

# Avances en la Nutrición de *Cherax quadricarinatus*

Humberto Villarreal Colmenares

Laboratorio de Nutrición Acuícola. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.  
C. Mar Bermejo No. 195, Col. Playa Palo Santa Rita. La Paz, B.C.S., México.  
C. P. 23090. E-mail: Humberto@cibnor.mx

## ANTECEDENTES

Se presentan los primeros resultados de un esfuerzo multidisciplinario realizado en el CIBNOR encaminado a elucidar los requerimientos nutricionales de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* (redclaw), y el efecto que en la respuesta fisiológica del organismo tiene las variaciones en la calidad de la dieta.

El cultivo de acociles o langostas de agua dulce ha generado un gran interés durante los últimos quince años debido a su talla y a la aceptación por parte del consumidor. Hay tres especies Australianas de interés comercial: El marrón (*Cherax tenuimanus*) (Morrissy, 1989; Villarreal, 1988); el yabbie (*C. destructor*) (Mills & McCloud, 1983); y el redclaw ó langosta de quelas rojas (*C. quadricarinatus*) que es capaz de alcanzar 70-100 g en 6-8 meses de cultivo en condiciones tropicales (Hutchings & Villarreal, 1996). El redclaw *C. quadricarinatus* es nativo del noroeste de Australia (Jones & Curtis, 1994). En 1984, Freshwater Australian Crayfish Traders, una empresa de Queensland, hizo una evaluación de su potencial en condiciones comerciales. Los resultados mostraron que la especie es robusta fisiológicamente, tiene un ciclo reproductivo simple y su producción es económicamente atractiva. Por ello ha sido trasplantada a otros países con buenos resultados (Hutchings & Villarreal, 1996). En México la especie fue introducida a principios de los 90's por la Dirección de Acuicultura de la Secretaría de Pesca y existen varias empresas evaluando su cultivo. Los resultados han sido muy alentadores, con rendimientos superiores a 2,500 kg/ha/ciclo, y precios por kilo de producto vivo de US\$10-15/kg, dependiendo de la talla (Villarreal & Peláez, 1999). Las tecnologías de producción de *C. quadricarinatus* se basan en el uso de las prácticas de "mejores resultados". Jones (1989), Hutchings & Villarreal (1996) y Villarreal & Peláez (1999), entre otros, han elaborado manuales de producción que describen detalladamente estas prácticas. Sin embargo, el desarrollo comercial del cultivo ha estado limitado por la carencia de investigación científica (Austin, 1992). Aunque la especie es tolerante a variaciones de parámetros medioambientales, su cultivo requiere agua con niveles de dureza superiores a 150 mg/l de CaCO<sub>3</sub>, pH entre 7 y 8.5, y una saturación de oxígeno superior a 4 mg/l (Hutchings & Villarreal, 1996). Es capaz de mantener más de 80% de su tasa máxima de crecimiento entre 23 y 31°C (King, 1994), con un óptimo de 27°C (Jones, 1988), y se reproduce a temperaturas superiores a 23°C (Yeh & Rouse, 1995). Es capaz de tolerar

aguas salobres sin afectar su crecimiento (Jones 1989; Hutchings & Villarreal, 1996). Esta capacidad adaptativa la hace un candidato ideal para diversas regiones en México.

## **ESTUDIOS SOBRE REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DEL GÉNERO *Cherax***

El cultivo comercial 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 (vgr. alimento para pollo, con <15% de proteína cruda) de manera intermitente (Villarreal, 1998). Conforme se desarrollaron las técnicas de cultivo, la densidad de siembra se incrementó, y actualmente se utilizan densidades de 10-15 juveniles/m<sup>2</sup> (Villarreal *et al.*, 1999). Para ello fue necesario establecer un programa definido de alimentación y utilizar formulaciones peletizadas completas, buscando cubrir los requerimientos nutricionales de la especie (Villarreal, 1998).

Existe una variedad de dietas comerciales que se han utilizado para el cultivo de langosta de agua dulce (Hutchings & Villarreal, 1996). Estas formulaciones generalmente se han basado en dietas para otras especies acuáticas (vgr. Langostino, camarón, bagre, etc.). Sin embargo los estudios dedicados a determinar los requerimientos nutricionales del género *Cherax* han sido escasos. Morrissy (1989) mostró resultados poco concluyentes sobre el uso de dietas artificiales para juveniles de *C. tenuimanus*. En general, dietas con una composición cercana ó superior al 40% de proteína resultaron en tasas de crecimiento más altas (Morrissy, 1989; Villarreal, 1989; Villarreal, 1996). 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 producía un incremento en peso significativamente superior (60%) al de un peletizado comercial para camarón.

Jones (1995), 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 redclaw. Por su parte Hutchings & Villarreal (1996) y Villarreal & Peláez (1999) presentaron recomendaciones para producción comercial sobre el nivel de proteína en la dieta y la cantidad de alimento necesario, en función de la talla del organismo, la densidad de siembra y la temperatura de cultivo. Jones (1989), Gu *et al.* (1995), Meade & Watts (1995) y Anson & Rouse (1996) han estudiado la respuesta de juveniles de *C. quadricarinatus* a diversas fuentes nutricionales, encontrando que dietas desarrolladas para camarón y bagre con 35% de proteína cruda pueden sostener niveles adecuados de crecimiento. Sin embargo, aún no existe una evaluación sistemática de los requerimientos de proteína y energía de la especie, en función de su talla, sexo y estado de desarrollo. En el documento se presentan los resultados de estudios de digestibilidad *in vivo*, actividad enzimática digestiva, requerimientos de proteína de juveniles, preadultos, hembras y machos, y para el desarrollo gonadal, así como el flujo de energía durante el desarrollo embrionario de *C. quadricarinatus*.

## **INDICADORES DE LA RESPUESTA FISIOLÓGICA DE *C. quadricarinatus* A VARIACIONES EN LA COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE DIETAS COMPUESTAS**

Desde el punto de vista comercial, la definición de la dieta óptima para un organismo se da en función del potencial de maximización de su desarrollo corporal (incremento en peso o maduración gonádica). Sin embargo, desde el punto de vista biológico, existen criterios fisiológicos que pueden utilizarse para establecer el efecto de variaciones nutricionales en la calidad del desarrollo. Es fundamental establecer la relación existente entre la respuesta productiva y la respuesta interna del organismo. Por ello se evaluaron algunos indicadores bioquímicos y de producción buscando definir aquellos que proporcionen una respuesta rápida y confiable del estado nutricional del organismo.

### ***Actividad enzimática digestiva de C. quadricarinatus***

Mackeviciene (1983), entre otros, presentó avances sobre la caracterización de las enzimas de acociles de agua dulce, así como evaluaciones de las variaciones circadianas de la actividad enzimática digestiva. Sin embargo, no se habían realizado estudios relacionados con la caracterización de las enzimas del tracto digestivo de *Cherax quadricarinatus*, de la ontogenia de las mismas, ni sobre el ritmo circadiano de producción de enzimas digestivas y la influencia del estímulo alimenticio en la producción de éstas. El conocimiento de la actividad enzimática digestiva de *C. quadricarinatus*, respecto a sus características, propiedades, origen y el efecto de estímulos alimenticios en su producción en el tracto digestivo, contribuyen al diseño de mejores dietas y estrategias de alimentación para la especie.

### ***Caracterización histológica del desarrollo gonadal y estudio cuantitativo del vitelo en C. quadricarinatus***

*C. quadricarinatus* llega a su primera madurez sexual cuando alcanzan un peso superior a los 25 gramos (Rodríguez *et al.*, 2002). La fecundación es externa y los huevos fecundados permanecen adheridos a los pleópodos de la hembra. El desarrollo embrionario tiene una duración de 4 a 6 semanas, dependiendo de la temperatura, antes de eclosionar para después de una metamorfosis producir una cría o juvenil temprano (Sammy, 1988; King, 1994; Jones, 1995; Hutchings & Villarreal, 1996; Sagi *et al.*, 1997).

Existe un interés especial en el conocimiento detallado del ciclo reproductivo de una especie, con el fin de optimizar la producción de “semilla” de calidad. El ciclo reproductivo puede dividirse en cuatro fases: iniciación, desarrollo de la gametogénesis, maduración y desove. En los crustáceos se utiliza la inspección visual de la talla y color de los ovarios (Yano *et al.*, 1988; Jones, 1988) para definir la fase de desarrollo. Un mecanismo confiable de evaluación del proceso reproductivo es el monitoreo histológico de los cambios de la gónada, así como el uso de escalas morfocromáticas del desarrollo de los ovarios y los cambios de tamaño de las gonádas, expresados como índices gonadosomáticos, factores de condición, etc. (Browdy, 1992). El proceso de maduración puede ser evaluado en función a

los cambios bioquímicos que ocurren en la gónada, en especial mediante la localización de los sitios de síntesis bioquímica intensa durante la gametogénesis. Estos análisis son útiles para evaluar la calidad del vitelo, el cual tiene una influencia en el desarrollo embrionario y la sobrevivencia de los juveniles.

En los ensayos nutricionales, la duración de la evaluación experimental es significativa y lleva aparejados análisis complementarios que demandan tiempo y pueden ser muy costosos. Por ello, es conveniente disponer de bioindicadores capaces de proporcionar una respuesta rápida del estado nutricional de los animales estudiados. Las reservas vitelinas presentes en los ovocitos, constituyen el material energético y estructural transmitido a la progenie. La calidad de las reservas vitelinas depende en gran medida de la alimentación de los progenitores, por lo que su evaluación en el desarrollo embrionario representa un posible indicador de la respuesta del animal a las diferentes dietas utilizadas en la etapa de maduración.

Las técnicas de inmunodifusión (Tom *et al.*, 1987) y la estimación de fracciones protéicas por densitometría (Yano *et al.*, 1988) han permitido el desarrollo de métodos para el análisis rápido de un gran número de muestras. Por su parte, Mendoza-Alfaro *et al.* (1993) estandarizaron técnicas que utilizan ELISA para la determinación de vitelogeninas en la hemolinfa, mientras que Vazquez-Boucard (1986, 1990) logró la estandarización de una técnica cuantitativa inmunoenzimática capaz de evaluar, con la ayuda de anticuerpos específicos, la lipovitelina, molécula constitutiva de las reservas vitelinas, pudiendo identificar los tejidos implicados en el fenómeno de la reproducción. Al no existir suficiente información sobre la fisiología de la reproducción en *C. quadricarinatus*, es necesario aportar bases fisiológicas que puedan explicar los mecanismos de la vitelogenénesis y del desarrollo embrionario de la especie. Para ello, es necesario primero caracterizar la vitelina del organismo.

### ***Dinámica de nutrientes en función al desarrollo gonadal de C. quadricarinatus***

La reproducción en cautiverio del redclaw (*C. quadricarinatus*) ha sido exitosa desde los inicios del cultivo en Australia a mediados de los 80's (Hutchings & Villarreal, 1996). Dicha actividad ha sido fundamental para el abastecimiento de juveniles a las granjas de engorda en ese país, así como para el traslado a otros países. Sin embargo, los resultados de sobrevivencia durante el transporte han sido altamente variables. Celada *et al.* (1989) indicaron que una de las principales metas en la investigación relacionada con acociles de agua dulce es el incremento en la supervivencia durante las etapas tempranas de desarrollo. Sin embargo, a la fecha no se han llevado a cabo estudios que relacionen la alimentación de los progenitores con la sobrevivencia de los juveniles. Por ello es necesario optimizar el proceso de reproducción a través de estrategias que busquen un mayor rendimiento y calidad de la progenie. Esta calidad se encuentra ligada a las reservas energéticas y nutrientes específicos del huevo, los cuales son utilizados durante la embriogénesis y en etapas tempranas post-eclosión. En este sentido, los lípidos juegan un papel fundamental como reserva energética (acilglicéridos), para las funciones particulares como la constitución de la membrana (fosfolípidos y colesterol), y para la síntesis de hormonas

(colesterol y ácidos grasos) (Racotta *et al.* 1999). En camarón, la maduración depende del aporte adecuado de nutrientes, particularmente lípidos, lo que se traduce en un mejor desempeño reproductivo y en una mejor calidad de las postlarvas producidas (vgr. Bray & Lawrence, 1992; Cahu *et al.*, 1995; Wyban *et al.*, 1997). A pesar de esto, existe todavía poca información sobre las alteraciones que puedan darse en función de variaciones en la fuente nutricional. A la fecha, no hay reportes en *C. quadricarinatus* que aborden esta problemática, por lo que en el presente proyecto se realizaron estudios relacionados con la dinámica de nutrientes durante el desarrollo embrionario del organismo.

