



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS  
DEL NOROESTE, S.C.

---

---

Programa de Estudios de Posgrado

**DEFINICIÓN DE LOS REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DE JUVENILES  
Y PRE-ADULTOS DE LA LANGOSTA DE AGUA DULCE *Cherax quadricarinatus*,  
CON ESPECIAL ÉNFASIS EN LA RELACIÓN PROTEÍNA/LÍPIDO**

# **T E S I S**

Que para obtener el grado de

**Doctor en Ciencias**

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

P r e s e n t a

Edilmar Cortés Jacinto

La Paz, Baja California Sur, Marzo de 2003

A LA MEMORIA DE GUSTAVO ADOLFO SEGUEDA FLORES†

## DEDICATORIA

A MIS HIJAS, MILDRED Y YAMILET

A quienes con mi ausencia les robé mucho del tiempo que les pertenecía... por su apoyo, comprensión y amor.

A CLAUDIA BONITA

Por fortalecer los momentos críticos.

A MIS PADRES HORTENCIA E ISAÍAS

Por su apoyo y sabios consejos

A MIS HERMANOS, ARNOLDO, MAGDA IRIA, LESAÍN Y DIDETZI

Con el cariño de siempre.

A MIS SOBRINOS

Con amor.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo brindado a través del programa de becas (87195) y financiamiento otorgado (proyectos CONACyT, número 2888-1) para la realización de la presente investigación.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., que a través de sus Programas de Posgrado y de Acuicultura, tuve la oportunidad de desarrollarme para alcanzar esta meta y tener la base ante la posibilidad del quehacer científico.

Al Dr. Humberto Villarreal Colmenares, por dirigir la presente investigación científica, por contribuir en mi formación académica de los últimos años y por comprender mis procesos de creación caótica.

Los Drs. L. Elizabeth Cruz Suárez (UANL); Roberto Civera Cerecedo; Luis. R. Martínez Córdova (USON); Héctor Nolasco Soria, miembros del comité tutorial y de revisión de tesis, apoyaron y asesoraron para mejorar la calidad de los artículos científicos, y del presente manuscrito de tesis, gracias por dedicación y valioso tiempo.

A José Naranjo y Marco Linné Unzueta por su apoyo y por compartir la pasión por el deseo de transferir el conocimiento científico y tecnológico al sector productivo, demasiado esfuerzo con resultados aún sin alcanzar como se desea.

El Dr. Alfredo Hernández y M.C. Eduardo González (CICESE-La Paz), contribuyeron y asesoraron en la aplicación de los modelos matemáticos y análisis estadísticos de los resultados.

A todo el personal técnico de los laboratorios que intervinieron apoyando en las evaluaciones experimentales y/o asesorando en las diferentes técnicas realizadas: Sonia Rocha y Dolores Rondero (Bromatología); Sandra de La Paz, Ismael Valdivia y Francisco Encarnación (Nutrición), Ernesto Goytortua (Planta de Alimentos Animales); Gilberto Colado (Estanquería Supralitoral); Diana Carreño (Bioquímica Fisiológica); María del Refugio (Patogénesis Microbiana), y Ernesto Díaz (Edafología).

Gerardo García, Adriana Landa, Rubén Andrade, Aldo Vargas, Santiago Rodríguez, personal del Departamento de Promoción y Difusión, fueron quienes apoyaron con el diseño gráfico de trabajos presentados en foros nacionales e internacionales, así como el trabajo de imprenta.

Maria Esther Ojeda y Edgar Yuen, personal de la biblioteca, hicieron que la búsqueda bibliográfica y localización de artículos científicos fuese posible.

El Comité de Evaluación Pre-Doctoral, los Drs., Silvie Dumas (CICIMAR-IPN), Ricardo Vázquez y Enrique Troyo, hicieron una crítica constructiva al trabajo de tesis en desarrollo.

Gracias al apoyo desinteresado otorgado por el Dr. Felipe Ascencio y M.C. José Manuel Mazón, fué posible realizar estancias cortas fuera de la ciudad.

A mis compañeros y amigos del programa de posgrado, Marcelo García, Antonio Luna, Edgar Rueda, Vania Serrano, Gabriel Aguirre, Adriana Muhlia, Pedro Cruz, Ángel Campa, Rosalío Maldonado, y Silverio López.

Un agradecimiento especial al Ing. Pedro Chavelas Cortés (SCT-GRO), por sus valiosas opiniones en lo profesional, familiar, y otros aspectos de la vida.

A mis amigos y colaboradores de Transferencia Tecnológica, Patricia Hinojosa, Griselda Gallegos, Mario Osuna, Delfino Barajas y Marcos Porchas.

A mis amigos del paraíso y de toda la vida, Marcelino Mandujano, Manuel S. Herrera, Nicolás Segueda, Elizabeth González, Carlos Ceseña, Horacio Bervera, Maricela Rendón, N. Margarita Kiewek y Georgina Brabata.

Es posible que omita algún nombre por lo que os pido disculpa ante la omisión involuntaria.

## LISTA DE LAS PUBLICACIONES ORIGINALES

- I. Cortés-Jacinto, E., Villarreal-Colmenares, H., Civera-Cerecedo. R., & Martínez-Córdova, R., 2003. Effect of dietary protein level on growth and survival of juvenile freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). *Aquaculture Nutrition* (in press). Anexo I.
- II. E. Cortés-Jacinto, L. E. Cruz-Suárez. R., H. Nolasco-Soria., N.M. Kiewek-Martínez, H Villarreal-Colmenares, Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens). Sometido a *Aquaculture*. Anexo II.
- III. Cortés-Jacinto, E, Villarreal-Colmenares, H., Civera-Cerecedo. R., & Naranjo-Páramo J. Effect of dietary protein level on growth and survival of pre-adult freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens) in monosex culture. Sometido a *Aquaculture Research*. Anexo III.
- IV. Cortés-Jacinto, E., Villarreal-Colmenares, H. y Rendón-Rumualdo, M., 2003. Efecto de la frecuencia alimenticia en el crecimiento y sobrevivencia de juveniles de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* (Decapoda:Parastacidae). *Hidrobiológica*. (in press). Anexo IV.

## RESUMEN EN EXTENSO PRESENTADO EN CONGRESO INTERNACIONAL

- V. Cortés-Jacinto, E., Villarreal-Colmenares, H., and Civera-Cerecedo R., 2003. Studies on the nutrition freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens): Effect of the dietary protein level on growth of juvenile and pre-adult. *Freshwater Crayfish 14*. En revision.

## VI. ABSTRACTS PRESENTADOS EN CONGRESOS INTERNACIONALES

1. Cortés E., Villarreal, H., Naranjo, J., Valdivia I., y Civera, C.R., 2000. Requerimientos nutricionales de juveniles de langosta de agua dulce, *Cherax quadricarinatus*. In: Jory, D. (Ed) Congreso Latinoamericano de Acuicultura Panamá 2000. Octubre 25-28, 2000, Panamá, Rep. Panamá. pp. 67-68.
2. Cortés-Jacinto, E., Villarreal-Colmenares, H., and Civera-Cerecedo R., Valdivia I., 2000. Evaluación de dietas con diferente contenido proteico para juveniles de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* (von Martens). En: *Programa y Resúmenes del V Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*, 19-22 de Noviembre, Mérida, Yucatán, México. pp. 51.
3. Cortés-Jacinto, E., Villarreal-Colmenares, H., and Civera-Cerecedo R., 2002. Effect of different protein levels on growth, survival and biomass of freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (DECAPODA PARASTACIDAE) juveniles. In: *Aquaculture America 2002. Book of abstracts*. World Aquaculture Society, San Diego, USA. pp 74.

## PUBLICACIONES EN REVISTA DE DIFUSIÓN

1. Cortés-Jacinto, E., Villarreal-Colmenares, H., and Civera-Cerecedo. R., 2002. Production of Juvenile Redclaw in Mexico: Effect of Different Protein Levels. *Global Aquaculture Advocate* 2:22.

## COMITÉ TUTORIAL Y DE REVISIÓN DE TESIS

Dr. Humberto Villarreal Colmenares (CIBNOR, La Paz, B.C.S.)

Dra. Lucía Elizabeth Cruz Suárez (UANL, Monterrey, N.L.)

Dr. Luis Rafael Martínez Córdova (USON, Hermosillo, Son.)

Dr. Roberto Civera Cerecedo (CIBNOR, La Paz, B.C.S.)

Dr. Héctor Nolasco Soria (CIBNOR, La Paz, B.C.S.)



## ABREVIACIONES

PC = Proteína cruda

PD = Proteína digestible

ED = Energía digestible

DMS = Digestibilidad de materia seca

ELN = Extracto libre nitrógeno

PL = Proteína: Lípido

L = Lípidos

TCE = Tasa de Crecimiento Específico

TCA = Tasa de Crecimiento Absoluta

FCA = Factor de Conversión Alimenticia

TEP = Tasa de Eficiencia Proteica

S = Supervivencia

m.s. = Materia seca

UE = Unidad Experimental

## RESUMEN

El cultivo del acocil (crayfish) del género *Cherax*, también conocido como langosta de agua dulce, ha recibido atención considerable entre los productores acuícolas y agrícolas en México, debido a sus características biológicas y a la necesidad de considerar especies alternativas para la producción acuícola. Una de las limitaciones importantes para el éxito del cultivo comercial de *Cherax quadricarinatus* ha sido la falta de información apropiada en los aspectos nutricionales y las prácticas alimenticias de la especie.

Se realizaron cuatro evaluaciones experimentales para determinar los requerimientos en proteína y lípidos de la especie en las fases de juveniles y pre-adultos, así como la frecuencia alimenticia óptima.

El requerimiento de proteína para juveniles de *C. quadricarinatus* ( $1.08 \pm 0.34$  g) se definió en función a la respuesta de diferentes niveles de proteína cruda (PC) en la dieta (20, 25, 31, 37, 43, 49, y 55%) y un rango de 18.73 a 21.45 kJ/g de energía. La evaluación se realizó en unidades experimentales (UE) de 1500 l, a una temperatura de  $27 \pm 1$  °C por un período de 60 días. El peso y la mayor tasa de crecimiento específico (TCE) ( $P < 0.05$ ), con valores de 9.6 y 3.64 %/día, respectivamente, fueron obtenidos con la dieta 31% PC, equivalente a 27% (PD), que representa el nivel de proteína digestible sugerido para juveniles de 1 a 10 g.

El requerimiento óptimo proteína/lípido (P/L) de juveniles de *C. quadricarinatus* se definió en función a la respuesta de dietas formuladas con tres niveles de proteína cruda (PC) (26, 31 y 36%), y tres niveles de lípidos en la dieta (4, 8 y 12%), con un rango de proteína digestible/energía digestible (PD/ED) de 14.6 a 22.6 mg de PD/kJ de ED. Los juveniles ( $0.71 \pm$

0.13 g) fueron alimentados por un período de 60 días en UE's de 40 l a una temperatura de 28 °C. El peso más alto, la TCE mayor y la biomasa más alta, con valores de 7.0 g, 3.67 %/día y 370.2 g/m<sup>2</sup>, respectivamente, fueron obtenidos con la dieta de 31% PC y 8% L. El crecimiento óptimo para juveniles se estimó ajustando un modelo cuadrático ( $Y = a + bc + cc^2$ ) en 32% PC. Los resultados indican que una dieta con 26.3% PD, 7.5% de L con una proporción de PD/ED de 18.4 mg de PD/kJ de ED es el óptimo para juveniles de 1 a 7 g en las condiciones experimentales evaluadas.

Para determinar el requerimiento de proteína de pre-adultos de *C. quadricarinatus*, machos ( $23.1 \pm 0.58$  g) y hembras ( $21.8 \pm 0.33$  g) se evaluaron cinco dietas con diferente nivel de PC (22, 27, 33, 39 y 45%) equivalente a PD (17, 20, 24, 28 y 32%) y un rango de ED de 14.32 a 15.21 kJ/g. Se determinó el nivel óptimo de proteína para el crecimiento de pre-adultos de *C. quadricarinatus* en cultivo mosexual, por un período de 70 días. El peso final y la tasa de crecimiento absoluta (TCA) en los machos fue significativamente más alto ( $P < 0.05$ ) que para las hembras alimentadas con los tratamientos de 22, 27, y 33% de PC. Los resultados indican que una dieta con 22% de PC equivalente a 17% de PD, con una proporción de proteína/energía P/E de 11.4 mg/kJ, produce una mejor crecimiento en pre-adultos machos de *C. quadricarinatus*.

El efecto de la frecuencia alimenticia en el crecimiento y sobrevivencia de juveniles ( $0.89 \pm 0.6$  g) de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*, fue evaluado con cuatro diferentes frecuencias de alimentación por día: cada C1=1 vez/ día; C2= 2 veces/ día; C3= 3 veces/ día y C4= 4 veces/ día, por un período de 60 días. Tasas de crecimiento específico (TCE) de 3.02 y 2.79%/día, muestran que las frecuencias alimenticias C3 y C4 maximizan el desarrollo de juveniles de *C. quadricarinatus*. El incremento en peso de los juveniles de *C. quadricarinatus* indica que la frecuencia de alimentación óptima es de al menos tres veces al día de manera racionada.

En base a los resultados presentados, se puede concluir que para el acocil *C. quadricarinatus*, el requerimiento de proteína y energía es similar al de juveniles de otros decápodos. Conforme aumenta la talla disminuye el requerimiento relativo en proteína. Los machos aprovechan mejor la energía para el crecimiento a partir de los 20 g. Esto puede relacionarse con la canalización de la energía hacia la reproducción por parte de las hembras, ya que un incremento de disponibilidad de proteína no se relaciona con un incremento en peso. La frecuencia alimenticia afectó la capacidad de aprovechamiento de los nutrientes en la dieta por lo que se debe evaluar la estabilidad, digestibilidad de alimentos comerciales y su aprovechamiento en términos de los parámetros productivos.

Palabras claves: Nutrición, requerimientos proteicos, lípidos, frecuencia alimenticia, acocil, *Cherax quadricarinatus*

## ABSTRACT

The freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens) has received considerable attention among aquaculturists and agricultural producers in Mexico because of its biological advantages, such as: a high growth rate, resistance to management-caused stresses and diseases, good feed-to-biomass conversion rate, and the need to find alternative species for aquaculture production. An important limitation in the industry's advancement has been the lack of appropriate information on nutrient requirements and feeding practices.

Four feeding trials were conducted to determine nutritional requirements of juveniles and pre-adults, as well as the optimal feeding frequency.

Protein requirements of juvenile *C. quadricarinatus* ( $1.08 \pm 0.34$  g) were determined by using diets containing various levels of crude protein (20, 25, 31, 37, 43, 49, and 55%) with a range of 18.73 to 21.45 kJ/g gross energy. The feeding trial used 1500-L experimental tanks at  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  for 60 days. Highest mean weight (9.6 g) and specific growth rate (3.64%/day) were achieved with a diet of 31% crude protein, which was the best level for juveniles weighing 1 to 10 g.

The optimal protein/lipid ratio for juvenile *C. quadricarinatus* was determined by using three dietary crude protein levels (26, 31, and 36%) in combination with three lipid levels (4, 8, and 12%), corresponding to digestible protein/digestible energy ratios ranging from 14.6 to 22.6 mg of /kJ. Juvenile specimens (36) were stocked in 40 L freshwater at a near-constant temperature ( $28.1^\circ\text{C}$ ) for 60 days. The highest mean weight (7.0 g) with a 3.67%/day specific growth rate and a biomass of  $370.2 \text{ g/m}^2$  was obtained with a diet of 31% crude protein and 8% lipids. Optimum protein requirements were estimated by fitting mean weight gain data to a quadratic model ( $Y = a + bc + cc^2$ ), which was determined to be 32%. The results suggest that 26.3% digestible

protein, 7.5% digestible lipids with a digestible protein/ digestible energy ratio of 18.4 mg /kJ is the optimum for juvenile from 1 to 7 g.

Protein requirements of pre-adults were evaluated with five levels of crude protein (22, 27, 33, 39, and 45% equivalent to, respectively 17, 20, 24, 28, and 32% digestible protein. Digestible energy ranged from 14.32 to 15.21 kJ/g. Optimum level of digestible protein for growth of pre-adult *C. quadricarinatus* were fed for 70 days in monosex culture. Male attained significantly ( $P < 0.05$ ) higher final weights and absolute growth rates when fed the 22, 27, and 33% crude protein diets. Results indicated that a 22% crude protein (17% digestible protein) diet, with a protein/energy ratio of 11.4 mg/kJ, produced optimum growth.

The effect of feeding frequency on growth and survival was evaluated in a 60-day study. Juveniles were fed at one of four feeding frequencies, either once a day, twice a day, three times a day, and four times a day with a 35% crude protein diet. Specific growth rates of 3.02 and 2.79%/day for three and four times a day feeding frequencies maximized juvenile growth. Weight gain of juveniles indicated that the best feeding frequency is at least three times per day.

Based on these results, juvenile *C. quadricarinatus* protein and energy requirements are similar to other decapod juveniles. As size increases, percentage protein requirements decline. Males take advantage of energy for growth above about 20 g because females use more of the available energy for reproduction. An increase in protein is not related to a significantly different increase in weight for females. Feeding frequency affects the ability of protein usage in the diet by the crayfish. Diet stability, digestibility, and efficiency of use, in terms of FCR, should be evaluated.

Key words: Nutrition, protein requirements, lipids, feeding frequency, crayfish, *Cherax quadricarinatus*.

## CONTENIDO

RESUMEN.....	9
ABSTRACT.....	12
LISTA DE FIGURAS.....	16
LISTA DE TABLAS.....	16
1. INTRODUCCIÓN.....	18
1.1. Biología del acocil <i>Cherax quadricarinatus</i> .....	18
1.1.1 Distribución natural.....	18
1.1.2. Clasificación taxonómica.....	19
1.1.3. Fisiología y Morfología.....	19
1.2. Ciclo de vida del acocil <i>C. quadricarinatus</i> .....	21
1.3. Sistema Digestivo.....	21
1.4 Hábitos alimentarios y de conducta.....	22
1.5. Especies de <i>Cherax</i> con interés comercial.....	24
1.6. Nutrición.....	24
1.6.1. Generalidades.....	24
1.6.2. Micronutrientes de las dietas.....	25
1.6.3. Vitaminas.....	25
1.6.4. Minerales.....	26
1.6.5. Fibra.....	28
1.7. Ingredientes básicos en las raciones balanceadas.....	28
1.8. Características de algunos ingredientes utilizados en dietas balanceadas.....	29
1.8.1. Harina de pescado.....	29
1.8.2. Harina de langostilla.....	30
1.8.3. Harina de calamar.....	31
1.8.4. Pasta de soya.....	31
1.8.5 Productos de trigo.....	32
1.9. Formulación y elaboración de dietas peletizadas.....	32
2. ANTECEDENTES.....	33
2.1. Producción acuícola.....	33
2.2. Biología y cultivo de <i>Cherax</i> .....	34
2.4. Requerimientos de lípidos.....	38
2.5. Requerimientos de carbohidratos y energía.....	40
3. HIPÓTESIS.....	43
4. OBJETIVO GENERAL.....	44
4.1 OBJETIVOS PARTICULARES.....	44
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	45
5.1. Resumen de los experimentos realizados.....	45
5.2. Descripción del área experimental.....	46
5.2.1. Formulación y elaboración de dietas experimentales.....	46
5.2.2. Sistemas de cultivo experimentales.....	51
5.2.3. Calidad del agua.....	51
5.3. Organismos experimentales.....	52
5.4. Análisis bioquímicos.....	53
5.4.1. Análisis proximales.....	54
5.4.2. Perfil de aminoácidos.....	55
5.5. Crecimiento e índices de producción.....	55

5.5.1. Análisis estadísticos y procesamiento de datos .....	57
6. RESULTADOS.....	58
6.1 Experimento I.....	58
6.2. Experimento II.....	60
6.3 Experimento III.....	66
6.4. Experimento IV.....	71
7. DISCUSIÓN.....	74
7.1 Calidad de agua.....	74
7.2. Nutrición.....	75
7.2.1. Elaboración de dietas.....	75
7.3 Respuesta productiva.....	76
8. CONCLUSIONES.....	80
9. RECOMENDACIONES .....	82
10. BIBLIOGRAFÍA.....	83



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Vista ventral de un acocil macho de <i>C. quadricarinatus</i> .....	20
Figura 2. A) Anatomía interna de un acocil hembra. B) Esquema del sistema digestivo del acocil.....	23
Figura 3. Batidora industrial utilizada para la mezcla de los ingredientes.....	47
Figura 4. Molino de carne utilizado para la elaboración del alimento peletizado.....	51
Figura 5. Unidades Experimentales utilizadas en el experimento II.....	52
Figura 6. Cosecha de juveniles de langosta de agua dulce <i>C. quadricarinatus</i> de estanques de reproducción del CIBNOR.....	53
Figura 7. Una unidad experimental de 1500 l utilizado para las evaluaciones experimentales de juveniles (I) y pre-adultos (III) de <i>C. quadricarinatus</i> .....	54
Figura 8. Efecto del nivel de proteína de la dieta sobre el peso final (promedio $\pm$ error estándar) de juveniles de <i>C. quadricarinatus</i> . El requerimiento fue estimado mediante la aplicación del modelo cuadrático con 0.95 de confianza.....	60
Figura 9 Peso promedio final de juveniles de <i>C. quadricarinatus</i> alimentados con dietas con diferentes niveles de proteína y lípidos.....	61
Figura 10. Crecimiento de pre-adultos (a) hembras y (b) machos de <i>C. quadricarinatus</i> alimentados con dietas con diferente nivel de proteína cruda (%PC) en 70 días de cultivo a $27 \pm ^\circ\text{C}$ .....	68
Figura 11. Efecto del nivel de proteína de la dieta sobre el peso final (promedio $\pm$ error estándar) de machos de <i>C. quadricarinatus</i> . El requerimiento fue estimado mediante la aplicación de un modelo cuadrático con 0.95 de confianza.....	70

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición de aminoácidos esenciales del músculo de juveniles de langostino ( <i>Macrobrachium rosenbergii</i> ), el acocil ( <i>C. tenuimanus</i> ) y el camarón ( <i>Litopenaeus sp.</i> ).....	37
Tabla 2. Resumen de los diseños experimentales con <i>Cherax quadricarinatus</i> incluidos en esta tesis.....	45
Tabla 3. Formulas de las dietas experimentales para juveniles (A y B) y pre-adultos (C) de <i>Cherax quadricarinatus</i> .....	48
Tabla 4. Composición proximal de los ingredientes utilizados en la formulación de las dietas experimentales para juveniles y pre-adultos de <i>Cherax quadricarinatus</i> .....	50
Tabla 5. Perfiles de aminoácidos(%) de las dietas experimentales del experimento I.....	56
Tabla 6. Perfiles de aminoácidos (%) de las dietas experimentales del experimento II.....	56
Tabla 7. Perfiles de aminoácidos (%) de las dietas experimentales del experimento III.....	57
Tabla 8. Análisis proximal (promedio $\pm$ desviación estándar) y de energía de las dietas experimentales para juveniles de <i>C. quadricarinatus</i> . (Experimento I).....	58
Tabla 9. Promedios ( $\pm$ desviación estándar) de los parámetros de producción de juveniles de <i>C. quadricarinatus</i> alimentados con dietas con diferente nivel de proteína. (Experimento I).....	59
Tabla 10. Composición proximal de las dietas experimentales, para juveniles de <i>C. quadricarinatus</i> . (Experimento II).....	62
Tabla 11. Promedios ( $\pm$ desviación estándar) de los parámetros de producción de juveniles de <i>C. quadricarinatus</i> , alimentados con dietas con diferente nivel de proteína y lípido.....	64
Tabla 12. Cuadro de análisis de varianza para datos de parámetros de producción del experimento II.....	65

Tabla 13. Análisis proximal de las dietas experimentales para pre-adultos de <i>C. quadricarinatus</i> . (Experimento III).....	66
Tabla 14. Valores promedio ( $\pm$ desviación estándar) de los parámetros de producción de pre-adultos de <i>C. quadricarinatus</i> , alimentados con dietas con diferentes niveles de proteína, después de 70 días de cultivo experimental.....	69
Tabla 15. Peso promedio ( $\pm$ desviación estándar) de juveniles de <i>C. quadricarinatus</i> alimentados con diferente frecuencia durante 60 días de cultivo.....	72
Tabla 16. Parámetros de producción y de respuesta del crecimiento de <i>C. quadricarinatus</i> a los 60 días de alimentación con diferentes frecuencias alimenticias (promedio $\pm$ desviación estándar).....	73

## 1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura es considerada como una alternativa para cubrir la creciente demanda de proteína animal, hacer productivas extensiones de tierra que no son aptas para agricultura o en las cuales la actividad agrícola no es rentable, y optimizar el uso de los recursos naturales, además de generar empleos (Cortés 1998). El éxito de una industria acuícola se basa en la selección de la especie con características apropiadas para su cultivo y utilización comercial. El cultivo del acocil (crayfish) del género *Cherax* ha recibido atención considerable entre los productores acuícolas y agrícolas en México. En México la especie fue introducida a principios de los 90's por la Dirección de Acuicultura de la Secretaría de Pesca (Villarreal 2000). El potencial productivo de la especie indica que el futuro del cultivo para Latinoamérica y el Caribe es promisorio, ya que existen áreas con aguas continentales en abundancia, las condiciones climáticas son generalmente adecuadas, los costos de mano de obra son inferiores a Australia, Europa y los Estados Unidos, y existe un mercado incipiente de exportación, si embargo uno de los aspectos que mayor impactan en un proceso acuícola productivo es la alimentación. Con este trabajo se pretende contribuir en la identificación de los requerimientos en proteína y lípidos en juveniles y pre-adultos del acocil *Cherax quadricarinatus*, así como la frecuencia de alimentación óptima. Finalmente el interés en el cultivo de langostas de agua dulce resulta del producir una langosta de tamaño adecuado para el mercado (Jones 1999).

