

35

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



"EFECTO CONJUNTO DE AMINAS BIOGENICAS Y  
SUS AMINOACIDOS PRECURSORES COMO  
ATRACTANTES EN ALIMENTOS PARA CAMARON  
(*Litopenaeus vannamei*) Y LANGOSTINO  
(*Macrobrachium rosenbergii*)."

T E S I S

QUE PRESENTA

ELIZABETH ALFARO LOPEZ

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER  
EL TITULO DE  
BIOLOGO

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L. MARZO DE 2001

TESIS

ELIZABETH ALFARO LOPEZ

TL

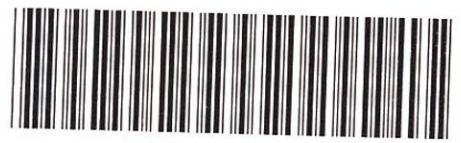
SH380

.A4

2001

c.1

2001



1080117224

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



"EFECTO CONJUNTO DE AMINAS BIOGENICAS Y  
SUS AMINOACIDOS PRECURSORES COMO  
ATRACTANTES EN ALIMENTOS PARA CAMARON  
(*Litopenaeus vannamei*) Y LANGOSTINO  
(*Macrobrachium rosenbergii*)."

T E S I S

QUE PRESENTA

ELIZABETH ALFARO LOPEZ

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER  
EL TITULO DE  
BIOLOGO

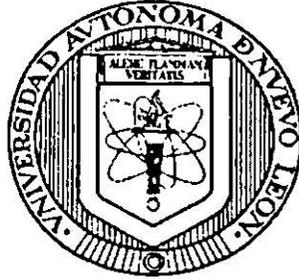
SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L. MARZO DE 2001

TL  
SH380  
A4  
2001



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



“EFECTO CONJUNTO DE AMINAS BIOGENICAS Y SUS AMINOACIDOS  
PRECURSORES COMO ATRACTANTES EN ALIMENTOS PARA CAMARON  
(*Litopenaeus vannamei*) Y LANGOSTINO (*Macrobrachium rosenbergii*).”

TESIS

QUE PRESENTA

ELIZABETH ALFARO LÓPEZ

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIOLOGO

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N.L.

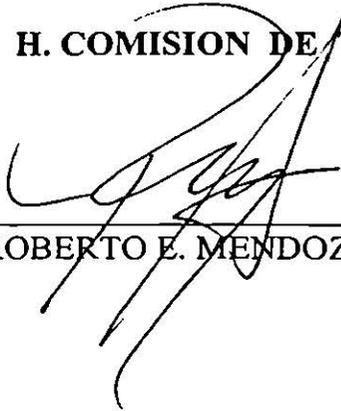
MARZO DE 2001.

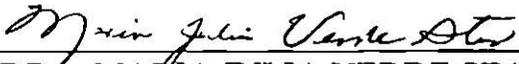
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

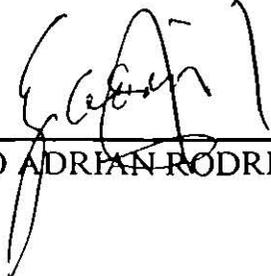
“EFECTO CONJUNTO DE AMINAS BIOGENICAS Y SUS AMINOACIDOS  
PRECURSORES COMO ATRACTANTES EN ALIMENTOS PARA CAMARON  
(*Litopenaeus vannamei*) Y LANGOSTINO (*Macrobrachium rosenbergii*).”

TESIS  
QUE PRESENTA  
**ELIZABETH ALFARO LÓPEZ**  
Como requisito para obtener el Título de  
**BIÓLOGO**

H. COMISION DE TESIS

Presidente:   
Dr. ROBERTO E. MENDOZA ALFARO

Secretario:   
DRA. MARIA JULIA VERDE STAR

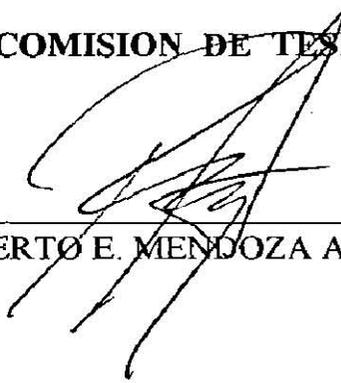
Vocal:   
M.C. GABINO ADRIAN RODRIGUEZ ALMARAZ

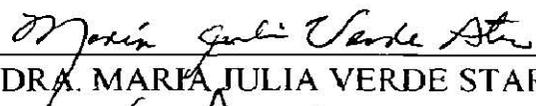
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

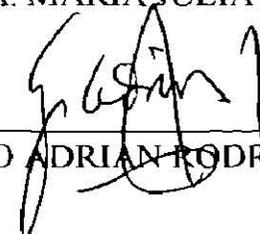
“EFECTO CONJUNTO DE AMINAS BIOGENICAS Y SUS AMINOACIDOS  
PRECURSORES COMO ATRACTANTES EN ALIMENTOS PARA CAMARON  
(*Litopenaeus vannamei*) Y LANGOSTINO (*Macrobrachium rosenbergii*).”

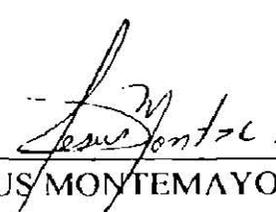
TESIS  
QUE PRESENTA  
**ELIZABETH ALFARO LÓPEZ**  
Como requisito para obtener el Título de  
**BIÓLOGO**

H. COMISION DE TESIS

Presidente:   
Dr. ROBERTO E. MENDOZA ALFARO

Secretario:   
DRA. MARÍA JULIA VERDE STAR

Vocal:   
M.C. GABINO ADRIAN RODRIGUEZ ALMARAZ

Asesor externo:   
Dr. JESUS MONTEMAYOR LEAL

## *Dedicatoria*

*A mis padres que me dieron la oportunidad de estudiar.*

*A mis Abuelos y Hermanos.*

*A esa persona que me dio la oportunidad de conocerle y quererle.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Primeramente, al Dr. Roberto Mendoza Alfaro por la dirección de este trabajo, además de todos los consejos, comentarios y el apoyo brindado en la realización de esta Tesis y durante mi estancia en el laboratorio y principalmente por la amistad que me ha brindado.

Al M.C. Gabino Rodríguez A. y la Dra. Julia Verde Star por sus comentarios.

A mis compañeros del Grupo Ecofisiología: Dr. Carlos Aguilera, Dr. Jesús Montemayor, cM.C. Oscar Loaiza, cM.C. Verónica Cortes, cM.C. Susana Vela, cM.C. Ulises Hernandez, que de alguna forma u otra colaboraron en la realización de este trabajo.

A mis compañeros de generación: Biol. Diana Caballero, Biol. Nancy Bustillos, Biol. Blanca Rangel, Adrián Varela y todos aquellos que me acompañaron a lo largo de la carrera.

A mis amigos: Aram García, Juan Carlos Hernández y Lucía Ramírez que me apoyaron durante este tiempo.

Al M.C. Gerardo Guajardo, a mis familiares y a todos aquellos que me ayudaron a concluir mi carrera.

A CONACyT por el financiamiento al proyecto "Potencial atractivo de moléculas sintéticas y de extractos animales y vegetales en dietas para crustáceos de interés comercial", Ref.: 25658-B.

Al sistema de Investigación Alfonso Reyes por el apoyo al proyecto "Inclusión de atractantes como aditivos alimenticios para incrementar la ingestión de dietas artificiales destinadas a crustáceos dulceacuícolas", Ref.: 19980601002.

## INDICE

<i>Resumen</i> .....	3
<b>I.- Introducción</b> .....	4
<b>II.- Objetivo General</b> .....	6
<b>II.1.- Objetivos Particulares</b> .....	6
<b>III.- Hipótesis</b> .....	6
<b>IV.- Antecedentes</b>	
<b>IV.1.- Especies de Importancia Comercial</b>	
<b>IV.1.1.- Langostino</b>	
<i>Características del Langostino</i> .....	7
<i>Producción</i> .....	7
<i>Hábitos alimenticios</i> .....	9
<b>IV.1.2.- Camarón blanco</b>	
<i>Características del Camarón Blanco</i> .....	10
<i>Producción</i> .....	10
<i>Hábitos alimenticios</i> .....	11
<b>IV.2.- Quimiorrecepción en crustáceos</b> .....	11
<b>IV.3.- Importancia del alimento en el cultivo</b> .....	12
<b>IV.4.- Clasificación de estímulos alimenticios</b> .....	12
<b>IV.5.- Atractantes</b>	
<b>IV.5.1.- Aminoácidos</b> .....	14
<b>IV.5.2.- Aminas Biogénicas</b> .....	16
<b>IV.5.3.- Otras moléculas atractantes</b> .....	23
<b>IV.6.- Sinergismo</b> .....	25
<b>IV.7.- Sistemas de Monitoreo</b> .....	27
<b>IV.8.- Estado Nutricional</b> .....	28
<b>IV.9.- Incorporación de Atractantes en el alimento</b> .....	28
<b>V.- Metodología</b>	-
<b>V.1.-Obtención de Muestras acuosas a partir de peces</b> .....	31
<b>V.2.-Fase I.- Bioensayo de Quimiodetección</b> .....	35
<b>V.3.-Fase II.- Bioensayo de Quimioatracción</b> .....	37
<b>V.4.-Fase III.- Bioensayo de Ingestión</b> .....	40
<b>VI.- Resultados</b>	
<b>A) <i>M. rosenbergii</i></b>	

I.- Quimiodetección.....	42
II.- Quimioatracción.....	44
III.- Bioensayo de Campo.....	45
B) <i>L. vannamei</i>	
I.- Quimiodetección.....	48
II.- Quimioatracción.....	49
III.- Bioensayo de Campo.....	51
VII.-	
Discusión.....	54
VIII.- Conclusiones.....	69
IX.- Literatura citada.....	71
X.- Anexo.....	78

## RESUMEN

El interés por desarrollar la acuicultura en México ha motivado que los investigadores busquen opciones para reducir los costos de operación, de los cuales el alimento llega a representar hasta un 50%. Una de las alternativas para mejorar la eficacia de estos es la adición de atractantes y estimulantes alimenticios en las dietas, maximizando así la ingestión y contribuyendo a mejorar las tasas de conversión alimenticia. Considerando la importancia de los aminoácidos y las aminas biogénicas como atractantes en los alimentos para crustáceos, se utilizaron diferentes moléculas tanto en forma individual, como en combinaciones de 2, 3 y 4 moléculas. Adicionalmente, se probaron muestras de solubles de pescado (*Mugil cephalus*) en descomposición. Estos tratamientos fueron probados en especies de interés comercial (*Litopenaeus vannamei* y *Macrobrachium rosenbergii*). La metodología consistió en una serie de experimentos secuenciales que permitieron identificar aquellas moléculas y sus combinaciones que lograron promover la ingestión de alimentos en condiciones de laboratorio y comerciales. Primeramente se llevo a cabo un bioensayo de quimiodetección, con el cual se determinaron las dosis óptimas en función del grado de excitación de los organismos ante la exposición a la molécula. Posteriormente, se realizó un bioensayo de quimioatracción con el fin de evaluar diferentes fases del comportamiento alimenticio, desde la percepción del estímulo hasta la ingestión, y el tiempo en que ocurrieron las mismas, al adicionar los tratamientos a una dieta antipalatante. Finalmente, en un bioensayo de campo, se probaron aquellos tratamientos seleccionados en las fases previas, contabilizando el número de pellets consumidos a diferentes tiempos (20, 40 y 80 minutos). Los resultados revelaron que los tratamientos más eficaces para *M. rosenbergii* fueron la Arginina, seguida por una fracción del soluble de pescado recolectado a las 20 horas, mientras que para la *L. vannamei*, los mejores resultados se obtuvieron tanto con la Cadaverina y la Arginina, así como con la combinación Cadaverina-Histidina-Putrescina-Arginina. Al probar las mezclas en cada uno de los bioensayos se observó que las combinaciones no mostraban un sinergismo muy marcado, concluyendo así que algunas de las moléculas y combinaciones utilizadas en el presente trabajo, resultaron ser a diferentes niveles de efectividad, atractantes, estimulantes e incitantes alimenticios, en ambas especies.

## I.- INTRODUCCION

El interés por desarrollar la acuicultura en México se ha incrementado en los últimos años, por lo que se han venido estudiando diferentes campos relacionados con esta área, siendo uno de los principales el ramo alimenticio. A este respecto, se han elaborado dietas específicas para diferentes crustáceos (camarón, langostino, acocil, entre otros), con lo cual se ha favorecido el establecimiento de sus cultivos en el país.

Asimismo, a medida que ha aumentado el conocimiento sobre los requerimientos nutricionales de los organismos, los investigadores se han preocupado por mejorar la eficacia de los alimentos. Con el propósito de asegurar el consumo de los alimentos formulados se han adicionado atractantes en las dietas, representando un ahorro considerable en los costos de operación, considerando que el alimento es uno de los insumos más onerosos, llegando a representar hasta un 50% de éstos. Por otra parte, este aspecto es igualmente relevante desde el punto de vista ecológico, puesto que la disminución del desperdicio de alimento permite preservar un ambiente adecuado para el buen desarrollo de los organismos en cultivo y, al mismo tiempo, disminuye el posible impacto ambiental causado por la liberación de los efluentes de las aguas de cultivo (Boyd y Tucker, 1995).

Entre las moléculas más utilizadas como atractantes, destacan aquellas de bajo peso molecular que son solubles en agua, tales como los aminoácidos, cuya actividad como estimuladores del comportamiento alimenticio ha sido plenamente demostrada en crustáceos (Hindley, 1975). De igual manera, se ha puesto en evidencia el efecto de algunas aminas biogénicas como disparadores de este tipo de comportamiento (Mendoza *et al.*, 1997; Tierney y Atema, 1988). Adicionalmente, se han registrado efectos sinérgicos al utilizar mezclas de

diferentes moléculas atractantes, tales como aminoácidos, aminos biogénicas, compuestos cuaternarios de amonio, etc. (Carr, 1978; Carr et al., 1948; Tierney y Atema, 1988; Lee y Meyers, 1996a y b). Bajo este contexto, el presente trabajo se orientó a demostrar el efecto conjunto de aminos biogénicos y sus aminoácidos precursores, como atractantes en alimentos para crustáceos de interés comercial, tanto dulceacuícolas (*Macrobrachium rosenbergii*), como marinos (*Litopenaeus vannamei*).