## OBJETIVO

Avanzar el conocimiento relacionado con los requerimientos nutricionales de *Cherax quadricarinatus*, durante diferentes etapas de desarrollo, con especial énfasis en la relación proteína/lípidos y su efecto en la respuesta fisiológica del organismo.

## METODOLOGIA

### ***I. Determinación del efecto del nivel de proteína y lípidos para juveniles y preadultos de Cherax quadricarinatus, utilizando dietas compuestas***

#### *Diseño, formulación y fabricación de los alimentos*

En las evaluaciones nutricionales se pueden utilizar dietas semipurificadas o compuestas para la definición de niveles óptimos de proteína y energía (Castell *et al.*, 1989). En el caso de *Cherax*, los resultados utilizando dietas semipurificadas de referencia (Morrissy, 1989; Anson & Rouse, 1996) han sido poco alentadores. Morrissy (1989) atribuyó los malos resultados en *C. tenuimanus* al uso de nutrientes inadecuados para la especie en la dieta de referencia. Anson & Rouse (1996) indican que posiblemente los requerimientos específicos para el redclaw sean diferentes a los de otros crustáceos. En el presente estudio se elaboraron dietas compuestas experimentales formuladas con la ayuda del paquete MIXIT-Win y se fabricaron según el método descrito por Civera-Cerecedo (1989). Tanto los ingredientes como las dietas elaboradas se analizaron para conocer su composición proximal y contenido calórico de acuerdo a los métodos descritos más adelante.

Cuzón & Guillaume (1997) han indicado que es imprescindible conocer la digestibilidad de los ingredientes utilizados en la formulación de dietas experimentales, especialmente en evaluaciones de requerimientos nutricionales. Por ello, se realizó una evaluación de diversas fuentes de proteína, lípidos y carbohidratos de origen vegetal y animal, de acuerdo a lo descrito más adelante. Una vez establecida la digestibilidad de dichos ingredientes se definió una composición “tipo” de la dieta, la cual se modificó para obtener las diferentes combinaciones de proteína/lípidos a evaluar. De acuerdo a la disponibilidad de ingredientes nacionales para la manufactura de dietas, las dietas se formularon con los siguientes insumos: harina de pescado (sardina), harina de calamar, harina de langostilla (*Pleuoncodes planipes*) pasta de soya, harina de trigo, harina de sorgo, aceite de sardina,

lecitina de soya, premezcla de vitaminas<sup>@</sup>, ácido ascórbico, premezcla de minerales<sup>&</sup>, calcio, y ácido algínico como ligador. [<sup>@</sup> y <sup>&</sup> se describen en Civera *et al.*, 1996].

### *Organismos experimentales*

Las crías (0.2-3g), preadultos (10-30g) y organismos en maduración (30-100g) se obtuvieron a partir de la población de reproductores de *C. quadricarinatus* que posee el CIBNOR, los cuales son mantenidos de acuerdo a lo descrito por Hutchings & Villarreal (1996) en estanques a cielo abierto de 1,000 m<sup>2</sup>, con aireación continua. Los organismos se llevaron a la talla deseada en estanques de 100 m<sup>2</sup>.

### *Unidades experimentales y condiciones de cultivo*

Los bioensayos se llevaron a cabo en el laboratorio de nutrición acuícola del CIBNOR, donde se cuenta con un sistema de 48 unidades experimentales de 60 litros y un sistema consistente en 24 tanques de 1,500 l c/u. Ambos sistemas están equipados con alimentación y drenaje de agua para mantener un flujo continuo de agua filtrada (<10<sup>4</sup> y esterilizada (UV). La temperatura del agua (27 ± 1°C) se mantuvo constante con calentadores sumergibles de 250 W y se mantuvieron niveles de oxígeno de más de 4 mg O<sub>2</sub>/l con piedras difusoras alimentadas por un soplador de 5 HP. El fotoperiodo fue natural (14 h L: 10 h O). Se monitoreó la calidad de agua, manteniendo los niveles recomendados por Villarreal & Peláez (1999). Debido a la necesidad de la especie de contar con escondrijos, en cada unidad experimental se colocó una cantidad equivalente de malla de nylon. Esto reduce el estrés y las pérdidas potenciales por canibalismo. Durante la evaluación con adultos y reproductores, se adicionaron tubos de PVC de 7.6 cm de diámetro y 25 cm de longitud, a razón de 1 tubo por organismo.

### *Bioensayos de crecimiento*

Se realizaron experimentos de crecimiento por cuadruplicado para el estadio de crías, en las unidades de 60 l y triplicado para preadultos y organismos en maduración, en las unidades de 1,500 l. Diariamente se registró el número de mudas, muertos y el alimento residual, los cuales se retiraron junto con las heces. El primer día de la evaluación se suministraron los alimentos experimentales a razón de 10% de la biomasa para las crías, 7% para preadultos, y 4% para reproductores. A partir del segundo día se corrigió la cantidad de alimento tomando como base la estimación aparente del alimento residual. La alimentación fue, dosificada en 2 raciones al día (9:00 y 17:30 h). Para la evaluación con crías se seleccionaron organismos de 0.3 (± 0.05) g, los cuales se colocaron a una densidad de 50/m<sup>2</sup> en los tanques de 60 l. La evaluación con juveniles se realizó a partir de organismos de 3.0 (± 0.3) g, sembrados a una densidad inicial de 15/m<sup>2</sup>. Los preadultos de 9 (+ 2) g se evaluaron a una densidad de 10 organismos/m<sup>2</sup>. La duración de la evaluación fue de 60 días. Dado que la diferenciación sexual se completa alrededor de los 30 g y que existe crecimiento diferencial entre machos y hembras a partir de esa talla (Villarreal *et al.*, 1999), la determinación del desarrollo gonadal se realizó con hembras de 30 (±1) g en las unidades experimentales, a una densidad de 15/m<sup>2</sup> por 75 días. Se evaluó quincenalmente el

desarrollo de los organismos en términos del crecimiento ponderal, talla, tasa de crecimiento específica, sobrevivencia, alimento consumido y factor de conversión alimenticia. Al inicio y al final de los ensayos se determinó el estadio de muda de una muestra por revisión de las setas de los urópodos (Burton & Mitchell, 1987) seleccionando langostas en estadio de intermuda para efectuar análisis de composición proximal (humedad, proteína, lípidos, carbohidratos y energía). Se calcularon las tasas aparentes de retención de proteína y energía (Reigh *et al.*, 1993). De la misma manera, se seleccionaron organismos intermuda al inicio y final de la fase experimental para analizar la actividad enzimática, la cual se evaluó a partir de experimentos independientes pero concurrentes a los de crecimiento. Para el estudio cualitativo del vítelo y la dinámica de lípidos, se seleccionaron organismos intermuda para la evaluación, que incluye la caracterización histológica del desarrollo gonadal.

#### *Determinación de la digestibilidad in vivo de nutrientes e ingredientes del alimento*

La digestibilidad aparente *in vivo* proteína, grasa y energía de diferentes ingredientes que se consideran fuentes viables de energía y proteína animal o vegetal se determinó siguiendo la metodología descrita por Ezquerro *et al.* (1997).

Se formuló una dieta de referencia con 37% de proteína cruda (PC). A partir de ella se formularon siete dietas experimentales, substituyendo 15% de la dieta de referencia por cada uno de los siguientes ingredientes comerciales: harinas de sardina de 60% y 65% PC, calamar, langostilla, trigo texturizado, sorgo y pasta de soya. Se utilizó óxido crómico como marcador. Se alimentaron juveniles y preadultos por 30 días siguiendo la metodología de manejo descrita anteriormente. La alimentación fue en exceso 2 veces al día (9:00 y 17:30 h). Después de colocar las dietas por replicado en las unidades experimentales, se permitió que los organismos se alimentaran por dos horas, al final de lo cual se colectaron las heces por sifoneo manual. Las heces se lavaron ligeramente con agua destilada y se congelaron a  $-50^{\circ}\text{C}$ . Siguiendo la metodología de Jones & De Silva (1997), las heces de cada colecta y de cada tanque se mezclaron para obtener una muestra por tratamiento alimenticio. Una vez que se obtuvo muestra suficiente, esta se liofilizó para su análisis posterior. Los alimentos y las heces se analizaron para conocer su composición proximal.

#### *Análisis químicos*

Los análisis se realizaron por triplicado, de acuerdo a los siguientes métodos: Análisis proximal: humedad, proteína, extracto etéreo, fibra y ceniza (AOAC, 1995). Lípidos totales: Bligh & Dyer (1959). Proteína soluble: Bradford (1976). Quitina: Calvo-Carrillo *et al.*, (1995). Oxido crómico: Olvera-Novoa (1994). Energía bruta: con calorímetro adiabático, marca PARR.

### *Análisis estadísticos*

Los datos de sobrevivencia, crecimiento ponderal, factor de conversión alimenticia y digestibilidad aparente de materia seca, proteínas y lípidos se analizaron con una prueba de normalidad (Prueba de Lilliefors) y una prueba de homoscedasticidad (Prueba de Bartlett) antes de realizar análisis de varianza y un análisis de comparación múltiple de medias (Tukey) para definir qué tratamiento o tratamientos difieren significativamente. Las curvas de crecimiento de los organismos sujetos a las diversas dietas se compararon a través de análisis de regresión y/o de covarianza (Sokal & Rohlf, 1981).

## ***II. Indicadores de la respuesta fisiológica de *C. quadricarinatus* a variaciones en la composición nutricional de dietas compuestas***

### *Actividad enzimática digestiva de *C. quadricarinatus**

La preparación de extractos enzimáticos de crías, juveniles y reproductores se realizó mediante la disección del organismo para obtener los tractos digestivos completos al inicio y al final de las evaluaciones de crecimiento de langosta con diferentes dietas experimentales. El tracto digestivo se separó en sus diferentes partes (estómago, hepatopáncreas e intestino) para su homogenización independiente. Los extractos enzimáticos se mantuvieron en forma líquida (congelación -50 °C) y en preparaciones deshidratadas (por liofilización). Se llevaron a cabo los siguientes análisis enzimáticos:

- Lipasas: (A-naphtyl-caprylate, Versaw, 1989; aceite de oliva, Kimura *et al.*, 1982); Fosfolipasas (Worthington, 1972).
- Proteasas: (Caseína, Norberg y Hofsten, 1969, Azocaseína, Hernández, 1993); Tripsina (TAME, Vega-Villasante *et al.*, 1995); Quimotripsina (SAPNA, García-Carreño, 1993); Carboxipeptidasa A (HPLA), Carboxipeptidasa B (HA), Leucinoaminopeptidasa (LPNA) (Vega-Villasante *et al.*, 1995); Colagenasa (Hernández, 1993); Elastasas (Worthington, 1972).
- Carbohidrolasas: Amilasa (Almidón soluble, Nolasco & Vega-Villasante, 1992, Vega-Villasante *et al.*, 1993); Maltasa (maltosa, Omondi, 1995); Quitinasa (quitina, Fox, 1993); Celulasa (Celulosa, Worthington, 1972); Lisozima (células bacterianas, Shugar, 1952); Laminarinasa (laminarina, Omondi, 1995); Dextranasa (dextran, Janson & Porath, 1966).