### 1.1. Biología del acocil *Cherax quadricarinatus*.

#### 1.1.1 Distribución natural.

El acocil *Cherax quadricarinatus* se distribuye en la región tropical del Noreste de Australia (Jones y Ruscoe 1996; Jones y Ruscoe 2000) que se ubica en el Estado de Queensland cercano a la parte

del Golfo de Carpentaria y al Cabo York, en las costas al Oeste del Golfo de Darwin y en el Sureste de Nueva Guinea (Jones 1990a).

### 1.1.2. Clasificación taxonómica

Según Hobbs (1989) su clasificación taxonómica es,

Reino	Animal
Phyllum	Arthropoda
Subphyllum	Crustacea
Clase	Malacostraca
Superorden	Eucarida
Orden	Decapoda
Suborden	Macrura Repantia (Bouvier, 1917)
Infraorden	Astacidea (Latreille, 1802)
Superfamilia	Parastacoidea (Huxley, 1878)
Familia	Parastacidae (Huxley, 1878)
Género	<i>Cherax</i> (Erichson, 1846)
Especie	<i>Cherax quadricarinatus</i> (von Martens 1868)

La mayor diversidad de la familia Parastacidae está en Australia, con 9 de los 14 géneros identificados (Williams 1980; Huner 1994; Crandall *et al* 1999). Los Parastacidos Australianos se encuentran representados por tres géneros; *Cherax* (Erichson 1846), *Engaeus* (Erichson 1846) y *Euastacus* (Clark 1936, y Austin 1995). Dentro del género *Cherax*, 43 especies han sido descritas por Crandall *et al.* (1999).

### 1.1.3. Fisiología y Morfología

El acocil *C. quadricarinatus* es una especie tolerante a variaciones ambientales, ha evolucionado como un animal resistente a intervalos de temperaturas (23 a 31°C, King 1994; Jones 1999), con

un óptimo de 27°C (Jones 1988), y se reproduce a temperaturas superiores a 23°C (Yeh y Rouse 1995). Se desarrolla a niveles de dureza del agua superior a 150 mg/l de CaCO<sub>3</sub>, pH entre 7 y 8.5, y una concentración de oxígeno superior a 4 mg/l (Villarreal 2000). Por otro lado, es capaz de tolerar aguas salobres sin afectar su crecimiento (Jones 1990a; Villarreal y Peláez 1999). Esta capacidad adaptativa la hace una especie idela para su cultivo en diversas regiones en México.

El color del exoesqueleto del acocil es generalmente verde-azulado. Puede ser diferenciada de las otras especies del mismo género ya que en los machos se presenta una membrana descalcificada de color rojo en la parte externa de la quela (Figura 1), de esta se deriva su nombre común quela roja (Redclaw). Las diferencias morfológicas entre hembras y machos son fácilmente distinguibles, ya que la quela del macho adulto (> 20 g de peso) es relativamente más grande (Naranjo 1999; Villarreal). En la langosta, el abdomen contiene una gran proporción del total del músculo disponible (Jones 1990; Villarreal y Peláez 1999). El total de músculo en la cola de la langosta de agua dulce es aproximadamente un 22 % de su peso total (Huner 1995).

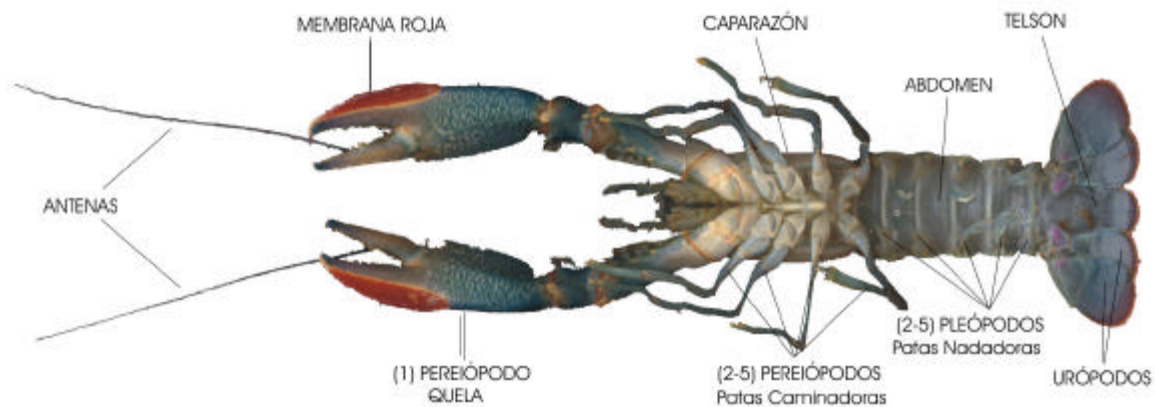


Figura 1 Vista ventral de un acocil macho de *C. quadricarinatus*.

## 1.2. Ciclo de vida del acocil *C. quadricarinatus*.

La principal ventaja para acuicultura de la langosta de agua dulce, en comparación a otras especies, es que presenta un ciclo de vida simple (Jones y Ruscoe 1996; Lawrence y Jones 2002). La característica más destacada es la ausencia de estadios larvales libres (Villarreal 2000). Bajo condiciones apropiadas de hábitat y disponibilidad de alimento, los organismos alcanzan una talla de 0.5-1 g en un período de 50-60 días, alcanzando la madurez sexual en 5-7 meses, y 50-100 g en un período de 6-12 meses (Sammy 1988; Medley *et. al.* 1994). Una talla máxima de 450 g ha sido registrada para animales del Río Mitchel (Jones 1990). La talla máxima probablemente se alcanza en un período de 4 a 5 años (Hobbs 1988; Jones 1990).

## 1.3. Sistema Digestivo.

El aparato digestivo del acocil es el sistema de órganos más voluminoso de la cavidad del cuerpo y está constituido por tres secciones: intestino (esófago y estómago), intestino medio (canal del intestino medio y hepatopáncreas) e intestino posterior (Figura 2). El esófago, estómago e intestino posterior están alienados por una cutícula que se desprende después de la muda (Vogt 2002). El estómago incluye el molino gástrico y un filtro sofisticado que funciona para la masticación de los alimentos. El hepatopáncreas sintetiza las enzimas digestivas y emulsifica los lípidos, metaboliza nutrientes y los almacena (Jussila 1997). El intestino posterior se localiza en la porción superior del músculo abdominal y es de consistencia quitinosa (Vogt 2002).

El alimento es macerado en el estómago repetidamente cardíaco y mezclado con las enzimas digestivas hasta formar un fluido. Este fluido es filtrado y transportado a través de los canales cardiopilóricos dentro de las cámaras ventrales del píloro donde se realiza una segunda

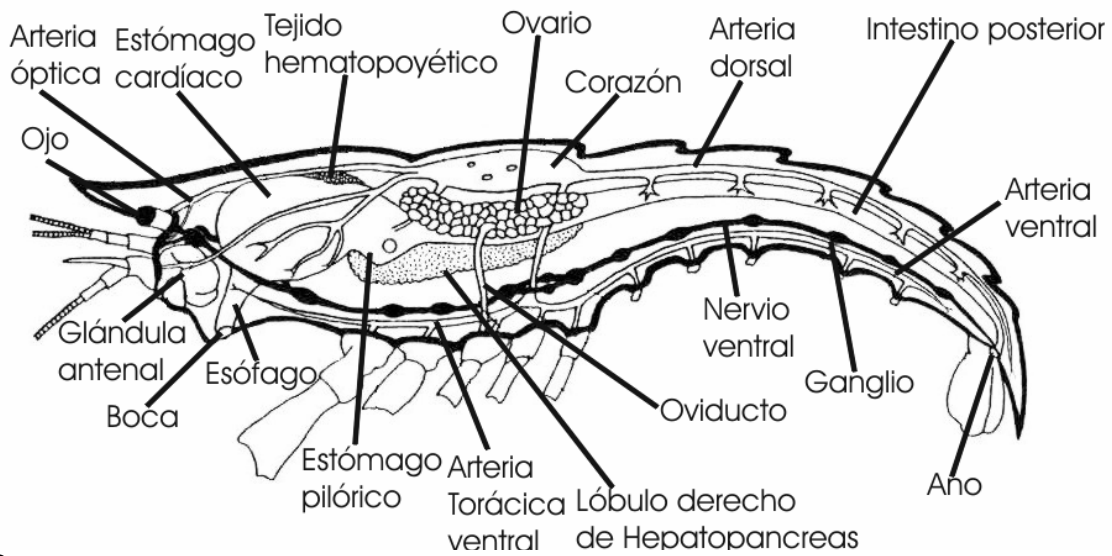
filtración. Los sólidos son transferidos a través de la válvula cardiopilórica dentro de la cámara media del píloro (Figura 2) donde se forman las heces (Huxley 1974; Vogt 2002). La función del intestino posterior es el transporte de heces al exterior, además de funciones asociadas con la osmorregulación (Vogt 2002).

#### 1.4 Hábitos alimentarios y de conducta.

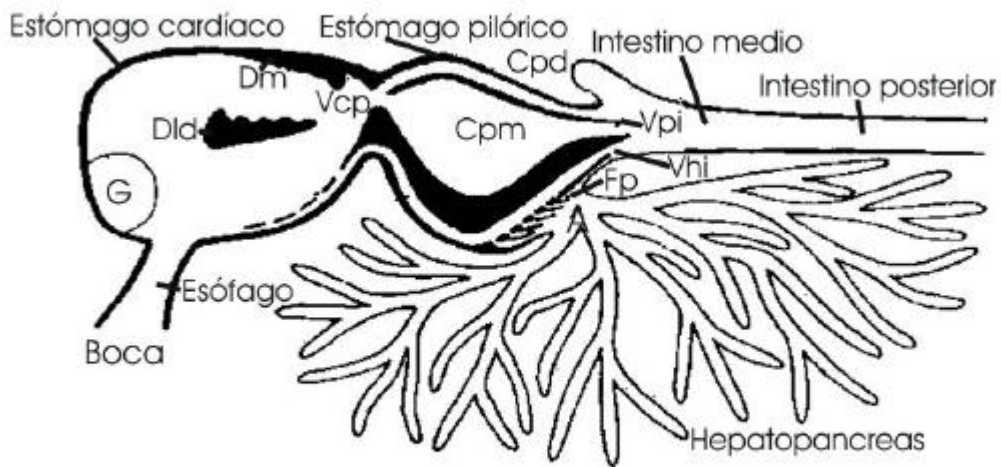
Descripciones generales para *Parastacoides tasmanicus* (Erichson 1946), *Engaeus cisternarius* (Horwitz, 1990), *Engaeus fossor* (Horwitz, 1990), y *C. destructor* (Clark 1936), indican que los parastacidos en el medio ambiente natural son omnívoros oportunistas, donde el canibalismo es común. Como en muchos decápodos, estos organismos se alimentan principalmente de detritos de fondo principalmente de vegetales (Gherardi 2002), donde los fragmentos de hojas son predominantes, así como raíces y microalgas (diatomeas y *Chlorella sp.*) que aportan una fuente de carotenoides (Jussila 1997; Naranjo 1999). Organismos de mayor tamaño presentan una preferencia hacia el alimento fijo (*vgr.* briofitas) debido a que sus movimientos son lentos en comparación con los juveniles (Abrahamsson 1966).

De acuerdo a observaciones de Jones (1990b) y Gherardi (2002), se sabe que existen dos picos de intensa actividad durante el día; el más intenso se encuentra entre las 18 horas y la media noche, y el segundo es justo antes del amanecer, los cuales están condicionados por la intensidad luminosa. Por otro lado, el acocil en su fase adulta presenta una conducta excavadora mostrada en estanques o en el medio natural que involucra la construcción de madrigueras en forma de “U” (Gherardi 2002), generalmente no mayores a 5 cm. de profundidad los cuales son predominantemente ocupados de forma individual (Jones 1990b).

A



B



A: antecámara de hepatopáncreas; Cpd: canal pilórico dorso lateral; Cpm: cámara pilórico media; Dld: diente lat. derecho; Dm: diente medio; Fp: filtro pilórico; G: Gastrolito; Vcp: válvula cardiopilórica; Vni: v. intestinal-hepatopancreática; Vpi: v. piloro intestinal.

Figura 2. A) Anatomía interna de un acocil hembra. B) Esquema del sistema digestivo del acocil.



## 1.5. Especies de *Cherax* con interés comercial

Las tres especies de interés comercial en Australia son: Marrón (*Cherax tenuimanus*) (Morrissy 1989; Villarreal 1988), Yabbie (*C. destructor*) (Mills y McCloud 1983) y Redclaw (*C. quadricarinatus*) (Jones 1988; 1990a; King 1992; Jones y De Silva 1997; Villarreal y Peláez 1999; Lawrence y Jones 2002). De ellas, la última es la que tiene mejores perspectivas de desarrollo comercial, debido a su alta tasa de crecimiento, ciclo de vida simple (Jones y Ruscoe 1996; Jussila 1997; Lawrence y Jones 2002), fácil manejo, alto potencial reproductivo y es menos agresiva (Webster *et al.* 1994; Meade y Watts 1995; Webster *et al.* 2002a).

## 1.6. Nutrición

### 1.6.1. Generalidades

La nutrición comprende los procesos químicos y fisiológicos que proveen de nutrientes a un animal para sus funciones normales, de mantenimiento y crecimiento. Por lo tanto, involucra la ingestión, digestión, absorción, transporte de nutrientes y por último la eliminación de desechos (Akiyama *et al.* 1991; Zendejas 1991; Cortés 1993; D'Abramo y Castell 1997; Villarreal y Peláez 1999). Las proteínas, carbohidratos, lípidos, minerales, vitaminas, así como la energía, deben estar presentes en la dieta (Kanazawa 1985; Tacon 1990; Akiyama *et al.* 1991; Kanazawa 1992; Evans 1992; Guillaume 1997; Shiau 1998). Algunos de estos nutrientes son obtenidos hasta cierto grado del ambiente natural por los crustáceos en cultivo (Akiyama *et al.* 1991). La productividad primaria, secundaria y el bentos son fuentes de alimento natural para los organismos en cultivo (Tacon y Akiyama 1997; Martínez-Córdova 1998; Martínez-Córdova *et al.* 2002b). Los alimentos

peletizados complementan al alimento natural, dando lugar así a un incremento en la capacidad de producción de la especie en cultivo.

La alimentación constituye uno de los costos mas altos en la producción acuícola de crustáceos (Villarreal 1995; Jones *et al.* 1996a; Martínez-Córdova *et al.* 2002a; Cruz *et al.* 2002; Kureshy y Davis 2002), y teniendo en cuenta las limitaciones de alimento natural, el desarrollo de una dieta compuesta efectiva y económica es un requisito esencial para el éxito del cultivo (Fernández *et al.* 1987; Ackefors *et al.* 1992; D'Abramo y Sheen 1996; Jones *et al.* 1996a; Cruz *et al.* 2002).

Las limitaciones en el conocimiento de la nutrición de crustáceos (Bordner *et al.* 1986, Tacon 1996), y en particular para la langosta de agua dulce, acentúan la necesidad de determinar los requerimientos nutricionales de la especie (Webster *et al.* 1994; Meade y Watts 1995; Jones y Ruscoe 1996; Jussila 1997; Villarreal y Peláez 1999; Webster *et al.* 2002b).

#### *1.6.2. Micronutrientes de las dietas*

#### *1.6.3. Vitaminas*

Son un grupo heterogéneo de compuestos orgánicos, esenciales para el crecimiento y mantenimiento de la vida animal (Zendejas 1991). Las vitaminas funcionan como catalizadores metabólicos para las reacciones químicas (D'Abramo y New 2000). Akiyama y Dominy (1989) y Kanazawa (2000) han concluido que para el camarón son esenciales las vitaminas B (tiamina, riboflavina, ácido nicotínico, piridoxina, pantotenato, biotina, ácido fólico, vitamina B<sub>12</sub>), así como colina, inositol, vitamina C (ácido ascórbico), y vitaminas liposolubles (vitamina E, vitamina D y betacarotenos). Los carotenoides juegan un papel importante en la pigmentación del tejido (Coll 1982; Kanazawa 2000). Su deficiencia implica una reducción de crecimiento y

mayor propensión a enfermedades. Por otro lado, el acocil necesita de una fuente externa de  $\beta$ -carotenoides para completar la mineralización del exoesqueleto (Wheatly y Gannon 1993).

Los requerimientos vitamínicos para crustáceos son influenciados por el tamaño del organismo, edad, tasa de crecimiento, condiciones ambientales, y relaciones entre nutrientes (Akiyama *et al* 1991). Se ha estimado que la cantidad de vitamina C consumida por los crustáceos es de aproximadamente un 10% de lo adicionado a las dietas (D'Abramo y New 2000; Kanazawa 2000). La falta de vitamina C en dietas para camarón causa mortalidad y deficiencia en crecimiento (Cortés 1993), además tiene un efecto que ocasiona el “síndrome de muerte negra” (Kanazawa 1992; Shiau 1998; Kanazawa 2000).

Normalmente las dietas comerciales se sobre fortifican, debido a la falta de conocimientos precisos de los requerimientos, variabilidad del contenido de vitaminas de los ingredientes utilizados en la formulación y para cubrir las pérdidas originadas por el proceso de peletizado, almacenamiento y lixiviación (Shiau 1998; D'Abramo y New 2000; Kanazawa 2000).

#### 1.6.4. *Minerales*

Los crustáceos marinos absorben minerales del agua; sin embargo, algunos minerales se pierden durante el proceso de la muda, por lo que se recomienda la suplementación de minerales en la dieta (Shiau 1998; Kanazawa 2000). Existen aproximadamente 20 elementos inorgánicos que realizan funciones esenciales en el organismo (Tacon 1990; Akiyama *et al* 1991). Algunos de ellos son requeridos en cantidades considerables, por lo que se les conoce como macroelementos (calcio, fósforo, potasio y magnesio). Otros se requieren en menor cantidad y son considerados microelementos (cobre, hierro, manganeso, zinc, selenio) (Tacon 1990; Davis y Lawrence 1997; Shiau 1998).

Las funciones generales de los minerales son como elementos constitutivos del exoesqueleto (Jussila 1997), ayudan a mantener el balance osmótico, son constituyentes estructurales de tejidos blandos (*vgr.* sulfuro en proteínas), metalo proteínas (*vgr.* zinc en carboxipeptidasa), como cofactores y activadores de una variedad de enzimas (Davis y Lawrence 1997), e intervienen en la transmisión de impulsos nerviosos y en la contracción muscular (New 1987). El calcio (Ca) es un constituyente esencial en el exoesqueleto (Cortés 1993). El nivel de calcio recomendado en dietas comerciales para crustáceos es de 2.8 % (Civera 1993), niveles de más de 3% en la dieta no son recomendables, ya que pueden afectar la relación calcio-fósforo, la cual debe mantenerse en una proporción 1.5:1 (D'Abramo y New 2000). Gallagher *et al* (1978) y Shiau (1998) sugieren que en la dieta para juveniles y adultos de *H. americanus* una proporción de Ca:P 1:1 es adecuada. El balance del calcio previo al período de muda, es controlado por las hormonas que regulan el ciclo de la muda. El estímulo en la formación de gastrolitos es un esteroide, B-ecdisona que es secretado después de que disminuyen los niveles de hormonas que inhiben la muda (Jussila 1997). Los niveles de fósforo (P) en la dieta generalmente se encuentran entre 1.8 y 2% (Shiau 1998). El organismo usa este mineral en diferentes procesos metabólicos, y se considera el más limitante en la dieta.

El calcio se encuentra de manera abundante en las harinas de hueso, camarón, cangrejo, carne y pescado, así como en la concha de ostión, la alfalfa, macroalgas (*vgr.* Kelp), la leche deshidratada y la cal, entre otros (Civera 1993). Los requerimientos cuantitativos de minerales no han sido definidos para *Cherax* (Villarreal y Peláez 1999).

### 1.6.5. Fibra

Se refiere a mezclas de polisacáridos incluyendo celulosa, hemicelulosa, lignina, pentosas y otras fracciones generalmente indigeribles en el alimento (Akiyama y Chwang 1989; Shiau 1997). La quitina es un polímero de N-acetil-glucosamina con conexión similar a la estructura de la celulosa. Este polímero es el mayor componente estructural del exoesqueleto de crustáceos. Los alimentos con niveles elevados de fibra (mayor de 4%) incrementan la producción de heces (Akiyama *et al.* 1991), el efecto fisiológico de la fibra parece estar en función del tipo y composición de fibra en la dieta.

### 1.7. Ingredientes básicos en las raciones balanceadas.

La evaluación de los ingredientes utilizados en alimentos para los acociles es limitada. Dentro de los ingredientes utilizados en dietas comerciales se encuentran las harinas de camarón, calamar, pescado, soya, trigo, levadura, sorgo, maíz y otros (New, 1987). Las harinas de origen marino contienen niveles superiores de energía, aminoácidos esenciales, ácidos grasos esenciales, fosfolípidos, colesterol, minerales y atrayentes en comparación de las proteínas vegetales (Chamberlain 1996).

Akiyama y Dominy (1989) reportan niveles mínimos o recomendables de cada ingrediente para dietas peletizadas de camarón. Sin embargo, con los conocimientos actuales no se ha podido elaborar un alimento estándar, debido a las variaciones específicas en los insumos, las cuales han impedido la sistematización en la producción de un alimento que sea económicamente atractivo y cubra todos los requerimientos nutricionales (New 1987).

## 1.8. Características de algunos ingredientes utilizados en dietas balanceadas.

En general, la calidad de las harinas utilizadas en la elaboración de alimento peletizado depende de las condiciones de manufacturación, conservación y de la calidad de materia prima utilizada. Por otro lado, el uso de ingredientes de alta calidad en la formulación de dietas que maximizan el crecimiento de crustáceos es relativamente nuevo. A continuación se hace una descripción de algunos ingredientes comúnmente utilizados en la elaboración de raciones peletizadas.

### 1.8.1. Harina de pescado

La composición de estas harinas varía ampliamente en su análisis de acuerdo a la naturaleza de la materia prima y a los procesos y cuidados de elaboración de la harina (New 1987). La calidad del producto puede disminuir por contaminación con sustancias externas, ó por la producción de factores anti-nutricionales si el método de secado no ha sido el adecuado (Akiyama *et. al.* 1991, Cruz *et. al.* 2000). Por otra parte, las harinas de pescado, por su origen, son ricas en ácidos grasos poliinsaturados (Chamberlain 1996), susceptibles de sufrir auto-oxidación durante el almacenamiento, lo cual ejerce efectos negativos, no solo sobre la calidad de la proteína, sino también sobre la concentración de ácidos grasos esenciales (De la Higuera 1985, Cruz *et. al.* 2000).