## **II.- OBJETIVO GENERAL**

Evaluar los efectos simples y combinados de aminoácidos y aminas biogénicas como atractantes y/o estimulantes alimenticios en dietas para crustáceos de interés comercial.

### **II.1.- OBJETIVOS PARTICULARES**

- Definir la secuencia del comportamiento alimenticio de *L. vannamei* y *M. rosenbergii* al ser expuestos a aminoácidos y aminas biogénicas en diferentes combinaciones y dosis.
- Determinar la combinación y dosis que resulte más eficaz para cada una de las especies.
- Comparar el efecto provocado por las aminas biogénicas sintéticas con muestras acuosas obtenidas a partir de la descomposición de peces.
- Evaluar la relación costo/beneficio de los atractantes en función de los resultados.

## **III.- HIPOTESIS**

Si las especies de crustáceos utilizadas (*L. vannamei* y *M. rosenbergii*), poseen diferentes hábitos alimenticios en relación con sus dietas naturales, entonces serán estimuladas por moléculas distintas.

## IV.- ANTECEDENTES

### IV.1.- ESPECIES DE IMPORTANCIA COMERCIAL.

*LANGOSTINO (Macrobrachium rosenbergii De Man)*

#### *CARACTERISTICAS*

Uno de los crustáceos de agua dulce y salobre con mayor potencial de producción por su cultivo en México es el langostino *Macrobrachium rosenbergii*, el cual siendo originario de la región del Indo Pacífico, ha sido introducido en varios países debido a las ventajas que presenta para su domesticación. En efecto, estos animales se caracterizan por su poca agresividad con respecto a otras especies de langostinos, rápido crecimiento, gran adaptabilidad y resistencia al manejo (Magallón, 1980).

Lo anterior, ha propiciado que en la actualidad existan varios lugares en México en donde se cultive comercialmente el langostino, y que cada día sea mayor el número de personas interesadas en esta actividad (Holtschmit, 1988b). Tal es el caso de Veracruz, Estado en el cual es cultivado en 56 de los 207 municipios ya que es muy apreciado por su sabor y su valor en el mercado (Díaz-Luna, 2000).

#### *PRODUCCION*

Para destacar la importancia de esta especie, Díaz-Luna (2000) señala que en el contexto nacional, Veracruz esta ubicado en el primer lugar en captura de langostino. Así, de 1994 a 1997 el volumen de captura se mantuvo constante entre 2000 y 2500 toneladas y para 1998 las estadísticas oficiales

reportaron un volumen de 1803 toneladas. Considerando esto, cabe mencionar que el cultivo comercial de esta especie a nivel nacional, se inició en 1984 en los estados de Veracruz, Tamaulipas, Morelos, Colima y Jalisco, y ya para 1988 existían doce laboratorios con una capacidad instalada para producir 11 millones de postlarvas por año, así como 46 unidades de producción de individuos de talla comercial, con un espejo de agua de 214.6 Has. Esto permitió alcanzar un volumen de producción de 133.62 toneladas para finales de la década de los 80's (SEPESCA, 1990). Por su parte, New (1990) reportó que la producción de langostinos en México para el año de 1987 fue de 361 toneladas, contrastando con las cifras oficiales, las cuales lo colocaban en segundo lugar entre los países productores de langostino de Latinoamérica y El Caribe, sólo superado por Brasil con 1,000 toneladas anuales.

Con respecto a su potencial de cultivo, Wiki (1998), reportó que en estanques rústicos se pueden obtener de 800 a 1,500 kg/ha/ciclo de cultivo, obteniendo individuos con un peso promedio de 30 gramos, presentando los machos un mayor tamaño que las hembras. Asimismo, menciona que en los sistemas intensivos, la producción puede aumentarse más allá de los 2,000 kg/ha/ciclo de cultivo, utilizando para esto los estanques tipo raceway. De igual manera, en la Carta Nacional de Pesca del 2000, se reportó que la producción acuícola disminuyó de aproximadamente 4,500 toneladas a menos de 125 toneladas para en 1998. Igualmente, se sabe que el langostino participa con el 1.22% en la producción en la acuicultura. Con una producción pesquera nacional de 4,193 toneladas y un volumen de producción por acuicultura en peso vivo con 51 toneladas, correspondiendo 10 ton. a la acuicultura y 41 ton. a pesquerías acuaculturales (Lorán-Muñoz y cols., 2000).

## HABITOS ALIMENTICIOS

El langostino *Macrobrachium rosenbergii* presenta hábitos alimenticios de tipo omnívoro, ya que incluye en su alimentación habitual gusanos, insectos acuáticos, pequeños moluscos y crustáceos, cadáveres de peces y otros animales, así como semillas, frutas, algas, tallos y hojas suaves de plantas acuáticas. En el estadio juvenil consumen cualquier tipo de materia orgánica, viva o muerta e incluso pueden recurrir al canibalismo (Ling, 1969; New, 1990; Holtschmit, 1988a).

De manera similar Perez-Chi (1991), reporta que no obstante que los ejemplares de *Macrobrachium americanum*, una especie muy cercana a *M. rosenbergii*, tienen una marcada preferencia por presas vivas (tubificidos y quironómidos) así como por alimentos con un alto contenido de proteína animal (pescado fresco), son igualmente capaces de alimentarse con alimentos vegetales (alfalfa), lo que refleja el carácter omnívoro de este género.

Por otra parte, Fonseca (1980), al experimentar en estanques de concreto y estanques rústicos con diferentes alimentos para *Macrobrachium* sp, incluyendo dietas ricas en proteína, como harina de pescado y alimento balanceado para pollos, encontró que al utilizar estas dietas, estas no superaban los rendimientos que se obtenían en los estanques rústicos; llegando a la conclusión que la productividad primaria, juega un papel importante para el desempeño de estos animales en los sistemas de cultivo.

#### IV.1.2.- CAMARON BLANCO (*Litopenaeus vannamei*)

##### CARACTERISTICAS

El camarón como recurso constituye, dentro del grupo de los crustáceos, uno de los más explotados en el país, por lo cual el cultivo de camarón ha sido la actividad que ha forzado el crecimiento sectorial y de las exportaciones de productos pesqueros en los últimos 6 años, haciendo que su valor alcanzara en 1999, 1,500 millones de pesos, convirtiéndose en el producto pesquero y acuícola de exportación más valioso e importante (Álvarez-Torres y cols.,2000). En México, este organismo es cultivado en varios estados, además de ser capturado a lo largo de las Costas del Pacífico y el Atlántico, en virtud de su demanda (Ayala y Valencia, 1987). Esto ha propiciado que se amplíen las zonas de cultivo, para satisfacer no solo las demandas nacionales, sino la producción destinada a la exportación.

##### PRODUCCION

El cultivo del camarón en México ha mantenido un ritmo de crecimiento positivo en su nivel de producción con 2,846 toneladas en los primeros años de su desarrollo en 1989, alcanzando las 29,120 toneladas en 1998 (Álvarez-Torres y cols., 2000).

De esta forma, la camaronicultura se ha desarrollado rápidamente ya que en 1987 en el país se contaba solamente con 27 granjas de camarón, incrementándose a 254 en 1997, y estimándose para 1998 una cantidad de 319 granjas. La producción en 1997 fue de alrededor de 17,352 toneladas métricas (mt) y para 1998 se estimó un aumento aproximado a 24,000 mt. Esto en un área de siembra de 23,000 hectareas, dividiéndose la producción en los diferentes sistemas de cultivo de la siguiente forma: 75% en semi-intensivo,

20% en extensivo y el restante 5% en sistemas intensivos (Gallagher, 1998). Mientras que en 1999 se registró una producción de 29,120 toneladas, en un área de más de 30 mil hectareas (SEMARNAP, Anuario Estadístico de Pesca, 1999).

### *HABITOS ALIMENTICIOS*

Sevilla (1983), reporta que los peneidos son predadores de pequeños animales epi-bentónicos, especialmente crustáceos, poliquetos y moluscos. Por otra parte, Morales-Ventura (1987), menciona que el género *Penaeus* en su estado postlarvario se alimenta de gasterópodos, poliquetos, bivalvos, plantas y detritos. En este sentido, Mc Tighe y Zimmerman (1991), mencionan que las postlarvas de *Penaeus* se alimentan de algas, detritos, plantas vasculares, copépodos, poliquetos, oligoquetos, anfípodos y diatomeas.

Durante la fase larval, los camarones son alimentados con nauplios de *Artemia* y al alcanzar una talla mayor se les proporcionan dietas artificiales (Ayala y Valencia, 1987), además de la productividad primaria y secundaria de los estanques en donde se cultivan, por lo que es común que ingieran pequeños crustáceos, moluscos y poliquetos, así como algunos foraminíferos (Hindley, 1975).

### *IV.2.- QUIMIORECEPCION EN CRUSTACEOS*

Los quimiorreceptores en crustáceos tienen una distribución muy amplia, estos pueden ser encontrados en las partes bucales, en las antenas y anténulas, en la cámara branquial, en los apéndices locomotores y en general sobre toda la superficie corporal (Derby y Atema, 1982). Este tipo de receptores

se dividen, en función de su estructura, en astetascos y no-astetascos. Encontrándose los astetascos en el flagelo lateral de las anténulas en donde se presentan como mechones de *sensillia* inervados por células bipolares (400,000/anténula) y los no-astetascos se localizan en las antenas, lo cuál les ayuda a percibir los químicos a distancia (Ache y Derby, 1985). Asimismo, Costero y Meyers (1993), mencionan que en los apéndices alimenticios (maxilípedos), existen hileras de pelos sensoriales que poseen prolongaciones dendríticas de neuronas sensoriales que se proyectan hasta el lóbulo olfativo del cerebro del camarón. Encontrándose la mayor concentración de quimiorreceptores en los flagelos laterales de las anténulas y en los dáctilos de los maxilípedos y los pereiópodos.

#### IV.3.-IMPORTANCIA DEL ALIMENTO EN EL CULTIVO

Holtschmit (1988) y Khajareran *et al.* (1987), mencionan que en la mayoría de los casos, el alimento es el mayor insumo en los cultivos acuícolas, representando del 50-70% del costo de producción, lo que puede significar el éxito o el fracaso de una granja, por lo cual se debe considerar la alimentación de los organismos cultivados como una actividad bioeconómica, cuyo resultado afecta directamente a la productividad y rentabilidad del cultivo (Jiménez, 1987). Por esta razón, se revela necesario contar con alimentos, que no solo cubran los requerimientos nutricionales de la especie, sino que también resulten atractivos para los organismos sin que lleguen a ser onerosos.

#### IV.4.- CLASIFICACION DE LOS ESTIMULOS ALIMENTICIOS

Son varias las características que hacen de los crustáceos excelentes

especímenes para el estudio de la quimiorrepción y el comportamiento de búsqueda. Entre éstas, destacan la posibilidad de mantenerlos en laboratorio, la exhibición de un comportamiento alimenticio claramente definido y la existencia de células quimiorreceptoras accesibles para llevar a cabo análisis electrofisiológicos (Zimmer-Faust, 1989). Esto ha permitido clasificar su respuesta comportamental y fisiológica a diferentes estímulos químicos. Sin embargo, en las primeras investigaciones realizadas sobre este aspecto, se generó cierta confusión con respecto a la clasificación de los estímulos, por lo que Lindstedt (1971) propuso unificar la terminología bajo criterios comportamentales específicos, resumiéndola de la siguiente manera (Tabla 1):

Tabla 1. - Resumen de la terminología propuesta por Lindstedt (1971)

Estímulos		
RESPUESTA	POSITIVA	NEGATIVA
Orientación (distante)	Atractante	Repelente
Orientación (cercana)	Arrestante	Repelente
Consumo del alimento	Incitante	Supresante
Continuación de la alimentación	Estimulante	Deterrente

Los estimulantes químicos son detectados por los quimiorreceptores y traducidos en reacciones fisiológicas que desembocan en una serie de reacciones comportamentales (Fig.1):

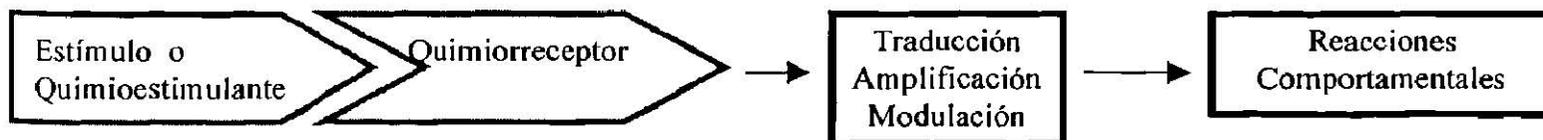


Fig. 1.- Diagrama esquemático de la interacción estímulo - receptor (Brown y Hara, 1982).

## **IV.5.-ATRACTANTES**

### **IV.5.1.- AMINOACIDOS**

Los aminoácidos libres son abundantes como osmolitos en los tejidos de todos los invertebrados acuáticos, así como de las plantas que constituyen la dieta principal de los crustáceos omnívoros (Zimmer-Faust, 1987).

Por otra parte, en el ambiente acuático se pueden producir cambios en los organismos al existir químicos específicos que pueden influir en las reacciones comportamentales, ya sea a nivel reproductivo, alimenticio, de defensa, de reconocimiento del hábitat, de migración y de interacción específica con otros organismos. Comúnmente, estos químicos son metabolitos de bajo peso molecular (aminoácidos, compuestos cuaternarios de amonio, nucleótidos, nucleósidos y ácidos orgánicos) que se presentan habitualmente en extractos acuosos de los organismos de los cuales se alimentan (Carr, 1988).

Debido a que los aminoácidos se difunden rápidamente de las presas muertas o heridas, probablemente determinan la frescura de los tejidos (Zimmer-Faust, 1987), ya que al ocurrir una degradación bacteriana, los aminoácidos libres son transformados y generan anhídrido sulfuroso, indol del triptófano y amoníaco. Igualmente, estos aminoácidos mediante reacciones de descarboxilación son transformados en aminas biogénicas.