Una vez extraídas, la determinación de la actividad, (expresada como el número de unidades por mg de proteína), y estabilidad de las enzimas digestivas de *C. quadricarinatus*, se evaluó bajo diferentes condiciones ambientales. La caracterización bioquímica del extracto enzimático comprende la obtención del peso molecular mediante técnicas electroforéticas y la composición de isoenzimas, separadas por electroforesis (Nolasco & Vega-Villasante, 1992; Vega-Villasante *et al.*, 1995).



*Dinámica de nutrientes en función al desarrollo gonadal de C. quadricarinatus, con énfasis en los lípidos*

Como se mencionó anteriormente, se estableció la relación entre el desarrollo gonadal y variables bioquímicas en función de la modificación en la composición de la dieta. La metodología experimental se describió anteriormente. Los organismos se sacrificaron y el cefalotorax, junto con el primer segmento abdominal, se guardaron en un ultracongelador a -80°C para análisis histológicos y análisis bioquímicos posteriores (hepatopáncreas y gónada). Se registraron variables morfométricas (peso, longitud total, peso de gónada y hepatopáncreas así como los respectivos índices gonadosomáticos y hepatosomáticos).

Los tejidos se procesaron por medio de un homogenizador de tejidos. Se determinaron niveles totales de proteínas (Bradford, 1976), lípidos (Barnes & Blackstock, 1973) carbohidratos por el método de antrona (Van Handel, 1965) y agua. Adicionalmente se determinaron acilglicéridos (Palacios *et al.*, 1998).

*Composición bioquímica durante el desarrollo embrionario de C. quadricarinatus.*

Se obtuvieron muestras de huevos de desoves de hembras cada 24 horas. Se realizó un seguimiento histológico siguiendo métodos estándar para definir el grado de desarrollo. Los huevos se procesaron por medio de un homogenizador de tejidos. Se determinaron niveles totales de proteínas, lípidos, carbohidratos, agua, cenizas y energía, de acuerdo a lo descrito anteriormente.

## **RESULTADOS Y DISCUSION**

A continuación se presentan los resultados de los trabajos realizados.

***Determinación de la digestibilidad para juveniles y pre-adultos de langosta de agua dulce Cherax quadricarinatus de diversos ingredientes comúnmente utilizados en la formulación de dietas compuestas para organismos acuáticos.***

Los resultados se presentan en las Tablas 1 a 10.

Tabla 1. Coeficientes de digestibilidad aparente de materia seca de dietas (CDAMS) e ingredientes (CDAMSI) para juveniles de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*.

Dietas	CDAMS (%)	Desv. Est.	CDAMSI (%)	Desv. Est.
Sardina 60	83.4 <sup>a</sup>	0.35	62.6 <sup>a</sup>	2.61
Langostilla	85.5 <sup>b</sup>	0.39	79.0 <sup>b</sup>	2.63
Calamar	86.0 <sup>bc</sup>	0.35	80.1 <sup>b</sup>	2.36
Sardina 65	86.1 <sup>bc</sup>	0.42	83.2 <sup>bc</sup>	2.79
Trigo text.	87.0 <sup>d</sup>	0.14	88.9 <sup>cd</sup>	0.92
P. de soya	87.3 <sup>d</sup>	0.49	90.8 <sup>d</sup>	2.98
Sorgo	87.3 <sup>d</sup>	0.45	90.8 <sup>d</sup>	2.69
Referencia	86.6 <sup>cd</sup>	0.04		

Valores promedio en columnas con la misma letra no son significativamente diferentes ( $P>0.05$ ).

Tabla 2. Coeficientes de digestibilidad aparente de proteínas de dietas (CDAP) e ingredientes incluidos (CDAPI), para juveniles de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*.

Dietas	CDAP (%)	Desv. Est.	CDAPI (%)	Desv. Est.
Sardina 60	88.7 <sup>a</sup>	0.15	47.4 <sup>a</sup>	0.66
Langostilla	91.0 <sup>b</sup>	0.11	53.8 <sup>b</sup>	0.68
Sorgo	91.8 <sup>c</sup>	0.01	89.6 <sup>c</sup>	0.58
Calamar	91.9 <sup>cd</sup>	0.36	70.8 <sup>cd</sup>	1.21
Trigo text.	92.1 <sup>de</sup>	0.03	90.5 <sup>e</sup>	0.56
Sardina 65	92.2 <sup>de</sup>	0.01	72.4 <sup>d</sup>	0.05
P. de soya	93.2 <sup>f</sup>	0.14	91.8 <sup>f</sup>	0.72
Referencia	92.4 <sup>e</sup>	0.38		

Valores promedio en columnas con la misma letra no son significativamente diferentes ( $P>0.05$ ).

Tabla 3. Coeficientes de digestibilidad aparente de carbohidratos de dietas (CDACH) e ingredientes (CDACHI), para juveniles de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*.

Dietas	CDACH (%)	Desv. Est.	CDACHI (%)	Desv. Est.
Sardina 60	87.5 <sup>a</sup>	0.30	18.7 <sup>a</sup>	4.07
Calamar	88.5 <sup>b</sup>	0.03	18.6 <sup>a</sup>	0.54
Sardina 65	89.3 <sup>c</sup>	0.16	28.0 <sup>b</sup>	3.09
Langostilla	89.7 <sup>c</sup>	0.14	32.6 <sup>c</sup>	0.87
P. de soya	91.1 <sup>de</sup>	0.57	88.5 <sup>d</sup>	3.09
Trigo text.	91.7 <sup>c</sup>	0.04	87.5 <sup>d</sup>	0.62
Sorgo	92.3 <sup>f</sup>	0.12	94.4 <sup>e</sup>	0.13
Referencia	90.7 <sup>d</sup>	0.19		

Valores promedio en columnas con la misma letra no son significativamente diferentes ( $P>0.05$ ).

Tabla 4. Coeficientes de digestibilidad aparente de lípidos de dietas (CDAL) e ingredientes (CDALI), en juveniles de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*.

Dietas	CDAL (%)	Desv. Est.	CDALI (%)	Desv. Est.
Sardina 60	90.3 <sup>a</sup>	0.09	42.0 <sup>a</sup>	0.56
Calamar	92.4 <sup>b</sup>	0.15	84.6 <sup>c</sup>	1.15
Sorgo	93.5 <sup>d</sup>	0.03	85.6 <sup>d</sup>	0.28
Sardina 65	93.5 <sup>d</sup>	0.09	83.5 <sup>bc</sup>	0.35
Langostilla	94.0 <sup>e</sup>	0.03	92.1 <sup>e</sup>	0.25
P. de soya	94.9 <sup>f</sup>	0.02	93.6 <sup>f</sup>	0.13
Trigo text.	95.0 <sup>f</sup>	0.03	95.0 <sup>g</sup>	0.36
Referencia	93.1 <sup>c</sup>	0.12		

Valores promedio en columnas con la misma letra no son significativamente diferentes (P>0.05).

Tabla 5. Coeficientes de digestibilidad aparente de materia seca de dietas (DAMS) e ingredientes (DAMSI) para pre-adultos de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*.

Dietas	DAMS (%)	Desv. Est.	DAMSI (%)	Desv. Est.
Langostilla	82.2 <sup>a</sup>	0.49	60.9 <sup>a</sup>	3.30
Sardina 60	82.5 <sup>a</sup>	0.91	60.0 <sup>a</sup>	7.08
Sardina 65	85.6 <sup>bc</sup>	0.47	83.6 <sup>b</sup>	3.13
Calamar	85.4 <sup>b</sup>	0.37	84.4 <sup>b</sup>	2.49
P. de soya	85.6 <sup>bc</sup>	0.32	86.0 <sup>bc</sup>	2.16
Sorgo	86.1 <sup>bcd</sup>	0.53	87.1 <sup>bc</sup>	3.56
Trigo text.	86.3 <sup>cd</sup>	0.46	90.5 <sup>c</sup>	3.04
Referencia	86.7 <sup>d</sup>	0.42		

Valores promedio en columnas con la misma letra no son significativamente diferentes (P>0.05).

Tabla 6. Coeficientes de digestibilidad aparente de proteínas de dietas (CDAP) e ingredientes (CDAPI) para pre-adultos de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*.

Dietas	CDAP (%)	Desv. Est.	CDAPI (%)	Desv. Est.
Langostilla	88.0 <sup>a</sup>	0.22	40.1 <sup>a</sup>	1.39
Sardina 60	88.0 <sup>a</sup>	0.55	49.0 <sup>b</sup>	3.76
Sardina 65	90.0 <sup>b</sup>	0.20	66.6 <sup>c</sup>	0.79
Calamar	90.1 <sup>b</sup>	0.07	67.2 <sup>cd</sup>	0.23
Sorgo	90.5 <sup>b</sup>	0.19	72.6 <sup>d</sup>	2.04
P. de soya	91.6 <sup>c</sup>	0.19	87.0 <sup>e</sup>	0.99
Trigo text.	91.7 <sup>c</sup>	0.02	94.7 <sup>f</sup>	0.18
Referencia	91.6 <sup>c</sup>	0.38		

Valores promedio en columnas con la misma letra no son significativamente diferentes (P>0.05).

Tabla 7. Coeficientes de digestibilidad aparente de carbohidratos de dietas (CDACH) e ingredientes (CDACHI), en pre-adultos de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*.

Dietas	CDACH (%)	Desv. Est.	CDACHI (%)	Desv. Est.
Sardina 65	86.3 <sup>a</sup>	0.16	12.3 <sup>a</sup>	3.15
Calamar	88.1 <sup>b</sup>	0.24	15.6 <sup>a</sup>	4.19
Sardina 60	88.4 <sup>b</sup>	0.37	41.1 <sup>c</sup>	4.95
P. de soya	88.5 <sup>b</sup>	0.18	81.6 <sup>d</sup>	1.01
Langostilla	89.2 <sup>c</sup>	0.04	34.1 <sup>b</sup>	1.62
Trigo text.	90.8 <sup>c</sup>	0.27	83.9 <sup>d</sup>	1.39
Sorgo	90.9 <sup>c</sup>	0.22	93.6 <sup>e</sup>	0.81
Referencia	89.9 <sup>d</sup>	0.11		

Valores promedio en columnas con la misma letra no son significativamente diferentes (P>0.05).

Tabla 8. Coeficientes de digestibilidad aparente de lípidos de dietas (CDAL) e ingredientes (CDALI), en pre-adultos de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*.

Dietas	CDAL (%)	Desv. Est.	CDALI (%)	Desv. Est.
Sardina 60	86.2 <sup>a</sup>	0.02	32.9 <sup>a</sup>	0.13
Calamar	86.8 <sup>b</sup>	0.06	60.6 <sup>b</sup>	0.50
Sorgo	89.9 <sup>c</sup>	0.02	77.3 <sup>c</sup>	0.15
Sardina 65	91.5 <sup>d</sup>	0.06	84.5 <sup>d</sup>	0.22
Langostilla	92.2 <sup>e</sup>	0.07	99.3 <sup>f</sup>	0.66
Trigo text.	92.4 <sup>e</sup>	0.04	96.4 <sup>e</sup>	0.52
P. de soya	92.5 <sup>ef</sup>	0.07	95.1 <sup>e</sup>	0.57
Referencia	90.1 <sup>c</sup>	0.47		

Valores promedio en columnas con la misma letra no son significativamente diferentes (P>0.05).

Tabla 9. Digestibilidad general de dietas con 15% de sustitución de ingredientes de origen animal o vegetal; así como entre juveniles y pre-adultos de *Cherax quadricarinatus*.