La harina de pescado sirve también como un attractante y es altamente palatable y digestible por crustáceos (Chamberlain 1996). Generalmente contiene entre 60 y 67% de proteína. Campaña (2001) y Webster *et al.* (2002b) indican que es altamente digestible para juveniles de *C. quadricarinatus* (67 a 86% en materia seca). No hay una limitante a la cantidad de harina para su inclusión en la dieta desde el punto de vista nutricional, pero el costo determina su uso (Villarreal

y Peláez 1999). En dietas comerciales, el nivel de inclusión de harina de pescado varía de un 10 a 40% (Akiyama *et al.* 1991).

La harina de pescado es el insumo con mayor demanda en el mercado de producción de dietas artificiales. Sin embargo, su producción se ha mantenido relativamente estable, mientras que la producción acuícola mundial se ha incrementando significativamente en los últimos 15 años (Tidwell y Allan 2001). Por ello, en el futuro será necesario buscar la sustitución de este insumo en las dietas.

### 1.8.2. Harina de langostilla

Esta harina es elaborada a partir de la langostilla (*Pleuroncodes planipes*). Ha sido utilizada en la acuicultura como fuente de pigmentación o de proteína en la producción de salmón, trucha y crustáceos (Villarreal 1995). La harina de langostilla es una excelente fuente de minerales, quitina, colesterol, fosfolípidos y ácidos grasos. Se ha utilizado como atrayente en las dietas para camarones peneidos como *L. vannamei* y *Farfantepenaeus californiensis* (Villarreal *et al.* 1994; Villarreal 1995; Civera *et al.* 2000), y crustáceos de agua dulce como *M. rosenbergii* y *Procambarus clarkii* (Civera *et al.* 2000).

Con un valor protéico aproximado de 37 a 40%; 8 a 14% de lípidos y 2 a 10% de fibra, los niveles de harina de langostilla en dietas varían de 5 a 10% (Villarreal *et al.* 1994). Campaña (2001) indican que es altamente digestible para juveniles de *C. quadricarinatus* (86% en materia seca). La principal limitante en el uso de la harina de langostilla se relaciona con el considerable contenido de fibra (Civera *et al.*, 1998). Por otro lado, su escasa disponibilidad debido a que no existe una pesquería comercial, es también una limitante.

Otras harinas de crustáceos como: camarón, cangrejo, langostino y krill (*Euphasia sp.*) contienen colesterol, fosfolípidos, ácidos grasos y atractantes. Sin embargo, su uso es limitado debido a su escasa disponibilidad y variabilidad de nutrientes (Akiyama y Dominy, 1989).

### 1.8.3. Harina de calamar

La harina de calamar es posiblemente el mejor ingrediente para dietas de crustáceos marinos. Sin embargo, es muy costoso (New, 1987; Akiyama *et al.* 1991). Al calamar, se le ha identificado un péptido como factor de crecimiento, incrementando la eficiencia digestiva del organismo (Cruz *et al.* 1987). Campaña (2001) reportan para juveniles de *C. quadricarinatus* una digestibilidad en materia seca de 71%. La harina de calamar, como todos los productos marinos, funciona como atractante natural en las dietas, contiene altos niveles de colesterol, fosfolípidos y ácidos grasos (20:5n3 y 22:6n3) (Akiyama *et al.* 1991). La harina de calamar contiene aproximadamente 75% de proteína y 5% de lípidos. El nivel de inclusión de esta harina en las dietas comerciales oscila entre 2 y 10%. Su uso es limitado por su precio y disponibilidad (Akiyama *et al.* 1991; Tacon y Akiyama 1997).

### 1.8.4. Pasta de soya

La harina de soya ha resultado la mejor fuente de proteína de origen vegetal debido a su calidad nutricional. Es una fuente de proteína de bajo costo y de una disponibilidad consistente (Akiyama *et al.* 1991). Esta harina es de alta calidad y contiene aproximadamente 44% de proteína (Reigh *et al.* 1993; D'Abramo y Sheen 1996), y los niveles de inclusión en las dietas comerciales varían de 10 a 25% (Akiyama *et al.* 1991). Las proteínas de la soya son, generalmente, deficientes en histidina (1.43) y metionina (0.67) (D'Abramo y Sheen 1996), pero se le puede considerar como una buena



fuentes de aminoácidos esenciales (De la Higuera 1985; New 1987). Campaña (2001) indican que la digestibilidad de este ingrediente para *C. quadricarinatus* es de 87% en materia seca.

#### 1.8.5 Productos de trigo

Los productos de trigo generalmente se utilizan como estabilizadores. El gluten de trigo es además una buena fuente de proteína, de uso limitado debido a su precio. Contiene un mínimo de 75% de proteína y 2% de lípidos. La harina de trigo, por otro lado, es el estabilizador comúnmente usado en las dietas para camarón debido a su magnífica eficacia; además contiene un mínimo de 12% de proteína (Akiyama *et al.* 1991). Campaña (2001) indican que la digestibilidad de este ingrediente para *C. quadricarinatus* es de 91 a 95% en materia seca.

El salvado de trigo contiene varias de las vitaminas y proteínas de los granos de trigo, y es de alto contenido de fibra (New 1987). Los niveles de harina y de gluten de trigo en las dietas comerciales varían de entre 20 - 30% y 0 - 5%, respectivamente (Zendejas 1991).

#### 1.9. Formulación y elaboración de dietas peletizadas.

La formulación de la dieta debe ser acorde con la cantidad de nutrimentos necesarios para satisfacer los requerimientos diarios de las diferentes especies, con el fin de obtener el máximo rendimiento productivo. El método de procesamiento empleado determinará las características físicas de los alimentos, tales como la estabilidad en el agua, su forma y tamaño. Además puede influir en las características químicas de los alimentos, atractabilidad, palatabilidad y disponibilidad de nutrimentos (Campabadal y Celis 1996; Jussila y Evans 1998).

La elaboración de alimentos de alta calidad es uno de los factores más importantes para el desarrollo de la industria acuícola. La calidad de estos alimentos, está determinada por el tipo, calidad y composición de los ingredientes que se utilicen, la formulación de la dieta y por los métodos de procesamiento empleados en su elaboración (Campabadal y Celis 1996; Subramanyam 1996). Desafortunadamente el conocimiento sobre los requerimientos nutricionales de la langosta de agua dulce es limitado, y las dietas comerciales utilizadas en las granjas han estado basadas en los requerimientos de otros crustáceos (Morrissy 1989).

## **2. ANTECEDENTES**

### 2.1. Producción acuícola.

La acuicultura ha resultado ser por más de una década la actividad de producción alimenticia con mayor tasa de crecimiento (11% anual desde 1984) en el mundo, con una variedad de especies cultivadas (206 especies de origen animal y vegetal), y una producción de 39.4 millones de toneladas en 1998 (Tacon y Forster 2000). Entre las especies cultivadas, predominan con un 60% los peces dulceacuícolas (*vgr.* carpa, tilapia y trucha) y con un 30% los moluscos (*vgr.* pectinidos, ostión, mejillón) (Tidwell y Allan 2001). La acuicultura en México se ha venido desarrollando significativamente en los últimos años. Sin embargo, su desarrollo se ha limitado, principalmente a dos especies de origen marino: el ostión (*Cassostrea gigas*) y el camarón (*Litopenaeus vannamei*). Se considera que la diversificación de especies en la actividad acuícola es importante, por ello el cultivo de nuevas especies como moluscos bivalvos (*Argopecten ventricosus*, *Pecten vogdesi*, *Nodipecten subnodosus*, *Megapitaria aurantica* y *M. squalida*), peces marinos (*vgr.*, *Lutjanus*, *Paralabrax*), y especies dulceacuícolas, es deseable (Villarreal 2000).

El éxito de la industria acuícola se basa en la selección de especies con características apropiadas para utilización comercial, por lo que es necesario tomar en consideración especies que reúnan características óptimas para su cultivo, tales como: una alta tasa de crecimiento, resistencia al manejo, y a enfermedades potenciales, buena conversión alimenticia, requerimientos nutricionales simples (Meade y Watts 1995, Jones y Ruscoe 1996, Villareal 1999) y hábitos alimenticios omnívoros, entre otros (Martínez-Córdova 1998).

## 2.2. Biología y cultivo de *Cherax*.

A la fecha, la investigación relacionada con la biología básica del género *Cherax* ha sido escasa. Morrissy (1973, 1979, 1984, 1989) y Villarreal (1988; 1989; 1990; 1991) reportaron avances relacionados con la reproducción y los requerimientos nutricionales de *C. tenuimanus*. Mills (1983) estableció los lineamientos generales del cultivo de *C. destructor*. En cuanto al redclaw, Rouse (1991; 1995b) y Medley *et al.* (1994) presentaron estudios relacionados con la reproducción de la especie.

El cultivo del acocil *C. quadricarinatus* se inició a mediados de los 80's (Jones y Ruscoe 1996; Lawrence y Jones 2002). De acuerdo a las características de la especie y la aceptación en el mercado, subrayó el potencial de la especie para el cultivo (Jones 1990; Villarreal 1989; 1999; 2000; Lawrence y Jones 2002). En Australia existen alrededor de 230 granjas de pequeño tamaño, registradas para el cultivo de redclaw. El cultivo comercial de este organismo, se inició utilizando bajas densidades de siembra (1-2 juveniles/m<sup>2</sup>). La productividad natural (fitoplancton, zooplancton y animales bentónicos) soportaba la mayor parte de las demandas nutricionales del organismo, y se adicionaba alimento suplementario de baja calidad (alimento para pollo, con menos de 15% de proteína cruda) de manera intermitente (Villarreal y Peláez 1999). Rouse *et al.*

(1995a) y Jones (1990a), han planteado la posibilidad del cultivo extensivo de la especie en sistemas tradicionales de producción. Los sistemas comerciales que cuentan con aireación suplementaria y recubrimiento de grava han sido responsable de la mayor parte de la producción con aproximadamente 70 t/año. Actualmente es una combinación de técnicas del cultivo extensivo y semiintensivo (Mills *et al.* 1994; Jussila 1997), con la tendencia hacia la intensificación, incrementando la densidad de siembra (10 - 15 juveniles/m<sup>2</sup>). Recientemente, Romero (1997), Villarreal *et al.* (1999), Naranjo *et al.* (2000), Jones y Ruscoe (2000) han demostrado el potencial del cultivo con una producción de 5 ton/ha/año. Los precios actuales en el mercado americano alcanzan US\$ 18/kg para animales de más de 70 g, y US\$ 10.00/kg para langostas de 50-60 g (Webster *et al.*, 2002).

El sistema de cultivo intensivo permite un mejor control del área de cultivo (Jussila 1997), donde se busca cubrir los requerimientos nutricionales de la especie utilizando formulaciones peletizadas completas y un programa definido de alimentación (Villarreal y Peláez 1999). Sin embargo, las formulaciones han sido generalmente basadas en dietas para otras especies acuáticas (vgr. *Macrobrachium*, *Penaeus*, *Ictalurus*, etc.), ya que los estudios dedicados a determinar los requerimientos nutricionales del género *Cherax* han sido escasos (Webster *et al.* 1994; Anson y Rouse 1996; Webster *et al.* 2002b).

### 2.3. Requerimientos de proteína.

Las proteínas son el principal material orgánico en el tejido muscular de los crustaceos, y probablemente es el nutriente más costoso que contribuye al crecimiento (Guillaume 1997; Lee *et al.* 2000). Las especies acuacultivadas requieren proteína en la dieta como fuente de aminoácidos esenciales y estructurales, para la formación de hormonas, enzimas, tejido muscular, reparación y

mantenimiento (Kanazawa 1985; Tacon 1990; Kanzawa 1992; Guillaume 1997; Shiau 1998, Kureshy y Davis 2002). Se considera que existen diez aminoácidos que no pueden ser sintetizados por los crustáceos y por lo tanto resultan esenciales en la dieta: arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano y valina (New 1987; Tacon 1990; Kanazawa 1992; D'Abramo y Sheen 1996; Guillaume 1997; Jussila 1997; Kanzawa 2000). Se ha demostrado que una dieta desbalanceada, particularmente donde uno o más aminoácidos esenciales sean deficientes, es una de las razones principales de un crecimiento limitado en crustáceos (New 1987; D'Abramo y Sheen 1996). D'Abramo *et al.* (2000), encontraron que el nivel de proteína incluida en la dieta es utilizado también como fuente de energía y puede ser suplementada con niveles adecuados de carbohidratos y lípidos.

El requerimiento en proteína se refiere frecuentemente al “nivel óptimo de proteína” o el nivel asociado con la máxima tasa de crecimiento (Guillaume 1997). Colvin y Brand (1977) han señalado que el requerimiento protéico para un óptimo crecimiento y eficiencia alimenticia en *Litopenaeus vannamei* es de 30%. Kanazawa (2000) reporta que para la langosta marina (*H. americanus*) los niveles óptimos de proteína varían de 30 a 60%. Por otro lado, el requerimiento proteico en la dieta para juveniles de *M. rosenbergii* es de 30 a 35 % (D'Abramo y New 2000). Tsventnenko *et al.* (1995), reportan que para *C. tenuimanus* el intervalo de proteína requerido es de 20 a 30%. Jones *et al* (1997) encontraron que dietas con 30% de proteína mejoran el crecimiento de *C. albidus* y *C. destructor*. Webster *et al.* (1994), y Keefe y Rouse (1999), indican que entre 33 y 45% de proteína parece adecuado para crías y juveniles de *C. quadricarinatus*, respectivamente. Meade y Watts (1995) indican que dietas comercialmente disponibles no proveen los requerimientos nutricionales de juveniles de *C. quadricarinatus* en la dieta. Morrissy (1989) mostró resultados poco concluyentes sobre el uso de dietas artificiales para juveniles de *C.*

*tenuimanus*. Por su parte, Verhoef *et al.* (1998) evaluaron la respuesta de crías de *C. destructor* a una variedad de alimentos naturales y artificiales, encontrando que la *Artemia* eclosionada produce un incremento en peso significativamente superior (60%) al de un peletizado comercial para camarón. Jones (1995); Jones (1989), Gu *et al.* (1995), Meade y Watts (1995) y Anson y Rouse (1996) han estudiado la respuesta de juveniles de *C. quadricarinatus* a diversas fuentes nutricionales, encontrando que una combinación de *Artemia* y dietas desarrolladas para camarón y bagre con 35% de proteína cruda pueden sostener niveles adecuados de crecimiento. Por otro lado, Webster *et al.* (1994) indican que dietas prácticas con 33% de proteína cruda parecen ser adecuadas para crías de 0.022 g.

Sin embargo, a pesar de estas diferencias en requerimiento de proteína, crecimientos sub-óptimos son generalmente el resultado de un desbalance en la cantidad de aminoácidos esenciales. La Tabla 1 muestra el perfil de aminoácidos del músculo de algunos crustáceos (D'Abramo y Sheen 1999; Tsvetnenko *et al.* 1995 y Guillaume 1997).

Tabla 1. Composición de aminoácidos esenciales del músculo de juveniles de langostino (*Macrobrachium rosenbergii*), el acocil (*C. tenuimanus*) y el camarón (*Litopenaeus sp.*).

Aminoácidos Esenciales	<i>Macrobrachium sp.</i> (%)	<i>C. tenuimanus</i> (%)	<i>Litopenaeus sp.</i> (%)
Arginina	10.9	11.0	7.5
Histidina	2.4	2.1	1.9
Isoleucina	3.8	3.7	3.6
Leucina	7.8	6.3	6.5
Lisina	9.1	6.7	6.4
Metionina	3.4	1.9	2.6
Cisteina	-	1.2	3.6
Fenilalanina	3.0	3.6	3.6
Treonina	3.9	3.6	3.4
Triptofano	-	-	1.1
Valina	3.8	4.0	3.8

Tomado de D'Abramo y Sheen (1999); Tsvetnenko *et al.* (1995) y Guillaume (1997).

En la formulación de dietas comerciales, la fuente de proteína generalmente procede de la mezcla de las harinas de pescado, camarón, calamar y soya (Jones *et al.* 1996b; Jussila 1997), ya que su contenido en aminoácidos esenciales asegura una óptima utilización nutritiva y tasas elevadas de crecimiento (De la Higuera 1985).

#### 2.4. Requerimientos de lípidos

El perfil de lípidos en la dieta y la relación de proteína cruda: energía bruta (P:E) han sido considerados por varios autores (Lee y Wickings 1992, Jussila 1997; Cruz *et al.* 2000; Tibbetts *et al.* 2001). La fuente común de lípidos en dietas para crustáceos son aceites de origen marino (*vgr.* aceite de pescado) o plantas (*vgr.* lecitina de soya) (Jussila 1997; Webster *et al.* 2002b). Los lípidos son una fuente concentrada de energía, ácidos grasos esenciales, fosfolípidos y colesterol necesarias para el adecuado desarrollo y sobrevivencia de crustáceos y acociles (Tacon 1990; Shiau 1998; Webster *et al.* 2002b). El nivel óptimo en la dieta de crustáceos oscila entre 6 y 10% (Akiyama *et al.* 1991; D'Abramo y Sheen 1996; Shiau 1998).

La función principal de los ácidos grasos esenciales se relaciona con su papel como componente de fosfolípidos y precursores de prostaglandinas (Tacon 1990; Akiyama *et al.* 1991). Los ácidos grasos linoléico (18:2 $n$ -6), linolénico (18:3 $n$ -3), eicosapentaenóico (20:5 $n$ -3, EPA) y decosahexaenóico (22:6 $n$ -3, DHA) son esenciales para crustáceos (Kanazawa 1985, 1992; Deering *et al.* 1997; Shiau 1998; D'Abramo y New 2000; González-Félix *et al.* 2002), por lo que deben ser incorporados en la dieta.

Los fosfolípidos juegan un papel esencial en los peneidos y 0.5 a 3% de lecitina de soya es incorporada en la mayoría de las dietas formuladas para la fase de juveniles (Kanazawa 1992;

Cruz *et al.* 1996). La lecitina juega un importante papel en el metabolismo de lípidos y carbohidratos (Paibulkichakul *et al.* 1998). Por otro lado, los camarones requieren también de los esteroides, que serán sintetizados a partir del colesterol. Para la mayoría de los crustáceos decápodos, un nivel de 0.5% de colesterol en la dieta satisface este requerimiento, ya que niveles superiores reducen el crecimiento (Kanazawa *et al.* 1971; Kanazawa 1992; Shiau 1998; D'Abramo y New 2000). En organismos superiores, el colesterol es un precursor esencial del ácido biliar y hormonas esteroides. En crustáceos se ha demostrado que el colesterol exógeno es convertido a hormonas sexuales como progesterona, testosterona y hormonas de la muda (Tacon 1990; Paibulkichakul *et al.* 1998; Kanazawa 2000). Los fosfolípidos y el colesterol mantienen la flexibilidad y permeabilidad de la membrana biológica, y participan en la activación de ciertas enzimas (Akiyama *et al.* 1991; Shiau 1998); por lo que la suplementación de ambos compuestos en dietas para crustáceos es necesaria para optimizar su crecimiento y sobrevivencia. La falta de estos componentes inhibe la síntesis de esteroides (Shiau, 1998; Kanazawa 2000; Gong, 2000; González-Félix *et al.* 2002).

El nivel óptimo requerido por el langostino *M. rosenbergui*, *Penaeus monodon* y *P. chinensis* varía de 2 a 10 % (D'Abramo y Sheen 1996; Sheen y Wu 1999). Sin embargo, la nutrición de lípidos en acociles difiere de las especies de origen marino debido a que los acociles no llegan a manifestar una preferencia evidente por los ácidos grasos altamente insaturados (D'Abramo y Sheen 1996), como lo indican diferencias en el valor nutricional de los ácidos saturados (Kanazawa *et al.* 1979). Hernández *et al.* (2000) indican que en dietas balanceadas para crías de *C. quadricarinatus* un nivel de lípidos entre 4 y 8% es lo adecuado.



## 2.5. Requerimientos de carbohidratos y energía.

Como la fuente de energía más económica en las dietas peletizadas son los carbohidratos (New 1987; Tacon 1990). La mayoría de las especies acuáticas incluyen azúcares simples o monosacáridos, disacáridos y polisacáridos; estos últimos incluyen el almidón (Tacon 1990; Akiyama *et al.* 1991). Además, se usan como reserva de glucógeno, en la síntesis de quitina y en la formación de esteroides y de ácidos grasos (New 1976; D'Abramo y Sheen 1996). La información sobre la nutrición de carbohidratos en crustáceos es limitada (Shiau 1998).

En la ausencia de carbohidratos o lípidos, el camarón podría utilizar proteína para mantener sus necesidades de energía. Cuando la energía está disponible en cantidades suficientes para cubrir los requerimientos del organismo, la proteína es utilizada para el crecimiento. Esta relación entre proteína y carbohidratos ha sido referida como efecto de liberación por carbohidratos (Akiyama *et al.*, 1991). En dietas para langostino *M. rosenbergii*, una proporción de 4:1 carbohidratos y lípidos es recomendada, lo cual es una guía apropiada para el diseño de dietas específicas para langostas de agua dulce (Villarreal y Peláez, 1999).

La glucosa y almidón han sido utilizados como fuente de carbohidratos (Shiau 1998). Sick y Andrews (1973) reportan que el crecimiento y sobrevivencia de *P. duorarum* alimentado con dietas con 40% de almidón fue más alto que aquellos alimentados con 40% de glucosa. Shiau y Peng (1992) demostraron que el almidón del maíz fue mejor utilizado que la glucosa en *P. monodon*. Según Andrews y Sick (1972) y Sick y Andrews (1973) la función más importante del almidón es su poder aglutinante, manteniendo la estabilidad física de las dietas en el agua. Por otro lado, en crustáceos dulceacuícolas los niveles de celulosa de hasta 30% no tienen efecto negativo en el crecimiento (D'Abramo y Sheen 1996). La fuente común de carbohidratos en dietas para acociles

es el almidón y polisacáridos solubles, ambos son fuente alternativa de energía para proteína (Jussila 1997).

Por otro lado, las fuentes de energía se obtienen de las proteínas, los lípidos y carbohidratos (Rodríguez 1993). El exceso o insuficiencia en los niveles de energía en la dieta reduce la tasa de crecimiento. Por ello, el balance entre proteína y energía en la dieta debe ser mantenido (New 1987). Villarreal (1991) indica que *Cherax sp* utiliza del 50-58% de la energía consumida para el crecimiento, mientras que otras especies de Astacidos la eficiencia de utilización de la energía para el crecimiento es menor (Jussila 1997).

El crecimiento refleja el resultado neto de la interacción entre energía disponible y la eficiencia de utilización y almacenamiento de esa energía en el organismo (Villarreal 1991). En acuicultura, las cantidades relativas de energía disponible para el crecimiento y para las funciones metabólicas están afectadas por una serie de factores económicos relacionados con el costo de alimento, la calidad del producto y el tiempo necesario para el crecimiento a talla comercial (Villarreal y Peláez 1999). La mayor eficiencia de la utilización de la energía esta en función de la relación P:E debido a que la cantidad de energía no protéica afecta el consumo de la dieta (D'Abramo y New 2000). Si la proporción de energía total a proteína es muy alta, el consumo de proteína puede ser restringido y el crecimiento retardado e inversamente, una dieta baja en energía podría tener un efecto negativo en el catabolismo de sustratos bioquímicos que resulta en un bajo nivel de eficiencia protéica, así como un crecimiento limitado (Cuzon y Guillaume 1997). La relación optima de P:E para *Peneidos* cae en un rango de 110 a 130 mg proteína/kcal (D'Abramo y New 2000), con valores menores para el caso de proteína digestible/energía digestible (67 mg proteína/kcal para *L. vannamei* y 75 mg proteína/kcal para *L. stylirostris* (Cruz *et al* 2000). Ackefors *et al.* (1992) indican que para *A. astacus* la relación optima de P:E parece estar en un

rango de 114 a 123 mg proteína/kcal. La optimización en la relación proteína digestible/energía digestible es una alternativa para reducir costo de producción (Tibbetts *et al.* 2001), con un menor impacto en el medio ambiente.

Peces y crustáceos como el acocil utilizan menos energía en sus procesos catabólicos y en la excreción nitrogenada como amoníaco, no mantienen una temperatura corporal constante, y necesitan menos energía para mantener su posición en el agua en comparación a los vertebrados (Villarreal 1991; Rodríguez 1993). Desde el punto de vista energético, el acocil se encuentra dentro de los invertebrados más importantes de los ecosistemas de agua dulce. Sin embargo, hay poca información relacionada con la forma en que utilizan la energía (Villarreal y Peláez 1999).