No obstante que existen numerosos trabajos que confirman el papel attractante de los aminoácidos (Tabla 2), no es posible generalizar su efecto como inductores de la alimentación, puesto que las investigaciones se han limitado al estudio de solo algunos de ellos y únicamente con ciertas especies,

por lo cual aún existe cierto desconocimiento sobre el potencial de la mayor parte de éstos.

Tabla 2- Resumen de los bioensayos realizados con aminoácidos como atractantes alimenticios para diferentes especies.

AMINOACIDOS	ORGANISMO	RESULTADO	AUTOR
Arginina, Alanina	<i>Ostrina sp.</i>	Positivo	Beck y Hanec, 1958 <sup>a</sup>
Glicina	<i>Cambarus sp.</i>	Positivo	Hodgson, 1958
Alanina, Prolina, Tirosina, Ác. Glutámico	<i>Homarus americanus</i>	Positivo	McLeese, 1970
Arginina	<i>Penaeus japonicus</i>	Positivo	Kitabayashi et al., 1971 <sup>b</sup>
Lisina, Arginina	<i>Penaeus merguensis</i>	Positivo	Hindley, 1975
Ácido L-Glutámico, Glicina, Taurina	Crustáceos Decápodos en General	Positivo	Hainen, 1980
L-Glutamato, Glicina, Taurina, Hidroxi-L-Prolina, L-Aspartato, L-Arginina	<i>Homarus americanus</i>	Positivo	Derby y Atema, 1982
Arginina y Lisina	<i>Homarus americanus</i>	Positivo	Carter y Steele, 1982 <sup>b</sup>
Arginina, Lisina Taurina	<i>Orconectes limosus</i>	Positivo	Hatt, 1984
Isoleucina	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Positivo	Holland, 1985
Taurina, Glicina Arginina	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Positivo	Harpaz et al., 1987
Arginina	<i>Penaeus japonicus</i>	Positivo	Nakamura, 1987 <sup>b</sup>
L-Isoleucina, Glicina, Hidroxi-L-Prolina, L-Glutamato, L-Valina	<i>Orconectes virilis</i>	Positivo	Tierney y Atema, 1988
L-Glutamato y Glicina	<i>Orconectes rusticus</i>	Positivo	Tierney y Atema, 1988
Glicina, Taurina	<i>Panulirus argus</i>	Positivo	Derby y Atema, 1988
L-Arginina y Taurina	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Positivo	Derby y Harpaz, 1988
Valina y Alanina	<i>Uca longisignalis</i> <i>Uca pugilator</i>	Positivo	Weissburg y Zimmer-Faust, 1991
Glicina	<i>Panulirus interruptus</i>	Positivo	Zimmer-Faust, 1991

L-Glutamato, Taurina, Hidroxi-L-Prolina y L-Arginina	<i>Homarus americanus</i>	Positivo	Corotto <i>et al.</i> , 1992
Hidroxi-L-Prolina y Taurina	<i>Homarus americanus</i>	Positivo	Voight y Atema, 1992

<sup>a</sup> citados por Lee y Meyers, 1995; <sup>b</sup> citados por Lindstedt, 1971

#### IV.5.2.- AMINAS BIOGENICAS

Las aminas biogénicas, al utilizarse en bajas concentraciones, pueden resultar atractantes como en el caso de *Orconectes rusticus*, el cual resultó ligeramente estimulado por la Putrescina (Tierney y Atema, 1987), al igual que con *Macrobrachium rosenbergii*, el cual fue atraído por esta amina además de la Cadaverina (Mendoza *et al.*, 1997).

Las aminas biogénicas se presentan normalmente en condiciones de descomposición de la materia orgánica, como resultado de la degradación de diferentes aminoácidos (Gouygou *et al.*, 1989). Esto ocurre al existir proteólisis y una descarboxilación subsecuente. La formación de estas moléculas inicia después de la muerte del organismo, en este momento los sistemas de regulación cesan sus funciones, se detiene el suplemento de oxígeno y por consecuencia, la producción de energía. Las células comienzan una nueva serie de procesos caracterizados por la descomposición del glucógeno (glicólisis) y la degradación de compuestos ricos en energía, tales como el ATP (Mendoza *et al.*, 1997).

Al no haber regeneración por medio de fosfágenos (creatina-fosfato), el ATP se degrada mediante una serie de reacciones de desfosforilación y desaminación hasta convertirse en Inosina monofosfato (IMP), la cual a su vez se degrada en Inosina (HxR) y ésta en Hipoxantina (Hx) y Ribosa (R) (Fig. 2).

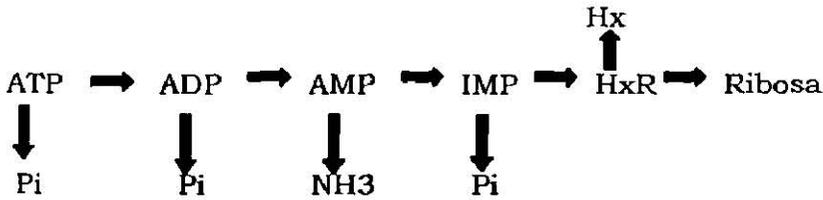


Figura 2. - Proceso de degradación del ATP (Regestein y Regestein, 1991).

Como consecuencia de la falta de suministro de ATP se desarrolla lo que comúnmente se denomina *rigor mortis* (Huss, 1988). Fenómeno después del cual inicia la degradación bacteriana, este mecanismo se activa en los organismos hasta pasado el *rigor mortis*, cuando las fibras musculares empiezan a liberar un líquido con metabolitos y bases nitrogenadas. El proceso se ve acelerado por la falta de oxígeno y una temperatura elevada, permitiendo un mayor desarrollo bacteriano, lo que da lugar a la putrefacción o descomposición de las proteínas, produciéndose sustancias tales como sulfuro de hidrógeno, mercaptanos, indol, escatol, amoniac, aminos, trimetilamina, etc. (Frazier y Westhoff, 1987).

De manera concomitante, la falta de oxígeno ocasiona que la glicólisis se desarrolle en condiciones anaerobias, resultando el ácido láctico como producto final, el cual causa una disminución en los valores de pH y por lo tanto, en la capacidad de las proteínas para retener agua, favoreciendo así, las condiciones para el desarrollo de la actividad bacteriana y enzimática. De esta forma, las proteínas se descomponen en péptidos mediante la acción de las catepsinas, que finalmente son hidrolizados en aminoácidos y por último degradados (descarboxilados) en aminos biogénicas, por medio de las enzimas bacterianas (Montemayor, 1995) (Fig. 3).

Siguiendo con el proceso de descomposición, las bacterias actúan en el músculo de organismos acuáticos, usando compuestos nitrogenados, particularmente el óxido de trimetilamina (TMAO), para producir, mediante degradación enzimática, compuestos aromáticos y volátiles. De esta forma se produce la trimetilamina que es un compuesto derivado del TMAO (Regenstein y Regenstein, 1991).

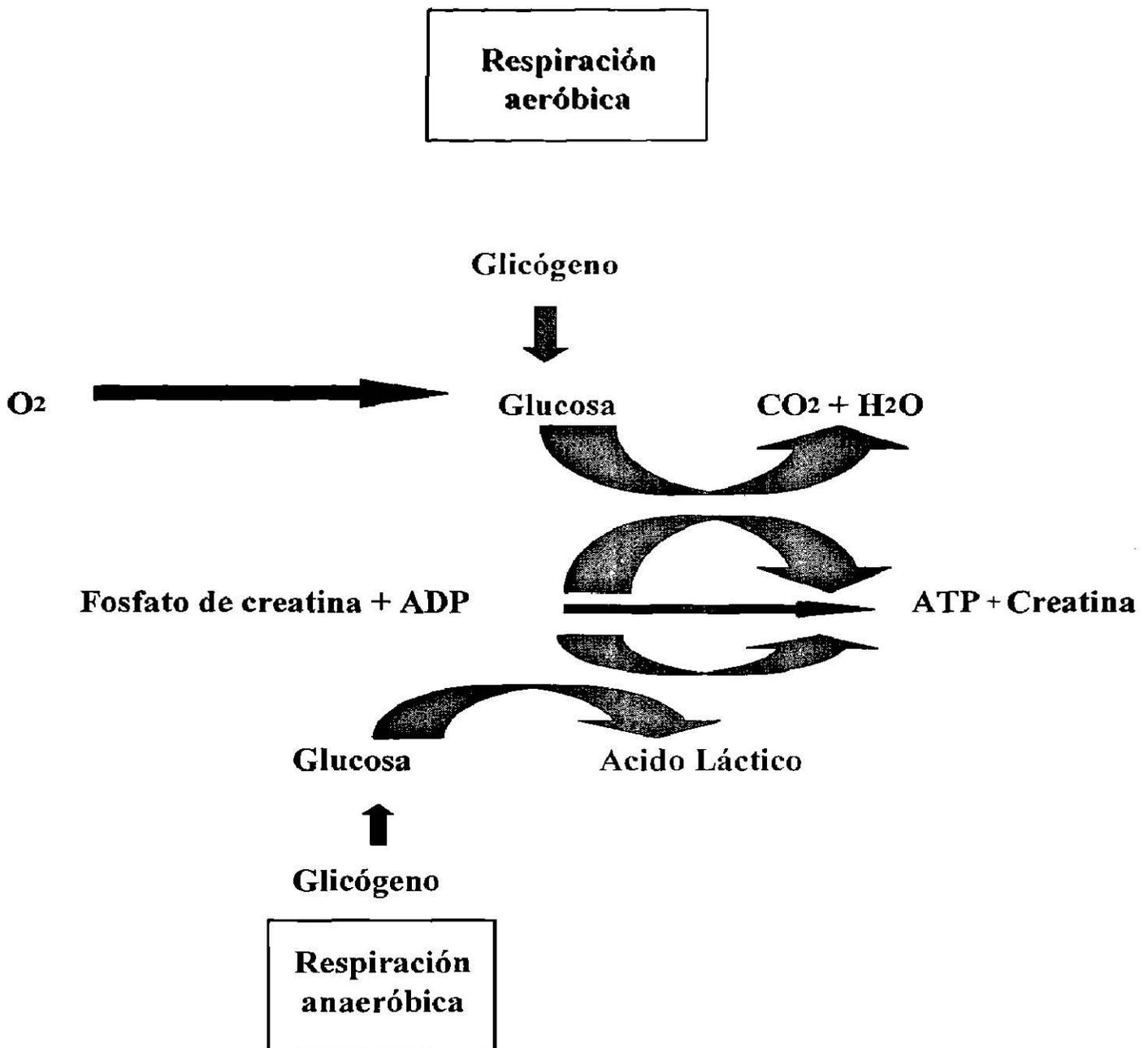


Figura 3. - Proceso de descomposición aeróbica y anaeróbica del glicógeno.

Uno de los factores cuyo papel es primordial dentro del proceso de descomposición es la presencia de la flora bacteriana tanto en la superficie (piel y branquias), como en el intestino del organismo recién muerto. Asimismo, van

a influir el tipo de organismo, las condiciones en que se encuentre éste antes de su muerte, la temperatura, el grado de contaminación bacteriana, y la temperatura de almacenamiento, entre otras (Hall, 1997).

Los cambios posteriores a la muerte del organismo se resumen en la Fig.4

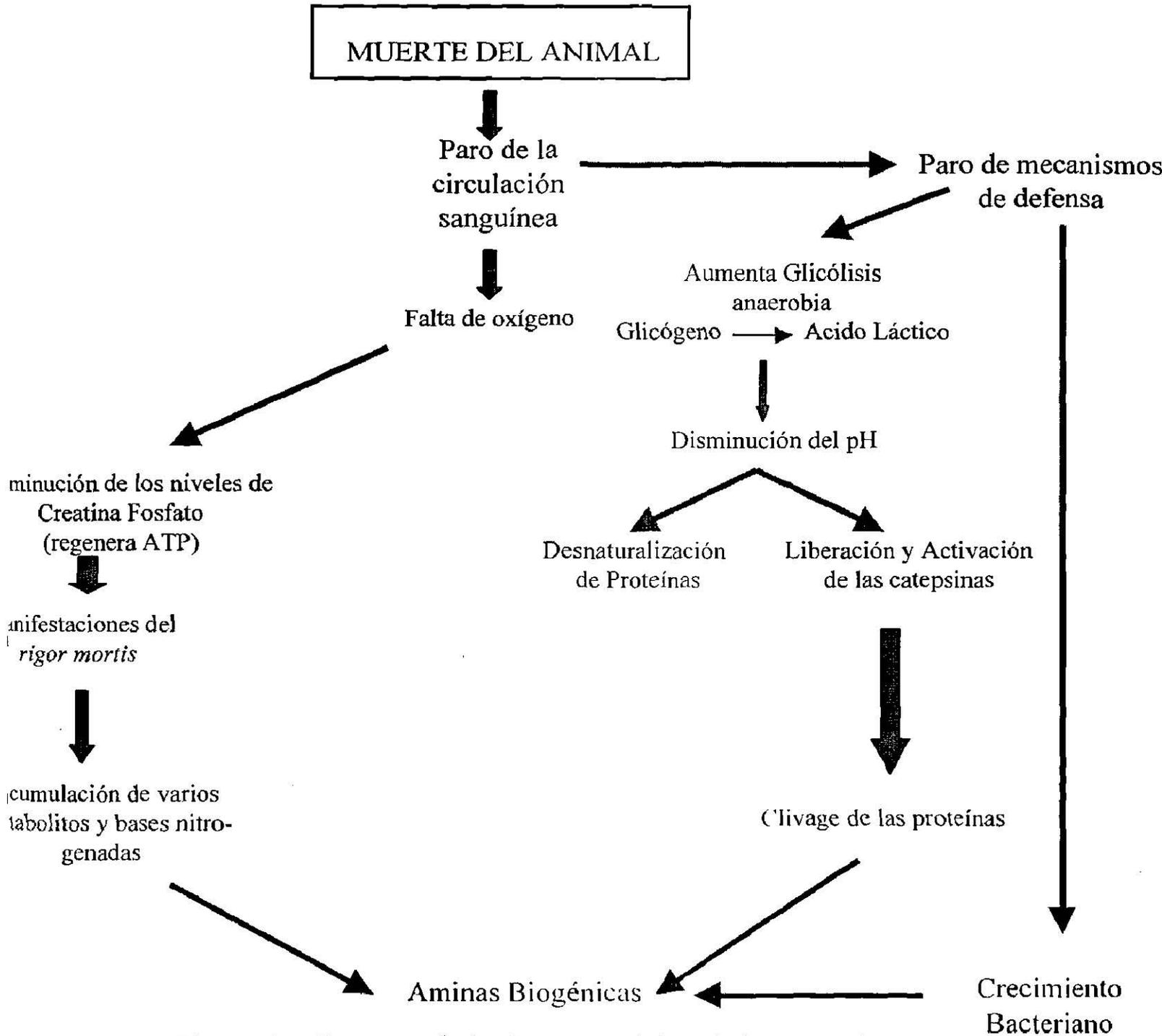


Figura 4.- Procesos de la descomposición de los organismos

Los mecanismos regulares de detoxificación y excreción de los organismos implican desaminación y descarboxilación. La desaminación siendo una función metabólica habitual del proceso de transaminación, es el mecanismo más común para llevar a cabo la degradación de los aminoácidos, dependiendo de las condiciones ambientales y la constitución enzimática de los organismos. Por otra parte, la descarboxilación genera la producción de aminas por eliminación del grupo  $\alpha$  carboxilo de los aminoácidos vía la descarboxilasa que se presenta en todos los organismos. Esto ocurre al formar un complejo enzima/fosfato piroxidal/ácido, que en la transaminación bajo la acción catalítica de la descarboxilasa rompe el enlace  $\alpha$  carboxilo y libera las aminas (Bohinski, 1991).