	Materia seca	Proteínas	Carbohidratos	Lípidos
Vegetal	86.59±0.27 <sup>a</sup>	91.82±0.25 <sup>a</sup>	90.88±0.23 <sup>a</sup>	88.92±0.44 <sup>a</sup>
Animal	84.59±0.24 <sup>b</sup>	89.99±0.22 <sup>b</sup>	88.36±0.20 <sup>b</sup>	86.61±0.38 <sup>b</sup>
Juveniles	86.07±0.25 <sup>a</sup>	91.55±0.23 <sup>a</sup>	90.00±0.22 <sup>a</sup>	90.23±0.41 <sup>a</sup>
Pre-adultos	84.83±0.25 <sup>b</sup>	89.99±0.23 <sup>b</sup>	88.88±0.22 <sup>b</sup>	84.97±0.41 <sup>b</sup>

Valores promedio en columnas con la misma letra no son significativamente diferentes (P>0.05).

Tabla 10. Comparación entre la digestibilidad de ingredientes de origen animal y vegetal; y la digestibilidad entre juveniles y pre-adultos de *Cherax quadricarinatus*.

	Materia seca	Proteínas	Carbohidratos	Lípidos
Vegetales	88.2±1.4 <sup>a</sup>	87.8±2.4 <sup>a</sup>	83.3±2.3 <sup>a</sup>	78.8±5.1 <sup>a</sup>
Animales	80.1±1.2 <sup>b</sup>	58.6±2.1 <sup>b</sup>	27.2±2.0 <sup>b</sup>	71.8±4.4 <sup>a</sup>
Juveniles	82.2±1.3 <sup>a</sup>	74.1±2.2 <sup>a</sup>	51.0±2.1 <sup>a</sup>	76.8±4.7 <sup>a</sup>
Pre-adultos	85.0±1.3 <sup>a</sup>	68.2±2.2 <sup>a</sup>	51.6±2.1 <sup>a</sup>	72.8±4.7 <sup>a</sup>

Valores promedio en columnas con la misma letra no son significativamente diferentes (P>0.05).

La digestibilidad de dietas e ingredientes fue relativamente alta en comparación con otras especies. Los ingredientes vegetales presentaron coeficientes de digestibilidad significativamente más altos, en términos de materia seca, proteínas y carbohidratos, que los ingredientes de origen animal. No hubo diferencias significativas en cuanto a lípidos. Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas (P<0.05) de digestibilidad de ingredientes entre juveniles y pre-adultos.

#### ***Actividad enzimática digestiva de C. quadricarinatus.***

Se evaluó la actividad enzimática digestiva de juveniles de *C. quadricarinatus* alimentados con dietas experimentales (descritas en la metodología de digestibilidad), conteniendo diferentes ingredientes comúnmente utilizados en raciones comerciales. La actividad de amilasa después de 15 días fue más baja que la registrada al inicio del experimento. Sin embargo, ésta se incrementó para la dieta que contenía 15% adicional de harina de trigo (Figura 1). De manera similar la actividad de lipasas se redujo después de 15 días, pero incrementó conforme se desarrolló el experimento. Después de 30 días, las dietas con adición de harina de calamar y harina de pescado de 60% PC produjeron la mayor actividad de lipasas (Figura 2). La actividad de proteasas al final del experimento fue más alta para las dietas con adición de harinas de pescado de 60% PC, langostilla y pasta de soya. Los resultados indican que *C. quadricarinatus* tiene la capacidad de digerir una variedad de insumos utilizados rutinariamente en raciones comerciales.

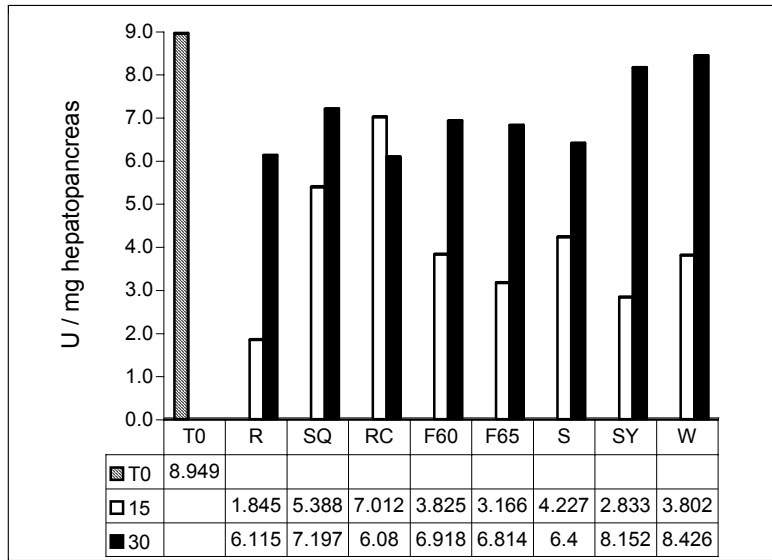


Figura 1. Actividad de amilasas digestivas en juveniles de *C. quadricarinatus* alimentados con diferentes dietas experimentales.

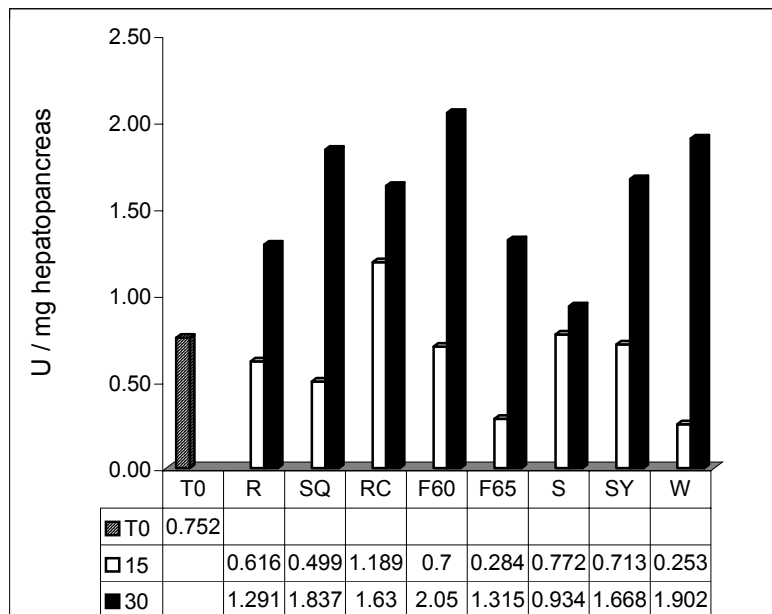


Figura 2. Actividad de lipasas digestivas en juveniles de *C. quadricarinatus* alimentados con diferentes dietas experimentales.

## Requerimientos de proteína y lípidos para diferentes etapas de desarrollo de la langosta de agua dulce

### Requerimiento de proteína de juveniles de *Cherax quadricarinatus*.

Los juveniles fueron alimentados con dietas experimentales conteniendo diferentes niveles de proteína cruda (20, 25, 31, 37, 43, 49, 55%) y 4.7 Kcal/g de energía (Tabla 11). La tasa de crecimiento específica (SGR) de los juveniles de *C. quadricarinatus*, fue de 3.6%/día, al ser alimentados con la dieta de 31% PC. Se obtuvo un peso final de 9.6 g (Figura 3) y sobrevivencia de 86% en 60 días de cultivo a 27°C. La tasa de alimentación (FCR) fue cercana a 1 para todos los tratamientos con la excepción de dietas con 20 y 55% proteína, las cuales mostraron un FCR más alto (Tabla 12). La sobrevivencia para el tratamiento de 20% PC fue significativamente más baja. Los resultados indican que el nivel óptimo de proteína en la dieta para juveniles de *C. quadricarinatus* es de al menos 31% PC.

Tabla 11. Composición (g Kg<sup>-1</sup>) y análisis proximal (% peso seco) de dietas experimentales con diferente nivel de proteína para juveniles de *C. quadricarinatus*.

	20% CP	25% CP	31% CP	37% CP	43% CP	49% CP	55% CP
Harina de Sardina <sup>1</sup>	10	105	201	298	397	497	595
Harina de sorgo <sup>1</sup>	646	561	473	378	279	179	90
Harina de soya <sup>1</sup>	100	100	100	100	100	100	100
Harina de langostilla <sup>2</sup>	50	50	50	50	50	50	50
Harina de calamar <sup>1</sup>	50	50	50	50	50	50	50
Harina de trigo <sup>1</sup>	30	30	30	30	30	30	30
Grenetina	40	40	40	40	40	40	40
Aceite de pescado <sup>1</sup>	24	14	6	4	4	4	0
Lecitina de soya <sup>1</sup>	10	10	10	10	10	10	5
Premezcla Mineral <sup>3</sup>	25	25	25	25	25	25	25
Premezcla Vitaminas <sup>4</sup>	3	3	3	3	3	3	3
Acido ascórbico <sup>5</sup>	1	1	1	1	1	1	1
Cloruro de colina <sup>6</sup>	1	1	1	1	1	1	1
Carbonato de calcio <sup>7</sup>	10	10	10	10	10	10	10
Proteína <sup>8</sup>	20.1±0.36	25.5±0.14	30.9±0.29	37.1 ±0.24	43.2 ±0.11	49.2 ±0.16	54.9 ±0.18
Extracto etereo <sup>8</sup>	7.9 ±0.09	7.9 ±0.20	7.7 ±0.12	8.8 ±0.12	8.9 ±0.07	9.4 ±0.22	10.8 ±0.04
Cenizas <sup>8</sup>	7.5 ±0.08	8.7 ±0.28	9.8 ±0.16	10.8 ±0.06	11.9 ±0.07	13.1 ±0.02	14.2 ±0.16
Fibra <sup>8</sup>	1.1 ±0.09	0.3 ±0.08	0.6 ±0.19	1.0 ±0.07	1.4 ±0.12	0.4 ±0.21	1.1 ±0.37
ELN <sup>9</sup>	63.4	57.5	50.9	42.3	34.6	27.9	19.0
Energía total (kJ g <sup>-1</sup> ) <sup>8</sup>	18.7±0.00	18.5±0.08	18.9±0.08	19.0±0.04	20.1±0.00	20.9±0.04	21.4±0.04
P : E (mg kJ <sup>-1</sup> ) <sup>10</sup>	10.7	13.8	16.3	19.4	21.5	23.5	25.6

<sup>1</sup>PIASA®, 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 Mineral (gKg<sup>-1</sup> diet): 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 Vitaminas (valores en mg kg<sup>-1</sup> diet, except cuando se indica): Vit. A Retinol, 5000 UI; Vit. D<sub>3</sub>, 4000 UI; Vit. E Tocoferol, 100; Vit. K Menadiona, 5; Tiamina, 60; Riboflavina, 25; Piridoxina, 50; Acido Pantoténico, 75; Niacina, 40; Biotina, 1; Inositol, 400; Cianocobalamina, 0.2; Acido Fólico, 10.

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

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

<sup>7</sup>SIGMA®.

<sup>8</sup>Promedio ± DS.

<sup>9</sup>ELN=Extracto libre de nitrógeno, calculado como 100-(%Proteína+% Extracto etéreo+ %Cenizas+%Fibra).

<sup>10</sup>P : E. Radio de proteína/energía.