Las evaluaciones sobre requerimientos nutricionales en camarones han mostrado la importancia de la cuantificación de los niveles proteicos en dietas (Baillet *et al.* 1997; Shiau 1998; Velasco 2000). Los productores de alimentos tienen la necesidad de proveer el nivel mínimo de proteína que suministre los aminoácidos esenciales para el crecimiento aceptable de la especie en cultivo (Webster *et al.* 1995). La utilización de la proteína puede ser mejor, reemplazando proteína por lípidos o carbohidratos; sin embargo, es indeseable el exceso de energía porque puede reducir el consumo del alimento y puede inhibir la utilización óptima de otros componentes dietéticos. Por lo tanto, para el acocil *C. quadricarinatus*, existe la necesidad de optimizar el nivel de proteína y obtener una dieta adecuada al desarrollo de la especie, por lo que se han realizado estudios utilizando dietas experimentales para juveniles del género *Cherax* (Webster *et al.* 1994; Jones *et al.* 1996a; Jones *et al.* 1996b; Jones *et al.* 1996c). Morrissy (1989), indicó que la dieta de referencia para crustáceos es inadecuada para la definición de requerimientos nutricionales de *C. tenuimanus*, mientras que Villarreal y Peláez (1999) y Jones y Ruscoe (2000), dan lineamientos generales de los niveles de proteína recomendados para cultivo comercial. Loya-Javellana *et al.* (1995) y Barki *et al.*

(1997) indicaron que la distribución espacial, la frecuencia y el tipo de alimentación afectan el desarrollo del acocil. Los requerimientos nutricionales para cada fase del desarrollo de la especie aún no han sido definidos. Especialmente, es necesario conocer más sobre los requerimientos de proteína y lípidos, a fin de formular y fabricar dietas que cubran los requerimientos nutricionales específicos de la especie y evaluar la frecuencia de alimentación óptima. La formulación de alimentos prácticos y frecuencia alimenticia que promueva satisfactoriamente el crecimiento contribuirá al desarrollo de una industria económicamente estable y exitosa (D'Abramo y Sheen 1996).

El Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, ha enfocado, desde 1997, un número sustantivo de sus investigaciones a la evaluación del potencial de cultivo del acocil *C. quadricarinatus* (Redclaw) en México. A partir de estos estudios, se ha encontrado que la especie tiene alto potencial de cultivo en el país. Desde el punto de vista de sus requerimientos nutricionales, a la fecha se han llevado a cabo estudios referentes a la digestibilidad de ingredientes de origen vegetal y animal (Campaña 2001), actividad enzimática (López *et al.* 2002), flujo de energía (García-Guerrero *et al.* 2003, reproducción (Rodríguez *et al.* 2001; Serrano-Pinto *et al.* 2003, entre otros estudios.

### **3. HIPÓTESIS**

Dado que el acocil *Cherax quadricarinatus* es un crustáceo decápodo se espera que el requerimiento en proteína y lípido descrita en especies de decápodos como *Macrobrachium*, *Penaeus*, y *Procambarus* sea similar a los requerimientos de este grupo de organismos. Los niveles óptimos de proteína para los decápodos en cultivo están entre 20 y 60%, mientras que los niveles de lípidos están entre 4 y 10%. Sin embargo, dado que el género *Cherax spp.* es considerado como un omnívoro energéticamente eficiente, se considera que la especie podrá tener requerimientos de proteína y

lípidos más bajos que al de otras especies en cultivo. Los niveles de proteína y lípidos, así como la frecuencia alimenticia tendrán un efecto significativo en la respuesta productiva que identificará el nivel óptimo que maximice su desarrollo en cultivo.

La hipótesis general considera que las variaciones en los niveles de proteína, lípidos y la frecuencia alimenticia provocarán una diferencia en la respuesta productiva de los organismos en cultivo.

#### **4. OBJETIVO GENERAL**

Definir los requerimientos de proteína y lípidos de juveniles y pre-adultos de *Cherax quadricarinatus*, utilizando dietas compuestas.

##### **4.1 OBJETIVOS PARTICULARES**

1. Determinar el nivel óptimo de proteína para juveniles de *C. quadricarinatus* utilizando dietas compuestas, en función de su respuesta en incremento de peso, factor de conversión alimenticia, sobrevivencia y biomasa.
2. Evaluar el efecto del nivel de lípidos en dietas con tres niveles de proteína en juveniles de *C. quadricarinatus*, en función de su respuesta en incremento en peso, factor de conversión alimenticia, sobrevivencia y biomasa.
3. Determinar el nivel óptimo de proteína para pre-adultos de *C. quadricarinatus* utilizando dietas compuestas, en función de su respuesta en incremento de peso, factor de conversión alimenticia, sobrevivencia y biomasa.
4. Evaluar el efecto de la frecuencia alimenticia en el crecimiento y la sobrevivencia de juveniles de la langosta de agua dulce *C. quadricarinatus*.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

Esta sección resume los diseños experimentales que dieron origen a los diferentes artículos científicos. Los números romanos indicados entre paréntesis se refieren a las publicaciones enlistadas en el inicio del presente manuscrito de tesis.

### 5.1. Resumen de los experimentos realizados.

Un resumen del diseño de cada uno de los experimentos realizados se presenta en la Tabla 7.

Tabla 2. Resumen de los diseños experimentales con *Cherax quadricarinatus* incluidos en esta tesis.

<i>Experimento</i>	<i>I</i>	<i>II</i>	<i>III</i>	<i>IV</i>
Tratamiento	Nivel óptimo de proteína en juveniles	Requerimiento óptimo de proteína: lípido	Nivel óptimo de proteína en pre-adultos	Frecuencia alimenticia en juveniles
Dietas Experimentales	20, 25, 31, 37, 43, 49, y 55%	26, 31 y 36%	22, 27, 33, 39, y 45%	35%
% de Proteína Cruda	49, y 55%			
% de Lípidos	8, 8, 8, 9, 9, 9 y 11%	4, 8, y 12%	9, 9, 8, 8, y 8%	12%
Talla de organismos (g)	1.08 ± 0.34	0.71 ± 0.13	23.1±0.5 (macho) 21.8±0.3 (hembra)	0.89 ± 0.06
Densidad (# org./m <sup>2</sup> )	20	62	10	58
Número de org./UE	60	15	30	15
Núm. de Replicas	3	4	3	4
Días de cultivo	60	60	70	60

(\*) Para cada nivel de proteína 4, 8 y 12% de lípidos.

## 5.2. Descripción del área experimental.

Se han realizado cuatro evaluaciones experimentales en las instalaciones del Laboratorio de Nutrición Acuícola. La elaboración de las dietas fue realizada en la Planta de Alimentos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), en La Paz, B.C.S. México.

### 5.2.1. Formulación y elaboración de dietas experimentales.

Las dietas compuestas experimentales se formularon con el paquete Mixit-Win (Agricultural Software Consultants, Inc., San Diego, CA, USA) y se elaboraron de acuerdo a la metodología descrita por Civera-Cerecedo (1989) (I, II y III), las formulaciones se realizaron en función a los niveles de proteína (Tabla 2). La selección de los insumos para la formulación de dietas se definió en función de la digestibilidad de los ingredientes evaluados para *C. destructor* (Jones y De Silva 1997) y *C. quadricarinatus* (Campaña 2001). La Tabla 3 presenta la composición proximal y los valores de digestibilidad de los ingredientes utilizados (I, II y III). Previo a la elaboración de las dietas los macroingredientes utilizados fueron molidos y tamizados a 500  $\mu\text{m}$ , para que la mezcla de la dieta fuera homogénea. Cada dieta fue preparada mezclando primeramente los macroingredientes en una batidora industrial (Figura 3) hasta obtener un homogenizado. Los microingredientes: premezcla de vitaminas, premezcla de minerales, cloruro de colina y carbonato de calcio, se mezclaron en un recipiente plástico, antes de ser adicionados a los macroingredientes. El aceite de pescado y la lecitina de soya se homogenizaron hasta obtener una emulsión antes de ser incorporados a la mezcla; posteriormente se fue agregando agua en un equivalente a 30% del peso de los ingredientes. El

alimento se pasó por un molino de carne (Tor-Rey™ Monterrey, N.L., México) (Figura 4) utilizando un dado con orificio de 2 mm.



Figura 3. Batidora industrial utilizada para la mezcla de los ingredientes



Tabla 3. Formulas de las dietas experimentales para juveniles (A y B) y pre-adultos (C) de *Cherax quadricarinatus*

A)

Ingredientes	20% CP	25% CP	31% CP	37% CP	43% CP	49% CP	55% CP
Harina de sardina <sup>1</sup>	1.0	10.5	20.1	29.8	39.7	49.7	59.5
Harina de Sorgo <sup>1</sup>	64.6	56.1	47.3	37.8	27.9	17.9	9.0
Pasta de soya <sup>1</sup>	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Harina de langostilla <sup>2</sup>	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Harina de calamar <sup>1</sup>	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Harina de trigo <sup>1</sup>	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Grenetina	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Aceite de pescado <sup>1</sup>	2.4	1.4	0.6	0.4	0.4	0.4	0.0
Lecitina de Soya <sup>1</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.5
Premezcla de minerales <sup>3</sup>	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Premezcla de vitaminas <sup>4</sup>	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Ácido ascórbico <sup>5</sup>	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Cloruro de colina <sup>6</sup>	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Carbonato de calcio <sup>7</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

B)

Ingredientes	Dietas (Protein/Lipido)								
	26/4	26/8	26/12	31/4	31/8	31/12	36/4	36/8	36/12
Harina de sardina <sup>1</sup>	13.3	13.8	14.3	22.0	22.5	23.1	30.8	31.2	31.8
Harina de Sorgo <sup>1</sup>	62.6	58.4	53.4	53.8	49.7	44.6	45.1	40.9	35.9
Pasta de soya <sup>1</sup>	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Harina de calamar <sup>1</sup>	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Harina de trigo <sup>1</sup>	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Grenetina	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Aceite de pescado <sup>1</sup>	0.0	1.9	4.1	0.0	1.9	4.2	0.0	2.0	4.2
Lecitina de Soya <sup>1</sup>	0.0	1.9	4.1	0.0	1.9	4.1	0.0	1.8	4.1
Premezcla de minerales <sup>3</sup>	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Premezcla de vitaminas <sup>4</sup>	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Ácido ascórbico <sup>5</sup>	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Cloruro de colina <sup>6</sup>	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Carbonato de calcio <sup>7</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

C)

Ingredientes	22% CP	27% CP	33% CP	39% CP	45% CP
Harina de sardina <sup>1</sup>	1.00	8.41	18.54	28.66	38.80
Harina de Sorgo <sup>1</sup>	64.33	57.64	48.51	39.49	30.28
Pasta de soya <sup>1</sup>	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
Harina de langostilla <sup>2</sup>	5.01	5.01	5.01	5.01	5.01
Harina de calamar <sup>1</sup>	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Harina de trigo <sup>1</sup>	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Grenetina	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Aceite de pescado <sup>1</sup>	1.88	1.53	1.02	0.47	0.0
Lecitina de Soya <sup>1</sup>	1.87	1.50	1.01	0.46	0.0
Premezcla de minerales <sup>3</sup>	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
Premezcla de vitaminas <sup>4</sup>	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26
Ácido ascórbico <sup>5</sup>	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
Cloruro de colina <sup>6</sup>	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
Carbonato de calcio <sup>7</sup>	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

<sup>1</sup>PIASA<sup>®</sup>, La Paz, B.C.S. México.

<sup>2</sup>(*Pleuroncodes planipes*) Conservera San Carlos, S.A. de C.V. San Carlos, B.C.S. México.

<sup>3</sup> Premezcla de minerales (g Kg<sup>-1</sup>): KCl, 0.5; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0.5; ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0.09; MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O, 0.0234; CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, 0.005; KI, 0.005; CoCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 0.0025; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2.37.

<sup>4</sup> Premezcla de vitaminas (mg kg<sup>-1</sup>excepto donde se especifica): Vit. A Retinol, 5000 UI; Vit. D<sub>3</sub>, 4000 UI; Vit. E Tocoferol, 100; Vit. K Menadione, 5; Tiamina, 60; Riboflavin, 25; Piridoxina, 50; Ácido Pantotenico, 75; Niacina, 40; Biotina, 1; Inositol, 400; Cianocobalamina, 0.2; Ácido fólico, 10.

<sup>5</sup>Stay-C (35% agente activo). Roche<sup>®</sup>.

<sup>6</sup> Cloruro de colina (65% agente activo).

<sup>7</sup>Acs reagent, SIGMA<sup>®</sup>.

Elaboradas las dietas, se secaron en horno eléctrico (Hafo Series 1600, Sheldon Manufacturing, Inc., Cornelius, OR, USA) a 40°C por 8 h, secas las dietas se empacaron en bolsas plásticas (26.8 x 27.9 cm), y posteriormente fueron mantenidas en refrigeración a una temperatura de -4°C.

A partir de los valores de digestibilidad aparente de proteína de las harinas de sardina, de calamar, sorgo, trigo, langostilla y pasta de soya reportados por Campaña (2001) para juveniles y pre-adultos de *C. quadricarinatus*, se determinaron los valores de proteína digestible (PD), calculando la digestibilidad de proteína de cada ingrediente (PDI), por la digestibilidad aparente de la proteína (DAP) y por el porcentaje de inclusión del ingrediente e inclusión de proteína de cada ingrediente (IPCI), según la expresión:  $PDI = \% \text{ inclusión del ingrediente} \times (IPCI) \times (DAP)$ ; la  $\%PDI = PD$ .

Tabla 4. Composición proximal de los ingredientes utilizados en la formulación de las dietas experimentales para juveniles y pre-adultos de *Cherax quadricarinatus*

Ingredientes	Proteína	Lípidos	Ceniza	Fibra	ELN	DAP	DAP
						(juveniles)	(pre-adultos)
Harina de sardina	69.8	5.4	15.7	0.1	9.0	72.4	66.6
Harina de calamar	74.0	5.0	10.2	1.7	9.1	70.8	67.2
Harina de sorgo	9.2	2.4	1.7	2.0	84.7	89.6	72.6
Pasta de soya	47.7	5.2	7.0	2.1	37.2	91.8	87.0
Harina de trigo	18.3	0.6	1.1	0.0	80.0	90.5	94.7
*Harina de langostilla	38.5	14.9	33.1	2.0	11.5	86.5	40.1

\*Debido a las limitaciones de este insumo solo se utilizó en los experimentos I y II.

ELN= Extracto libre de nitrógeno

DAP= Digestibilidad aparente de proteína. Valores obtenidos de Campaña (2001).



Figura 4. Molino de carne utilizado para la elaboración del alimento peletizado.

#### *5.2.2. Sistemas de cultivo experimentales.*

Se utilizaron tres sistemas de cultivo, con las siguientes unidades experimentales:

En los experimentos I y III, se utilizaron tanques de fibra de vidrio como unidades experimentales con dimensiones de 2 x 1.5 x 0.6 m (volumen de operación = 1500 l).

En el experimento II, se utilizaron tanques de fibra de vidrio (0.40 x 0.60 x 0.40 m) con capacidad de 40 l (Figura 5).

Y en el experimento IV, se utilizaron tanques de plástico como unidades experimentales, con un área de cultivo de 0.26 m<sup>2</sup> (0.38 x 0.69 x 0.30 m) con un volumen de 40 l c/u.

#### *5.2.3. Calidad del agua.*

Se realizó un muestro sistemático de los parámetros fisicoquímicos de calidad del agua (I, II, III y IV). El fotoperíodo fue natural (aproximadamente 14L:10N), la temperatura del agua se mantuvo

constante ( $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ) con termostatos sumergibles de 100 y 300 Watts (II y IV, y I y III, respectivamente) (Aquarium Pharmaceuticals, Inc. Paris, France), y niveles superiores a 6 mg  $\text{O}_2/\text{l}$  se obtuvieron utilizando un soplador de 5 HP (Sweetwater<sup>®</sup>, Apopka, FL, USA) a través de piedras difusoras. Diariamente se retiran las heces y alimento no consumido mediante sifoneo, posteriormente se restablecía el volumen de operación utilizando agua dulce de uso domestico.



Figura 5. Unidades Experimentales utilizadas en el experimento II.

### 5.3. Organismos experimentales

Se pre-seleccionaron juveniles de *C. quadricarinatus* de un estanque de reproducción de acocil de 1000 m<sup>2</sup> en el CIBNOR (Figura 6). Los juveniles se seleccionaron en función a la talla requerida para la siembra y se distribuyeron al azar en las unidades experimentales (Figura 7). Por otro lado, los pre-adultos (II) fueron seleccionados de un estanque de 100 m<sup>2</sup>.



Figura 6. Cosecha de juveniles de langosta de agua dulce *C. quadricarinatus* de estanques de reproducción del CIBNOR.

En cada unidad experimental se colocaron escondrijos de malla de nylon (Figura 6). Esto debido a la necesidad de que los acociles estén libres de estrés (I, II, III y IV). El estrés se traduce en un rendimiento pobre y una disminución en la capacidad fisiológica del organismo a resistir cambios medioambientales y enfermedades (Villarreal y Peláez 1999). Además, los escondrijos reducen el estrés y las pérdidas potenciales por canibalismo (Jones y Ruscoe 1996; 2001; Villarreal y Peláez 1999).

#### 5.4. Análisis bioquímicos

Para la determinación de proteínas, muestras de músculo y hepatopáncreas de juveniles (II) se homogeneizaron en solución salina (1.2% NaCl), el homogeneizado se digirió primero con NaOH (0.5N) durante 30 min. La concentración de proteína se determinó por el método de Bradford (1976), usando albúmina como estándar, posterior a la lectura a 595 nm de absorbancia con espectrofotómetro (Spectron Genesys<sup>®</sup>). Para determinar la concentración de carbohidratos, se precipitaron las proteínas con ácido tricloroacético (20%) y se centrifugaron a 3000 rpm

durante 10 minutos a una temperatura de 4°C. Se cuantificaron a partir del sobrenadante por el método de Antrona (Van Handel, 1965), utilizando glucosa como estándar posterior a la lectura a 620 nm en espectrofotómetro.



Figura 7. Una unidad experimental de 1500 l utilizado para las evaluaciones experimentales de juveniles (I) y pre-adultos (III) de *C. quadricarinatus*.

Para lípidos totales, se usó una adaptación del método de Barnes y Blackstock (1973), en el que una alícuota del homogeneizado se mezcló con  $H_2SO_4$  y se incubó a 80°C durante 10 min. La solución ácida obtenida se mezcló con el reactivo del fosfovanilina y la absorbancia se midió en un lector del microplacas (Biorad) a 560 nm. Como estándar se usó una mezcla de triglicéridos (12 mg/ml) y colesterol (8 mg/ml). El peso seco se obtuvo dejando las muestras en una estufa (Thermolyne 9000) a 70°C durante 48 h.

#### 5.4.1. Análisis proximales

La composición proximal de las dietas experimentales (I, II, III y IV) y de muestras de músculo de juveniles (I) y pre-adultos (III) fué analizada de acuerdo a las técnicas descritas

(proteína 976.05; lípidos 920.39; fibra; 962.09 y ceniza 942.05) por AOAC (1995). La energía bruta fue medida utilizando un calorímetro adiabático (Parr, modelo 1261, Moline, IL, USA).

#### 5.4.2. Perfil de aminoácidos

El perfil de aminoácidos las dietas experimentales (I, II y III), se determinó de acuerdo a los valores teóricos de aminoácidos reportados para los ingredientes por NRC (1983); Tacon (1990) y Sosa (2002) (Tabla 4, 5 y 6).

#### 5.5. Crecimiento e índices de producción.

El rendimiento de los organismos se evaluó mediante el cálculo de los siguientes parámetros de producción:

Tasa de crecimiento específica (TCE): (Ecuación 1)

$$TCE = \frac{\ln P_t - \ln P_i}{t} \times 100$$

donde,  $\ln P_t$  es el logaritmo natural del peso a un tiempo  $t$  y  $\ln P_i$  es el logaritmo natural del peso inicial;

Tasa de crecimiento absoluta (TCA): (Ecuación 2)

$$TCA = \frac{(P_f - P_i)}{t}$$

donde,  $P_f$  peso final,  $P_i$  peso inicial y  $t$  es el período de tiempo del cultivo experimental;

Factor de conversión del alimento (FCA):

FCA= Alimento suministrado (g)/ Incremento en biomasa (g); (Ecuación 3)

Tasa de eficiencia proteica (TEP):

TEP = Incremento en biomasa (g)/ proteína ingerida (g); (Ecuación 4)



Alimento ingerido

$$AI = (\text{Alimento suministrado (g)} / \text{número de organismos}) / t \quad (\text{Ecuación 5})$$

$t$  es el período de tiempo del cultivo experimental

Sobrevivencia:

$$S (\%) = (\text{Número final de organismos} / \text{número inicial de organismos}) \times 100 \quad (\text{Ecuación 6})$$

Tabla 5. Perfiles de aminoácidos(%) de las dietas experimentales del experimento I.

Aminoácidos	20% CP	26% CP	32% CP	38% CP	44% CP	50% CP	56% CP
Arginina	0.94	1.38	1.84	2.30	2.76	3.23	3.70
Glicina	1.29	1.63	1.99	2.34	2.70	3.07	3.43
Histidina	0.45	0.71	0.96	1.22	1.49	1.76	2.02
Isoleucina	0.59	0.89	1.20	1.51	1.82	2.14	2.45
Leucina	1.16	1.65	2.15	2.65	3.15	3.66	4.18
Lisina	0.81	1.37	1.95	2.53	3.11	3.71	4.30
Metionina	0.25	0.44	0.63	0.83	1.03	1.23	1.43
Cistina	0.13	0.17	0.20	0.24	0.27	0.31	0.34
Fenilalanina	0.66	0.94	1.21	1.49	1.77	2.06	2.34
Tirosina	0.37	0.63	0.89	1.16	1.43	1.71	1.98
Serina	0.59	1.05	1.51	1.97	2.45	2.92	3.40
Treonina	0.57	0.89	1.22	1.55	1.88	2.22	2.56
Triptofano	0.09	0.13	0.18	0.22	0.27	0.32	0.36
Valina	0.62	0.95	1.27	1.60	1.94	2.28	2.62

Tabla 6. Perfiles de aminoácidos (%) de las dietas experimentales del experimento II.

Aminoácidos	26/4	26/8	26/12	31/4	31/8	31/12	36/4	36/8	36/12
Arginina	1.40	1.42	1.44	1.81	1.83	1.85	2.22	2.24	2.26
Glicina	1.58	1.60	1.63	1.90	1.92	1.95	2.22	2.24	2.27
Histidina	0.61	0.62	0.63	0.85	0.85	0.87	1.08	1.09	1.10
Isoleucina	0.91	0.92	0.93	1.18	1.19	1.20	1.46	1.46	1.48
Leucina	1.76	1.76	1.76	2.19	2.19	2.20	2.63	2.63	2.63
Lisina	1.37	1.39	1.43	1.89	1.91	1.95	2.41	2.44	2.47
Metionina	0.46	0.47	0.48	0.64	0.64	0.65	0.81	0.82	0.83
Cistina	0.17	0.17	0.17	0.20	0.20	0.20	0.23	0.23	0.23
Fenilalanina	0.93	0.93	0.94	1.17	1.18	1.19	1.42	1.42	1.43
Tirosina	0.60	0.62	0.63	0.84	0.86	0.87	1.08	1.10	1.11
Serina	1.02	1.04	1.07	1.44	1.46	1.49	1.86	1.88	1.91
Treonina	0.86	0.88	0.89	1.16	1.17	1.19	1.46	1.47	1.48
Triptofano	0.12	0.13	0.13	0.17	0.17	0.17	0.21	0.21	0.21
Valina	0.97	0.98	0.99	1.26	1.27	1.28	1.56	1.57	1.58

Tabla 7. Perfiles de aminoácidos (%) de las dietas experimentales del experimento III.