Considerando los procesos anteriores, en la Tabla 3 se enlistan los aminoácidos precursores y sus aminas biogénicas resultantes.

Tabla 3.- Principales aminas biogénicas.

AMINOÁCIDO PRECURSOR	AMINA BIOGÉNICA
Arginina	Putrescina y Agmatina
Ornitina	Putrescina-Espermidina
Lisina	Cadaverina
Tirosina	Tiramina
Histidina	Histamina

Fuente: Zaldivar (1992) y Poole (1993).

#### FACTORES EN LA FORMACION DE LAS AMINAS BIOGENICAS: TIEMPO Y TEMPERATURA

Gallegillos (1993), reporta que en el pescado, el crecimiento bacteriano después de 24 horas, puede producir hasta 2,000 ppm de Histamina, ésto a una temperatura ambiente de 18 a 20°C. Al igual que la Histamina, la Cadaverina se forma durante el almacenamiento de arenques (*Clupea*

*harengus*) y caballa (*Scomber scombrus*) enteros (Klausen y Lund, 1986), en forma directamente proporcional a la temperatura (más rápidamente a 10°C que a 2°C). Asimismo, Susuki *et al.* (1994), mencionan que la Putrescina y la Cadaverina se presentan en el arenque seco (*Clupea pallasii*) a partir del primer día, llegando a su punto máximo a los 3 y 4 días, respectivamente, siendo la Espermidina y Agmantina las que más se producen al cuarto día.

### *PRESENCIA Y FUNCION DE LAS AMINAS BIOGENICAS EN LOS ORGANISMOS*

Como se mencionó anteriormente, las aminas biogénicas están presentes en la mayoría de los tejidos tanto animales como vegetales, así como en los microorganismos. Estas desarrollan diferentes funciones dentro de todos los organismos, tales como la producción de ácido clorhídrico (Histamina) y en dosis fisiológicas el aumento de la actividad cardíaca (Tiramina), pero al exceder estas dosis pueden causar cefalea, disminución de la circulación en el tracto digestivo (Tiramina), reacciones alérgicas e intoxicaciones (Histamina). De igual manera, la Cadaverina y la Putrescina, pueden actuar como potencializadores de la acción tóxica de la histamina (Gallegillos, 1993).

En algunas especies, las aminas biogénicas también juegan cierto papel como promotoras de crecimiento cuando se emplean a bajas concentraciones, como ha sido observado con la Putrescina al ser utilizada como suplemento en alimento para pollos, registrándose un incremento en el crecimiento al adicionarle una dosis de 0.2%, no obstante, este efecto no se logró encontrar cuando se adicionó Putrescina al alimento para truchas (Cowey y Cho, 1992), ya que el tiempo que tarda la digestión en la trucha (36 horas), es suficiente para que actúe la enzima diaminoxidasa, por lo que se encontró que la amina que se había incluido en la dieta no era completamente aprovechada en el momento de la digestión.

## DETECCION

En los últimos años se han utilizado diferentes criterios para determinar el estado de frescura de la harina de pescado, uno de estos es el índice de Bai, desarrollado especialmente para productos de origen marino. La elección de este índice esta basada en la observación del aumento de los niveles de Histamina, Putrescina y Cadaverina, de manera paralela a una disminución en la concentración de Espermidina. La relación directa que existe entre la cantidad y variedad de estas aminas y el estado detrimental de pescados y mariscos, han hecho de este índice uno de los más utilizados (Gallegillos, 1993; Castro, 1992).

Existen una gran cantidad de métodos y técnicas utilizadas para la detección, identificación y determinación de aminas biogénicas entre las cuáles destacan: la cromatografía líquida de alta precisión ó HPLC (Merck, 1981; Samejima *et al.*, 1976; Susuki *et al.*, 1994), HPLC/detección con fluorescencia (Ingles *et al.*, 1985), cromatografía líquida con intercambio de cationes (Ingles *et al.*, 1985), cromatografía de gas (Smith, 1970), cromatografía líquida con intercambio de iones (Cohen, *et al.*, 1969), electroforesis (Raina, 1963), analizador de amino ácidos (Fujita *et al.*, 1980), entre otros.

### IV.5.3.- OTRAS MOLÉCULAS ATRACTANTES

Los aminoácidos no son las únicas moléculas que funcionan como atractantes o estimuladores del comportamiento alimenticio. En algunos extractos acuosos de crustáceos decápodos, se han registrado moléculas de mayor peso molecular (superior a 10,000 KDa) que poseen actividad atractante (Carr *et al.*, 1984). Además, existen otras moléculas de bajo peso molecular

tales como nucleótidos, ácidos orgánicos, aminas terciarias y cuaternarias, así como azúcares, entre otros, que también proveen una actividad atractante. En la Tabla 4 se presentan los resultados obtenidos en bioensayos realizados con Betaina, Trimetilamina, Nucleótidos, Aminas Biogénicas y Azúcares.

Tabla 4.- Estudios realizados en los cuales se probaron diferentes moléculas como atractantes alimenticios para organismos acuáticos.

ORGANISMO	MOLECULA	GRUPO	RESULTADO	AUTOR
<i>Cambarus sp.</i>	TMAO	C.C. de A.	Positivo	Hodgson, 1958 <sup>b</sup>
<i>Lagodon rhomboides</i>	Betaina	C.C. de A.	Positivo	Carr y Chaney, 1976
<i>Penaeus mergiensis</i>	Urea	C.C. de A.	Negativo	Hindley, 1975
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Betaina	C.C. de A.	Negativo	Sick, 1976
<i>Palaemonetes pugio</i>	Betaina	C.C. de A.	Positivo	Carr 1978 <sup>a</sup>
<i>Palaemonetes pugio</i>	Monofosfato de Adenosina 5' (AMP)	Nucleótido	Positivo	Carr y Thompson, 1983
<i>Palaemonetes pugio</i>	ATP	Nucleótido	Negativo	Carr y Thompson, 1983
<i>Orconectes limosus</i>	Betaina	C.C. de A.	Positivo	Hatt, 1984
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	TMAH	C.C. de A.	Positivo	Costa-Pierce y Laws, 1985
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Betaina y Trimetilamina	C.C. de A.	Positivo*	Harpaz et al., 1987
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	AMP y (difosfato)	Nucleótido	Positivo*	Harpaz et al., 1987
<i>Orconectes rusticus</i>	Putrescina	A.B.	Positivo	Tierney y Atema, 1988
<i>Orconectes rusticus</i>	Celobiosa, Sucrosa y Maltosa	Glucidos	Positivo	Tierney y Atema, 1988
<i>Panulirus sp.</i>	AMP	Nucleótido	Negativo	Zimmer-Faust, 1987
<i>Panulirus argus</i>	Betaina	C.C. de A.	Positivo	Derby y Atema, 1988
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Betaina	C.C. de A.	Positivo	Derby y Harpaz, 1988 <sup>a</sup>
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Betaina-HCl	C.C. de A.	Positivo	Harpaz, 1990

<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Betaina	C.C.de A.	Positivo*	Harpaz y Steiner, 1990
<i>Homarus americanus</i>	Betaina, Cloruro de Amonio	C.C. de A.	Positivo	Corotto <i>et al.</i> , 1992
<i>Penaeus vannamei</i>	Langobuds	Atract. Comercial	Positivo	Costero y Meyers, 1993 a
<i>monodon</i>	Betaina/Glicina	C.C. de A	Negativo	Hartati y Briggs, 1993
<i>Penaeus monodon</i>	Langobuds	Atract. Comercial	Positivo	Miller, 1993
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Putrescina y Cadaverina	A.B.	Positivo	Mendoza <i>et al.</i> , 1997

C.C. de A.: Compuestos Cuaternarios de Amonio.

A.B.: Aminas Biogénicas

\*Resultados obtenidos mediante técnicas electrofisiológicas

<sup>a</sup> citados por Lee y Meyers, 1995; <sup>b</sup> citados por Lindstedt, 1971

TMAO= oxido de trimetilamina

TMAH= trimetilamonio hidrociorado

#### IV.6.- SINERGISMO

Sinergismo es la acción cooperativa de dos o más compuestos, de manera que la respuesta total es mayor que la suma de las acciones independientes, lo cual ocurre cuando hay una interacción entre los compuestos individuales en una mezcla y sus valores de atractabilidad en ésta aumenta con respecto al potencial de los compuestos en forma individual (Rifkin y Bartoshuk, 1980).

En bioensayos realizados con camarones, se han utilizado, en concentraciones definidas, mezclas de substancias de bajo peso molecular (aminoácidos, nucleótidos, nucleósidos, lactato y compuestos cuaternarios de amonio), las cuales originan respuestas sinérgicas al ser mezclados.

Por otra parte, existen evidencias de que el sinergismo puede ocurrir cuando las moléculas se encuentran en bajas concentraciones en las mezclas, sin embargo, si las moléculas se presentan en altas concentraciones, ocurre un fenómeno de inhibición de las reacciones comportamentales denominado

supresión (Carr y Derby, 1986a). En la Tabla 5 se enlista un resumen de diferentes estudios en los que se han empleado distintas mezclas de moléculas, con el fin de observar la respuesta que provocan en diversas especies de crustáceos.

Tabla 5.- Resumen de algunos trabajos realizados con mezclas de moléculas para observar su efecto sinérgico en distintas especies.

MEZCLAS	GRUPO o ESPECIE	RESULTADO	AUTORES
Betaina + Arginina	<i>Palaemonetes pugio</i>	Positivo	Carr , 1978
Glutamina + Betaina + Taurina	<i>Penaeus monodon</i>	Positivo	Hainen, 1980
Aminoácidos + Betaina + AMP + ADP + ATP + IMP + Ac. Láctico + TMAO + Homarina	<i>Palaemonetes pugio</i>	Positivo	Carr et al., 1984
Betaina + Alanina + Arginina + Cisteina + Glicina + Lisina + Histidina + Serina + Prolina + Tirosina + Valina + Taurina + Ac. Aspártico	<i>Palaemonetes pugio</i>	Positivo	Carr et al., 1984
Aminoácidos + Lactato + Nucleótidos + Nucleósidos + Compuestos cuaternarios (Betaina, Homarina y TMAO).	<i>Palaemonetes pugio</i>	Positivo	Carr y Derby, 1986b
Glicina + Putrescina + Glicina	<i>Orconectes rusticus</i>	Positivo	Tienery y Atema, 1988
Triptofano + Tirosina	<i>Orconectes virilis</i>	Positivo	Tienery y Atema, 1988
Arginina + Tirosina + Histidina + Cisteina + Glicina + Lisina	<i>Penaeus monodon</i>	Positivo	Hartati y Briggs, 1993
ADP + AMP + Adenosina	Crustáceos	Negativo	Lee y Meyers, 1996 <sup>a</sup>
Glicina + Alanina + Serina + Succinato + Oxalato	<i>Palinurus argus.</i>	Positivo	Lee y Meyers, 1996b
Glicina + Alanina + Taurina	Crustáceos	Negativo	Lee y Meyers, 1996 <sup>a</sup>
Betaina + Alanina + Lisina + Prolina + Cisteina	<i>Penaeus monodon</i>	Positivo	Coman et al., 1996

Betaina + Glicina o Alanina	Crustáceos	Positivo	Guerin, 1998
-----------------------------	------------	----------	--------------

#### IV.7.- SISTEMAS DE MONITOREO PARA BIOENSAYOS DE QUIMIOESTIMULANTES

Para realizar investigaciones sobre el efecto de quimioestimulantes en el comportamiento de los organismos acuáticos, se recomienda el empleo de sistemas de videofilmación, lo que permite observar detenidamente las respuestas que presentan los organismos a diferentes moléculas y/o para medir las preferencias hacia determinado estímulo (Hill y Wassenberg, 1987; Harpaz y Steiner, 1990). Lo anterior presenta ventajas tales como una reducción en el estrés infligido al organismo utilizado y, adicionalmente facilita la detección de las diferentes fases comportamentales que presentan y el tiempo preciso en que se llevaron a cabo, así como la realización de observaciones múltiples de ciertos eventos por más de una persona (Jobling *et al.*, 1995).

#### IV.8.-ESTADO NUTRICIONAL DE LOS ORGANISMOS

En términos generales, es recomendable trabajar con organismos sometidos a un período previo de ayuno que va de 24 horas hasta varios días, esto con la finalidad de acentuar las respuestas y evitar cualquier tipo de acondicionamiento hacia alguna dieta en particular (Costero y Meyers, 1993a).