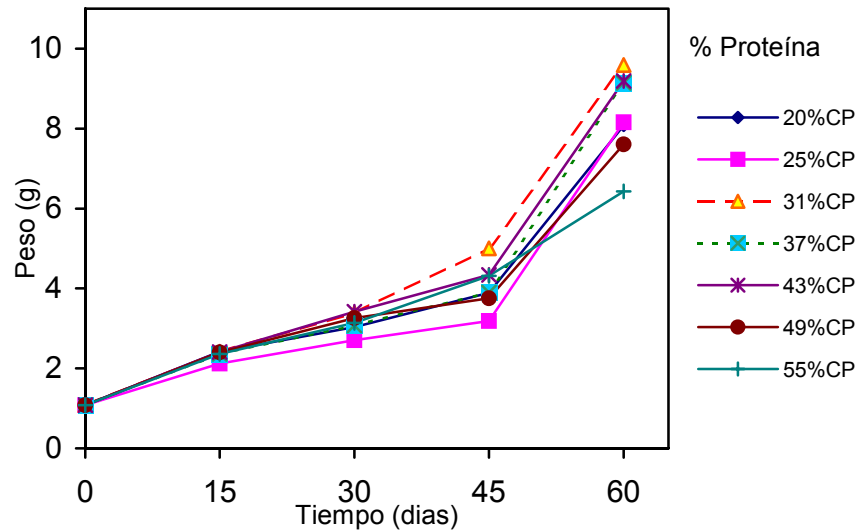


Figura 3. Crecimiento de juveniles de *Cherax quadricarinatus* alimentados con dietas con diferente nivel de proteína a 27°C.

Tabla 12. Supervivencia, peso final, biomasa, tasa de crecimiento específica (SGR), factor de conversión alimenticia (FCR) y tasa de eficiencia de proteína (PER) de juveniles de *Cherax quadricarinatus* alimentados con dietas con diferente nivel de proteína.

Dieta (%PC)	Sobrev. (%)	Peso Final (g)	Biomasa (g/m <sup>2</sup> )	SGR (%/día)	FCR	PER (g)
20	65.0 ±1.67 a	8.09±0.19 a	105.2 ±5.20 a	3.35 ±0.04ab	1.44 ±0.07 a	3.02±0.16a
25	78.9 ±3.47 b	8.16±1.38 a	128.8 ±14.4 b	3.35 ±0.27 ab	1.19 ±0.20 b	2.97±0.23a
31	85.6 ±3.47 c	9.60±0.16 b	153.6 ±0.7 cd	3.64 ±0.03 d	1.01 ±0.02 b	2.83±0.02a
37	80.0 ±1.67 b	9.14±0.52 b	156.6 ± 9.3 d	3.55 ±0.10 cd	1.00 ±0.08 b	2.37±0.17b
43	85.0 ±2.89 c	9.19±0.41 b	156.3 ±9.52 d	3.57 ±0.08cd	1.01 ±0.05 b	2.04±0.12c
49	86.1 ±4.19 c	7.61±0.68 c	131.2 ±13.8 bc	3.25 ±0.15 a	1.19 ±0.15 b	1.49±0.22d
55	87.8 ±5.36 c	6.43±0.22 d	112.7 ±4.8 ab	2.97 ±0.06 d	1.36 ±0.05 c	1.11±0.04de

Valores promedio en columnas con la misma letra no son significativamente diferentes ( $P>0.05$ ).

#### *Requerimientos de proteína de pre-adultos de Cherax quadricarinatus.*

Se evaluaron 5 dietas experimentales con diferentes niveles de proteína cruda (22, 27, 34, 40, 45 % PC) y 4.5 Kcal/g de energía. Las Figuras 4 y 5 y las Tablas 13 y 14 presentan los resultados. La respuesta al nivel de proteína en pre-adultos machos de *C. quadricarinatus* se evidencia a partir de los 15 días de cultivo (Figura 4). A los 70 días, el peso final se maximizó utilizando las dietas con 22, 27 y 34% PC. La supervivencia fue superior al 90% en todos los casos. Los machos registraron un factor de conversión alimenticia aparente (FCA) mayor en las dietas con el más alto nivel del proteína (40 y 45% PC). Hubo una



relación inversa entre el nivel de proteína en la dieta y la eficiencia de proteína/energía. No hubo diferencias significativas entre los tratamientos para las hembras. Sin embargo, la sobrevivencia fué mayor en los tratamientos con 22 y 34% de proteína.

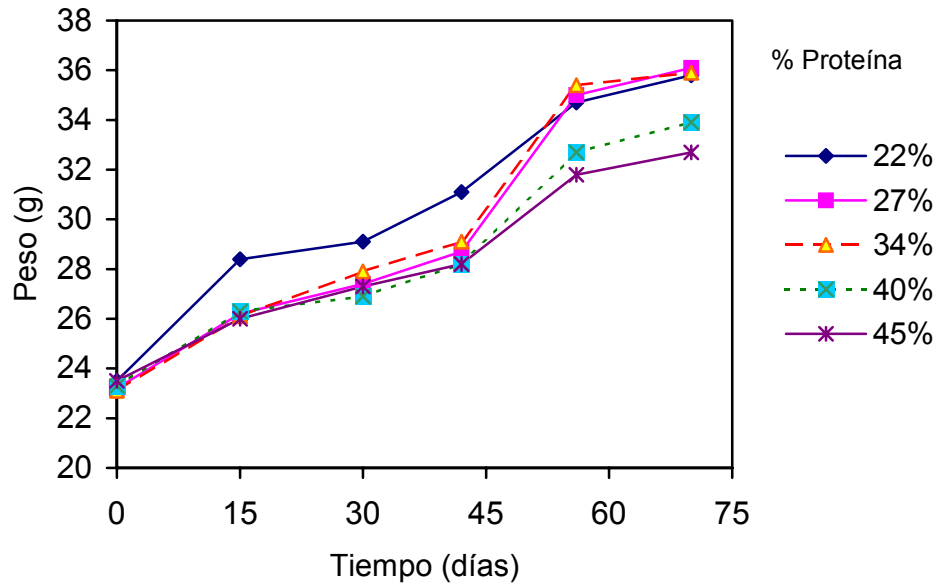


Figura 4. Crecimiento de machos preadultos de *C. quadricarinatus* alimentados con dietas con diferente nivel de proteína.

Tabla 11. Factor de conversión alimenticia (FCA), biomasa, sobrevivencia, tasa de crecimiento absoluta (TCA), tasa de eficiencia protéica (PER) y peso final en machos de *C. quadricarinatus* alimentados con dietas con diferente nivel de proteína.

Dieta (%PC)	FCA	Biomasa (g/m <sup>2</sup> )	Sobrevivencia (%)	TCA (g/día)	PER (g)	Peso Final (g)
22%	1.12 ±0.09 a	351.9 ±8.20	98.3 ± 1.98 a	0.180±0.03a	1.54±0.11	35.79±1.59 a
27%	1.10 ±0.10 a	348.4 ±11.20	96.7 ±2.57 ab	0.183±0.05 a	1.25±0.13	36.05±1.99 a
34%	1.15±0.05ab	341.2 ±7.41	95.0 ± 2.23 b	0.180±0.04a	0.97±0.12	35.90±1.13 a
40%	1.26± 0.15b	316.6 ±9.90	93.3 ± 3.01 b	0.152±0.03b	0.67±0.17	33.37±1.54b
45%	1.27 ±0.12b	299.7 ±10.52	91.7 ±3.22 c	0.131±0.05b	0.55±0.09	32.70±1.14 b

Valores promedio en columnas con la misma letra no son significativamente diferentes (P>0.05).

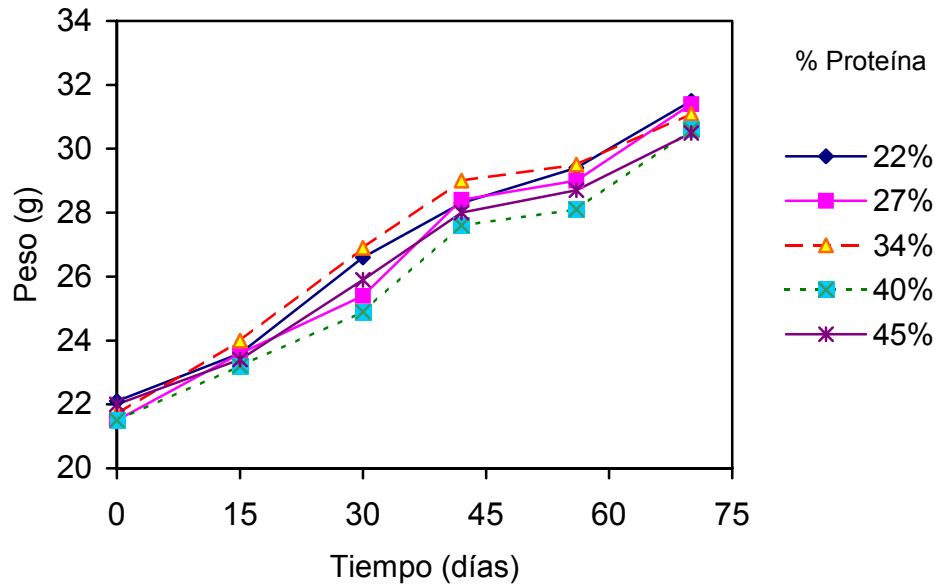


Figura 5. Crecimiento de hembras preadultas de *C. quadricarinatus* alimentadas con dietas con diferente nivel de proteína.

Tabla 12. Factor de conversión alimenticia (FCA), biomasa, supervivencia, tasa de crecimiento absoluta (TCA), tasa de eficiencia protéica, (PER) y peso final de hembras de *C. quadricarinatus* alimentadas con dietas con diferente nivel de proteína.

Dieta (%PC)	FCA	Biomasa (g/m <sup>2</sup> )	Sobrevivencia (%)	TCA (g/día)	PER (g)	Peso Final (g)
22%	1.38 ±0.21 a	283.6 ± 8.20	90.0 ±1.67 a	0.135 ±0.05 a	1.09±0.10	31.51±1.56 a
27%	1.43 ±0.19 a	261.5 ±10.11	83.3 ±1.48 b	0.142±0.04 a	0.85±0.14	31.37±1.87 a
34%	1.32 ±0.25 a	279.4 ± 7.76	90.0 ±2.45 a	0.134±0.07 a	0.72±0.15	31.07±1.01 a
40%	1.50 ±0.35 b	259.9 ± 8.56	85.0 ±3.38 c	0.130±0.06 a	0.52±0.17	30.59±1.08 a
45%	1.50 ±0.29 b	268.5 ±11.45	88.3 ±3.73 b	0.121±0.07 a	0.42±0.16	30.48±1.88 a

Valores promedio en columnas con la misma letra no son significativamente diferentes ( $P>0.05$ ).

Las dietas con 22, 27 y 34% PC mostraron mejores rendimientos en machos en términos de crecimiento, biomasa y supervivencia. Las hembras no presentan diferencias significativas en crecimiento entre los tratamientos, sin embargo, el FCA, biomasa, TCA, y eficiencia proteica son generalmente mejores con dietas de 22 a 34% PC.

*Requerimientos de proteína durante el desarrollo gonadal de hembras de Cherax quadricarinatus.*

Las hembras reproductoras fueron alimentadas con 5 dietas experimentales con diferente nivel de proteína cruda (Tabla 15).

Tabla 15. Fórmulas y composición proximal de las dietas experimentales para la evaluación del requerimiento de proteína de hembras reproductoras de *C. quadricarinatus*.

Dieta	20% PC	26% PC	32% PC	38% PC	44% PC
<b>Ingredientes</b>					
Harina de sardina 65%	1.00	8.40	18.53	28.65	38.79
Harina sorgo integral	64.32	57.64	48.50	39.49	30.28
Aceite de sardina	1.89	1.53	1.02	0.46	0.00
Lecitina Soya	1.87	1.50	1.01	0.46	0.00
Harina trigo integral	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Harina de calamar	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Harina langostilla.	5.01	5.01	5.01	5.01	5.01
Pasta de soya	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
Grenetina	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Premin CIB'93 crust <sup>1</sup>	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
Previt Conklin'98 <sup>2</sup>	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26
Vit C Star C (62% a.a.)	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
Cloruro Colina (62%a.a.)	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
Carbonato calcio	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Humedad (%)	7.66 ± 0.14	7.97 ± 0.11	8.07 ± 0.05	7.81 ± 0.12	8.81 ± 0.05
Proteínas (%)	22.83 ± 0.09	27.22 ± 0.21	33.35 ± 0.23	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
Cenizas (%)	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
E.L.N. (%)	59.39	54.68	48.17	40.66	33.84
Energía (kcal/g)	4306.57	4362.72	4415.85	4476.95	4515.36

<sup>1</sup> Cloruro de Potasio (KCl), Sulfato de Magnesio (MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O), Sulfato de Zinc (ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O), Cloruro de Manganeso (MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O), Sulfato cuprico (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O), Yoduro de potasio (KI), Cloruro de Cobalto (CoCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O), Fosfato ácido de sodio (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>).