Aminoácidos	22%CP	27%CP	33%CP	39%CP	45%CP
Arginina	1.02	1.38	1.86	2.35	2.83
Glicina	1.38	1.65	2.03	2.41	2.78
Histidina	0.50	0.71	0.98	1.25	1.53
Isoleucina	0.67	0.90	1.23	1.55	1.88
Leucina	1.34	1.72	2.24	2.76	3.28
Lisina	0.89	1.34	1.95	2.56	3.18
Metionina	0.28	0.43	0.64	0.85	1.05
Cistina	0.15	0.18	0.22	0.25	0.29
Fenilalanina	0.75	0.96	1.25	1.54	1.84
Tirosina	0.40	0.61	0.89	1.18	1.46
Serina	0.65	1.01	1.50	1.99	2.49
Treonina	0.63	0.89	1.23	1.58	1.93
Triptofano	0.10	0.13	0.18	0.23	0.28
Valina	0.70	0.96	1.30	1.65	2.00

#### 5.5.1. Análisis estadísticos y procesamiento de datos

Las diferencias entre los tratamientos se determinaron por medio de análisis de varianza de una vía (ANOVA) (I, II, III y IV) y la prueba de rangos múltiples de Tukey (Sokal y Rohlf 1984). Se consideró que las diferencias entre los pesos finales eran significativas cuando  $P$  tuvo valores menores a 0.05 (Zar 1996). El segundo experimento (II) se realizó un análisis de varianza con dos factores para tres niveles de proteína y tres niveles de lípidos (Zar 1996). Al final del experimento se evaluaron los parámetros de producción y criterios comúnmente utilizados para determinar la calidad nutricional de dietas experimentales (Tacon 1990; Webster *et al.* 1994, Gurure *et al.* 1995). Para definir el nivel óptimo de proteína (I, II y III), los pesos promedio finales para los diferentes niveles de proteína fueron ajustados a un modelo cuadrático (Zeitoun *et al.* 1976; Gurure *et al.* 1995 y Shearer 2000). Este modelo ajusta la relación dosis-respuesta (Gurure *et al.* 1995) y se describe de la siguiente manera:

$$Y = a + bc + cc^2 \quad (\text{Ecuación 7})$$

donde,  $X$  es el nivel de proteína,  $Y$  es la variable respuesta,  $a$  es la intercepción de la curva,  $B$  y  $c$  son las pendientes, y  $X = -B / 2c$  dan la respuesta máxima al nivel de proteína en la dieta.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Experimento I

En el primer experimento (I) se evaluó el efecto de siete dietas experimentales (20, 25, 31, 37, 43, 49, y 55%PC) en el crecimiento, sobrevivencia y rendimiento de juveniles de *C. quadricarinatus*. La Tabla 8, presenta el análisis proximal de las dietas experimentales.

Tabla 8. Análisis proximal (promedio  $\pm$  desviación estándar) y de energía de las dietas experimentales para juveniles de *C. quadricarinatus*. (Experimento I).

Composición (% m. s.)	20% PC	25% PC	31% PC	37% PC	43% PC	49% PC	55% PC
Proteína Cruda	20.1 $\pm$ 0.36	25.5 $\pm$ 0.14	30.9 $\pm$ 0.29	37.1 $\pm$ 0.24	43.2 $\pm$ 0.11	49.2 $\pm$ 0.16	54.9 $\pm$ 0.18
Extracto Etéreo	7.9 $\pm$ 0.09	7.9 $\pm$ 0.20	7.7 $\pm$ 0.12	8.8 $\pm$ 0.12	8.9 $\pm$ 0.07	9.4 $\pm$ 0.22	10.8 $\pm$ 0.04
Ceniza	7.5 $\pm$ 0.08	8.7 $\pm$ 0.28	9.8 $\pm$ 0.16	10.8 $\pm$ 0.06	11.9 $\pm$ 0.07	13.1 $\pm$ 0.02	14.2 $\pm$ 0.16
Fibra	1.1 $\pm$ 0.09	0.3 $\pm$ 0.08	0.6 $\pm$ 0.19	1.0 $\pm$ 0.07	1.4 $\pm$ 0.12	0.4 $\pm$ 0.21	1.1 $\pm$ 0.37
ELN <sup>1</sup>	63.4	57.5	50.9	42.3	34.6	27.9	19.0
Energía bruta (kJ g <sup>-1</sup> )	18.7 $\pm$ 0.00	18.5 $\pm$ 0.08	18.9 $\pm$ 0.08	19.0 $\pm$ 0.04	20.1 $\pm$ 0.00	20.9 $\pm$ 0.04	21.4 $\pm$ 0.04
P:E (mg kJ <sup>-1</sup> ) <sup>2</sup>	10.7	13.8	16.3	19.4	21.5	23.5	25.6

Valores promedio de tres repeticiones, expresados en base seca.

<sup>1</sup>ELN= Extracto libre de nitrógeno, calculado como 100-(%Proteína+%Extracto Etéreo +%Ceniza+%Fibra).

<sup>2</sup>P:E. Relación proteína / energía.

La respuesta productiva de los juveniles de *C. quadricarinatus* mantenidos a 27°C en UE de 1,500, en términos de crecimiento, sobrevivencia, FCA, biomasa, tasa de eficiencia proteica (TEP), tasa de crecimiento específica (TCE), se presentan en la Tabla 9. De acuerdo a los pesos promedio finales, los tratamientos 31, 37 y 43% de PC fueron significativamente los más altos ( $P < 0.05$ ).

Los valores promedio de peso final fueron ajustados al modelo cuadrático para estimar el óptimo del requerimiento en proteína (Figura 8), el cual fué 34.2 % de PC ( $y = 1.142 + 0.484x - 0.0071x^2$ ,  $r^2 = 0.952$ ,  $P < 0.05$ ) equivalente a 29% de PD (calculado utilizando valores de Campaña 2001).

Tabla 9. Promedios ( $\pm$  desviación estándar) de los parámetros de producción de juveniles de *C. quadricarinatus* alimentados con dietas con diferente nivel de proteína. (Experimento I).

Dieta	Sobrevivencia (%)	Biomasa (g/m <sup>2</sup> )	TCE (%/día)	Alimento Consumido (g/día/animal)	Proteína Consumido (g/día/animal)	FCA	TEP
20%PC	65.0 $\pm$ 1.67 <sup>a</sup>	105.2 $\pm$ 5.2 <sup>a</sup>	3.35 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	0.233 $\pm$ 0.00 <sup>d</sup>	0.047 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	1.39 $\pm$ 0.06 <sup>bc</sup>	3.02 $\pm$ 0.16 <sup>e</sup>
25%PC	78.9 $\pm$ 3.47 <sup>b</sup>	128.8 $\pm$ 14.4 <sup>b</sup>	3.35 $\pm$ 0.27 <sup>ab</sup>	0.176 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.044 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	1.26 $\pm$ 0.23 <sup>ab</sup>	2.97 $\pm$ 0.23 <sup>e</sup>
31%PC	80.0 $\pm$ 1.67 <sup>b</sup>	153.6 $\pm$ 0.7 <sup>cd</sup>	3.64 $\pm$ 0.03 <sup>d</sup>	0.176 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	0.055 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	1.04 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	2.83 $\pm$ 0.02 <sup>e</sup>
37%PC	85.6 $\pm$ 3.47 <sup>c</sup>	156.6 $\pm$ 9.3 <sup>d</sup>	3.55 $\pm$ 0.10 <sup>bc</sup>	0.166 $\pm$ 0.00 <sup>bc</sup>	0.060 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	1.06 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	2.37 $\pm$ 0.17 <sup>d</sup>
43%PC	85.0 $\pm$ 2.89 <sup>c</sup>	156.3 $\pm$ 9.5 <sup>d</sup>	3.57 $\pm$ 0.08 <sup>bc</sup>	0.163 $\pm$ 0.00 <sup>bc</sup>	0.071 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	1.07 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	2.04 $\pm$ 0.12 <sup>c</sup>
49%PC	86.1 $\pm$ 4.19 <sup>c</sup>	131.2 $\pm$ 13.8 <sup>bc</sup>	3.25 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	0.163 $\pm$ 0.01 <sup>bc</sup>	0.079 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	1.31 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	1.49 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup>
55%PC	87.8 $\pm$ 5.36 <sup>c</sup>	112.7 $\pm$ 4.8 <sup>ab</sup>	2.97 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	0.156 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.085 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	1.56 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	1.11 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>

Valores dentro de las columnas con la misma letra no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ).

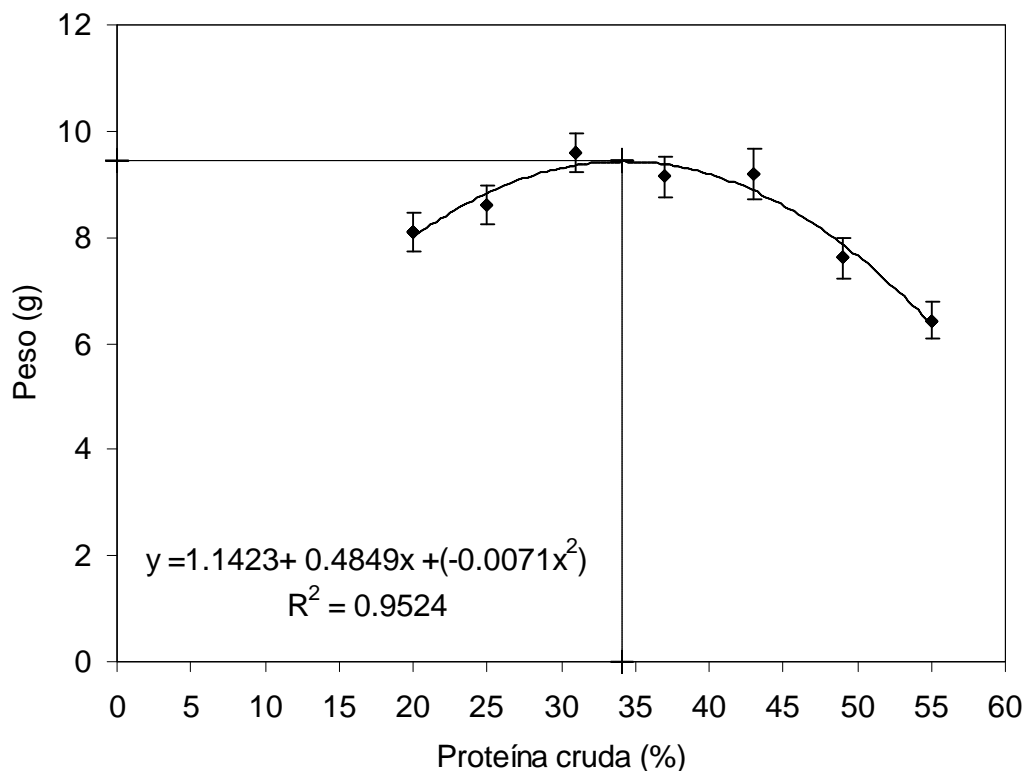


Figura 8. Efecto del nivel de proteína de la dieta sobre el peso final (promedio  $\pm$  error estándar) de juveniles de *C. quadricarinatus*. El requerimiento fue estimado mediante la aplicación del modelo cuadrático con 0.95 de confianza.

## 6.2. Experimento II.

En el segundo experimento (II) se evaluó el efecto de nueve dietas experimentales con tres niveles de proteína (26, 31 y 36%) y tres niveles de lípidos (4, 8 y 12%), en el crecimiento, sobrevivencia y rendimiento de juveniles de *C. quadricarinatus*. La Tabla 10, presenta el análisis proximal de las dietas experimentales. El nivel de proteína afectó significativamente el crecimiento de los acociles (Figura 9). El peso promedio final fue más alto y el FCA más bajo cuando los niveles de proteína:lípido fueron de 31/8, 31/12, 36/4, 36/8 y 36/12. Los juveniles alimentados con el tratamiento 31/8 presentaron una TCE y biomasa significativamente más altas con respecto a los demás tratamientos.

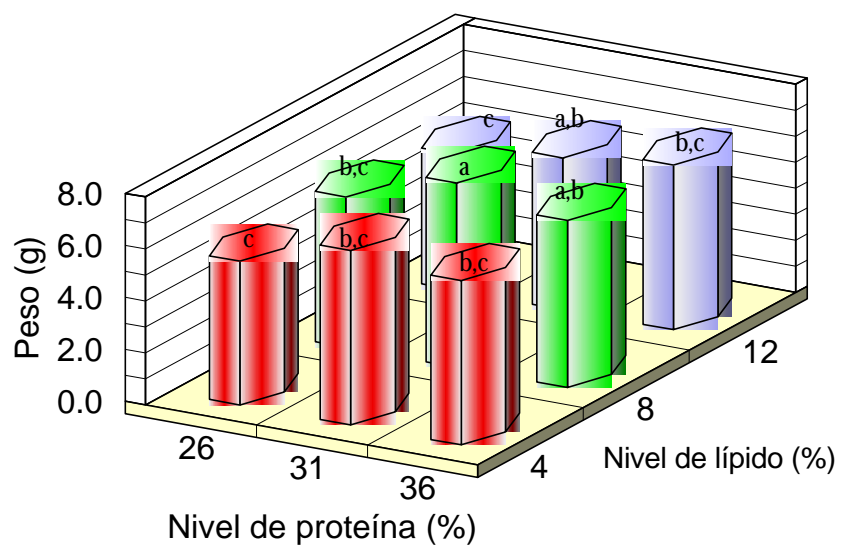


Figura 9 Peso promedio final de juveniles de *C. quadricarinatus* alimentados con dietas con diferentes niveles de proteína y lípidos.

Tabla 10. Composición proximal de las dietas experimentales, para juveniles de *C. quadricarinatus*. (Experimento II).

Composición (% m. s.)	Dietas (Proteína/Lípidos)								
	26/4	26/8	26/12	31/4	31/8	31/12	36/4	36/8	36/12
Proteína Cruda	26.7±0.01	26.7±0.07	26.7±0.12	31.7±0.06	31.5±0.03	31.5±0.12	36.4±0.09	36.3±0.16	36.6±0.09
Extracto Etéreo	4.3±0.06	8.8±0.03	12.3±0.02	4.9±0.09	8.3±0.07	12.2±0.08	4.9±0.03	8.7±0.09	12.1±0.08
Ceniza	7.0±0.02	6.9±0.03	8.2±0.03	8.3±0.06	8.3±0.05	6.9±0.02	9.5±0.04	9.8±0.03	9.6±0.03
Fibra	0.39±0.04	0.69±0.07	0.25±0.01	0.27±0.02	0.39±0.01	0.69±0.01	1.53±0.18	1.04±0.23	1.23±0.03
ELN <sup>1</sup>	54.80	50.00	45.10	48.70	44.40	41.50	41.10	35.30	33.60
Energía Bruta (kJ/g)	17.50	18.00	19.20	17.50	18.20	19.10	17.90	18.70	19.40
Proteína Digestible (%) <sup>2</sup>	22.90	22.70	22.60	26.40	26.30	26.10	30.00	29.90	29.70
Energía Digestible <sup>3</sup>	14.00	14.60	15.40	13.60	14.30	15.00	13.30	13.90	14.70
PD:ED (mg PD/EDkJ) <sup>3</sup>	16.30	15.50	14.60	19.40	18.40	17.40	22.60	21.50	20.20

Valores promedio de tres repeticiones (promedio ± Desv. Estándar), expresados en base seca.

<sup>1</sup>ELN= Extracto libre de nitrógeno, calculado como 100%-(%Proteína+%Extracto Etéreo+%Ceniza+%Fibra).

<sup>2</sup>Calculado usando los valores obtenidos por Campaña (2001)

<sup>3</sup>Estimados usando los valores de 16.7 kJ/g proteína y carbohidratos, y 37.6 kJ/g lípido.

La respuesta productiva de los juveniles de *C. quadricarinatus* en términos de crecimiento, sobrevivencia, FCA, biomasa, tasa de eficiencia protéica (TEP), y tasa de crecimiento específico (TCE) se presentan en la Tabla 11. Los tratamientos 31/8 y 36/12 presentaron los mejores resultados en términos de incremento en peso, biomasa y FCA. La sobrevivencia de los juveniles varió de 80.0 a 91.1 %.

Los resultados de TEP muestran una menor eficiencia de uso de proteína conforme se incrementa el nivel de proteína en la dieta. Los juveniles alimentados con el nivel más alto de proteína (36%PC) utilizan la proteína con menor eficiencia con respecto a los demás tratamientos. El consumo de proteína por juvenil se incrementa conforme se incrementa el nivel de proteína en la dieta. Sin embargo, no se presentan diferencias significativas en el consumo diario del alimento, lo que significa que el requerimiento en proteína es cubierto en un menor nivel protéico, y el excedente de proteína probablemente es usado como energía metabólica. Por otro lado, los organismos alimentados con los tratamientos 31/8, 36/4, 36/8 y 36/12 presentaron los niveles más altos en contenido de proteína en el músculo.

Los resultados indican que los juveniles de *C. quadricarinatus* requieren de 32% PC ( $y = -27.629 + 2.14x - 0.033x^2$ ,  $r^2 = 0.802$ ,  $P < 0.05$ ), equivalente a 27% PD ( $y = -41.14 + 3.53x - 0.064x^2$ ,  $r^2 = 0.802$ ,  $P < 0.05$ ) y 8% de lípidos para un crecimiento óptimo.

Por otro lado, resultados de un diseño completamente aleatorizado de los factores niveles de proteína y niveles de lípidos se presentan en la Tabla 12. El análisis de varianza de los dos factores indica que no se encontró interacción entre los niveles de proteína y lípidos ( $P = 0.166$ ). Sin embargo, en el nivel de proteína ( $P = 0.000$ ) y lípido ( $P = 0.013$ ) se encontró un efecto significativo en el peso promedio final de los juveniles de *C. quadricarinatus*.



Tabla 11. Promedios ( $\pm$  desviación estándar) de los parámetros de producción de juveniles de *C. quadricarinatus*, alimentados con dietas con diferente nivel de proteína y lípido.

Dieta (Proteína/Lípido)	Sobrevivencia (%)	Biomasa (g/m <sup>2</sup> )	TCE (%/día)	TEP	Alimento Ingerido (g /día /animal)	Proteína Ingerida (g/día /animal)	FCA
26/4	86.5 $\pm$ 3.5 <sup>abc</sup>	287.4 $\pm$ 13.4 <sup>a</sup>	3.23 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	2.58 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>	0.110 $\pm$ 0.0 <sup>ab</sup>	0.027 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	1.55 $\pm$ 0.07 <sup>cd</sup>
26/8	84.4 $\pm$ 3.8 <sup>abc</sup>	295.4 $\pm$ 16.3 <sup>a</sup>	3.35 $\pm$ 0.10 <sup>abc</sup>	2.71 $\pm$ 0.11 <sup>ab</sup>	0.115 $\pm$ 0.0 <sup>ab</sup>	0.028 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	1.47 $\pm$ 0.16 <sup>cd</sup>
26/12	81.6 $\pm$ 3.3 <sup>ab</sup>	307.0 $\pm$ 4.6 <sup>a</sup>	3.31 $\pm$ 0.12 <sup>ab</sup>	2.49 $\pm$ 0.16 <sup>ab</sup>	0.121 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	0.030 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	1.61 $\pm$ 0.25 <sup>d</sup>
31/4	89.9 $\pm$ 2.8 <sup>bc</sup>	325.5 $\pm$ 10.8 <sup>ab</sup>	3.36 $\pm$ 0.09 <sup>abc</sup>	2.43 $\pm$ 0.22 <sup>ab</sup>	0.109 $\pm$ 0.0 <sup>ab</sup>	0.032 $\pm$ 0.0 <sup>ab</sup>	1.37 $\pm$ 0.23 <sup>bcd</sup>
31/8	91.1 $\pm$ 1.9 <sup>c</sup>	370.2 $\pm$ 15.2 <sup>c</sup>	3.67 $\pm$ 0.17 <sup>c</sup>	3.08 $\pm$ 0.31 <sup>b</sup>	0.106 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	0.031 $\pm$ 0.0 <sup>ab</sup>	1.08 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>
31/12	84.4 $\pm$ 3.8 <sup>abc</sup>	357.0 $\pm$ 4.9 <sup>bc</sup>	3.62 $\pm$ 0.09 <sup>bc</sup>	2.88 $\pm$ 0.11 <sup>ab</sup>	0.109 $\pm$ 0.0 <sup>ab</sup>	0.032 $\pm$ 0.0 <sup>ab</sup>	1.14 $\pm$ 0.08 <sup>ab</sup>
36/4	80.0 $\pm$ 6.0 <sup>a</sup>	328.6 $\pm$ 9.7 <sup>ab</sup>	3.52 $\pm$ 0.04 <sup>abc</sup>	2.24 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	0.113 $\pm$ 0.0 <sup>ab</sup>	0.039 $\pm$ 0.0 <sup>c</sup>	1.27 $\pm$ 0.13 <sup>abc</sup>
36/8	81.6 $\pm$ 3.3 <sup>ab</sup>	345.6 $\pm$ 7.8 <sup>bc</sup>	3.52 $\pm$ 0.07 <sup>bc</sup>	2.27 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	0.113 $\pm$ 0.0 <sup>ab</sup>	0.039 $\pm$ 0.0 <sup>c</sup>	1.26 $\pm$ 0.17 <sup>abc</sup>
36/12	84.4 $\pm$ 3.8 <sup>abc</sup>	348.9 $\pm$ 10.6 <sup>bc</sup>	3.51 $\pm$ 0.04 <sup>abc</sup>	2.24 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	0.111 $\pm$ 0.0 <sup>ab</sup>	0.038 $\pm$ 0.0 <sup>bc</sup>	1.26 $\pm$ 0.11 <sup>abc</sup>

Valores promedio para cada renglón con la misma letra no se encontraron significativamente diferentes ( $P>0.05$ ).

Tabla 12. Cuadro de análisis de varianza para datos de parámetros de producción del experimento II.

Variación en la					
sobrevivencia	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Nivel <i>P</i>	
Proteína	2	0.012	3.768	0.036	
Lípido	2	0.001	0.452	0.641	
PxL	4	0.003	0.988	0.430	
Variación en el FCA					
Proteína	2	0.499	13.523	8.53x10 <sup>-5</sup>	
Lípido	2	0.033	0.899	0.418	
PxL	4	0.047	1.294	0.297	
Variación en el TEP					
Proteína	2	0.897	8.228	0.001	
Lípido	2	0.219	2.016	0.152	
PxL	4	0.135	1.246	0.315	
Variación en la TCE					
Proteína	2	0.233	6.499	0.004	
Lípido	2	0.073	2.051	0.148	
PxL	4	0.024	0.678	0.613	
Variación en la					
biomasa					
Proteína	2	16880.6	9.827	0.000	
Lípido	2	2331.5	1.357	0.274	
PxL	4	1598.9	0.930	0.460	

### 6.3 Experimento III.

En el tercer experimento (III), se evaluó el efecto de cinco dietas experimentales (22, 27, 33, 39 y 45% PC) en el crecimiento, sobrevivencia y rendimiento de pre-adultos de *C. quadricarinatus*, en cultivo monosexual. La Tabla 13, presenta el análisis proximal de las dietas experimentales. El crecimiento promedio de machos fue superior al de las hembras en cada uno de los tratamientos siendo significativamente más alto en los tratamientos de 22, 27 y 33 % PC. El comportamiento del crecimiento se presenta en la Figura 10.

Tabla 13. Análisis proximal de las dietas experimentales para pre-adultos de *C. quadricarinatus*. (Experimento III).

Composición (% m. s.)	22% PC	27% PC	33% PC	39% PC	45% PC
Proteína	22.83±0.09	27.22±0.21	33.35±0.13	39.47±0.30	45.55±0.17
Extracto Etéreo	9.61 ±0.27	9.18±0.22	8.08 ±0.11	8.49 ±0.13	7.96 ±0.11
Ceniza	7.46 ±0.02	8.41±0.03	9.68±0.05	10.71±0.02	12.05±0.05
Fibra	0.71 ±0.10	0.51 ±0.11	0.72 ±0.02	0.67 ±0.02	0.60 ±0.06
ELN <sup>1</sup>	59.39	54.68	48.17	40.66	33.84
Energía (kJ g <sup>-1</sup> )	20.75±0.04	21.01±0.05	21.37±0.04	21.71±0.04	22.08±0.05
Proteína Digestible <sup>2</sup>	17.35	20.27	24.26	28.26	32.25
Energía Digestible (kJ g <sup>-1</sup> ) <sup>3</sup>	15.21	14.76	14.13	13.49	14.32
P : E (mg kJ <sup>-1</sup> ) <sup>3</sup>	11.41	13.73	17.16	20.94	22.52

Valores promedio de tres repeticiones (promedio ± Desv. Estándar), expresados en base seca.

<sup>1</sup>ELN= Extracto libre de nitrógeno, calculado como 100%-(%Proteína+%Extracto Etéreo +%Ceniza+%Fibra).