Si no se considera lo anterior, el organismo puede presentar un acondicionamiento ingestivo debido a factores preingestionales (gusto, textura, forma del pellet, etc.) o postingestionales (digestibilidad, asimilación o valor

nutricional) (Lee y Meyers, 1995). Por lo tanto, la privación del alimento antes de una prueba tiene un efecto directo en el umbral de detección, en tanto que la adaptación a los químicos asociados con el alimento puede observarse con la reducción en la detección de los estímulos (Kurmaly *et al.*, 1990).

#### *IV.-9.- INCORPORACION DE LOS ATRACTANTES EN EL ALIMENTO*

Lee y Meyers (1995), mencionan que las técnicas utilizadas en la acuicultura, en estudios de estimulación química para aumentar el consumo del alimento son:

- a) Incorporación de atractantes en el alimento antes de procesarlo.
- b) Incorporación de atractantes en el alimento inmediatamente después de su procesamiento.
- c) Incorporación de atractantes en el alimento momentos antes de ser ofrecido a los organismos.
- d) Los atractantes pueden ser adicionados por separado al agua en el momento de la alimentación.

La utilización de cualquiera de estos métodos va a depender de la estabilidad del attractante, así como del manejo del alimento en la granja y el costo que implique su inclusión.

#### *FACTORES CRITICOS EXPERIMENTALES*

Lee y Meyers (1995), mencionan algunos aspectos que contribuyen a evitar que los resultados de los estudios de quimiorrecepción se vean afectados por diversos factores al momento de realizarlos; entre los cuales se deben

tomar en cuenta los siguientes:

- Diseñar un aparato que pueda garantizar que no exista interferencia alguna ocasionada por estímulos externos al experimento.
- Se sugiere utilizar algún protocolo experimental que minimice los efectos que pueda causar el observador, lo que se puede lograr videofilmando el comportamiento para después analizarlo con detenimiento.
- Se recomienda utilizar un solo animal en las primeras etapas de identificación de los quimioattractantes y estimulantes alimenticios. Así mismo, al realizar las pruebas de campo se pueden utilizar un número mayor de organismos y de esta forma evaluar la aplicación práctica de los atractantes.
- Estandarizar las respuestas de acuerdo al comportamiento de cada especie.
- No alimentar a los organismos durante 24 hrs antes de trabajar con ellos.
- Usar métodos estadísticos de acuerdo al número de organismos con los que se hayan trabajado.

Además, con la tecnología reciente puede agregarse a estas sugerencias el análisis de imágenes por computadora.

## V. METODOLOGIA

Se utilizaron dos especies de crustáceos de interés comercial, una dulceacuícola (*Macrobrachium rosenbergii*) y la otra marina (*Litopenaeus vannamei*). Únicamente se emplearon organismos juveniles en fase de intermuda, la cual se determinó por setogénesis para evitar cualquier posible interferencia de este fenómeno sobre el proceso de percepción, como lo señalan Harpaz *et al.*, (1987). Los ejemplares se mantuvieron con un fotoperíodo de 12-12 hrs (luz-obscuridad) y fueron acondicionados a una dieta base (Tabla 6) durante 72 hrs aproximadamente antes del período de inanición.

Los tratamientos fueron seleccionados considerando los resultados obtenidos en bioensayos previos (Montemayor, 2000) en donde se probaron Aminoácidos (Arginina, Histidina, Lisina, Tirosina) y Aminas Biogénicas (Putrescina, Histamina, Cadaverina, Tiramina, Espermidina y Espermina), además se seleccionaron aquellas moléculas con las cuales el valor obtenido fue mayor o igual a 3, considerando la escala de valores de Pittet *et al.* (1996), eligiéndose así las siguientes moléculas para ambas especies.

- 1) Cadaverina
- 2) Putrescina
- 3) Arginina
- 4) Histidina

Las moléculas se obtuvieron con una pureza no menor al 98% en la Compañía *Sigma -Aldrich*.

## TRATAMIENTOS

Para cada especie se llevaron a cabo todas las combinaciones posibles (2, 3 y 4 moléculas) en concentraciones iguales. Adicionalmente se evaluaron el potencial attractante de las muestras acuosas a partir de peces (*Mugil cephalus*) obtenidas a diferentes tiempos de descomposición. Para la obtención de la muestra acuosa se procedió de la siguiente forma:

### V.1.- OBTENCION DE MUESTRAS ACUOSAS A PARTIR DE PECES EN DESCOMPOSICIÓN.

Ejemplares eviscerados de lisa (*Mugil cephalus*) fueron colocados en una cámara húmeda a temperatura ambiente (20-25°C), esto con la finalidad de acelerar el proceso de descomposición. Las muestras fueron colectadas cada 4 horas durante 56 horas, iniciando la toma de tiempo inmediatamente después de adicionarle agua (500 ml/1 Kg). Cada una de las muestras obtenidas fueron congeladas hasta el momento en que se utilizaron para ser probadas como attractantes. Cada muestra (3 ml) se tomó de la cámara húmeda utilizando una jeringa graduada, después de una homogenización previa (Fig.5).

Posteriormente, y para complementar nuestro trabajo se determinó la concentración de proteína de cada homogenizado, mediante lecturas a 280 nm ( $A_{280}$ ), realizándose el proceso de la siguiente manera:

Se llevaron a cabo lecturas de los solubles de pescado para determinar la proteína total, posteriormente se centrifugó a una temperatura de 4°C a 4,500 rpm por 15 minutos, estimando la cantidad de proteína soluble. Paralelamente, se centrifugó (4°C a 4,500 rpm por 15 min) y se precipitó un ml. de cada

muestra con TCA al 10%, para medir el Nitrógeno no proteico de estos tratamientos.

## TRATAMIENTOS

### *L. vannamei* y *M. rosenbergii*

- 1) Cadaverina (C)
- 2) Putrescina (P)
- 3) Arginina (A)
- 4) Histidina (H)
- 5) Cadaverina-Putrescina (C-P)
- 6) Cadaverina-Arginina (C-A)
- 3) Cadaverina-Histidina (C-H)
- 4) Putrescina-Arginina (P-A)
- 5) Putrescina-Histidina (P-H)
- 6) Arginina-Histidina (A-H)
- 7) Cadaverina-Putrescina-Arginina (C-P-A)
- 8) Cadaverina-Putrescina-Histidina (C-P-H)
- 9) Putrescina-Arginina-Histidina (P-A-H)
- 10) Cadaverina-Putrescina-Arginina-Histidina (C-P-A-H)
- 11) Muestra líquida extracto acuoso de pescado en descomposición (lisa, 14 muestras)

Extracto acuoso de pescado # 1: 4 hrs (*ExA 4*)

Extracto acuoso de pescado # 2: 8 hrs (*ExA 8*)

Extracto acuoso de pescado # 3: 12 hrs (*ExA 12*)

Extracto acuoso de pescado # 5: 20 hrs (*ExA 20*)

Extracto acuoso de pescado # 6: 24 hrs (*ExA 24*)

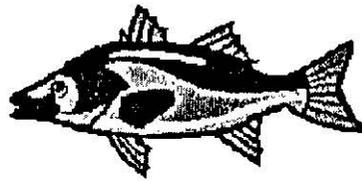
Extracto acuoso de pescado # 7: 28 hrs (*ExA 28*)

Extracto acuoso de pescado # 8: 32 hrs (*ExA 32*)  
Extracto acuoso de pescado # 9: 36 hrs (*ExA 36*)  
Extracto acuoso de pescado # 10: 44 hrs (*ExA 44*)  
Extracto acuoso de pescado # 11: 48 hrs (*ExA 48*)  
Extracto acuoso de pescado # 12: 52 hrs (*ExA 52*)  
Extracto acuoso de pescado # 13: 56 hrs (*ExA 56*)

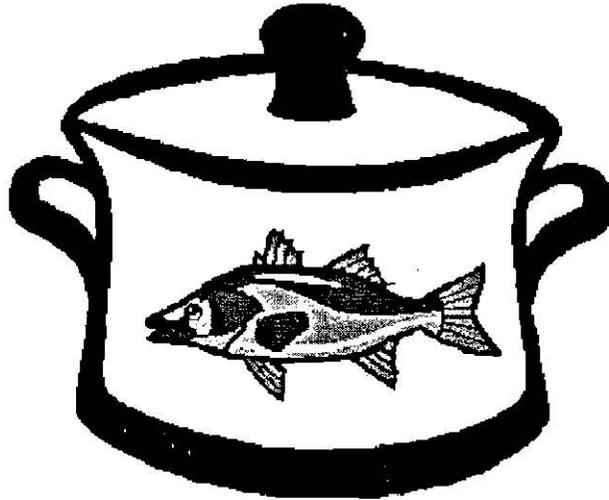
La metodología que se empleó se dividió en tres fases:

1. - Fase de quimiodetección (*Pittet et al.*, 1996 modificado) (ver V.1).
2. - Fase de quimioatracción (*Costero y Meyers*, 1993a modificado) (ver V.2).
3. - Fase de campo (*Mendoza et al.*, 1997) (ver V.3).

Los experimentos se llevaron a cabo con 16 ejemplares sometidos a un periodo de inanición de 24 horas.



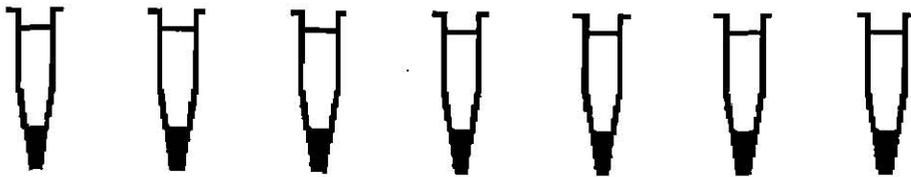
PESCADO FRESCO



CAMARA HUMEDA  
(10%), TEMP: 25°C



COLECTA  
DE  
MUESTRA



ALICUOTAS EN EPPENDORF

Figura 5.- Obtención de Muestras de extracto acuoso de pescado en descomposición a diferentes tiempos.

## V.1.- FASE DE QUIMIODETECCION

Se realizó una modificación a la metodología propuesta por Pittet *et al.* (1996). Dicha modificación consistió en la utilización de una sola videocámara colocada en la parte frontal con respecto a la posición de los individuos, esto para evaluar cualitativamente el grado de excitación del organismo en presencia de las moléculas que fueron probadas.

El equipo utilizado incluyó un acuario de 15 x 10 x 15 cm, el cual contenía 1 litro de agua, este se mantuvo cubierto en su exterior por un túnel de madera color negro, colocándose al final una video-cámara, tal y como se muestra en la Figura 6. Después de colocar dentro del túnel el acuario conteniendo al organismo, se incorporaron las moléculas sintéticas o las muestras de los extractos acuosos de pescado potencialmente atractantes, en las dosis registradas según el tratamiento. Las muestras fueron colocadas en un eppendorf y aforadas a 1 ml con agua dulce o salada de acuerdo a la especie. Posteriormente, se realizó una curva dosis - respuesta para cada uno de los tratamientos probados con la finalidad de determinar la dosis óptima, la cual se utilizó para los bioensayos subsecuentes. En caso de una respuesta negativa, el volumen del extracto acuoso de pescado fue aumentado (10, 20, 30, 40 y 50  $\mu$ l) gradualmente. Contrariamente, en caso de presentarse una respuesta positiva, este volumen se redujo hasta determinar el nivel mínimo necesario para obtener una respuesta. La secuencia de movimientos comportamentales que definen las diferentes fases de atracción de los crustáceos fue registrada mediante videofilmación. La duración de cada bioensayo fue de tres minutos, ya que en pruebas preliminares se estimó que si no existían evidencias de detección del estímulo durante este tiempo, no se presentarían después. Se tomaron en cuenta los movimientos de los organismos considerando su comportamiento alimenticio, registrándose según

la escala de actividad establecida por Pittet *et al.*, 1996 (Tabla 6). Como testigo negativo se utilizó agua dulce o marina, dependiendo de la especie empleada en cada prueba.

Tabla 6.- Escala numérica que muestra los niveles de actividad relacionados con el comportamiento alimenticio (Pittet *et al.*, 1996).

Escala	Actividad
0	Sin reacción aparente.
1	Movimiento esporádico de los maxilípedos: sin actividad antenular.
2	Movimiento regular de los maxilípedos: sin actividad antenular.
3	Movimiento regular de los maxilípedos: actividad antenular esporádica.
4	Movimiento continuo de los maxilípedos: actividad antenular esporádica.
5	Movimiento continuo de los maxilípedos: actividad antenular extrema.

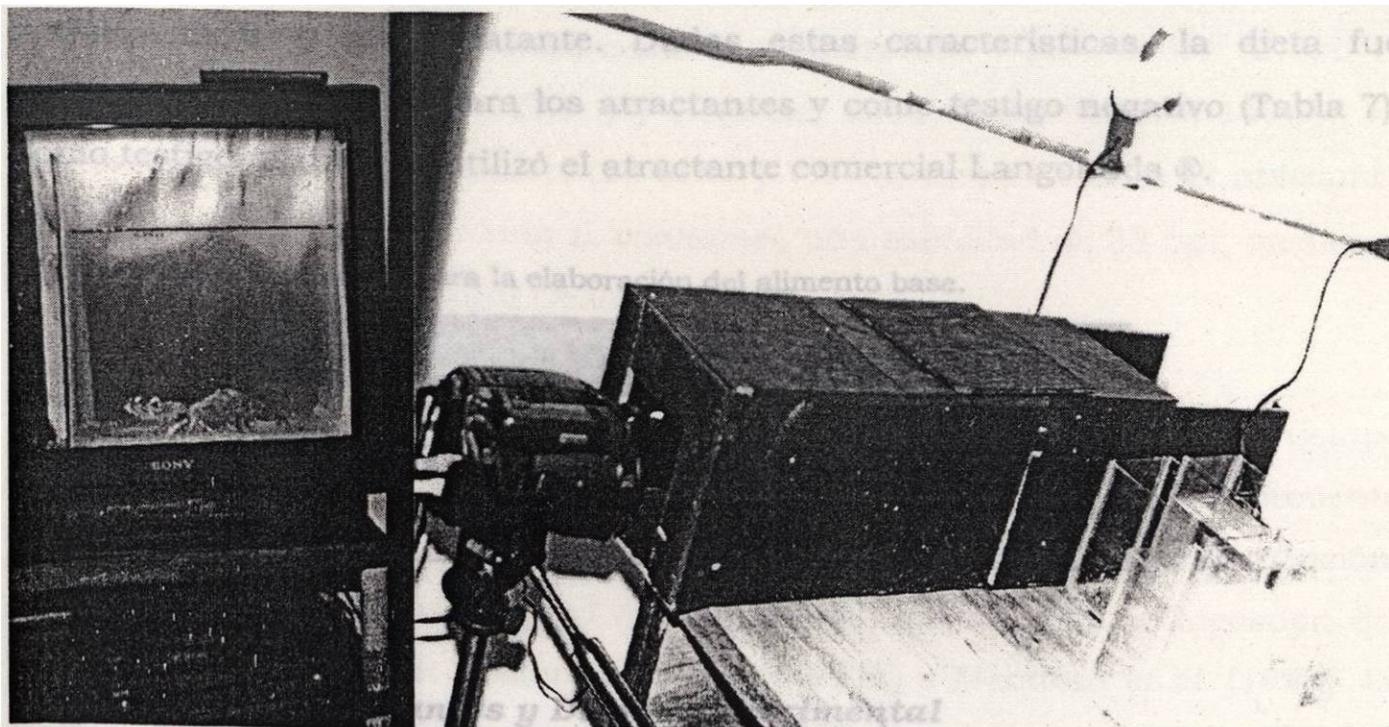


Fig. 6.- Dispositivo para la realización de los bioensayos de quimiodetección.