<sup>2</sup> Vitamina A Acetato (Retinol), Vitamina D<sub>3</sub> (Colecalciferol), Vitamina E (Tocoferol), Vitamina K, Menadiona, Tiamina (B<sub>1</sub>), Riboflavina (B<sub>2</sub>), Piridoxina (B<sub>6</sub>), Ac. DL-Pantoténico, Niacina (ácido nicotínico), Biotina, Inositol, Cianocobalamina (B<sub>12</sub>), Ac. Fólico, Vehículo (celulosa)

Hembras alimentadas con la dieta de 26%PC mostraron el GSI más alto (Figura 6, Tabla 18), aunque no hubo diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos. Una tendencia donde el nivel más alto de lípidos en la gónada se presentó con la dieta de 32% PC fue evidente (Figura 8). De manera similar, la acumulación más alta de proteína en la gónada se obtuvo cuando se alimentó con la dieta con 32% PC (Figura 8). Se ajustaron modelos matemáticos a los datos mostrando que el mayor diámetro de oocitos (Figura 7) y la frecuencia más alta de oocitos secundarios (SVO) se presenta al alimentar a la hembra con la dieta 32% PC: ( $SVO = 28.51 + 16.47PC - 2.6305PC^2$ ). Hubo una correlación directa

entre el nivel de proteína en la dieta y el nivel de proteína en el hepatopáncreas, mientras que en la gónada la concentración más alta de proteínas se dio para el tratamiento con 32%PC (Figura 8). Los niveles de glucosa fueron más bajos en el hepatopáncreas de hembras alimentadas con la dieta con 32% PC (Tabla 16), y significativamente más altos en la gónada, cuando se alimentó con la dieta con 20% PC (Tabla 17). Los resultados indican que dietas con 26-32% PC y 4,400 kcal/g propician un mayor desarrollo gonadal en *C. quadricarinatus*.

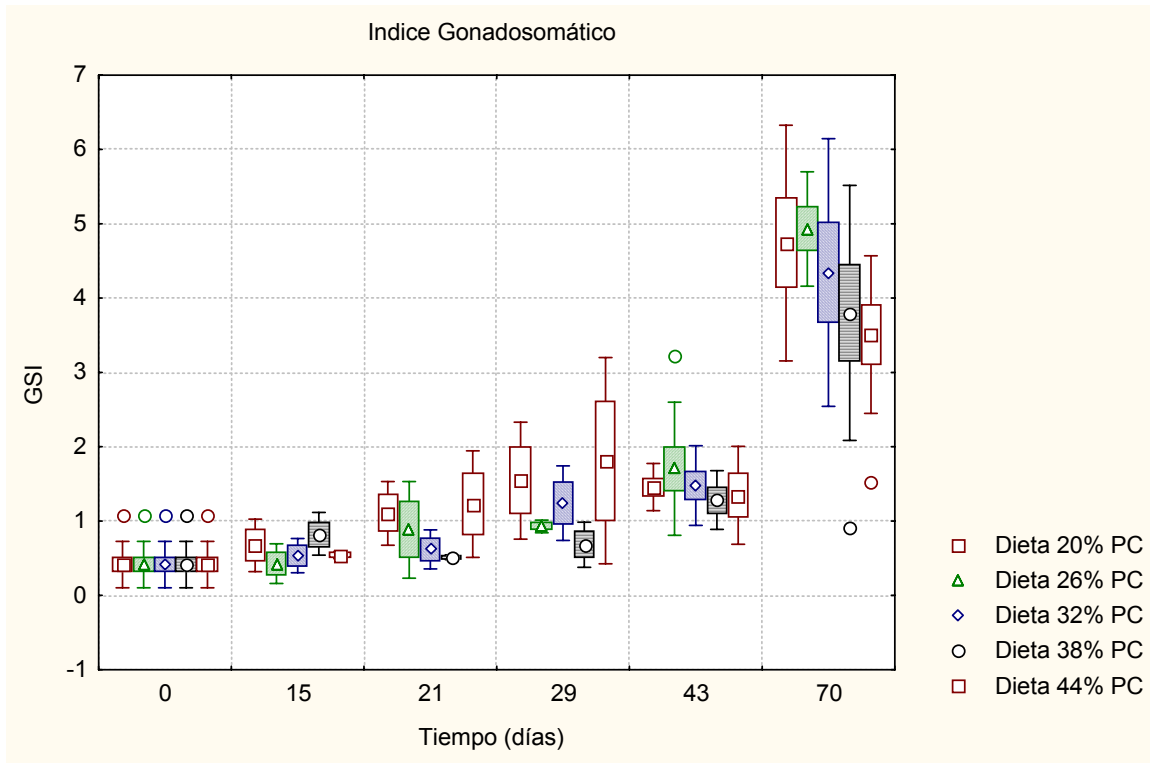


Figura 6. Comportamiento en el tiempo del índice gonadosomático de hembras de *C. quadricarinatus* alimentadas con dietas con 5 niveles de proteína cruda.

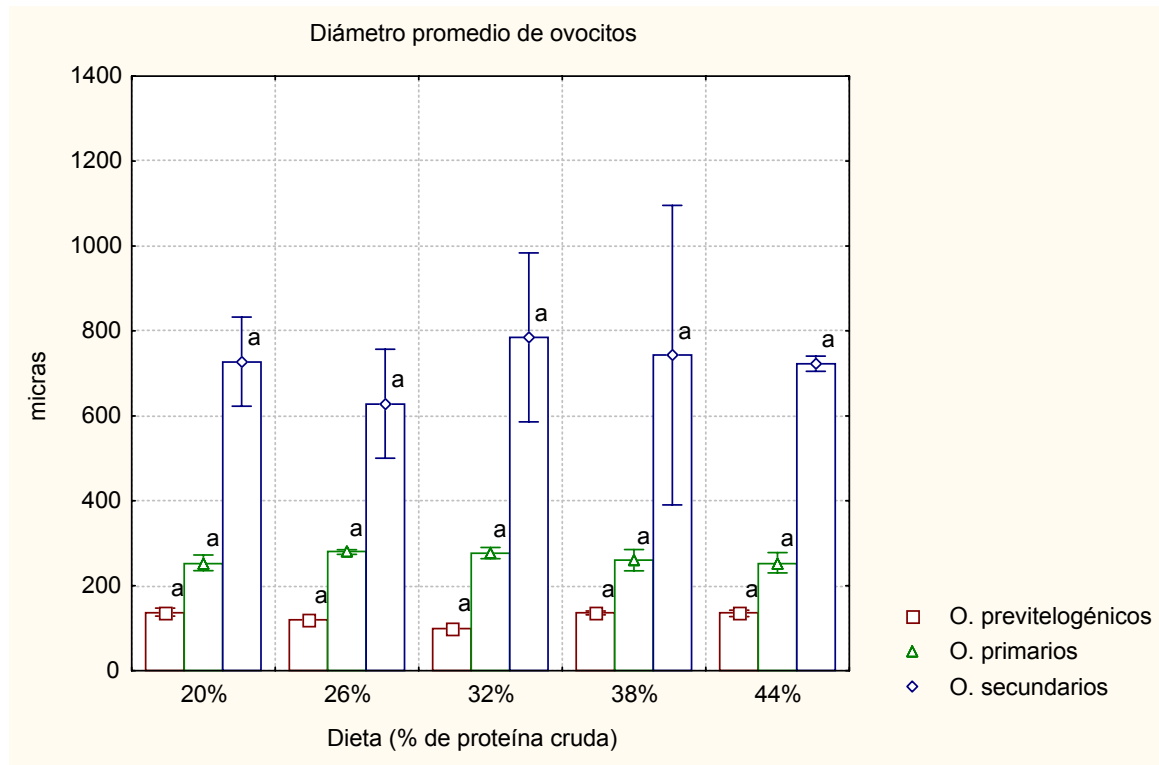


Figura 7. Diámetro promedio de ovocitos previtelogénicos, primarios y secundarios de hembras de *C. quadricarinatus* después de 43 días de alimentación con dietas con 5 niveles de proteína cruda.

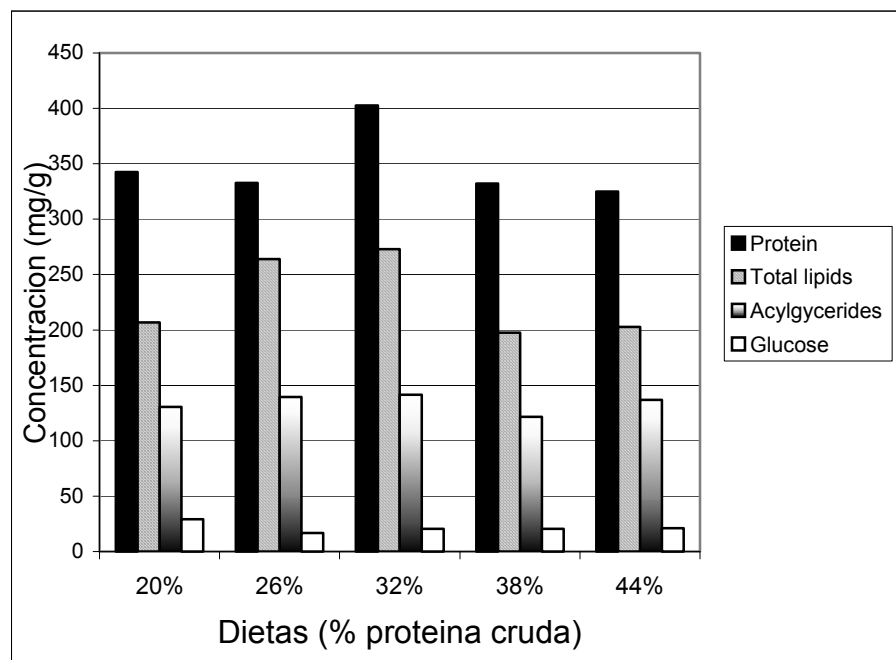


Figura 8. Composición proximal de la gónada de hembras de *C. quadricarinatus* alimentadas con diferentes dietas.

Tabla 16. Composición bioquímica del hepatopáncreas de hembras de *C. quadricarinatus* alimentadas por 70 días, con dietas con 5 niveles de proteína cruda\*.

Dieta (%PC)	Humedad (%)	Proteína (mg/gr)	Lípidos (mg/gr)	Triglicéridos (mg/gr)	Carbohidratos (mg/gr)
20	39.63±2.45d	68.31± 6.13a	417.71±112.09a	138.41 ± 28.32a	33.40 ± 6.71 a
26	44.75±5.01c	77.36±9.05ab	256.96± 82.57a	145.35 ± 37.68a	33.53 ± 10.26 a
32	49.60±3.83a	82.80±7.73bc	366.36±107.62a	179.88 ± 16.54a	51.89 ± 10.65 b
38	50.32±2.79a	90.74±10.40c	307.30± 55.95a	166.11 ± 48.27a	59.04 ± 10.97 b
44	54.89±4.55b	93.16± 9.30c	379.17±149.04a	172.06 ± 68.59a	61.41 ± 7.02 b

\* Valores con la misma letra para cada columna no son significativamente diferentes ( $p>0.05$ )

Tabla 17. Composición bioquímica de la gónada de hembras de *C. quadricarinatus* alimentadas por 70 días con dietas con 5 niveles de proteína cruda\*.