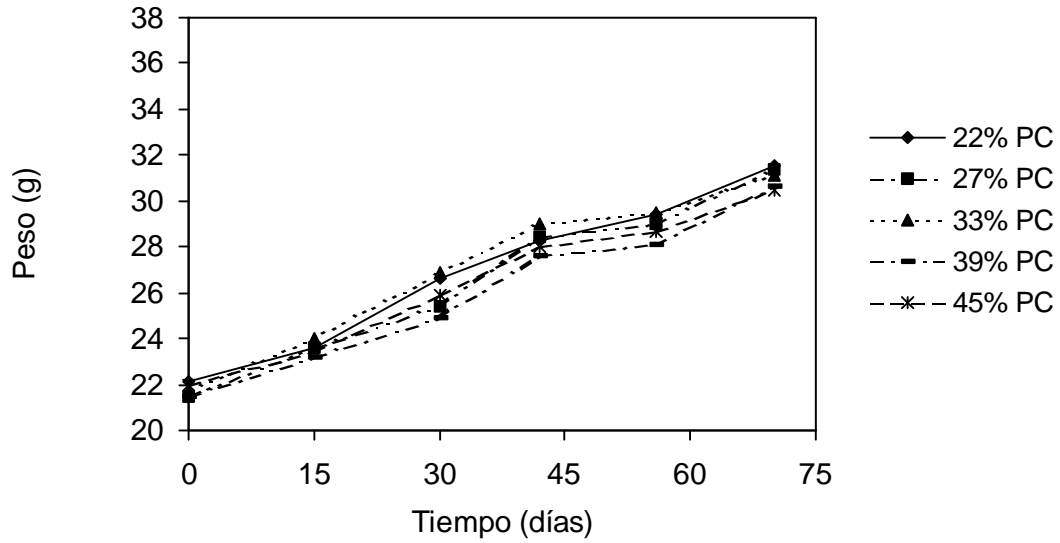
<sup>2</sup>Calculado usando los valores obtenidos por Campaña (2001).

<sup>3</sup>Estimados usando los valores de 16.7 kJ g<sup>-1</sup> proteína y carbohidratos, y 37.6 kJ g<sup>-1</sup> lípido.

La mejor respuesta al tratamiento con 22% PC (17 % PD), de los machos de *C. quadricarinatus* es evidente a partir de los 15 días de cultivo. Sin embargo, a los 70 días de cultivo los tratamientos con 22, 27 y 33% PC no presentan diferencias significativas entre sí. En las hembras no hubo diferencias significativas en peso final.

La respuesta productiva de pre-adultos machos y hembras de *C. quadricarinatus*, en términos de crecimiento, sobrevivencia, FCA, biomasa, tasa de eficiencia proteica (TEP), tasa de crecimiento absoluta (TCE), mantenidos a 27°C en UE's de 1,500 se presenta en la Tabla 14.

(a) Monosexual Hembras



(b) Monosexual Machos

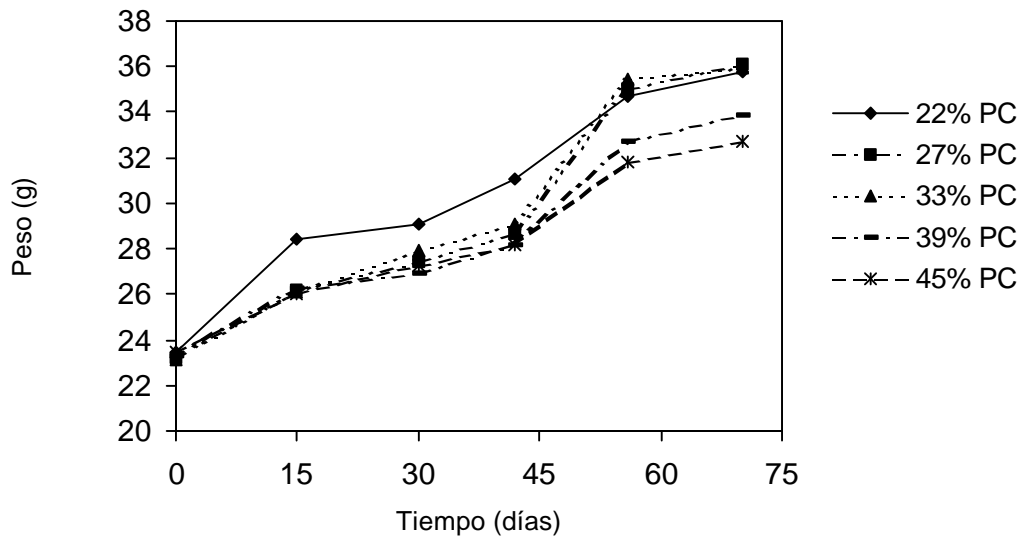


Figura 10. Crecimiento de pre-adultos (a) hembras y (b) machos de *C. quadricarinatus* alimentados con dietas con diferente nivel de proteína cruda (%PC) en 70 días de cultivo a  $27 \pm ^\circ\text{C}$ .

Tabla 14. Valores promedio ( $\pm$  desviación estándar) de los parámetros de producción de pre-adultos de *C. quadricarinatus*, alimentados con dietas con diferentes niveles de proteína, después de 70 días de cultivo experimental.

Dieta	Hembras							
	Sobrevivencia (%)	Peso Final (g)	Biomasa (g/m <sup>2</sup> )	TCA (g/día)	TEP	Alimento Ingerido (g/día/animal)	Proteína Ingerida (g/día/animal)	FCA
22%PC	90.0 $\pm$ 0.67 <sup>a</sup>	31.5 $\pm$ 1.56 <sup>a</sup>	283.6 $\pm$ 0.9 <sup>d</sup>	0.13 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	1.04 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	0.586 $\pm$ 0.00 <sup>ab</sup>	0.129 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	1.38 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>
27% PC	83.3 $\pm$ 1.48 <sup>b</sup>	31.4 $\pm$ 1.87 <sup>a</sup>	261.5 $\pm$ 1.8 <sup>c</sup>	0.14 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	0.90 $\pm$ 0.23 <sup>b</sup>	0.581 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.157 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	1.43 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>
33% PC	90.0 $\pm$ 3.00 <sup>a</sup>	31.1 $\pm$ 1.01 <sup>a</sup>	279.4 $\pm$ 5.2 <sup>ab</sup>	0.13 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	0.73 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	0.555 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.183 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	1.32 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>
39% PC	85.0 $\pm$ 2.00 <sup>ab</sup>	30.6 $\pm$ 1.08 <sup>a</sup>	259.9 $\pm$ 3.9 <sup>a</sup>	0.13 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	0.55 $\pm$ 0.17 <sup>d</sup>	0.602 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	0.235 $\pm$ 0.00 <sup>d</sup>	1.50 $\pm$ 0.35 <sup>b</sup>
45% PC	88.3 $\pm$ 1.52 <sup>ab</sup>	30.5 $\pm$ 1.88 <sup>a</sup>	268.5 $\pm$ 8.1 <sup>a</sup>	0.12 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.44 $\pm$ 0.12 <sup>e</sup>	0.610 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	0.274 $\pm$ 0.01 <sup>e</sup>	1.50 $\pm$ 0.29 <sup>b</sup>
Machos								
22% PC	98.3 $\pm$ 1.52 <sup>a</sup>	35.8 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup>	351.9 $\pm$ 5.6 <sup>a</sup>	0.18 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	1.44 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	0.568 $\pm$ 0.00 <sup>ab</sup>	0.125 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	1.12 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>
27% PC	96.7 $\pm$ 3.51 <sup>ab</sup>	36.1 $\pm$ 1.9 <sup>a</sup>	348.4 $\pm$ 9.1 <sup>a</sup>	0.18 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	1.22 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.557 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	0.150 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	1.10 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>
33% PC	95.0 $\pm$ 2.00 <sup>ab</sup>	35.9 $\pm$ 2.1 <sup>a</sup>	341.2 $\pm$ 7.4 <sup>a</sup>	0.18 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.96 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.576 $\pm$ 0.01 <sup>abc</sup>	0.190 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	1.15 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>
39% PC	93.3 $\pm$ 3.01 <sup>ab</sup>	33.8 $\pm$ 2.5 <sup>b</sup>	316.2 $\pm$ 9.9 <sup>b</sup>	0.15 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.66 $\pm$ 0.03 <sup>d</sup>	0.587 $\pm$ 0.00 <sup>bc</sup>	0.229 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	1.26 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>
45% PC	91.0 $\pm$ 1.73 <sup>c</sup>	32.7 $\pm$ 2.4 <sup>b</sup>	299.7 $\pm$ 3.5 <sup>b</sup>	0.13 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.49 $\pm$ 0.06 <sup>e</sup>	0.594 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.267 $\pm$ 0.05 <sup>e</sup>	1.27 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>

Valores promedio para cada renglón con la misma letra no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ).

Para facilitar las comparaciones entre pruebas experimentales, el uso de los valores de proteína digestible es recomendado (Tibbetts *et al* 2001). En el presente estudio, el modelo cuadrático indica un óptimo de PC de 25.6% para machos (Figura 11). Esto es equivalente a un nivel óptimo de proteína digestible de 19.4%, con 15.21 kJ/g de energía digestible. Para las hembras, el modelo lineal ( $y = 32.84 - 0.0745x$ ,  $r^2=0.959$ ,  $P < 0.05$ ) presenta una tendencia hacia un crecimiento mas alto con dietas de bajo nivel proteico del rango evaluado.

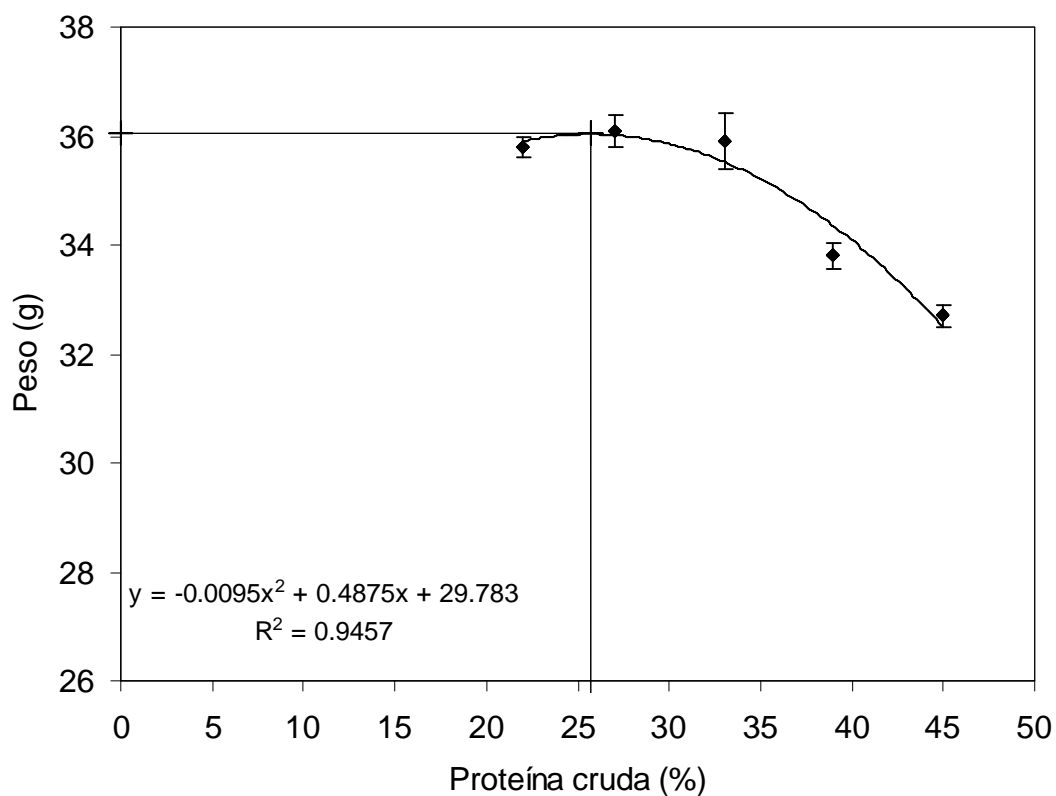


Figura 11. Efecto del nivel de proteína de la dieta sobre el peso final (promedio  $\pm$  error estándar) de machos de *C. quadricarinatus*. El requerimiento fue estimado mediante la aplicación de un modelo cuadrático con 0.95 de confianza.

#### 6.4. Experimento IV.

En el cuarto experimento (IV) se evaluó el efecto de la frecuencia alimenticia con cuatro diferentes tratamientos: cada C1=1 vez/ día; C2= 2 veces/ día; C3= 3 veces/ día y C4= 4 veces/ día, utilizando una dieta con 35% de PC. Se determinó el efecto de estos tratamientos en el crecimiento, sobrevivencia, FCA y biomasa de juveniles de *C. quadricarinatus*. El alimento comercial utilizado en el cultivo experimental ha sido empleado con éxito en la engorda de juveniles de *C. quadricarinatus* en estanques con recubrimiento plástico, con excelente sobrevivencia (80%) y tasa de crecimiento (2.36 g/semana) (Naranjo *et al.* 2000). La composición proximal de la dieta fue analizada de acuerdo a las técnicas descritas por AOAC (1995). La dieta contenía 36.7% de proteína cruda, 12.6% de grasa cruda, 1.2% de fibra cruda, 8.3 de ceniza y 41.2 de extracto libre de nitrógeno, con una proporción carbohidrato:lípido de 3.5:1, similar a la proporción de 4:1 recomendado para *M. rosenbergii* por D'Abramo y New (2000).

Se observaron diferencias significativas ( $P<0.05$ ) en incremento de peso a partir de los 15 días de cultivo. La Tabla 15 presenta el incremento en peso a través del tiempo. El peso final de los juveniles fué significativamente mayor en los tratamientos C3 y C4.

La Tabla 16, presenta los resultados de la respuesta productiva de los juveniles en términos de crecimiento, sobrevivencia, FCA, biomasa, TCA, TCE y peso final de *C. quadricarinatus* después de 60 días de cultivo.



Tabla 15 Peso promedio ( $\pm$  desviación estándar) de juveniles de *C. quadricarinatus* alimentados con diferente frecuencia durante 60 días de cultivo.

Día	Frecuencia Alimenticia*			
	C1	C2	C3	C4
15	1.57 $\pm$ 0.24 <sup>b</sup>	1.62 $\pm$ 0.24 <sup>ab</sup>	1.62 $\pm$ 0.23 <sup>ab</sup>	1.71 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>
30	1.96 $\pm$ 0.3 <sup>c</sup>	2.29 $\pm$ 0.99 <sup>b</sup>	2.28 $\pm$ 0.92 <sup>b</sup>	2.65 $\pm$ 0.50 <sup>a</sup>
45	2.71 $\pm$ 0.78 <sup>b</sup>	2.78 $\pm$ 0.98 <sup>b</sup>	2.79 $\pm$ 0.92 <sup>b</sup>	3.40 $\pm$ 0.99 <sup>a</sup>
60	3.57 $\pm$ 1.14 <sup>b</sup>	3.84 $\pm$ 1.17 <sup>b</sup>	4.74 $\pm$ 0.71 <sup>a</sup>	5.45 $\pm$ 1.09 <sup>a</sup>

Valores promedio para cada renglón con la misma letra no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ).

\*C1=1 vez/ día; C2= 2 veces/ día; C3= 3 veces/ día; C4= 4 veces/ día.

La sobrevivencia más baja se presentó en organismos alimentados con menor frecuencia (C1 y C2), siendo equivalente a 87%. El FCA fué significativamente más alto en los tratamientos C1 y C2 (3.2 y 3.1, respectivamente), siendo 1.25 para el tratamiento de mayor frecuencia alimenticia (C4). Asimismo, se registró una menor tasa de crecimiento específico (2.31 y 2.44, respectivamente), cuando la frecuencia alimenticia fue menor.

Los resultados obtenidos en el cultivo experimental de juveniles de *C. quadricarinatus* coinciden con trabajos previos realizados en otras especies acuacultivadas en donde se ha encontrado un marcado efecto de la frecuencia de alimentación en el crecimiento (*vgr.* Noeske *et al.* 1985; Wyban y Sweeney 1989; Robertson *et al.* 1992; García-Galano *et al.* 2000; Hossain *et al.* 2001), o en actividad proteolítica (Gaxiola *et al.* 2000). En base a los resultados de la presente evaluación experimental se recomienda alimentar con una frecuencia de cuatro veces al día (C4).

Tabla 16. Parámetros de producción y de respuesta del crecimiento de *C. quadricarinatus* a los 60 días de alimentación con diferentes frecuencias alimenticias (promedio  $\pm$  desviación estándar).

Frecuencia Alimenticia*	Biomasa (g/m <sup>2</sup> )	FCA	T.C.A. (g/día)	Alimento Ingerido (g/día/animal)	TCE (%/día)	Sobrevivencia (%)
C1	176.91 $\pm$ 10.9 <sup>c</sup>	3.2 $\pm$ 0.04 <sup>d</sup>	0.05 $\pm$ 0.005 <sup>b</sup>	0.145 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	2.31 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	86.7 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>
C2	190.80 $\pm$ 11.2 <sup>c</sup>	2.1 $\pm$ 0.15 <sup>c</sup>	0.04 $\pm$ 0.005 <sup>b</sup>	0.100 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	2.44 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	86.7 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>
C3	253.20 $\pm$ 12.24 <sup>b</sup>	1.8 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>	0.06 $\pm$ 0.005 <sup>a</sup>	0.118 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	2.80 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	93.3 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>
C4	311.80 $\pm$ 14.82 <sup>a</sup>	1.2 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>	0.07 $\pm$ 0.001 <sup>a</sup>	0.095 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	3.02 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	98.3 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>

Valores promedio para cada renglón con la misma letra no son significativamente diferentes ( $P>0.05$ ).

\*C1=1 vez/ día; C2= 2 veces/ día; C3= 3 veces/ día; C4= 4 veces/ día

## 7. DISCUSIÓN

En esta sección se discuten los resultados de las evaluaciones experimentales y se compara con la información publicada sobre estudios de nutrición, requerimientos nutricionales, respuesta fisiológica, entre otros estudios en crustáceos.

### 7.1 Calidad de agua

El éxito en el cultivo de crustáceos depende del mantenimiento de una buena calidad del agua (Boyd y Trucker 1992; Boyd y Zimmermann 2000). La temperatura es uno de los factores más importantes que regulan la tasa de crecimiento en los acociles (King 1994; Jussila 1997) en parte debido a los cambios en el consumo del alimento en función a cambios de temperatura (Söderbäck *et al.* 1987; Seals *et al.* 1997). Jones (1988) indica que el crecimiento óptimo se presenta a los 27°C. El crecimiento es más alto cuando los acociles son cultivados dentro del rango óptimo de temperatura (Morrissy 1990; King 1994; Jones 1988; Jones 1990a, 1995). En las evaluaciones experimentales la temperatura se mantuvo alrededor de la temperatura óptima reportada para la especie en cultivo.

Los niveles registrados de amonio no ionizado, nitritos y nitratos, estuvieron por debajo de los niveles que inhiben el crecimiento de los crustáceos (Boyd y Trucker 1992). Por otro lado niveles de pH se mantuvieron dentro del rango óptimo para el cultivo de la especie. Condiciones de cultivo con bajo nivel de pH ha reportado que inhibe la mineralización del caparazón y el crecimiento de Astacidos (Aiken y Waddy 1992; Jussila 1997). En en fundón a la respuesta productivo de las evaluaciones experimentales es posible inferir que el recambio rutinario de agua

y el número de animales por UE utilizados en el cultivo han sido lo adecuado en los diferentes experimentos.

En general las evaluaciones experimentales los parámetros de calidad de agua se mantuvieron dentro del óptimo (I, II, III y IV) para el cultivo de la especie.

## 7.2. Nutrición

### 7.2.1. Elaboración de dietas

El requerimiento de proteína es afectado por factores como la edad, talla o peso, temperatura y digestibilidad de las dietas (Jones *et al.* 1996c, Jussila 1997; Jones y De Silva 1997; Cruz-Suárez *et al.* 2002; Catacutan 2002). En la elaboración de las dietas experimentales se utilizaron insumos con fuentes proteicas de origen animal y vegetal, disponibles regionalmente, analizados nutricionalmente, altamente digestibles y evaluados en juveniles (I y II) y pre-adultos (III) de *C. quadricarinatus* (Campaña 2001; Webster *et al.* 2002b; Hernández *et al.* 2002 y García-Ulloa *et al.* 2003). Por otro lado, las propiedades físicas y químicas de los alimentos se mantuvieron durante el desarrollo de los experimentos (I, II y III). Un alimento estable en el agua produce un mejor crecimiento y mejor tasa de conversión alimenticia comparado con los alimentos de menor estabilidad, debido a que se desintegran y pierden parcialmente su calidad nutricional antes de que el animal consuma el alimento (Jussila 1997; Jussila y Evans 1998). La aceptación y consumo del alimento que se observó rutinariamente indica que las dietas tuvieron una buena estabilidad aparente en el agua.

### 7.3 Respuesta productiva.

En las formulaciones para la langosta de agua dulce y otras especies acuacultivadas, la proteína constituye uno de los mayores costos en términos de nutrientes e ingredientes para la elaboración de dietas. Para minimizar el costo de las dietas es importante optimizar el nivel de proteína y su utilización por la especie en cultivo (Guillaume 1997). En las evaluaciones experimentales I y II, se registraron tasas de sobrevivencia de 65 a 89% (I) y 80 a 91% (II), representativas a trabajos realizados con juveniles de la especie y similares del mismo genero, Jones *et al.* (1996b) y Ponce *et al.* (1998) reportan un rango de sobrevivencia entre 65-85% para *Cherax destructor*, y 60-95% para *C. quadricarinatus*, respectivamente. Por otro lado, Webster *et al.* (1994) reportan una tasa de sobrevivencias de 50-71% para juveniles de *C. quadricarinatus* alimentados con dietas experimentales. García-Ulloa *et al.* (2003) reportan sobrevivencia de 100% en crías de *C. quadricarinatus* alimentados con dietas con sustitución de proteína animal por proteína vegetal. Sin embargo, la velocidad de crecimiento (SGR) fué limitada en comparación a las evaluaciones I y II.

Dependiendo del método estadístico aplicado es factible definir un valor óptimo en el requerimiento de proteína de juveniles de *C. quadricarinatus*, el modelo cuadrático indica que 34% de PC (I) es el óptimo en el crecimiento, en la evaluación de proteína-lípido para juveniles el mismo modelo indica que es de 32% de PC equivalente a 27 % de PD. Los parámetros productivos indican que los juveniles satisfacen su requerimiento nutricional con 31% de PC. Estos valores de proteína cruda se encuentran dentro de los valores recomendados para otros crustáceos cultivados, por ejemplo, para juveniles de *M. rosenbergii* (30-35% PC) (D'Abramo y New 2000) ó para juveniles de *Astacus astacus* (30-35% proteína, 20-25% carbohidratos, y

alrededor del 10% lípidos) (Ackefors *et al.* 1992). Celada *et al.* (1989) reportan la mejor tasa de crecimiento para juveniles de *Pacifastacus leniusculus* con dietas conteniendo entre 27 y 33% de proteína. Por otro lado, en los niveles de PD:ED reportado por Cruz *et al.* (2000) para *L. stylirostris* y dentro de los niveles de lípidos (5 a 13%) que requiere el cangrejo *Scylla serrata* (Sheen y Wu 1999). D'Abramo y Sheen (1996) y D'Abramo y New (2000) indican que el nivel de lípidos en raciones comerciales para camarón es de 6 a 7.5%. Webster *et al.* (1994) indican que una dieta formulada con 33% de proteína y 10.7% lípidos parecen ser lo adecuado para juveniles de *C. quadricarinatus* menores a 1 g. Hernández *et al.* (2000) indican que crías de *C. quadricarinatus* alimentados con dietas 30% de PC y 8% de lípidos de origen animal en su mayor proporción (75%) y origen vegetal (25%) presentan mejor crecimiento. Cuzon y Guillaume (1997) indican que los crustáceos no aprovechan eficientemente dietas con más de 10% de lípidos, y que estos niveles además disminuyen la tasa de crecimiento. En la evaluación experimental II, los juveniles alimentados con dietas con alto nivel de lípidos (26/12 y 31/12) presentan las sobrevivencias más bajas (81 y 84%, respectivamente), probablemente debido a un efecto del alto nivel de lípidos en las dietas. En el presente estudio, la proporción óptima definida de PD:ED es de 18.4 mgPD/ED kJ a un nivel de 26.3 PD y 8% de lípidos en función a los rendimientos en FCA, sobrevivencia, TEP y TCE, para juveniles de 1 a 7 g. Esto indica que el requerimiento de proteína de juveniles en Astacidos es similar al de otras especies dulceacuícolas.