## ANALISIS ESTADISTICO

En esta fase, las curvas dosis - respuesta estimadas para cada uno de los tratamientos se realizaron mediante un análisis de regresión polinomial de segundo grado (Ostle,1983). Las dosis óptimas y el grado de excitación fueron obtenidos mediante la utilización de las ecuaciones  $X = -b/2a$  y  $Y = 4ac - b^2/4a$ , respectivamente. Para este efecto, se consideraron los resultados de tres repeticiones por cada dosis.

### V.2.- FASE DE QUIMIOATRACCION

Se elaboró una dieta base, en la cual se incluyó un alto porcentaje de harina de trigo (55%) y pasta de soya (35%), con lo que se le confirió un efecto anti-attractante y anti-palatante. Dadas estas características, la dieta fue utilizada como vehículo para los atractantes y como testigo negativo (Tabla 7). Como testigo positivo se utilizó el atractante comercial Langobuds ®.

Tabla 7.- Fórmula utilizada para la elaboración del alimento base.

INGREDIENTES	PORCENTAJE EN PESO HUMEDO
Pasta de soya	35.00
Harina de trigo	55.00
Gelatina	10

### *Aplicación de Atractantes y Diseño Experimental*

Los tratamientos, cuya evaluación en el bioensayo precedente fueron seleccionados, se adicionaron a la dieta base en la dosis en la cual se

presentaron los mejores resultados.

La metodología que se utilizó es similar a la propuesta por Costero y Meyers (1993a), la cual se basa en la utilización de un acuario de 120 x 30 x 40 cm, con una división móvil en uno de los extremos que permite inmovilizar temporalmente al animal mientras la fuente de estímulo (alimento + atractante) es colocada del lado opuesto del acuario. Se realizó una modificación al método original la cual consistió en eliminar el flujo de agua, debido a que en bioensayos previos se observó que los crustáceos presentan una reacción al estímulo reostático. Después de cada prueba, el acuario fue vaciado y llenado con agua fresca y limpia con las mismas características fisicoquímicas, con la finalidad de excluir cualquier posible interferencia del atractante disuelto en el agua del bioensayo anterior, lo cual podría afectar la respuesta de los organismos. Ya que se ha demostrado que la variación de diferentes parámetros físico-químicos tales como la temperatura y pH pueden afectar el proceso de quimiodetección (Tierney y Atema, 1988; Lee y Meyers, 1996b), se ~~procuró mantenerlos~~ <sup>mantuvieron</sup> constantes (24-26°C y 7.0-7.5 respectivamente) utilizando además en el caso del camarón *L. vannamei*, una salinidad de 33 ppt, mediante el uso de sal sintética *Instant Ocean*®.

**Registro de la Prueba:** Para cada uno de los tratamientos se registró el tiempo en que los ejemplares presentaron las diferentes fases del comportamiento alimenticio (Tabla 8). Estas fases han sido definidas como percepción, orientación, movimiento hacia el estímulo, arribo al alimento e ingestión del mismo, como lo señalan Costero y Meyers (1993b) y Mendoza *et al.* (1997). La prueba se registró como negativa si no llegaba a presentarse respuesta en un tiempo de 500 segundos, ya que en pruebas preliminares se estimó que si no existía respuestas en este tiempo no se presentaría después.

Tabla 8.- Fase de comportamiento alimenticio de crustáceos decápodos de acuerdo a Costero y Meyers (1993b).

FASE	CARACTERÍSTICAS
Percepción	Detección o reconocimiento de una señal química por las anténulas, maxilípedos y dácilos de los pereiópodos.
Orientación	Cambios de posición del animal en relación a su posición antes del estímulo y apuntando hacia la fuente del estímulo.
Movimiento	El animal inicia sus movimientos de desplazamiento en dirección a la fuente del estímulo o en otro sentido.
Arribo al alimento	El animal llega al lugar en donde se encuentra la fuente del estímulo y detiene sus movimientos de desplazamiento.
Ingestión del alimento	El animal manipula la dieta con sus quelípedos y lo ingiere.

## DISEÑO EXPERIMENTAL

Se establecieron los tratamientos con la dosis óptima que presentó los mejores resultados en el bioensayo de quimiodetección. Cada tratamiento se llevó a cabo por triplicado.

Los resultados fueron analizados mediante un Análisis de Varianza para determinar las eventuales diferencias entre los atractantes. Cuando se encontraron diferencias significativas, las medias de los tratamientos fueron separadas utilizando la prueba de Duncan (Duncan's New Multiple Range Test) (Steel and Torrie, 1985).

### V.3.- FASE DE CAMPO.

Con la finalidad de confirmar los resultados obtenidos a nivel de laboratorio (fases I y II), se llevaron a cabo bioensayos de ingestión en condiciones comerciales de cultivo.

Durante esta etapa se trabajó en la granja Camaronicola "Vista Hermosa" y en la granja para langostinos del laboratorio "Vista Hermosa", a cargo del gobierno de Tamaulipas, ambas ubicadas en el municipio de Soto la Marina en el estado de San Fernando, Tamaulipas, en donde se encuentran cultivando actualmente las especies utilizadas en el presente estudio.

Procedimiento:

#### *Observación Directa*

En 8 jaulas de 1m<sup>2</sup> se colocaron diez ejemplares de 14-16 cm de longitud aproximada y un peso de 10± 2 grs, a los cuáles se les ofrecieron pellets de tamaño uniforme (0.4 cm) y que fueron aspersados con los atractantes en las dosis óptimas, llevándose a cabo tres repeticiones para cada tratamiento. Las dietas se colocaron en una charola en raciones equivalentes al 3% de la biomasa. Las charolas fueron levantadas a diferentes tiempos (20, 40 y 80 minutos), y en cada momento se contabilizó el número de pellets restantes.

Los bioensayos anteriores se realizaron tanto para el langostino (*Macrobrachium rosenbergii*), como para el camarón (*Litopenaeus vannamei*). Como testigo positivo se utilizó el atractante comercial Langobuds® y como testigo negativo el alimento que habitualmente se les ofrece en la granja (Ver anexo).

## ANALISIS ESTADISTICO

Se llevaron a cabo tres repeticiones para cada tratamiento y los resultados fueron evaluados mediante un Análisis de Varianza para determinar las diferencias entre los tratamientos, considerando el promedio de pellets consumidos. En caso de encontrarse diferencias significativas entre los tratamientos, se uso la prueba de Duncan para determinar posibles diferencias significativa entre los valores promedio (Steel and Torrie, 1985).

## VI.- RESULTADOS

### A) *Macrobrachium rosenbergii*

#### I.- QUIMIODETECCION

En esta fase, el mayor grado de excitación, de acuerdo a la escala de Pittet (1993), se presentó con el testigo positivo (4.55), seguido por las aminas biogénicas (Cadaverina con 4.26 y Putrescina con 4.15), los aminoácidos libres (Histidina con 4.01 y Arginina con 3.64) y finalmente las mezclas (Cadaverina-Putrescina-Arginina con 3.09 y Cadaverina-Histidina con 2.72). Entre las muestras de extracto acuoso de pescado en descomposición las que más destacaron fueron la *ExA20* (3.2) y *ExA56* (3.05) (Tabla 9, 10 y 11).

Tabla 9.- Resultados obtenidos en la fase de Quimiodetección para *M. rosenbergii*.

Tratamiento	Proporción M:M	Concentración Molar	* Máximo grado de excitación
Arginina		15.6 x10 <sup>-6</sup>	3.64
Histidina		21.2 x10 <sup>-6</sup>	4.01
Cadaverina		19.5 x10 <sup>-6</sup>	4.26
Putrescina		37.4 x10 <sup>-6</sup>	4.15
C-H	1:1.28	C 14.8x10 <sup>-6</sup> + H 16.1x10 <sup>-6</sup>	2.72
C-A	1:0.70	C 9.4x 10 <sup>-6</sup> + A 7.5x10 <sup>-6</sup>	1.07
P-H	1:0.56	P 27.2x 10 <sup>-6</sup> + H 15.4x10 <sup>-6</sup>	0.55
A-P	1:2.39	A 6.6x10 <sup>-6</sup> + P15.8x10 <sup>-6</sup>	1.60
A-H	1:1.30	A 9.7x10 <sup>-6</sup> + H 13.2x 10 <sup>-6</sup>	0.84
C-P	1:1.92	C 16.4x10 <sup>-6</sup> + P 8.5x10 <sup>-6</sup>	0.02
C-P-H	1:1.92:1.09	C 5.2x10 <sup>-6</sup> + P10x10 <sup>-6</sup> + H 5.7x10 <sup>-6</sup>	1.22
P-A-H	1:0.41:0.56	P 11.9x10 <sup>-6</sup> + A 4.9x10 <sup>-6</sup> + H 6.76x10 <sup>-6</sup>	0.68
C-P-A	1:0.77:1.92	C 9.7x10 <sup>-6</sup> + P18.7x10 <sup>-6</sup> + A 7.5x10 <sup>-6</sup>	3.09
C-H-P-A	1:1.08:1.91:0.78	C 4.7x10 <sup>-6</sup> + H 5.1x10 <sup>-6</sup> + P 9x10 <sup>-6</sup> + A 3.7x10 <sup>-6</sup>	2.02
Langobuds (T+)			4.55
Agua dulce (T-)			1.02

\* Valores calculados en la Escala de Pittet

Tabla 10.- Volumen aplicado y grado de excitación obtenido al probar los extractos acuosos de pescado con *M. rosenbergii*.

Tratamientos	Diferentes volúmenes de extractos acuosos de pescado ( $\mu$ l)	Máximo grado * de excitación
ExA 4	23	1.90
ExA 8	29	0.46
ExA 12	34	2.30
ExA 20	10	<b>3.05</b>
ExA 24	36	1.10
ExA 28	12	2.18
ExA 32	34	1.55
ExA 36	12	0.91
ExA 40	15	1.27
ExA 44	47	0.74
ExA 48	35	1.96
ExA 52	25	0.41
ExA 56	50	<b>3.20</b>

\* Valores calculados en la Escala de Pittet

Tabla 11.- Resultados de la concentración de Proteína total, Proteína soluble y Nitrógeno no proteico de los diferentes extractos acuosos de pescado tomados a diferentes tiempos y probadas con *M. rosenbergii*.

Tratamientos	Proteína Total en Homogeneizado (mg/ml)	Proteína Soluble después de centrifugación (mg/ml)	Nitrógeno no proteico después de precipitación con TCA
ExA 4	10.8	10.5	0.52
ExA 8	13.2	11.4	0.66
ExA 12	13.3	12.1	0.90
ExA 20	<b>19.4</b>	<b>13.7</b>	<b>1.38</b>
ExA 24	20.9	15.0	1.48
ExA 28	22.0	16.1	1.61
ExA 32	22.4	17.3	1.83
ExA 36	25.6	18.3	1.90
ExA 40	34.8	19.0	1.97
ExA 44	37.3	19.8	2.30
ExA 48	40.0	20.3	2.32
ExA 52	45.6	20.6	2.37
ExA 56	<b>55.3</b>	<b>22.7</b>	<b>2.46</b>

## II.- QUIMIOATRACCION

Considerando los resultados observados en el bioensayo anterior, se seleccionaron los siguientes tratamientos:

Combinaciones.- Cadaverina-Histidina, Cadaverina-Putrescina-Arginina.

Moléculas individuales.- Arginina, Cadaverina, Histidina y Putrescina.

Solubles provenientes de la descomposición de pescado.- ExA20 y ExA56.

Para cada uno de los casos, se utilizaron las dosis óptimas determinadas en el bioensayo anterior.

Solo se encontraron diferencias significativas en algunas de las fases comportamentales (Percepción, Orientación, Movimiento, Arribo e Ingestión). Cabe señalar que las moléculas individuales ofrecieron mejores resultados que las combinaciones probadas y los extractos acuosos de pescado en descomposición. Así, se pudo observar que en la fase de ingestión, la Cadaverina fue el elemento que una vez adicionado al alimento generó el menor tiempo de respuesta (94.33 segundos) en ésta fase. En contraste, la combinación de Cadaverina-Histidina no propició que el animal adoptara esta fase comportamental sino hasta después de 500 segundos (Figura 7).

Tabla 12.- Valores (tiempo) promedio observados en las fases comportamentales de quimiodetección para *M. rosenbergii*.