Dieta (%PC)	Humedad (%)	Proteína (mg/gr)	Lípidos (mg/gr)	Triglicéridos (mg/gr)	Carbohidratos (mg/gr)
20	53.29±3.88a	342.44±34.18b	174.68± 35.8b	130.63± 16.84a	29.07 ± 3.54a
26	51.68±5.33a	332.84±47.57b	223.07± 24.5a	139.42± 47.60a	16.65 ± 3.96b
32	54.03±7.11a	402.74±49.57a	230.61± 41.4a	141.59± 29.57a	20.53 ± 5.06b
38	50.42±4.89a	332.26±27.37b	166.85± 32.7b	121.71± 29.57a	20.47 ± 4.46b
44	52.21±5.37a	324.87±43.65b	171.15± 29.9b	137.03± 19.05a	21.12 ± 3.85b

\* Valores con la misma letra para cada columna no son significativamente diferentes ( $p>0.05$ )

Tabla 18. Índice gonadosomático (GSI), índice hepatosomático (HSIB) e índice de condición reproductiva (RCI) de *C. quadricarinatus*, después de 70 días de alimentación, con dietas con diferente nivel de proteína\*.

Dieta (%PC)	GSI	HSIB	RCI
20	4.50 ± 1.40 a	8.51 ± 0.76a	13.02 ± 1.26a
26	4.69 ± 0.69 a	7.52 ± 0.82a	12.21 ± 0.83a
32	4.13 ± 1.65 a	7.85 ± 0.88a	11.99 ± 1.65a
38	3.63 ± 1.65 a	7.67 ± 0.37a	11.31 ± 1.42a
44	3.38 ± 0.99 a	8.13 ± 0.56a	11.51 ± 1.23a

\* Valores con la misma letra para cada columna no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

### ***Dinámica de lípidos en función al desarrollo gonadal de C. quadricarinatus.***

Las proteínas fueron el componente más abundante en los huevos, mientras que los huevos son la principal fuente de energía. La concentración de lípidos disminuyó significativamente durante el desarrollo del huevo ( $F=9.22$ ,  $p < 0.01$ ) (Figura 9), y es descrita por la ecuación:  $yL = 895.3805 - 9.937 \times L$ , ( $r^2L = 0.90$ ). La tasa de cambio en la concentración de proteína varió durante el desarrollo del huevo. Esto se describe por las ecuaciones:  $yP1 = 1443.0 - 4.465 \times P1$ , ( $r^2P1 = 0.91$ ); y  $P2 = 1937.6 - 21.10 \times P2$ , ( $r^2P2 = 0.96$ ) (Figura 10). El contenido de proteína al final representó el 67% de la concentración al inicio del desarrollo embrionario. No hubo diferencias significativas en la concentración de carbohidratos a través del tiempo. Los resultados sugieren que los lípidos son la principal fuente de proteína durante el desarrollo embrionario de *C. quadricarinatus*, mientras que las proteínas y carbohidratos son utilizadas en los procesos metabólicos.

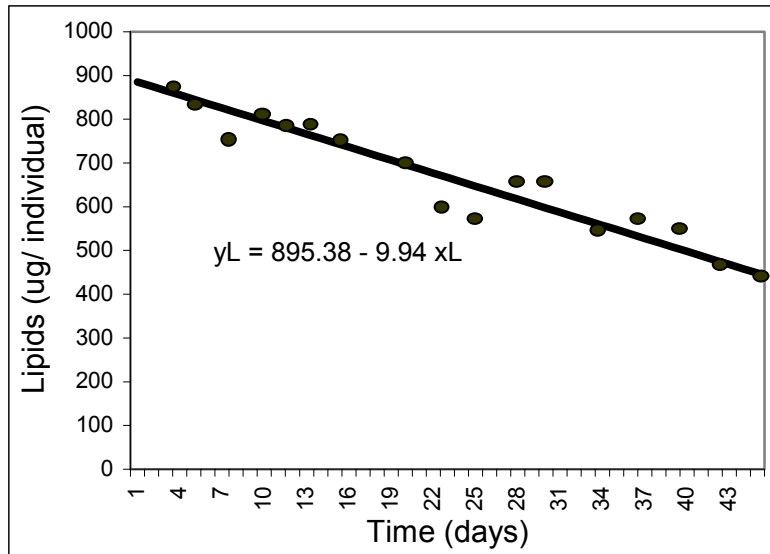


Figura 9. Concentración de lípidos en el huevo durante el desarrollo embrionario de *C. quadricarinatus* a través del tiempo a 26°C.

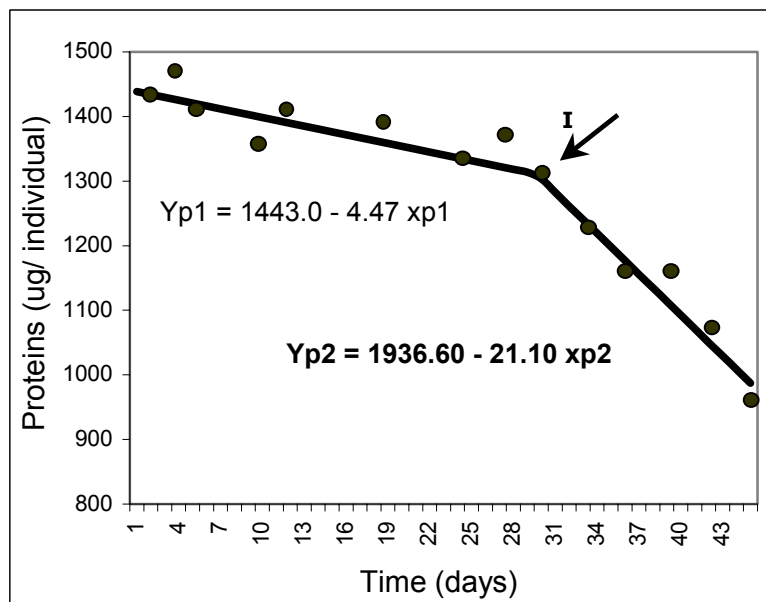


Figura 10. Concentración de proteínas en el huevo durante el desarrollo embrionario de *C. quadricarinatus* a través del tiempo a 26°C. I = Punto de inflexión.



La información presentada contribuye al conocimiento de los requerimientos nutricionales de la especie, y los mecanismos de respuesta fisiológica y metabólica del organismo. Los resultados permitirán formular dietas de bajo costo, específicas para diferentes etapas del desarrollo de la especie. La investigación futura deberá incorporar estudios relacionados con la caracterización del vitelo, el efecto de la temperatura en el flujo energético durante el desarrollo de la gónada y del embrión, la caracterización de las enzimas digestivas, el efecto de variaciones en el nivel de lípidos en el crecimiento, la sobrevivencia y el FCR de juveniles y preadultos, y en el desarrollo gonadal, las estrategias de alimentación y el impacto de la productividad natural en el desarrollo en estanques de cultivo.

## AGRADECIMIENTOS Y RECONOCIMIENTOS

Los resultados presentados representan el esfuerzo de colaboración de un gran número de personas del CIBNOR y de otras instituciones:

CIBNOR, S.C.: Dr. Humberto Villarreal, Dr. Ilie Racotta, Dr. Roberto Civera, Dr. Héctor Nolasco, M. C. José Naranjo, M.C. Edilmar Cortés, M.C. Hervey Rodríguez, M.C. Marcelo García, M.C. Silverio López, Biol. Sonia Rocha, Biol. Sandra de la Paz.  
UAG: Dr. Manuel García.

UNISON: Dr. Luis R. Martínez

El financiamiento para la investigación proviene de los apoyos recibidos por el Dr. Humberto Villarreal para los siguientes proyectos:

- CIBNOR, S. C. Programa de Acuicultura, PAC 23: “Optimización de la producción de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*”.
- CONACYT 2888B. Definición de los requerimientos nutricionales de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*, con especial énfasis en la relación proteína/energía.
- Red Mexicana de Investigación en Acuicultura. Biocultivo agroacuícola: Fase I. Optimización de la producción de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*.

## BIBLIOGRAFIA

- Ackman, R. G., 1986. Fish lipids Part 1. In: J.J. Connell. Advances in fish Science and technology. Fishing News Books, Ltd., England. pp 86-103.
- Akiyama, D. M., Dominy, W. G., 1989. Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry. In: Texas Shrimp Farming Manual, Vol. 1: Grow-out technology. Texas Agricultural Extension Service and Texas A&M University, Sea Grant College Program. 50 p.
- Anson, K. J., 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.
- AOAC., 1985. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemisth. 15th. Ed. Whashington, D.C., USA.
- AOAC., 1995. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemisth. 16th. Ed. Whashington, D.C., USA. 935 p.

- AOAC., 1995. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists. 16th. Ed. Whashington, D.C., USA.
- Austin, C. M., 1992. Preliminary pond production of the red claw crayfish, *Cherax quadricarinatus* in the Central United States. *Journal of Applied Aquaculture*, 1(4): 93-102.
- Barki, M. A., Levi, T., Shrem, A., 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., Blackstock, J., 1973. Estimation of lipids in marine animals and tissues: detailed investigation of the sulphovanillin method for 'total' lipids. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 12:103-118
- Bligh, E. G., Dyer, W. J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. 37: 911 - 917.
- Bligh, E. G., Dyer, W. J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. 37: 911 - 917.
- Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72 (2): 248-254.
- Bradford, M. M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem* 72, 248-253.
- Bray, W. A., Lawrence, A. L., 1992. Reproduction of *Penaeus* species in captivity in. Fast, A. W. and J. L. Lester eds. *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*. Elsevier, Amsterdam. PP: 93-170.
- Browdy, C., 1992. A review of the reproduction biology of *Penaeus* species: perspectives on controlled shrimp maturation systems for high quality nauplii production, in Wyban, K. ed. *Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming*. World Aquaculture Society. Baton Rouge, La, USA. Pp: 22-51.
- Burton, E. M., Mitchell, B. D., 1987. Moulting staging in the Australian freshwater crayfish, *Cherax albidus* Clark and *Cherax destructor* Clark (Decapoda: Parastacidae), via uropod setal development. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 38,545-552.
- Cahu, C. L., Cuzon, G., Quazuguel, P., 1995. Effect of highly unsaturated fatty acids, alpha-tocopherol and ascorbic acid in broodstock diet on egg composition and development of *Penaeus indicus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 112: 417-424.
- Calvo-Carrillo, M. de la C., Castro-González, M. I., Sánchezarmas-Luna, R., Pérez-Gil-Romo, F., 1995. Fibra cruda y quitina en el crustáceo langostilla (*Pleuroncodes planipes* Stimpson): Similitudes y diferencias. *Ciencias Marinas* 21(2):179-186.
- Calvo-Carrillo, M de la C., Castro-González M. I., Sánchezarmas-Luna, R., Pérez-Gil-Romo, F., 1995. Fibra cruda y quitina en el crustáceo langostilla (*Pleuroncodes planipes* Stimpson): Similitudes y diferencias. *Ciencias Marinas* 21(2):179-186.
- Castell, J. D., Kean, J. C., D'Abramo, L. R., Conklin, D. E., 1989. A standard reference diet for crustacean nutrition research. I. Evaluation of two formulations. *Journal of the World Aquaculture Society*, 20: 93-99.
- Celada, J. D., Carral, J. M., Gaudioso, V., Temiño, C., Fernández, R., 1989. Response of juvenile freshwater crayfish (*Pacifastacus leniusculus* Dana) to several fresh and artificially compounded diets. *Aquaculture*, 76: 67-78.
- Civera, R., Villarreal, H., Goytortúa, E., Rocha, S., Vega-Villasante, F., Nolasco, H., Pastén, J., Camarillo, T., 1996. Uso de la langostilla (*Pleuroncodes planipes*) como fuente de proteína en dietas experimentales para camarón. En: R. Mendoza, D. Rique y E. Cruz (eds). 3er. Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. Monterrey, N.L. México. 11 al 13 Noviembre. En prensa
- Civera, R., Villarreal, H., Goytortúa, E., Rocha, S., Vega, F., Nolasco, H., Pastén, J., Camarillo, T., La langostilla (*Pleuroncodes planipes*) como fuente de proteína en dietas experimentales para camarón. *Memorias del Tercer Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. Universidad Autónoma de Nuevo León. 11 al 13 de Noviembre de 1996. En prensa.
- Civera-Cerecedo, R., Effets du phytate de sodium sur la croissance et la mineralisation de divers tissus des crevettes peneides (CRUSTACEA: DECAPODA). Role de ce composant en tant que source de phosphore et d'inositol. These de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France. 153 p.
- 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. 153p.

