieta y pesquería del pulpo *Octopus (Octopus) hubbsorum* (Mollusca: Cephalopoda) en la costa de Oaxaca, México. *Int. J. Trop. Biol.* 57, 63–78. doi: 10.15517/rbt.v57i1-2.11291
- Almansa, E., Domingues, P., Sykes, A., Tejera, N., Lorenzo, A., Andrade, J. P. 2006. The effects of feeding with shrimp or fish fry on growth and mantle lipid composition of juvenile and adult cuttlefish (*Sepia officinalis*). *Aquaculture* 256: 403–413.
- Andrews P. L. R. Y Tansey E. M. (1981) “The effects of some anaesthetic agents in *Octopus vulgaris*”. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 70C. pp. 241-247, 1981.
- Bax, M. Cooking Temperature Is a Key Determinant of in Vitro Meat Protein Digestion Rate: Investigation of Underlying Mechanisms. *J. Agric. Food Chem.* 2012, 60, 2569–2576.
- Boucaud-Camou, E., Boucher-Rodoni, R., 1983. Feeding and digestion in cephalopods. In: Saleuddin, A.S.M., Wilbur, K.M. (Eds.), *The Mollusca*. Academic Press, New York, pp. 149-187.
- Boucher-Rodoni, R., Boucaud-Camou, E., Mangold, K., 1987. Feeding and digestion.
- C., 2011a. Cytological ontogeny of the digestive gland in post-hatching *Octopus maya*, Cabrera J.L. & Defeo O. (2001) Daily bioeconomic analysis in a multispecific artisanal fishery in Yucatan, Mexico. *Aquatic Living Resources* 14, 19–28.
- Cerezo-Valverde, J. Hernández, M. D. Aguado-Giménez, F. & Garcia-Garcia, B. 2008. Growth, feed efficiency and condition of common octopus (*Octopus vulgaris*) fed on two formulated moist diets. *Aquaculture* 275, 266-273
- CONAPESCA e ITESM. 2004. Características generales, aspectos oceanológicos y geográficos del pulpo. SAGARPA. 175 pp.

Cuvier (1797): Influence of body weight, temperature, sex and diet. *Aquaculture International* 10, 361-377.

Domingues P., Marquez L., López N. & Rosas C. (2009) Effects of food thermal treatment on growth, absorption and assimilation efficiency of juvenile cuttlefish, *Sepia officinalis*. *Aquaculture International* 17, 283–299.

Domingues, P.M. Poirier, R. Dickel, L. Almansa, E. Sykes, & A. Andrade, J. 2003. Effects of culture density and live prey on growth and survival of juvenile cuttlefish, *Sepia officinalis*. *Aquaculture International* 11, 225-242.

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., 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.

Estefanell, J., Roo, J., Guirao, R., Afonso, J.M., Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M., Socorro, J., 2012. Efficient utilization of dietary lipids in *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797) fed fresh and agglutinated moist diets based on aquaculture by-products and low price trash species. *Aquac. Res.* 44, 93–105, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.03014.x>

Estefanell, J., Roo, J., Guirao, R., Afonso, J. M., Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M., et al. (2013). Efficient utilization of dietary lipids in *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797) fed fresh and agglutinated moist diets based on aquaculture by-products and low price trash species. *Aquacult. Res.* 44, 93–105. doi: 10.1111/j.1365-2109.2011.03014.x

Gallardo P., Olivares A., Martínez-Yáñez R., Caamal-Monsreal C., Domingues P.M., Mascaró M., Sánchez A., Pascual C. y Rosas C. (2017)“Digestive Physiology of *Octopus maya* and *O. mimus*: Temporality of Digestion and Assimilation Processes”. *Frontiers in Physiology.* 8 (355), pp.1-9. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2017.00355/full> [Accesado el 6 de abril de 2018].

- Gallardo, P. P., E. Alfonso, G. Gaxiola, L. A. Soto, and C. Rosas. 1995. Feeding schedule for *Penaeus setiferus* larvae based on diatoms (*Chaetoceros ceratosporum*), flagellates (*Tetraselmis chuii*) and *A. franciscana nauplii*. *Aquaculture* 131:3–4.
- Gatellier P. & Sante´-Lhoutellier V. (2009) Digestion study of proteins from cooked meat using an enzymatic microreactor. *Meat Science* 81, 405–409.
- Giménez,F.A., Garcia,E., 2002. Growth and food intake models in *Octopus vulgaris*. Couvier (1797): Influence of body weight, temperature, sex and diet. *Aquaculture International* 10, 361-377.
- Gleadall IG. Los efectos de las posibles sustancias anestésicas en los cefalópodos: resumen de los datos originales y una breve revisión de los estudios realizados durante las últimas dos décadas. *J Exp Mar Biol Ecol.* 2013
- Guerra, A. 1978. Sobre la alimentación y comportamiento alimentario de *Octopus vulgaris*. *Investigación Pesquera*, 42, 351-364.
- Hanlon, R.T. and Messenger, J.B. 1996. *Cephalopod behaviour*. Cambridge University Press. Cambridge.
- 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).
- Juárez Valdez, Oscar Eduardo y Rosas, Carlos; Arena, Leticia. 2010. “La historia del pulpo maya leída en su ADN” en *Revista ciencias* [En línea]. No. 97. Enero-Marzo 2010. Disponible en: <http://www.revistaciencias.unam.mx/es/98-revistas/revista-ciencias-97/545-la-historia-del-pulpo-maya-leida-en-su-adn.html>. [21 de enero de 2018].
- 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.
- Krstulović, S., and Vrgoc, N. (2009). Diet and feeding of the musky octopus, *Eledone moschata*, in the northern Adriatic Sea. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 89, 413–419. doi: 10.1017/S0025315408002488