Tratamientos	Fases*				
	Percepción NS	Orientación **	Movimiento NS	Arribo **	Ingestión ***
Arginina	26.66±6.65 ab	39±11.26 a	50.66±6.65 a	124.66±20.55 a	131.33±21.12 ab
Histidina	66±28.84 ab	104.33±42.52 a	122.33±34.07 ab	201.66±34.50 ab	238±49.86 b
Cadaverina	16±1 a	25.33±4.93 a	33.66±5.50 a	80.33±16.50 a	94.33±10.96 a
Putrescina	28.66±11.93 ab	41.66±17 a	68.66±19.21 a	119±23.51 a	178±18.33 ab
C-H	110±45.82 ab	293.33±210.07 b	303.33±200.08	393.33±184.75 b	500±0 c
C-P-A	120±85.44 b	180.33±121.53 ab	188.33±119.82 ab	367.33±189.74 b	376±188.23 c
ExA20	23±10 ab	39±4 a	51±10 a	179.33±17 ab	188±10 ab
ExA56	80±103.92 ab	176.66±113.72 ab	180±115.10 ab	423.33±132.79 b	500±0 c
T(+)	28.66±1.57 ab	46.33±1.52 a	63.66±3.51 a	106.66±5.68 a	130±5 ab
T(-)	52.33±37.09 ab	22.66±32.88 a	139±25.94 ab	375.33±149.21 b	414±37 c

\* Media ± desviación estándar; NS; no hay diferencias significativas; \*\* P< 0.05; \*\*\* P< 0.000; Duncan.

Las literales en cada una de las columnas indican la separación de grupos con respecto a la media obtenida en los resultados.

Cabe señalar que entre los resultados de los tratamientos: Arginina, Putrescina, Ex A 20 y T(+), no existieron una diferencias significativas, lo cual indica que resultan igualmente atractantes y estimulantes para esta especie.

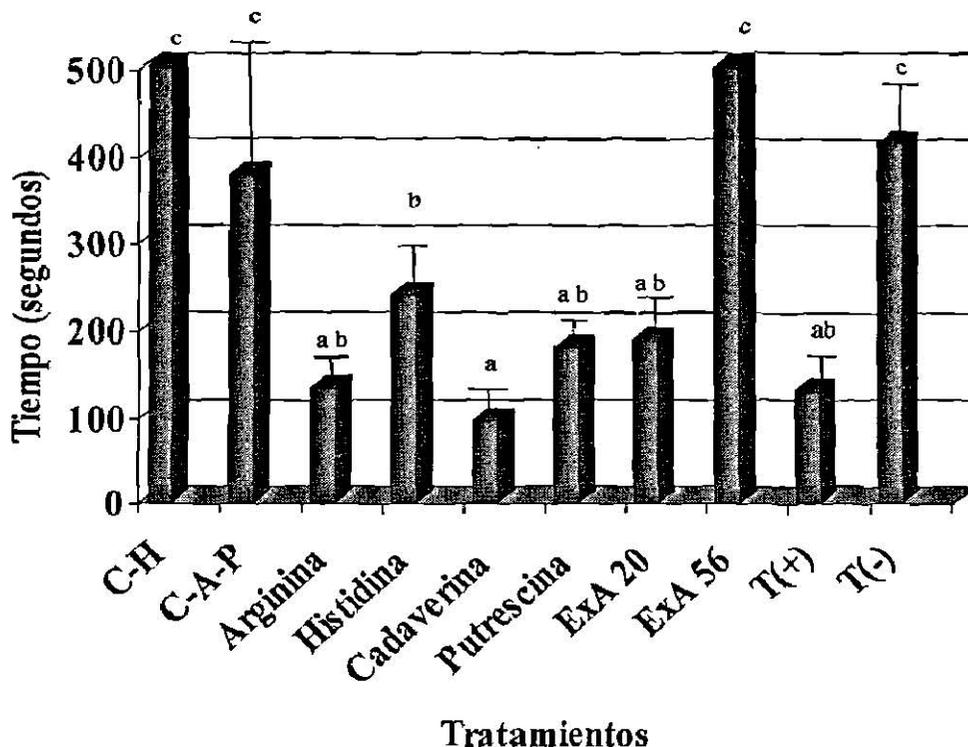


Figura 7.- Tiempo transcurrido entre las fases de percepción a ingestión para los diferentes tratamientos, al ser probados con *M. rosenbergii*.

### III.- BIOENSAYO DE CAMPO

De la misma manera, los tratamientos utilizados en esta fase fueron seleccionados de acuerdo a los resultados observados en la fase anterior. Se encontraron diferencias significativas en el número de pellets consumidos a los 20 minutos ( $F= 4.4340$ ;  $P= 0.0065$ ; gl 7), a los 40 minutos ( $F= 5.1800$ ;  $P= 0.0011$ ; gl 7) y a los 80 minutos ( $F= 6.8044$ ;  $P= 0.0008$ ; gl 7) (Tabla 13). Los mejores tratamientos, en números de pellets ingeridos a los ochenta minutos, fueron Arginina ( $x=24$  pellets), el extracto acuoso de pescado *ExA20* ( $x= 20.33$  pellets), Cadaverina ( $x=18.3$  pellets) y el testigo positivo ( $x=17.66$

pellets). Por otra parte, los tratamientos con menor consumo, fueron aquellos en los que se utilizó la mezcla de Cadaverina-Putrescina-Arginina ( $x=14$  pellets) y Cadaverina-Histidina ( $x=12.33$  pellets), finalizando con el testigo negativo ( $x= 5$  pellets) (Figura 8).

Tabla 13.- Comparación de pellets consumidos por *M. rosenbergii* en los diferentes tiempos de experimentación.

Tratamientos	Tiempos		
	20 min.*	40 min.*	80 min.**
Arginina	9.33 +5.13 cd	12.33 +3.78 de	24+6 a
Cadaverina	10.33 +2.30 d	14+3 de	18.33+3.51 bcd
C-H	3.33 +1.15 ab	4+0 ab	12.33+2.30 b
C-P-A	5.33 +1.52 abc	8.33+3.21 abcd	14+1 bc
ExA20	3.33 + 2.30 ab	8.33+4.50 abcd	20.33+3.05 cd
T(+)	6 +1 bcd	14.33+1.15 de	17.66+2.88 bcd
T(-)	1 +0 a	3.33+1.15 a	5+1 d

Media+Desviación estándar; \* P< 0.05; \*\* P< 0.000; Duncan

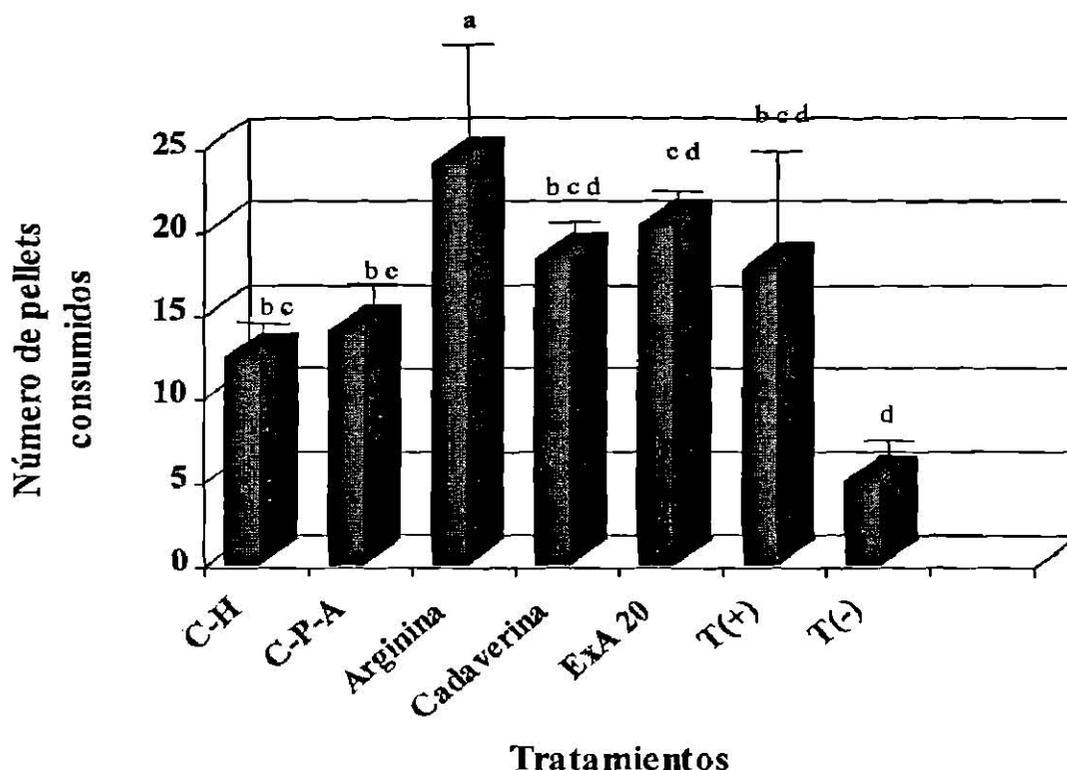


Figura 8.- Número de pellets consumidos por *M. rosenbergii* a los 80 minutos, en condiciones de cultivo.

Tabla 14.-Resumen de los resultados obtenidos para *M. rosenbergii*, a lo largo de los tres bioensayos.

QUIMIODETECCION	QUIMIOATRACCION	BIOENSAYO DE CAMPO
Arginina	Arginina	Arginina
Cadaverina	Cadaverina	Cadaverina
Histidina	Histidina	
Putrescina	Putrescina	
C-H	C-H	C-H
C-A		
P-H		
A-P		
A-H		
C-P		
C-P-H	C-P-H	C-P-H
P-A-H		
C-A-P		
C-H-P-A		
ExA4		
ExA8		
ExA12		
ExA20	ExA20	ExA20
ExA24		
ExA28		
ExA32		
ExA36		
ExA40		
ExA44		
ExA48		
ExA52		
ExA56	ExA56	
Langobuds (T+)	Langobuds (T+)	Langobuds (T+)
Agua dulce (T-)	Dieta base (T-)	Alim. Comercial (T-)

## B) *Litopenaeus vannamei*

### I.- QUIMIODETECCION

El tratamiento con el cual se observó el mayor grado de excitación, fue la mezcla de las dos aminos con los dos aminoácidos (4.15), seguido por la combinación de una amina biogénica y un aminoácido (Putrescina - Histidina con 4), los aminoácidos libres Arginina con 3.97 e Histidina con 3.97, el Testigo positivo (3.95) y la amina biogénica Cadaverina (3.83). De igual forma, las combinaciones de Cadaverina - Arginina - Putrescina (3.69), Cadaverina - Histidina (3.35), Putrescina - Arginina - Histidina (3.34), Putrescina (3.22) Arginina-Histidina (3.19) ofrecieron buenos resultados. Entre los extractos acuosos de pescado con los que se observó el valor más alto de excitación se encuentran, en primer termino, el *ExA8* (3.63), seguida de el *ExA20* (3.42) y *ExA32* y *ExA44* (2.82 y 2.95, respectivamente) (Tabla 15, 16 y 17).

Tabla 15.- Resumen de los resultados obtenidos en la fase de quimiodetección.

Tratamiento	Proporción M:M	Moles	* Máximo grado de excitación
Arginina		11 x10 <sup>-6</sup>	<b>3.97</b>
Histidina		15.4 x10 <sup>-6</sup>	<b>3.97</b>
Cadaverina		14.2 x10 <sup>-6</sup>	<b>3.83</b>
Putrescina		27.2 x10 <sup>-6</sup>	<b>3.22</b>
A-H	1:1.36	A 6.6x10 <sup>-6</sup> + H 9x 10 <sup>-6</sup>	<b>3.19</b>
C-A	1:0.80	C 12.1x 10 <sup>-6</sup> + A 9.7x10 <sup>-6</sup>	2.38
P-H	1:1.75	P 23.2x 10 <sup>-6</sup> + H 13.2x10 <sup>-6</sup>	<b>4.00</b>
A-P	1:2.38	A 5.9x10 <sup>-6</sup> + P14.1x10 <sup>-6</sup>	2.13
C-H	1:0.36	C13.9x10 <sup>-6</sup> + H 5.1x10 <sup>-6</sup>	<b>3.35</b>
C-P	1:1.91	C12.7x10 <sup>-6</sup> + P 24.3x10 <sup>-6</sup>	0.44
C-P-A	1:1.92:1.08	C 5.2x10 <sup>-6</sup> + P 9x10 <sup>-6</sup> + A 3.7x10 <sup>-6</sup>	0.14
P-A-H	1:0.41:0.56	P12.7x10 <sup>-6</sup> + A 5.3x10 <sup>-6</sup> + H 7.2x10 <sup>-6</sup>	<b>3.34</b>
C-P-H	1:0.71:1.73	C 8.1x10 <sup>-6</sup> + P15.6x10 <sup>-6</sup> + H 8.8x10 <sup>-6</sup>	<b>3.69</b>
C-H-P-A	1:1.10:1.93:0.79	C 2.9x10 <sup>-6</sup> + H 3.2x10 <sup>-6</sup> + P 5.6x10 <sup>-6</sup> + A 2.3x10 <sup>-6</sup>	<b>4.15</b>
Langobuds (T+)			<b>3.95</b>
Agua salada (T-)			1.32

Tabla 16.- Volumen aplicado y grado de excitación obtenido al probar los extractos acuosos de pescado con *L. vannamei*.

Tratamiento	Diferentes volúmenes de extractos acuosos de pescado ( $\mu$ l)	Máximo grado * de excitación
ExA 4	51	1.86
ExA 8	33	<b>3.63</b>
ExA 12	33	0.96
ExA 20	17	<b>3.42</b>
ExA 24	23	2.21
ExA 28	04	2.55
ExA 32	27	<b>2.82</b>
ExA 36	33	1.78
ExA 40	25	1.21
ExA 44	32	<b>2.95</b>
ExA 48	30	0.65
ExA 52	20	1.19
ExA 56	28	1.00

\* Valor calculado en la escala de Pittet

Tabla 17.- Resultados de la concentración de Proteína total, Proteína soluble y Nitrógeno no proteico de los diferentes extractos acuosos de pescado en descomposición tomados a diferentes tiempos y probadas con *L. vannamei*.