- Cuzon, G., Guillaume, J., 1997. Energy and protein: Energy ratio. Pages: 51-70 In. D'Abramo, L. R., Conklin, D. E. and Akiyama, D. eds. Crustacean Nutrition, Advances in World Aquaculture Volume 6. World Aquaculture Society.
- Dubois, M.K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers, F. Smith., 1956. Colorimetric method for determinations of sugars and related substances. *Analitical Chemistry* 28 (3): 350 - 356.
- Edgerleton, B., Owens, L., Glasson, B., De Beer, S., 1994. Description of small dsRNA virus from freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus*, *Diseases of Aquatic Organisms*, 18: 63-69.
- Environmental Protection Agency. 1975. Handbook for evaluating water bacteriological laboratories. EPA, USA. 195 pp.
- Environmental Protection Agency. 1978. Evaluation of the microbiology standards for water drinking. EPA, USA. 235 pp.
- Ezquerria, J. M., García-Carreño, F. L., Civera, R., Haard, N. F., 1997. pH-stat method to predict protein digestibility in white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture* (157), pp. 249-260.
- Ezquerria, J. M., García-Carreño, F. L., Civera, R., Haard, N. F., 1997. pH-stat method to predict protein digestibility in white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture* (157), pp. 249-260.
- Gallagher, M. L., Brown, W. D., Conklin, D. E., Sifri, M., 1978. Effects of varying calcium/phosphorus ratios in diets fed to juvenile lobsters (*Homarus americanus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 60A, 467-471.
- García-Carreño, F. L., Dimes, L., Haard, N., 1993. Substrate gel-electrophoresis for composition and molecular weight of proteinases or proteinaceous proteinase-inhibitors. *Anal. Biochem.* 214: 65-69.
- Goytortúa-Bores, E., 1993. Evaluación del crecimiento y digestibilidad en el camarón blanco (*Penaeus vannamei*), alimentado con dietas compuesta a base de harina de langostilla (*Pleuroncodes planipes*). Tesis para obtener el título de Ingeniero en alimentos. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, S.L.P., México.
- Gu, H., Mather, P. B., 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.
- Guerin, E., Napias, C., 1978. Phosphate transport in yeast mitochondria: purification and characterization of a mitoribosomal synthesis dependent proteolipid showing a high affinity for phosphate. *Biochemistry*, vol. 17-2510-2516.
- Guerin, M., Napias, C., 1978. Phosphate transport in yeast mitochondria: purification and characterisation of a mitoribosomal synthesis dependent proteolipid showing a high affinity for phosphate. *Biochemistry*, Vol 17, pp.2510-2516.
- Hernandez, M. P., 1993. Proteinases con actividad de quimotripsina y colagenasa en langostilla *Pleuroncodes planipes* (Decapoda). Tesis. UABCS. 82 pp.
- Hutchings, R. W., Villarreal, H., 1996. Biología y Cultivo de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*. Manual de Producción. Navimar, S. A. 500 pp. Guayaquil, Ecuador.
- Janson, J., Porath, J., 1966. *Methods in Enzymology*. Vol.III. p.615.
- Johnson, T. R., Case, C. L., 1992. *Laboratory Experiments in Microbiology*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. Redwood City, California, Mento Park, California, Reading Massachusetts, New York, Don Mills, Ontario, Wokingham, U.K., Amsterdam, Bonn, Sydney, Sigapore, Tokyo, Madrid, San Juan. 372 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. M., 1989. Aquaculture potential of *Cherax quadricarinatus*. Queensland Department of Primary Industries, Fisheries Branch. Queensland, Australia.
- 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. M., Curtis, M. C., eds. 1994. Redclaw farming. *Proceedings of the redclaw farming workshops*, Feb 12-17, 1994. Walkmain, Rockhampton, Nambour. Queensland Department of Primary Industries. 69 pp.
- Jones, P. L., De Silva, S. S., 1997. Influence of differential movement of the marker chromic oxide and nutrients on digestibility estimations in the Australian freshwater crayfish *Cherax destructor*. *Aquaculture*, 154: 323-336.

- Jones, P. L., De Silva, S. S., 1997. Influence of differential movement of the marker chromic oxide and nutrients on digestibility estimations in the Australian freshwater crayfish *Cherax destructor*. *Aquaculture* 154:323-336.
- 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.
- Loya-Javellana, G. N., Fielder, D. R., 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.
- Mackeviciene, G., 1983. Circadian variations of proteolytic activity in the digestive system of the crayfish *Astacus astacus* L. Goldman, ed. Fifth International Symposium on Freshwater Crayfish. Davis, California, USA, 1981. Pp: 459-463.
- Marsh, J. B., Weinstein, D. B., 1966. Simple charring method for determination of lipids. *J. Lipid Research*. 7:574-576.
- Mason, J. C., 1975. Crayfish production in a small woodland stream. *Freshwater Crayfish*, 3: 101-117.
- Meade, M. E., Watts, S. A., Weight gain and survival of juvenile Australian crayfish *Cherax quadricarinatus* fed formulated feeds. *Journal of the World Aquaculture Society*, 26(4): 469-474.
- Mendoza, R., 1992. Etude de la vitellogénèse et de sa stimulation chez les crevettes péneides par des facteurs hétérologues et homologues. Thèse de Doctorat. Université de Bretagne Occidentale.
- Mills, B. J., McCloud, P. I., 1983. Effects of stocking and feeding rates on experimental pond production of the crayfish *Cherax destructor* Clark (Decapoda: Parastacidae). *Aquaculture*, 34: 51-72.
- 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.
- Nolasco, H., Vega-Villasante, F., 1992. Rapid detection and quantification of amylase activity in fractions after liquid chromatography. *Journal of Biochemistry*. 23: 103-109.
- Norberg, P., Hofsten, B. V., 1969. Proteolytic enzymes from extremely halophilic bacteria. *J. Gen. Microbiol.* 55: 251-256.
- Olvera-Novoa, M. A., 1994. Cuantificación de óxido crómico en heces y alimentos. Nutrition of fish and Crustaceans. A Laboratory manual FAO, Aquila II. Project. Fiel Document #19, 33p.
- Olvera-Novoa, M. A., 1994. Cuantificación de óxido crómico en heces y alimentos. Nutrition of fish and Crustaceans. A Laboratory manual FAO, Aquila II. Project. Fiel Document 19 pp 33.
- Palacios, E., Ibarra, A. M., Ramírez, J. L., Portillo G., Racotta, I. S., 1998. Biochemical composition of egg and nauplii in White Pacific shrimp *Penaeus vannamei* (Boone), in relation to the physiological condition of spawners in a commercial hatchery. *Aquacult. Res.*, 29: 183-189.
- Reigh, R. C., Braden, S. L., Laprarie, R. J., 1993. Substitution of soybeanprotein for fish protein in formulated diets for red swamp crawfish *Procambarus clarkii*. *Journal of the World Aquaculture Society*, Vol. 24, No. 3, pp 329-338.
- Romero, X. M., 1997. Production of redclaw in ecuador. *World Aquaculture*, 28(2): 5-10.
- Sagi, A., Shoukrun, R., Levy, T., Barki, A., Hulata, H., Karplus, I., 1997. Reproduction and molt in previously spawned redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* females following eyestalk ablation during the winter reproductive-arrest period. *Aquaculture*, 156: 101-111.
- Sammy, N., 1988. Breeding biology of *Cherax quadricarinatus* in the Northern Territory. Pages 79-88 in L. H. Evans and D. O'Sullivan, editors. Proceedings of the first Australian Shellfish Aquaculture Conference, Perth, 1988. Curtin University of Technology, Perth, western Australia.
- Sokal, R. R., Rohlf, F. J., 1981. *Biometry. The principles and practices of statistics in biological research*, 2nd ed. Freeman, New York, 859p.
- Strickland, J. D. H., Parsons, T. R., 1972. *A practical handbook of seawater analysis*. Fisheries Research Board of Canada, Bulletin 167, Ottawa. 310 pp.
- Valderrama, J. C., 1995. Methods of nutrient analysis. En *Manual on harmful marine microalgae*. G.M. Hallegraeff, D.M. Anderson, A.D. Cembella, and H.O. Enevoldsen (Ed.). Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. 551 pp.
- Van Handel, E., 1965. Estimation of glycogen in small amounts of tissue. *Anal. Biochem.*, 11: 256-265.

- Vázquez-Boucard, C., 1990. Etude de la reproduction chez les crevettes peneides. Nature et devenir de la masse vitelline: Apects fondamentaux et appliqués. These de Doctorat. Centre d'Océanologie du Pacifique.
- Vega-Villasante, F., Nolasco, H., Civera, R., 1992. The digestive enzymes of the Pacific brown shrimp *Penaeus californiensis*. I. Properties of amylase activity in the digestive tract. *Comp. Biochem. Physiol.* 106B (1): 509-516.
- Vega-Villasante, F., Nolasco, H., Civera, R., 1995. The digestive enzymes of the Pacific brown shrimp *Penaeus californiensis*. II. Properties of protease activity in the whole digestive tract. *Comp. Biochem. Physiol.* 112B (1): 123-129.
- Verhoef, G. D., Jones, P. L., 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.
- Versaw, W. K., Coopett, S. L., Winters, D. D., Williams, L. E., An improved colorimetric assay for bacterial lipase in nonfat dry milk. *Journal of Food Science*. 54 (6): 1557-1569.
- Villarreal, H., 1998. Uso de la investigación tecnológica para la optimización de la producción en sistemas acuícolas. Memorias del IV Congreso de la ADIAT. Junio 1-4, Hotel Fiesta Americana, Mérida, Yucatán, México.
- Villarreal, H., 1995. Evaluación del potencial de cultivo de la langosta de agua dulce Australiana *Cherax tenuimanus* en función de su eficiencia bioenergética. Memorias del 3er Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Noviembre 11-13, 1996. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, N. L., México. En prensa.
- Whorthington. 1972. *Enzyme Manual*. Whorthington Biochemical Corporation. Freehold, New Jersey, USA. 216 pp.
- Wong, F. Y. K., Desmarchelier, P. M., 1995. Vibriosis due to *Vibrio mimicus* in Australian freshwater crayfish. *J. Aquat. Anim. Health*, 7(4): 284-291.
- Wyban, J., Martínez, G., Sweeney, J., 1997. Adding paprika to *Penaeus vannamei* maturation diets improves nauplii quality. *World Aquaculture*, 28: 59-62.
- Yano, I., Tsukimura, B., Sweeney, J. N., Wyban, J. A., 1988. Induced ovarian maturation of *Penaeus vannamei* by implantation of lobster ganglion. *J. World Aquaculture Society*, 19: 204-209.
- Yeh, H. S., 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.