El perfil de aminoácidos calculado para las dietas experimentales (I, II y III) con mejores rendimientos productivos estuvieron dentro de los perfiles de aminoácidos analizados en dietas evaluadas para juveniles de *C. quadricarinatus* reportados por Webster *et al.* (1994). Por otro lado, los bajos valores de FCA, valores aceptables TEP reportados con mejores rendimientos en las evaluaciones experimentales indican que las dietas formuladas dentro del rango óptimo cubrían los requerimientos nutricionales de la especie.

El contenido de energía bruta presente en las dietas (17.5-19.4 kJ/kg) (II) es similar a lo recomendado para dietas de crustáceos (18.2-18.7 kJ/kg) por Cuzon y Guillaume (1997). Existe la hipótesis de que el alimento ingerido está regulado por la energía metabolizable (De Silva *et al.* 1991), y otros estudios en peces apoyan esta hipótesis (Beamish y Medland 1986). Los resultados de la evaluación experimental II, indican también que el consumo estuvo relacionado a la energía digestible de las dietas. Esto es evidente, ya que el incremento en lípidos en las dietas *per se* tuvo poca influencia sobre el apetito de los animales, y a que los resultados en el consumo de alimento no presentan diferencias significativas.

En la evaluación experimental (III) se demuestra que el requerimiento de proteína es menor en pre-adultos que en los juveniles, ya que en el Experimento I, se mostró que en juveniles un nivel superior de proteína (31% PC) maximiza su crecimiento. Akiyama y Dominy (1989); Kanazawa (1992) y D'Abramo y Sheen (1996) indican que los crustáceos en la fase de juvenil requieren mayor cantidad de proteína en la dieta que en su fase adulta. Dietas con 22, 27 y 33 % PC registraron el crecimiento, TCA, y la biomasa más altas. El FCA fue cercano a uno, lo que se compara favorablemente con lo reportado para hembras (2.5 a 3.5) y machos (3.6 a 4.2) de *M. rosenbergii* en cultivo monosexual (Siddiqui *et al* 1997; D'Abramo y New 2000). El alimento ingerido y la TEP tienden a ser más bajos cuando se incrementa el contenido de proteína en la dieta. Los resultados obtenidos en la evaluación experimental III, indican que el tratamiento de 22 % PC fueron superiores en machos con respecto hembras, lo que indica que a niveles bajos de proteína la eficiencia protéica es mayor ya que no requieren más proteína para crecimiento, y el excedente en las dietas con mayor nivel de proteína probablemente es utilizada como energía para otras funciones metabólicas. En el caso de las hembras, no fué posible ajustar un modelo cuadrático para establecer un óptimo protéico. Sin embargo, el modelo lineal muestra una

tendencia de requerimiento proteico mas bajo para un mejor crecimiento. Rodríguez (2001) reportan que, en hembras de talla similar, el flujo energético se dirige al desarrollo gonadal, donde el óptimo para la especie fué de 32% PC. Por otro lado, el rango de sobrevivencia fué de 91-98% para macho y de 83-90% para las hembras (III), la cual es considerada alta de acuerdo a lo que normalmente se obtiene en granjas comerciales (Sagi *et al.* 1986; Lawrence *et al.* 2000). Lawrence *et al.* (2000) reportan una sobrevivencia de 60-67% en cultivo monosexual de *C. albidus*.

En la evaluación IV, los resultados de la frecuencia alimenticia indican que el efecto diferencial entre los tratamientos se relaciona con el hecho de que, a mayor frecuencia de alimentación, se incrementan las posibilidades de adquirir los nutrientes indispensables para el desarrollo óptimo, ya que las pérdidas por lixiviación se reducen y la palatabilidad se mantiene (Guillaume 1997). Jussila y Evans (1998) han estudiado el comportamiento alimenticio de *C. tenuimanus*, indicando que los restos de alimento de dietas inestables son ignorados por el acocil en cultivo intensivo y semiintensivo, causando crecimiento lento comparado con dietas estables. Cuzon *et al.* (1982) reportan que el tiempo de alimentación fue muy importante para garantizar un rápido consumo del alimento de *P. japonicus*, minimizando la pérdida de nutrientes y mejorando la tasa de crecimiento de la especie. Jussila (1997) menciona que los Astacidos son en general organismos altamente eficientes para el consumo de alimento ya que tienen una flora intestinal variada, es decir, pueden aprovechar el alimento aunque las propiedades nutritivas de éste hayan disminuido por lixiviación, producto de la permanencia prolongada bajo el agua. Los alimentos eficientes, así como las estrategias de alimentación adecuada se vuelven particularmente importantes en los sistemas de producción intensiva, en donde los esfuerzos están dirigidos a minimizar y mantener una buena calidad de agua, maximizando de esta forma el desarrollo productivo de la especie que en su fase de juvenil requieren una menor cantidad de proteína (0.031 a 0.055 g de proteína por



día por organismo) que la en la fase de cultivo monosexual de pre-adultos (0.125 a 0.129 g de proteína por día por organismo). Teniendo como base éstos factores se recomienda alimentar a *C. quadricarinatus* con una frecuencia de al menos tres veces al día (C3), para las condiciones de laboratorio evaluadas.

## **8. CONCLUSIONES**

1. Las condiciones generales de las evaluaciones experimentales en el presente estudio fueron satisfactorias, y cumplen con los estándares definidos para evaluaciones nutricionales en crustáceos.
2. El nivel de proteína en las dietas experimentales tuvo un efecto significativo en el desarrollo de los juveniles de la langosta de agua dulce cultivados a 27°C en un período de 60 días. El nivel óptimo de proteína estimado por el modelo cuadrático para los juveniles fue de 34.2% CP. De acuerdo a los parámetros de producción y desde el punto de vista costo/beneficio biológico el nivel óptimo para juveniles de 1 a 10 g, es de 31% PC equivalente a 0.055 g de proteína por día por organismo, para la formulación de dietas al menor costo en función al peso promedio final.
3. El nivel de proteína/lípido contenido en las dietas experimentales tuvo un efecto significativo en el desarrollo de los juveniles de la langosta de agua dulce cultivados a 28°C en un período de 60 días. Se sugiere utilizar una dieta con 32% de PC, equivalente a 27% PD, con 8% de lípidos, con una relación de PD/ED de 18.4 mg proteína/kJ, equivalente a 0.031 g de proteína por día por organismo.
4. En el cultivo monosexual, con pre-adultos cultivados a 27°C en un período de 70 días, el nivel de proteína en las dietas experimentales presentó un efecto significativo en el desarrollo de los machos. Sin embargo, en las hembras se evidencía una tendencia de

mejor rendimiento con un menor contenido proteico en la dieta. Esta tendencia no fue significativa ya que las hembras dirigen una parte significativa de su energía al desarrollo gonadal. Se sugiere que los pre-adultos (machos y hembras) alimentados con un nivel de 25.6% PC, (equivalente a 19.4% PD) con una relación P/E de 11.4 mg de proteína/kJ, producen el mejor crecimiento.

5. La frecuencia alimenticia tuvo un efecto significativo en el desarrollo de los juveniles de la langosta de agua dulce cultivados a 28°C por un período de 60 días. Los resultados de incremento en peso de los juveniles indican que la frecuencia de alimentación óptima es de al menos tres veces al día. Sin embargo, en términos de biomasa final una frecuencia de alimentación de cuatro veces al día fué significativamente diferente con respecto a los demás tratamientos, por lo que deberán evaluarse aspectos bioeconómicos que definan el costo-beneficio en la producción.

## **9. RECOMENDACIONES**

Se recomienda determinar el nivel óptimo de proteína/lípidos en la dieta de pre-adultos de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*, en cultivo monosexual. De esta forma se podrán definir dietas específicas para la especie en las dos fases de desarrollo (juvenil y pre-adulto).

Por otro lado, y debido a que las evaluaciones fueron realizadas en laboratorio bajo condiciones controladas, con agua clara (sin productividad), y por períodos relativamente cortos de tiempo, se recomienda realizar estudios en estanques con productividad primaria y secundaria por períodos de al menos 90 días. La productividad natural, constituida por especies planctónicas, la materia orgánica en descomposición, oligoquetos y pequeños insectos contribuyen de manera significativa en la nutrición de los acociles. Por ello, es importante evaluar las dietas con los niveles de proteína y lípidos en estanques con productividad a fin de definir un óptimo de proteína:lípido considerando el alimento natural en las unidades de producción comercial previo al uso de las formulaciones presentadas.

## 10. BIBLIOGRAFÍA.

- Abrahamsson, S. A., 1966. Dynamics of an isolated population of the crayfish *Astacus astacus* Linne. *Oikos*, 17,96-107 pp.
- Ackefors, H., Castell. J.D., Boston, L.D., Rätty, P. and Svensson M., 1992 Standard experimental diets crustacean nutrition research. II. Growth and survival of juvenile crayfish *Astacus astacus* (Linné) fed diets containing various amounts of protein, carbohydrate and lipid. *Aquaculture* 104, 341-356.
- Aiken, D.E. and Waddy, S.L., 1992. The growth process in crayfish. *Reviews in Aquatic Sciences* 6:335-381
- Andrews, J.W. and Sick, L.V., 1972. Estudies on the nutritional requeriments of penaeid shrimp. *Proc. World Maricult. Soc.* 3:40 3-414
- Anson, K. J. and Rouse, D. B., 1994. Effects of salinity on hatching and post-hatch survival of the Australian red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 25(2): 277-280.
- Anson, K. and Rouse D., 1996. Evaluation of several commercial feeds and a crustacean reference diet for juvenile Australian red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Journal of Applied Aquaculture* 6; 65-73.
- AOAC., 1995. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. Vol. I. 16 th edn. Washington, D.C. USA, 1234 pp.
- Akiyama, D.M. and Chwang, N.L., 1989. Shrimp feed requirements and feed management, pp 75-82. In: D.M. Akiyama (Ed). *Proceedings of the Southeast Asia shrimp management workshop*, July 26-August 11, 1989. Singapore.

- Akiyama, D.M., Dominy, W.G. and Addison, L.L., 1991. Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry, pp 80-98. *In: D.M. Akiyama y Tan R.K. (Eds). Proceedings of the aquaculture feed processing and nutrition workshop. September 19-25, 1991. American Soybean Association. Singapore.*
- Austin, C.M., 1995. Evolution in the Genus *Cherax* (Decapoda: Parastacidae). *Freshwater Crayfish* 8:12-31.
- Baillet, C., G. Cuzon, Cousin, M and Kerleguer, C., 1997. Effect of dietary protein levels on growth of *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture Nutrition*, 3, 49-53.
- Barki, M. A. Levi, T. Shrem, A. and Kurplus, I., 1997. Ration and spatial distribution of feed affect survival, growth and competition in juvenile red claw crayfish, *Cherax quadricarinatus*, reared in the laboratory. *Aquaculture*, 148(2-3): 169-177.
- Barnes, H. and Blackstock, J., 1973. Estimation of lipids in marine animals and tissues. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 12; 103-118.
- Boyd, C. E., and Trucker, C.S., 1992. Water quality and pond soils analyses for aquaculture. Department Fisheries and Allied Aquacultures. Auburn University. Alabama, USA. 183 p.
- Boyd, C. and Zimmermann, S., 2000. Growth-out systems – water quality and soils management, pp 221-238. *In: New, M.B. & Cotroni, V.W. (Eds.). Freshwater prawn culture. The farming of *Macrobrachium rosenbergii*. Blackwell Science. UK.*
- Beamish, F.H. and Medland, T.E., 1986. Protein sparing effects in large rainbow trout, *Salmo gairdineri*. *Aquaculture*, 55: 35-42.
- Bordner, C. E., D'Abramo, L., Conklin, D.E. and Baum. N., 1986. Development and evaluation of diets for crustacean aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society*, 17(1-4): 44-51.

- Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein - dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-253.
- Catacutan, M.R., 2002. Growth and body composition of juvenile mud crab, *Scylla serrata*, fed different dietary protein and lipid levels and protein to energy ratios. *Aquaculture*, 208:113-123 pp.
- Campabadal, C. y Celis A., 1996. Factores que afectan la calidad de los alimentos. *En: Mendoza, A.R. Cruz-Suárez, E., y Ricque, M. D Memorias del Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. Monterrey, N.L. México. 21 p.*
- Campaña, T.A., 2001. Digestibility of vegetal and animal ingredients and diets for juvenile and pre-adult redclaw *Cherax quadricarinatus*. Master of Science Thesis. CIBNOR, S.C. La Paz, B.C.S. México.
- Celada, J.D., Carral, J. M. Gaudioso, V. R. Temino, C. and Fernández, R., 1989. Response of juvenile freshwater crayfish (*Pacifastacus leniusculus* Dana) to several fresh and artificially compounded diets. *Aquaculture* 76:67-78.
- Civera-Cerecedo, R., 1989. Effets du phytate de sodium sur la croissance et la mineralisation de divers tissus de crevettes penaeides (CRUSTACEA: DECAPODA). Role de ce composant en tant que source de phosphore et d'inositol. Tesis de doctorado. Université de Bretagne Occidentale, Francia. 153 p.
- Civera, R., 1993. Requerimientos Minerales de Crustáceos. In: Cruz-Suárez L.E., Ricque-Marie D. y Mendoza-Alfaro R. (Eds.), *Avances en Nutrición Acuicola I. Memorias del Primer Simposio Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos para Acuicultura. Monterrey, N.L. 12-14 Febrero, 1993.*

- Civera, R., Goytortúa, E. Rocha, S., Nolasco, H., Vega, F., Balart, E., Amador, E., Ponce, G., Colado, G., Lucero, J., Rodríguez, C., Solano, J., Flores, A., Monroy, J., Coral, G., 1998. Uso de la langostilla Roja *Pleuroncodes planipes* en la nutrición de organismos acuáticos. *En: Civera, R., Mendoza, R., Cruz S.E. y Ricque (Eds.). Memorias del Cuarto Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 15-18 de noviembre de 1998. La Paz, B.C.S.*
- Colvin, L. B. and Brand, W. C., 1977. The protein requeriment of penaeid shrimp at various life-cycles stages in controlled environment systems. *Proceedings World Mariculture Society. 8: 821-824 p.*
- Coll, M.J., 1982. *Acuicultura Marina Animal*. Ed. Mundi Prensa. Madrid, España. 665 p.
- Cortés, E., 1993. Evaluación del Efecto de la Calidad y Cantidad de Proteína en Raciones Comerciales Peletizadas, en el Crecimiento y la Supervivencia del Camarón Blanco (*Penaeus vannamei*). Tesis de Licenciatura Universidad Autónoma de Baja California Sur. La Paz. México. 86 P.
- Cortés, E., 1998. Frecuencia y Distribución Alimenticia en el Cultivo Intensivo de Juveniles del Camarón Blanco *Penaeus vannamei*. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. La Paz, B.C.S. México. 96 P.
- Crandall, K. A., J. W. Fetzner Jr., S. H. Lawler, M. Kinnersley, and Austin, C. M., 1999. Phylogenetic relationships among the Australian and New Zealand genera of freshwater crayfish (Decapoda: Parastacidae). *Australian Journal of Zoology 47: 199-214.*
- Cruz, E., Ricque, D., Guillaume, G. Cuzon and AQUACOP., 1987. Squid protein effect on growth of four penaeid shrimp. *Journal of the World Aquaculture Society, 18: 209-217.*
- Cruz, E., Ricque, D., Dominguez, P., 1996 Utilización de la lecitina en la nutrición acuicola: crustáceos. Pp. 81-103. *En: Mendoza, R., Cruz S.E. y Ricque (Eds.). Memorias del*

- Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 7-9 de noviembre de 1994. Monterrey, N.L. México.
- Cruz-Suárez, E., Antimo, P.A., Mendoza, L.N., Tapia, S.M., Guajardo, B.C., y Ricque, M.D., 2000. Relaciones proteína/energía y proteína vegetal/animal optimas en alimentos de engorada para *Litopenaeus vannamei* y *L. stylirostris*. In: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R. (Eds.). Avances en nutrición acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida Yucatán, Mexico.
- Cruz-Suárez, E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M. Martin-Saldivar, L.F., Guajardo, B.C. Nieto-Lopez, M., Salinas-Miller, A., 2002. Historia y Estatus Actual de la Digestibilidad y Algunas Características Físicoquímicas de los Alimentos Comerciales para Camarón Usados en México. In: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G. Simoes, N., (Eds.). Avances en nutrición acuícola VI Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3-6 Septiembre, 2002. Cancún, Q.R. México.
- Cuzon, G., Hew, M., Cognie, D. and Soletchnik, P., 1982. Time lag effect of feeding on growth of juvenile shrimp, *Penaeus japonicus* Bate. *Aquaculture* (29) 33-44.
- Cuzon, G., Guillaume, J., 1997. Energy and Protein: Energy Ratio. In: D'Abramo, L. R., Akiyama, D.E. (Eds.), Crustacean Nutrition. World Aquaculture Society, Baton Rouge, L.A., pp. 51-70.
- Chamberlain, G.W., 1996. Investigación de frontera en nutrición acuícola, pp 27-43. *En*: Mendoza, R., Cruz, S.E. y Ricque (Eds.). Memorias del Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 7-9 de noviembre de 1994. Monterrey, N.L. México.
- D'Abramo, L. y Sheen, S. D.J., 1996. Requerimientos nutricionales, formulación de dietas, y prácticas alimenticias para el cultivo intensivo del langostino de agua dulce *Macrobrachium*



- rosenbergii*, pp 81-101. En: Mendoza, R., Cruz S.E. y Ricque (Eds.). Memorias del Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 7-9 de noviembre de 1994. Monterrey, N.L. México.
- D'Abramo, L. y Castell D.J., 1996. Metodología para la investigación nutricional. pp. 103-121 En: Mendoza, R., Cruz, S.E. y Ricque (Eds.). Memorias del segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, Monterrey, N.L., México.
- D'Abramo, L. and New, M., 2000. Nutrition, Feeds and Feeding. pp 203-220. In. New, M.B. & Cotroni, V.W. (Eds.). Freshwater prawn culture. The farming of *Macrobrachium rosenbergii*. Blackwell Science. UK.
- D'Abramo, L.R., C.L. Ohs and Elgarico, K.C., 2000. Management and Production Characteristics of the Culture of the Red Swamp Crayfish, *Procambarus clarkii* Without Planted Forage. In: Book of Abstracts, Aquaculture America, World Aquaculture Society, US Chapter Meeting. New Orleans, Louisiana, US, p. 75. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana.
- Davis, A. and Lawrence A., 1997. Minerals. In: D'Abramo, L. R., Akiyama, D.E. (Eds.), Crustacean Nutrition. World Aquaculture Society, Baton Rouge, L.A., pp. 150-163.
- Deering, M.J., Fielder, D.R. and Hewitt, D.R., 1997. Growth and fatty acid composition of juvenile leader prawns, *Penaeus monodon*, fed different lipids. Aquaculture. 151:131-141.
- De la Higuera, M., 1985. Fuentes de proteína y energía alternativas en acuicultura. Asociación Americana de la Soya. 66:1-8.
- De Silva, S.S., Gunasekera, R.M. and Shim, K.F., 1991. Interactions of varying dietary protein and lipid levels in young red tilapia: evidence of protein sparing. Aquaculture. 95:305-318.
- Deshimaru, O. y Shigeno, K., 1972. Introduction to the artificial diet for prawn, *Penaeus japonicus*. Aquaculture 1: 115-133.

- Gillaume. J. 1997. Protein and amino acids, pp 26-41. In. D'Abramo, R.L., Conklin, E.D. and Akiyama, D.M. (Eds.). Crustacean nutrition. Advances in World Aquaculture Society.. Volume 6. The World Aquaculture Society. USA.
- Evans, L.H., 1992. Constrains to the development of aquaculture diets in Australia – a feed manufacturer's perspective. In: Allan, G and Dall, W. (Eds). Proc. Aquaculture Nutrition Workshop, Salamander Bay, 15-17 April 1991. NSW Fisheries, Brackish Water Fish Culture Research Station, Salamander Bay, Australia, pp. 214-221.
- Fernández, R., Celada, J.D. y Muñoz, F., 1987. Nutrición y alimentación de crustáceos, pp 1-52. *En: Espinosa de los Monteros, J. y Labarda, U. (eds). Nutrición en Acuicultura II. Formación de Técnicos superiores en Acuicultura Plan de II. Madrid.II. España.*
- Forster, J.R.M., 1975. Studies on the development of compounded diets for prawns. Proc. First. Int. Conf. on Aquaculture Nutrition. pp. 229-248.
- Gallagher, M.L., W.D. Brown, D.E. Conklin and Sifri M., 1978. The effects of diets with varying calcium/phosphorus ratios when fed to juvenile lobsters. *J. Comp. Biochem. Physiol.* 60:467-561.
- García-Galano,T., Pérez, J.G., Gaxiola, G. y Sánchez, A., 2000. Efecto de la Frecuencia de Alimentación en la Evaluación Gástrica y Crecimiento, en Juveniles de Róbalo Blanco *Centropomus undecimalis* (Bloch). *En: Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola del 19-22 de Noviembre, Mérida, Yucatán, México.*
- García-Guerrero, M., Racotta I., y Villarreal H., 2003. Variation in lipid, protein, and carbohydrate content during the embryonic development of the crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). *Journal of Crustacean Biology*, 23: 1-6.
- García-Ulloa, G.M., López-Chavarín, H.M., Rodríguez-González, H. and Villarreal-Colmenares, H., 2003. Growth of redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae)

- juveniles fed isoproteic diets with partial or total substitution of fish meal by soya bean meal: preliminary study. *Aquaculture Nutrition*. 9 (1): 25-31.
- Gaxiola, G; Gómez, L.M., García, T.J., García-Galano, T y Sánchez A., 2000. Adaptación Enzimática a Tres Frecuencias de alimentación en Juveniles del Róbalo *Centropomus undecimalis*. En: Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola del 19-22 de Noviembre, Mérida, Yucatán, México.
- Gherardi, F., 2002. Behaviour, pp 258-290 *In*. Biology of freshwater crayfish (by Holdich D.M.). Blackwell Science. UK.
- Gong, H., Lawrence, A.L, Jiang D. and Gatlin III, D.M., 2000. Lipid nutrition of juvenile *Litopenaeus vannamei* II. Active components of soybean lecithin. *Aquaculture* 190:325-342.
- González-Félix, M., Gatlin III, D.M., Lawrence, A.L. and Perez-Velazquez, M., 2002 Effect of dietary phospholipid on essential fatty acid requirements and tissue lipid composition of *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture* 207:151-167
- Gu, H., Mather, p. B. and Capra, M. F., 1995. Juvenile growth performance among stocks and families of red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* (Von Martens). *Aquaculture*, 134(1-2):29-36.
- Guillaume, J., 1997. Protein and amino acids, pp 26-41. In. D'Abramo, R.L., Concklin, E.D. and Akiyama, D.M. (Eds.). Crustacean nutrition. Advances in World Aquaculture Society.. Volume 6. The World Aquaculture Society. USA.
- Gurure, R.M., Moccia, R.D. and Atkinson, J.L., 1995. Optimal protein requirements of young arctic charr (*Salvelinus alpinus*) fed practical diets. *Aquacult. Nutr.* 1, 227-234.
- Hernández, V.M.P., Rouse, D.B., Olvera, N.M.A. y A. Davis, 2000. Effect of lipid levels variation in diets for growth of juveniles crayfish *Cherax quadricarinatus*. pp 54. En: *Programa y*

*Resúmenes del V Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*, 19-22 de Noviembre, Mérida, Yucatán, México.

- Hobbs, H.H., Jr., 1988. Crayfish distribution, adaptative radiation and evolution. *In* M.D. Holdich and R.S. Lowery (eds.), *Freshwater crayfish: biology, management and exploitation*. 52-82 pp.
- Hobbs, H.H., Jr., 1989. An illustrated checklist of the American Crayfishes (Decapoda: Astacidae, Cambaridae, and Parastacidae). *Smithsonian Contributions to Zoology* 480:1-236.
- Horwitz, P., 1990. The translocation of freshwater crayfish in Australia: Potential impact, the need for control and global relevance. *Biology and Conservation*, 54: 291-305 pp.
- Hossain, R. A., G.S. Haylor and Beveridge, M.C., 2001. Effect of feeding time and frequency on the growth and feed utilization of African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) fingerlings. *Aquaculture Research*. (32): 999-1004.
- Huner, J. V., 1994. Cultivation of freshwater crayfishes in North America. Section I. Freshwater crayfish culture. pp. 5-89 & 137-156. *In* J. V. Huner (ed.), *Freshwater Crayfish Aquaculture in North America, Europe, and Australia. Families Astacidae, Cambaridae, and Parastacidae*. Hayworth Press, Binghamton, NY.
- Huner, J.V., 1995. An Overview of the Status of Freshwater Crawfish Culture. *Journal of Shellfish Research*, (14): 2, 539-543.
- Herbert, B. W., 1987. Notes on diseases and epibionts of *Cherax quadricarinatus* and *C. tenuimanus* (Decapoda:Parastacidae). *Aquaculture*, 64:165-173 pp.
- Jones, C. M., 1988. Aquaculture potential of *Cherax quadricarinatus*. Research objectives and preliminary results. *in* L. H. Evans and D. O'Sullivan, editors. *Proceedings First Australian Shellfish Aquaculture Conference, 1988*. Curtin University of Technology, Perth, Australia.