- Lee, P.G., 1994. Nutrition of cephalopods: fueling the system. *Mar. Freshwater Behav. Physiol.* 25, 35-51.
- 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.
- Mangold K., 1983. Food, feeding and growth in cephalopods. *Memoirs of the National Museum Victoria* 44, 81-93.
- Martinez, R., 2010. Bioquímica digestiva, cinética celular y fisiología energética de *Octopus maya* (Voss y Solís, 1966). Universidad Autónoma de Yucatán, 1-215.
- Martínez, R., Gallardo, P., Pascual, C., Navarro, J. C., Sánchez, A., CaamalMonsreal, C., et al. (2014). "Growth, survival and physiological condition of *Octopus maya* when fed a successful formulated diet". *Aquaculture* 426–427, 310–317. doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.02.005.
- Martinez, R., López-Ripoll, E., Avila-Poveda, O., Santos-Ricalde, R., Mascaró, M., Rosas, Santos, R., Alvarez, 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-
- 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., Mascaró M., Avila-Poveda O., Caamal C., Sa´nchez A., Pascual C. & Rosas C. (2010) Morphological, physiological, and behavioural changes during post-hatching development of *Octopus maya* (Mollusca: Cephalopoda) with special focus on digestive system. *Aquatic Biology* 9, 35–48.
- Morillo-Velarde, P.S., Valverde, J.C., García García, B., 2015. A simple format feed to test the acceptability of ingredients for common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797). *Aquac. Res.* 46, 994–1000, <https://doi.org/10.1111/are.12233>
- 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.



O'Dor R.K., Mangold K., Boucher-Rodoni R., Wells M.J. & Wells J. (1984) Nutrient absorption, storage and remobilization in *Octopus vulgaris*. *Marine Behavior and Physiology* 11, 239–258.

*Octopus maya* (Voss y Solís, 1966). Universidad Autónoma de Yucatán, 1-215. of cephalopods: an approach to their lipid requirements. *Aquaculture* 183, 161-177. of *Octopus maya*. *Aquaculture* 275, 291–297 p.

Rodríguez-González, T., Cerezo-Valverde, J., Sykes, A. V., and Garcia Garcia, B. (2015). Performance of raw material thermal treatment on formulated feeds for common octopus (*Octopus vulgaris*) on growing. *Aquaculture* 442, 37–43. doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.01.035

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.

Rosas C., Valero A., Caamal-Monsreal C., Uriarte I., Farias A., Gallardo P., Sánchez A. y Domingues P. (2013) "Effects of dietary protein sources on growth, survival and digestive capacity of *Octopus maya* juveniles (Mollusca: Cephalopoda)". *Aquaculture research*. 44, pp. 1029–1044.

Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Pascual, C., Taboada, G., Arena, L., VanWormhoudt, A., 2002. An energetic and conceptual model of the physiological role of dietary carbohydrates and salinity on *Litopenaeus vannamei* juveniles. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 268, 47–67.

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

SAGARPA. Fecha de publicación viernes 29 Jul. 2016. "Inicia captura de pulpo en la península de Yucatán". SAGARPA [En línea]. Mérida, Yucatán. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/yucatan/Boletines/Paginas/201607B098.aspx> [Accesado 21 de enero de 2018].

Santé-Lhoutellier, V., Astruct, T., Marinova, P., Greve, E., and Gatellier, P. (2008). Effect of meat cooking on physicochemical state and in vitro digestibility of myofibrillar proteins. *J. Agric. Food Chem.* 56, 1488–1494. doi: 10.1021/jf072999g

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.

Tercero-Iglesias, J. F., Rosas, C., Mascaró, M., Poot-López, G. R., Domingues, P., Nore-a, E., et al. (2015). Effects of parental diets supplemented with different lipid sources on *Octopus maya* embryo and hatching quality. Aquaculture 448, 234–242. doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.05.023

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.

Van Wormhoudt, A., Ceccaldi, J.H., Martin, B.J., 1980. Adaptation de la teneur en enzymes digestives de l'hépatopancreas de *Palaemon serratus* (Crustacea Decapoda) a la composition d'aliments expérimentaux. Aquaculture 21, 63-78.

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.