- Jones, C., 1990a. The biology and aquaculture potential of the tropical freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus*. Queensland Department of primary Industries, Information series No.Q190028, Brisbane, Queensland, 130 p.
- Jones, C., 1990b General biology of *Cherax quadricarinatus*. In: C.C. Shelly and M. Pearce, eds. Farming the red-claw freshwater crayfish. NT Department of Primary Industry and Fisheries Report No. 21. Northern Territory, Australia. 1-6 pp.
- Jones, C., M. 1995. Evaluation of six diets for redclaw, *Cherax quadricarinatus*, von Martens, held in pond enclosures, Tenth International Symposium of Astacology. Geddes, M. c., Fielde, D. R. and Richardson, A. M. M. eds. Louisiana State University, U. s. A. pp: 399-409.
- Jones, C. and Ruscoe I., 1996. Production technology for redclaw Crayfish (*Cherax quadricarinatus*). Final report. Fisheries Research and Development Corporation. Freshwater Fisheries & Aquaculture Centre Walkamin, Australia. 155 pp.
- Jones, C., 1999. A Handbook for farmers and investors. Redclaw Crayfish. Inf-Ser-Dep-Prim-Ind-Queensl Brisbane,-Qld-Australia QDPI 2000 36 pp.
- Jones, C. and Ruscoe I., 2000. Assessment of stocking size density in the production of redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens) (Decapoda: Parastacidae), cultured under earthen pond conditions. Aquaculture 189:63-71.
- Jones, C. and Ruscoe I., 2001. Assessment of Five Shelter Types in the Production of Redclaw Crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae) under Earthen Pond Conditions. Journal of the World Aquaculture Society, 32(1): 41-52.
- Jones, P.L. and De Silva, S.S., 1997. Apparent nutrient digestibility of formulated diets by the Australian freshwater crayfish *Cherax destructor* Clark (Decapoda, Parastacidae). Aquaculture Research 28:881-891.

- Jones, P.L., De Silva, S.S., and Mitchell, D.B., 1996a. The effect of dietary protein source on growth and carcass composition in juvenile Australian freshwater crayfish. *Aquaculture International*, 4, 361-367.
- Jones, P.L., De Silva S.S., and Mitchell, D.B., 1996b. Effects of replacement of animal protein by soybean meal on growth and carcass composition in juvenile Australian freshwater crayfish. *Aquaculture International*, 4, 339-359.
- Jones, P.L., De Silva S.S., and Mitchell, D.B., 1996c. Effect of dietary protein content on growth performance, feed utilization and carcass composition in the Australian freshwater crayfish, *Cherax albidus* Clark and *Cherax destructor* Clark (Decapoda, Parastacidae). *Aquaculture Nutrition*, 2, 141-150.
- Jussila, J., 1997. Physiological responses of Astacid and Parastacid crayfishes (Crustacea: Decapoda) to conditions of intensive culture. Kuopio University Publications C. Natural and Environmental Sciences. Perth, Western Australia. 136 p.
- Jussila, J. and Evans, H.L., 1998. Growth and condition of marron *Cherax tenuimanus* fed pelleted diets of different stability. *Aquaculture Nutrition* (4): 143-149.
- Kanazawa, A.; Tanaka, N.; Teshima, S. and Kashiwada, K., 1971. Nutritional requirements of prawn -II. Requirements for sterols. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 37:211-215.
- Kanazawa, A.; Teshima, S., and Ono, S., 1979. Relationship between essential fatty acid requirements of aquatic animals and the capacity for bioconversion of linolenic acid to highly unsaturated fatty acids. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 63:295-298.
- Kanazawa, A., 1985. Nutrition of penaeid prawns and shrimps, pp. 123-130. *In*: Y. Taki, L. H. Primavera and J.A. Lobraera (Ed.). Proceedings of the first international conference on the culture of penaeid prawns/shrimps. Aquacult. Dept. Southeast Asian Fish. Dev. Center Iloilo, Philippines.

- Kanazawa, A., 1992. Recent advances in penaeid nutrition in Japan. pp. 64-71 *In*: Allan, G and Dall, W. (Eds). Proc. Aquaculture Nutrition Workshop, Salamander Bay, 15-17 April 1991. NSW Fisheries, Brackish Water Fish Culture Research Station, Salamander Bay, Australia.
- Kanazawa, A., 2000. Nutrition and food. pp. 611-624 *In*: Phillips, B.F. and Kittaka, J. (Eds). Spiny Lobsters: Fisheries and Culture. Blackwell Science. UK.
- Keefe, A. and Rouse, D., 1999. Protein requirements for juvenile Australian Red Claw Crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Freshwater Crayfish* 12, 71-47
- King, C.R., 1992 Growth of juvenile red-claw crayfish, *Cherax quadricarinatus*. pp. 100-101. *In*: Allan, G and Dall, W. (Eds). Proc. Aquaculture Nutrition Workshop, Salamander Bay, 15-17 April 1991. NSW Fisheries, Brackish Water Fish Culture Research Station, Salamander Bay, Australia.
- King, C.R., 1994. Growth and survival of redclaw crayfish hatchlings (*Cherax quadricarinatus* von Martens) in relation to temperature, with comments on the relative suitability of *Cherax quadricarinatus* and *Cherax destructor* for culture in Queensland. *Aquaculture* 122:75-80.
- Kureshy, N. and Davis, A., 2002. Protein requirement for maintenance and maximum weight gain for the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 204:125-143.
- Lawrence, C.S., Cheng, Y.W., Morrissy, N.M., and Williams, I.H., 2000. A comparison of mixed-sex vs. monosex growout and different diets on the growth rate of freshwater crayfish (*Cherax albidus*). *Aquaculture*, 185:281-289 pp.
- Lawrence, C. & Jones, C. 2002. *Cherax*. *In*. Biology of freshwater crayfish (ed. By M.D. Holdich), pp 635-669. Blackwell Science. London, United Kingdom.
- Lee, D.O. and Wickins, J., 1992. Crustacean farming. Blackwell Scientific Publications. U.K.

- Lee, S.M., Cho, S.H. and Kim, K.D., 2000. Effects of dietary protein and energy levels on growth and body composition of juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*. Journal of the World Aquaculture Society, 30: 306-315.
- Lopez, L.S. Nolasco, S. H., and Villarreal C.H., 2002. Effect of different ingredients on the digestive enzyme activity in juvenile of the Australian freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda:Parastacidae). In: Aquaculture in America Conference and Exposition of the World Aquaculture Society, 26-30 January, San Diego, California. USA. Book of abstracts.
- Loya-Javellana, G. N., Fielder, D. R. and Thorne, M. J., 1995. Foregut evacuation, return of appetite and gastric fluid secretion in the tropical freshwater crayfish, *Cherax quadricarinatus*. Aquaculture, 134(3-4): 295-306.
- Martínez-Córdova, L.R., 1998. Comportamiento y Manejo Ecológico de Estanques de Cultivo de camarón con Bajo Recambio de Agua. Tesis Doctoral. Programa de Posgrado. CIBNOR, S.C.
- Martínez-Córdova, L.R., Ezquerro-Brauer, M., Bringas-Alvarado, L., Aguirre-Hinojosa, E. y Garza-Aguirre, M.C., 2002a. Optimización de alimentos y prácticas de alimentación en el cultivo de camarón en el noroeste de México. In: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G. Simoes, N., (Eds.). Avances en nutrición acuícola VI Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3-6 Septiembre, 2002. Cancún, Q.R. México.
- Martínez-Córdova, L.R., Campaña-Torres, A., and Porchas-Cornejo, M.A., 2002b. The effects of variation in feed protein level on the culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone) in low-water exchange experimental ponds. Aquaculture Research, 33:995-998.



- Meade, M. E. and Watts, S. A., 1995. Weight gain and survival of juvenile Australian crayfish *Cherax quadricarinatus* fed formulated feeds. Journal of the World Aquaculture Society, 26(4): 469-474.
- Medley, B. P., R. G. Nelson , L. U. Hatch, D. B. Rouse and Pinto, G. F., 1994. Economic feasibility and risk analysis of Australian Red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* Aquaculture in the Southeastern United States. Journal of the World aquaculture Society, 25(1):135-146 pp.
- Mills, B. J., 1983. A review of diseases of freshwater crayfish, with particular reference to the yabbie, *Cherax destructor*. Fish. Res. Pap. Dep. Fish (S. Aus.) No. 9. 17p.
- Mills, B. J. and McCloud, P.I., 1983. Effects of ostocking and feeding rates on experimental pond production of the crayfish *Cherax destructor* (Decapoda:Parastacidae) Aquaculture, 43:51-72 pp.
- Morrissy, M. N., 1973. The ecology of marron *Cherax tenuimanus* introduced into some farm dams near Boscabel in the Great Southern area of the wheat belt region of western Australia. Fish. Res. Bull. West. Aust., 12. 55 p.
- Morrissy, M. N., 1979. Experimental pond production of marron *Chaerax tenuimanus* (Smith) [Decapoda: Parastacidae]. Aquaculture, 16: 319-344 pp.
- Morrissy, M. N., 1984. Assessment of artificial feeds for battery culture of a freshwater crayfish, marron (*Cherax tenuimanus*) [Decapoda: Parastacidae]. Report No. 63 Department of Fisheries and Wildlife, Western Australia. 43 p.
- Morrissy, N. M., 1989. A standard reference diet for crustacean nutrition research. IV. Growth of freshwater crayfish *Cherax tenuimanus*. Journal of the World Aquaculture Society, 20: 114-117.

- Naranjo, J., 1999. Efecto de la Densidad de Siembra Durante las Fases de Precría y la Engorda Monosexual de *Cherax quadricarinatus*, en Sistemas de Producción Comercial. Tesis de Maestría en Ciencias. Dirección de Educación en Ciencia y Tecnología del Mar. Instituto Tecnológico del Mar. Centro de Inv. y Graduados del Mar. 96 pp.
- Naranjo, J., H.C. Villarreal y Cortés, J.E., 2000. Efecto del nivel de aireación en el desarrollo de *Cherax quadricarinatus*, en estanques recubiertos con plásticos. pp. 114-130. En: C. Villarreal, E. Cortés y Naranjo, J. (Comps). Evaluación del potencial de bi-cultivo agrícola/acuícola como una estrategia de eficiencia productiva, fase 1: optimización del cultivo intensivo de la langosta de agua dulce Australiana *Cherax quadricarinatus*. Informe parcial. Red Mexicana de acuicultura. CIBNOR. La Paz, B.C.S. México.
- New, M.B., 1976. A review of dietary studies with shrimp and prawns. *Aquaculture*, 9:101-144.
- New, M.B., 1987. Feed and feeding of fish and shrimp. A manual the preparation of compound feeds for shrimp and fish in aquaculture. F.A.O., Rome, 275 p.
- Noeske, T.A., R.E. Spieler, N.C. Parker and Suttle M.A., 1985. Feeding time differentially affects fattening and growth of channel catfish. *Journal of Nutrition* 115: 1228-1232.
- NRC, (National Research Council), 1983. Nutrient requirements of fish warmwater fishes and shellfishes. National Academic Press, Washington. USA. 114 p.
- Paibulkichakul, C., Piyatiratitivorakul, S., Kittakoop, P. Viyakarn, V., Fast A.W., Menasveta, P., 1998. Optimal dietary levels of lecithin and cholesterol for black tiger prawn *Penaeus monodon* larvae and postlarvae, *Aquaculture*, 167:273-281 pp.
- Pearce, M., 1990. Red claw diseases. In Shelley, C.C. and Pearce, M. C. (eds.) *Fishery Report: Farming the redclaw freshwater crayfish*. Northern Territory Department of Primary Industry and Fisheries, Darwin. No. 21.

- Ponce, P.J; Arredondo, F.J.L.; Moreno, R.M.A., 1998. The effects of varying dietary protein levels on growth and survival of juvenile and pre-adult redclaw (*Cherax quadricarinatus*) In: Von Vaupel, K.J.C. and Schram, F. (Eds). The Biodiversity crisis and crustacea. Proceedings of the fourth international crustacean congress. Amsterdam. Netherlands. 20-24 July 1998. Volume 2.
- Reigh, R.C., Braden, S.L., and R.J. Laprarie, 1993. Substitution of soybean protein for fish protein in formulated diets for red swamp *Procambarus clarkii*. Journal of the World Aquaculture Society 26(3): 329-338.
- Rodríguez, G.H., 2001. Efecto del nivel de proteína y lípidos en el desarrollo de la gonada de hembras de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* (Von Martens). Tesis de Maestría. Programa de Estudios de Posgrado. CIBNOR. México. 86 p.
- Rodríguez M.F., 1993. Requerimientos energéticos de peces y crustáceos, pp 81-89. *En*: Cruz-Suárez, E., Mendoza, R., y Ricque D. (Eds.). Memorias del Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos para Acuicultura. UANL. Monterrey, N.L. México.
- Robertson, L., Addison, L.L. and Castille, F.L., 1992. Effect of feeding frequency and feeding time on growth of *Penaeus vannamei* (Boone). Aquaculture and Fisheries Management, (24): 1-6.
- Romero, X., 1997. Production of redclaw crayfish in Ecuador. Journal of the World Aquaculture Society 28; 5-10.
- Rouse, D., Kastner J. and Reddy K., 1995. Toxicity of ammonia and nitrite to hatchling redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. Freshwater crayfish 10; 298-303.
- Rouse, B. D., 1995a. Australian Crayfish Culture in the Americas. Journal of Shellfish Research. 14(2):569-572.

- Sagi, A., Ra'anán, Z., Cohen, D., and Wax, Y., 1986. Production of *Macrobrachium rosenbergii* in monosex populations: yield characteristics under intensive monoculture conditions in cages. *Aquaculture*, 51:265-275 pp.
- Sammy, N., 1988. Breeding biology of *Cherax quadricarinatus* in the Northern Territory. In L. H. Evans and D. O'Sullivan, editors. Proceedings of the first Australian shellfish aquaculture conference. Curtin University of Technology, Perth Australia. 79-88 pp.
- Seals, C., Eversole, A. G., Tomasso J. R and Petrosky, B. R., 1997. Effects of temperature on feeding activity of the white river crayfish *Procambarus acutus acutus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 28(2): 133-141.
- Serrano-Pinto, V., Vazquez-Boucard, C. & Villarreal-Colmenares, H., 2003. Yolk proteins during ovary and egg development of mature female freshwater crayfish (*Cherax quadricarinatus*). *Comp. Biochem. Physiol.* (in press).
- Sheen, S. and Wu, S., 1999. The effects of dietary lipid levels on the growth response of juvenile mud crab *Scylla serrata*. *Aquaculture*, 175:143-153 pp.
- Shearer, K.D., 2000. Experimental design, statistical analysis and modelling of dietary nutrient requirement studies for fish: a critical review. *Aquacult. Nutr.* 6:91-102.
- Shiau, S. Y., 1997. Carbohydrates and fiber. pp. 108-122. In. D'Abramo, R.L., Conklin, E.D. and Akiyama, D.M. (Eds.). Crustacean nutrition. Advances in World Aquaculture Society.. Volume 6. The World Aquaculture Society. USA
- Shiau, S. Y., 1998. Nutrient requirements of penaeid shrimps. *Aquaculture*. 164, 77-93.
- Sick, L.V. and Andrews, J.W., 1973. The effect of selected dietary lipids, carbohydrates and proteins on the growth, survival and body composition of *P. duorarum* Proc. 4th. Ann. Wk. Shop Wld. Maricult. Soc. Monterrey, México, Jan. pp 263-276.

- Siddiqui, Q.A., Al-Hafed, Y., Al-Harbi, A.H. and Ali A.S., 1997. Effects of stocking density and monosex culture of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* on growth and production in concrete tanks in Saudi Arabia. *Aquaculture*. 28, 106-112.
- Söderbäck, B. Appelberg M., Odelstam T. and Lindqvist, I., 1987. Food consumption and growth of crayfish *Astacus astacus* in laboratory experiments. *Freshwater crayfish* 7:145-153.
- Sokal, R. R. and Rohlf, F.J., 1984. *Biometry. The principles and practices of statistics in biological research*, 2nd ed. Freeman, New York, 859p.
- Sosa, G.A., 2002. Evaluación nutricional de harina de langostilla (*Preurioncodes planipes*), como ingrediente en dietas con diferentes niveles de proteína para *Litopenaeus vannamei*. Tesis de Maestría en Ciencias. Programa Regional de Posgrado en Acuicultura. Universidad de Sonora. Sonora, México. 53 p.
- Subramanyam, M. 1996. Calidad de ingredientes en la producción y el rendimiento de alimentos para acuicultura. pp 243-264. *En: Mendoza, A.R. Cruz-Suárez, E., y Ricque, M. D Memorias del Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Monterrey, N.L. México.*
- Tacon, A.G.J.,1990. *Standard Methods for the Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp*. Argent Laboratories Press. 208 pp.
- Tacon, A.G.J., 1996. Nutritional studies in crustaceans and the problems of applying research findings to practical farming systems. *Aquaculture Nutrition*, 1: 165-174.
- Tacon, A.G.S., Akiyama, D., 1997. Feed ingredients. pp. 71-84. In. D'Abramo, R.L., Conklin, E.D. and Akiyama, D.M. (Eds.). *Crustacean nutrition. Advances in World Aquaculture Society.. Volume 6. The World Aquaculture Society. USA.*
- Tacon, A.G., Forster, I. P., 2000. Trends and challenges to aquaculture and aquafeed development in the new millennium. In: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-

- Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A y Civera-Cerecedo, R. (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán, México.
- Tidwell, J.H. and Allan, G.L., 2001. Fish as food: aquaculture's contribution. European Molecular Biology Organization. 21(11): 958-963.
- Tibbetts, S.M., Lall, S.P. and Anderson, D.M., 2001. Optimum dietary ratio of digestible protein and energy for juvenile American eel, *Anguilla rostrata*, fed practical diets. Aquaculture Nutrition, 7, 213-220.
- Torrentera, B.L., 1987. La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Yucatán, México. 24 p
- Tsvetnenko, Y., Santelices, M., y Evana, H., 1995. Effect of dietary levels and beta-caroteno on growth of marron *Cherax tenuimanus*. Freshwater Crayfish 10; 611-622.
- Van Handel, E., 1964. Estimation of glycogen in small amount of tissue. Analytical Biochemistry 65; 256-276.
- Velasco, M., Lawrence, A., Castille, F.L., and Obaldo, L.G., 2000. Dietary protein requirement for *Litopenaeus vannamei*. In: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R. (Eds.). Avances en nutrición acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida Yucatán, Mexico.
- Verhoef, G. d., Jones, P. L. and Austin, C. M., 1998. A comparison of natural and artificial diets for juveniles of the Australian freshwater crayfish *Cherax destructor*. Journal of the World Aquaculture Society, 29(2): 243-248.
- Villarreal, H., 1988. Culture of the Australian freshwater crayfish *Cherax tenuimanus* (Marron) in Eastern Australia. Freshwater Crayfish 7: 401-408 pp.

- Villarreal, H., 1989. A Partial Energy Budget for the Australian Crayfish *Cherax tenuimanus*.  
Journal of the World Aquaculture Society, 22: 252-259 pp.
- Villarreal, H., 1990. Effect of temperature on oxygen consumption and heart rate of the  
Australian crayfish *Cherax tenuimanus* (Smith). Comp. Biochem. Physiol. A., 95A(1):189-  
193.
- Villarreal, H., Civera, R., Pasten, J., Vega, J., Rocha, S., Goytortúa, E., 1994. Effect of the partial  
substitution of shrimp meal, fish meal and red crab *Pleuroncodes planipes* meal in the growth  
of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*. In: Annual International Conference and  
Exposition of the World Aquaculture Society, 14-18 January, New Orleans, Louisiana,  
USA. Book of abstracts.
- Villarreal, H., 1995. Utilización de la langostilla en la acuicultura, pp. 179-191, En: Auriolles-  
Gamboa y Balart E.F. (Eds.) La langostilla: biología, ecología y aprovechamiento. Centro  
de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, B.C.S. México.
- Villarreal, H. y Peláez A., 1999. Biología y cultivo de la langosta de agua dulce *Cherax*  
*quadricarinatus* (Decapoda Parastacidae). Manual de producción, 1-150. CIBNOR, México.
- Villarreal, H., 1999. Evaluación del potencial del cultivo de la langosta de agua dulce australiana  
*Cherax tenuimanus* en función de su eficiencia energética, pp 65-80. En: Cruz Suárez, L.E.,  
Ricque Marie, D. Y Mendoza, R., (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola III. Memorias del  
Tercer Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 11-13 de noviembre de 1996.  
Monterrey, N.L. México.
- Villarreal, H., Naranjo, J. Hinojosa, P., 1999. Effect of density on the growth, survival and  
biomass production of the Australian freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (Redclaw) in  
gravel lined ponds in Ecuador. In: Annual International Conference and Exposition of the  
World Aquaculture Society, 26 April-2 May, Sydney, Australia. Book of abstracts.

- Villarreal, H., 2000. El cultivo de la langosta de agua dulce. Una oportunidad para la diversificación acuícola. pp 110-135 *En*: Bonilla, Z. y Burciaga, I. (Comps.). Memorias III Simposium Internacional de Acuicultura. Culiacán, Sinaloa. México.
- Vogt, G., 2002 Functional Anatomy. pp 53-151 *In*. Biology of freshwater crayfish (by Holdich D.M.). Blackwell Science. UK
- Webster, C. D., Goodgame-Tiu, L. S., Tidwell, J. H. and Rouse. D. B., 1994. Evaluation of practical feed formulations with different protein levels for juvenile red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*). Transactions of the Kentucky Academy of Sciences 55,108-112.
- Webster, C. D., Tiu, L.G., Tidwell, J. H., Van Wyk, P. and Howerton. R. D., 1995. Effects of dietary and lipid levels on growth and body composition of sunshine bass (*Morone chrysops* X *M. saxatilis*) reared in cages. *Aquaculture*, 131:291-301.
- Webster, C. D., Thompson, K.R., Muzinic, L.A., Rouse, D.B., and Manomaitis, L., 2002a. Culture and nutrition of Red claw Crayfish. Part 1. *Aquaculture Magazine*, 28(4):35-39.
- Webster, C. D., Thompson, K.R., Muzinic, L.A., Rouse, D.B., and Manomaitis, L., 2002b. Culture and nutrition of Red claw Crayfish. Part 2. *Aquaculture Magazine*, 28(5)35-40.
- Wheatly, M. and Gannon, A.T., 1993. The effect of external electrolytes on postmolt calcification and associated ion fluxes in the freshwater crayfish *Procambarus clarkii* (Girard). *Freshwater Crayfish* 9:200-212.
- Wilson, R.P. and Poe, W.E., 1985. Relationships of whole body and egg essential amino acid patters to amino acid requirement patters in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 80:385-388.
- Williams, W. D., 1980. Australian freshwater life: The invertebrates of Australian inland waters. Macmillan, Victoria. 321 p.



- Wyban, A. J. and Sweeney N. J., 1989. Intensive shrimp growth trials in a round pond. *Aquaculture* 76: 215- 225.
- Yeh, H. S. and Rouse, D. B., 1995. Effects of water temperature, density and sex ratio on the spawning rate of red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens). *Journal of the World Aquaculture Society*, 26: 160-164.
- Zeitoun, I.H., Hullrey, D.E., Magee, W.T., Gill, J.L. and Bergen, W.G., 1976. Quantifying nutrient requirements in fish. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 33, 167-172.
- Zendejas, J., 1991. Alimentos para camarón y sistemas de alimentación. En: Purina, S.A. Taller sobre el cultivo de camarón. Mazatlán, Sinaloa, Julio 17-19, 1991. 14 p.