Tratamiento	Proteína Total en homogenizado (mg/ml)	Proteína Soluble de ExAués de centrifugación (mg/ml)	Nitrógeno no proteico después de la precipitación con TCA
ExA 4	10.8	10.5	0.52
ExA 8	<b>13.2</b>	<b>11.4</b>	<b>0.66</b>
ExA 12	13.3	12.1	0.90
ExA 20	<b>19.4</b>	<b>13.7</b>	<b>1.38</b>
ExA 24	20.9	15.0	1.48
ExA 28	22.0	16.1	1.61
ExA 32	<b>22.4</b>	<b>17.3</b>	<b>1.83</b>
ExA 36	25.6	18.3	1.90
ExA 40	34.8	19.0	1.97
ExA 44	<b>37.3</b>	<b>19.8</b>	<b>2.30</b>
ExA 48	40.0	20.3	2.32
ExA 52	45.6	20.6	2.37
ExA 56	55.3	22.7	2.46

## II.- QUIMIOATRACCION

Considerando los resultados obtenidos en la fase anterior, los tratamientos que se utilizaron para este bioensayo fueron:

Combinaciones.- Arginina-Histidina, Cadaverina-Histidina, Putrescina-Histidina, Histidina-Putrescina-Arginina, Cadaverina-Histidina-Putrescina y Cadaverina-Histidina-Putrescina-Arginina.

Moléculas individuales.- Arginina, Histidina, Cadaverina y Putrescina.

Extractos acuosos de la descomposición del pescado.- ExA8, ExA20, ExA32 y ExA44. Los resultados se presentan en la Tabla 18, manejando las mismas dosis obtenidas en la fase de quimiodetección.

Se encontraron diferencias significativas solo para algunas de las fases comportamentales (Tabla 18). Los tratamientos que ofrecieron los mejores resultados durante la fase de ingestión fueron: la amina biogénica, Cadaverina (49 segundos), el Testigo positivo (123.66 segundos), la combinación de Cadaverina - Histidina - Putrescina (128.66 segundos), seguidos por Putrescina (83 segundos) y finalmente Arginina (148.66 segundos), Estos valores contrastan con los observados al exponer el Testigo negativo (478.31 segundos) a los individuos, así como con la mezcla Putrescina-Histidina (486.33 segundos) (Figura 9).

Tabla 18.- Resultados de las fases comportamentales en quimiodetección para *L. vannamei*.

Tratamientos	Fases*				
	Percepción**	Orientación NS	Movimiento**	Arribo**	Ingestión***
Arginina	37.66+20.84 ab	81.33+56.36 ab	87.33+55.94 ab	150+119.01 abc	148.66+110.03 abcd
Histidina	47.33+14.97 ab	171.33+71 abc	223.33+127.06 ab	328.33+153.32 cde	427.33+125.86 ef
Cadaverina	12.33+2.51 a	15.33+3.51 a	20.33+5.03 a	44.33+14.57 a	49+14.42 a
Putrescina	35+8.71 ab	47.33+13.61 ab	50.66+14.97 a	74.33+21.50 ab	83.33+19.73 a
A-H	16.66+1.15 ab	227.66+236.12 ab	237+228.68 abc	413.33+150.11 de	386.66+196.29 ef
C-H	52+43.96 ab	115+85.13 ab	124.33+91.44 ab	316.66+147.88 bcdef	330.66+152.55 cdef
P-H	54+9.84 ab	292.66+222.85 b	300+221.451 bc	484+27.71 f	486.33+23.67 f
H-P-A	45.33+25.32 ab	128+97.53 ab	138+99.37 ab	229.33+45.39 bcd	251.33+45.62 bcde
C-H-P	26.33+5.13 ab	52+19.07 a	61.33+26.57 a	116.33+48.95 a	128.66+47.3 ab
C-H-P-A	51+35.59 ab	182+128.41 ab	189.66+132.46 abc	305+63.55 bcdef	317.33+51.62 bcdef
ExA8	26.66+6.65 ab	89.66+60.36 ab	101+65.10 ab	344.33+269.62 cdef	377.66+211.88 ef
ExA20	66+28.84 ab	155.66+148.12 ab	162.33+155.45 abc	293.33+213.28 def	385.66+99.26 ef
ExA32	16+1 b	118.66+63.65 ab	125+62.6 ab	298+129.72 bcdef	420.66+137.40 ef
ExA44	28.66+11.93 ab	100.66+26.40 ab	120+.66 ab	317+132.61 bcdef	336+142.04 def
I(+)	34.66+11.93 ab	45.33+11.01 a	59.33+21.12 a	111.6+21.73 ab	123.66+12.50 ab
I(-)	122.33+18.87 c	186+38.01 ab	362+128.79 c	442+53.7 ef	478+31.11 f

\* Media  $\pm$  Desviación Standar; NS valores no significativos; \*\* P < .005; \*\*\* P < 0.000; Duncan. Las literales en cada una de las columnas indican la separación de grupos con respecto a la media obtenida en los resultados.

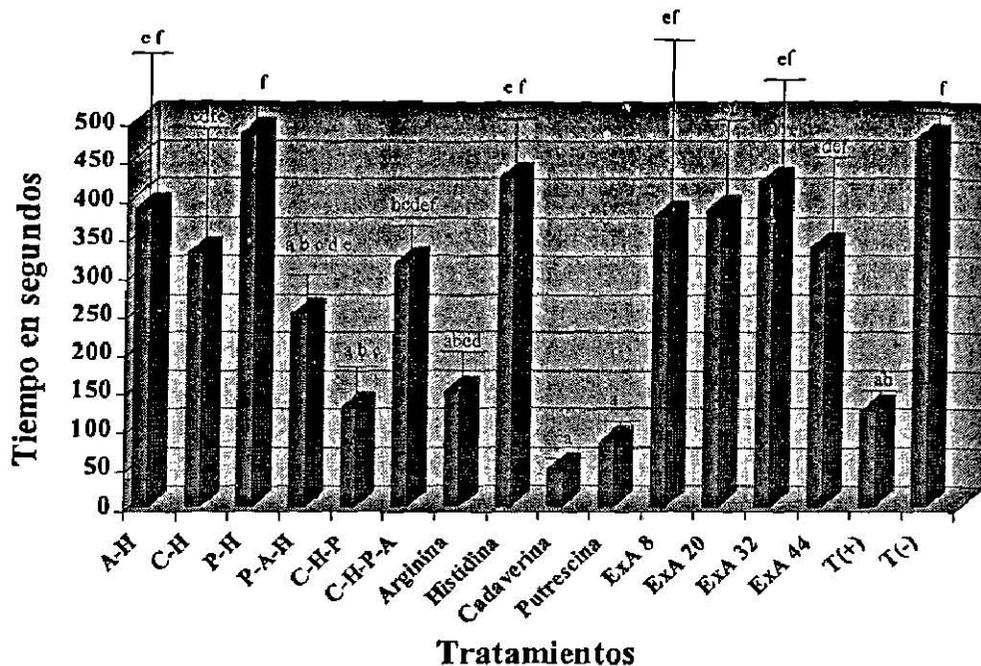


Figura 9.- Tiempo transcurrido en que los individuos de *L. Vannamei* adoptaron la fase de ingestión al ser expuestos a los diferentes tratamientos.

### III.- BIOENSAYO DE CAMPO

Los resultados mostraron diferencias significativas en cuanto al número de pellets consumidos a los 20 minutos ( $F = 3.5844$ ;  $P = .0163$ ; gl 7) y a los 80 minutos ( $F = 3.7100$ ;  $P = .0142$ ; gl 7). Sin embargo, a los 40 minutos el ANOVA reveló que no existían diferencias significativas entre los tratamientos. De esta forma, en el tiempo 3 (80 minutos) se presentó un mayor consumo de pellets cuando se utilizó Cadaverina ( $x = 37$  pellets), la combinación de las aminas biogénicas con los aminoácidos libres (Cadaverina-Histidina-Putrescina-Arginina con  $x = 32.33$  pellets) y Arginina ( $x = 29$  pellets). De igual manera, la mezcla Histidina-Putrescina-Arginina ( $x = 24.33$  pellets) y la de Cadaverina-Putrescina-Histidina ( $x = 21.6$  pellets), a pesar de no tener un consumo tan elevado como los tratamientos anteriores, superaron al Testigo positivo ( $x = 21$

pellets) (Tabla 19). En lo que respecta al extracto acuoso (*ExA44*) proveniente de la descomposición de pescado, fue el tratamiento que mostró el mas bajo consumo de pellets, ( $x=17$  pellets), pero aún así ofreció resultados similares a los obtenidos con el Testigo positivo y mejores que los observados con el Testigo negativo ( $x=4$  pellets) en este bioensayo (Figura 10).

Tabla 19.- Resultados en los diferentes tiempos de experimentación para *L. vannamei* en condiciones comerciales.

Tratamientos	Tiempos		
	20 min.**	40 min. NS	80 min. **
Arginina	13.66 + 4.16 c	17 + 3.60 bc	29 + 3.60 bc
Cadaverina	5.66 + 4.04 ab	16 + 3.60 bc	37 + 9.84 c
H-P-A	2 + 3.46 a	15 + 18.35 bc	24.33 + 18.33 bc
C-P-H	6 + 3.46 ab	17 + 13 bc	21.6 + 9.6 bc
C-H-P-A	8.66 + 3.05 cb	19 + 7.37 c	32.33 + 10.40 bc
<i>ExA 44</i>	6.66 + 1.52 ab	12 + 2.64 b	17 + 2 bc
T(+)	6.66 + 4.16 ab	8 + 4.04 b	21 + 3.60 bc
T(-)	2.66 + 1.15 ab	2.66 + 1.15 a	4 + 2 a

NS Valores no significativos; \*\* P < 0.05; \*\*\* P < 0.000; Duncan

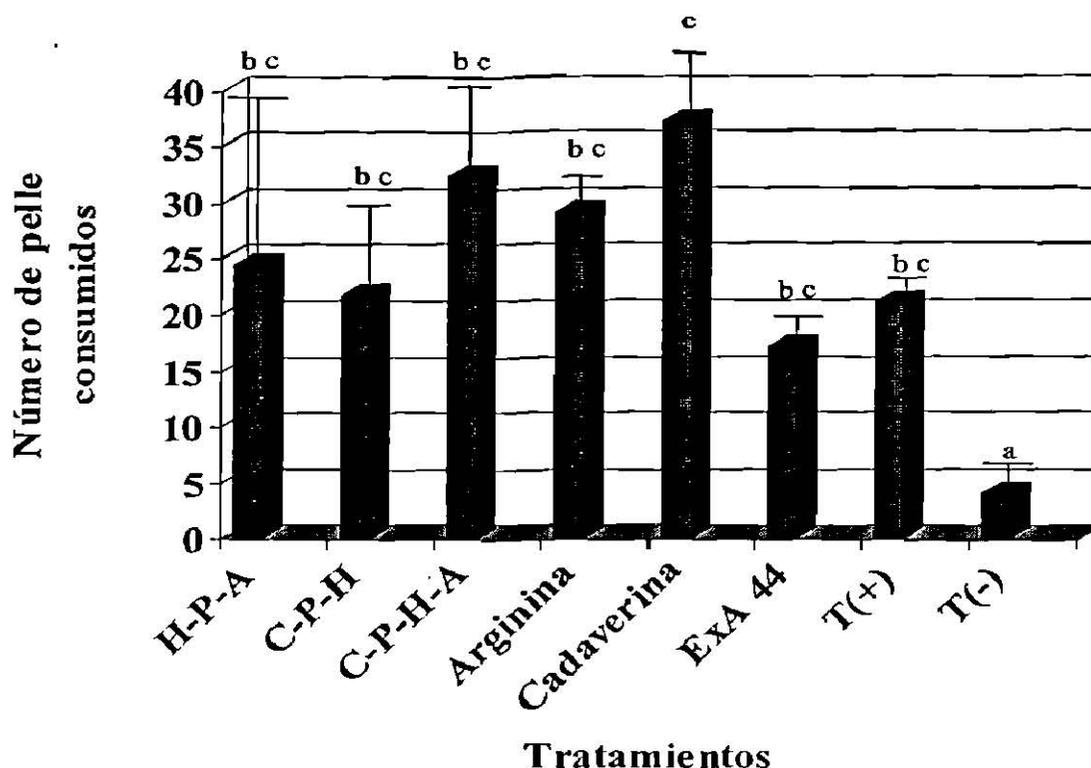


Figura 10.- Número de pellets consumidos a los 80 minutos por *L. vannamei* en condiciones comerciales.

Tabla 14.-Resumen de los resultados obtenidos para *L.vannamei*, a lo largo de los tres bioensayos.

QUIMIODETECCION	QUIMIOATRACCION	BIOENSAYO DE CAMPO
Arginina	Arginina	Arginina
Cadaverina	Cadaverina	Cadaverina
Histidina	Histidina	
Putrescina	Putrescina	
C-H	C-H	
C-A		
P-H	P-H	
A-P		
A-H	A-H	
C-P		
C-P-H	C-P-H	C-P-H
P-A-H	P-A-H	P-A-H
C-A-P		
C-H-P-A	C-H-P-A	C-H-P-A
ExA 4		
ExA 8	ExA 8	
ExA 12		
ExA 20	ExA 20	
ExA 24		
ExA 28		
ExA 32	ExA 32	
ExA 36		
ExA 40		
ExA 44	ExA 44	ExA 44
ExA 48		
ExA 52		
ExA 56		
Langobuds (T+)	Langobuds (T+)	Langobuds (T+)
Agua dulce (T-)	Dieta Base (T-)	Alim. comercial (T-)

## VII.- DISCUSIÓN

A continuación se presenta un análisis de los resultados por especie considerando las diferentes fases experimentales.

### *M. rosenbergii*

Los tratamientos que en términos generales presentaron mejores resultados para esta especie fueron la Arginina, la muestra *ExA 20* y la Cadaverina.

Como se pudo observar en el **Bioensayo de Campo** en condiciones comerciales, a los 80 minutos, se observó que entre las moléculas que incitaron a los animales a un mayor consumo de pellets, destacan la Arginina, el extracto acuoso *ExA 20* y Cadaverina, siendo estadísticamente diferentes a los tratamientos restantes, incluyendo el atractante comercial, con lo que se confirma su potencial atractante, aún y cuando en este tipo de bioensayos existe competencia con otras moléculas presentes en el medio acuático. Dentro de este contexto, cabe mencionar que el bioensayo se realizó a una temperatura promedio de 19 °C, la cual, a pesar de no ser una temperatura óptima para el desarrollo de esta especie, permitió identificar los mejores tratamientos. Mostrándose en los tres tiempos (20, 40 y 80 minutos) la superioridad de los tratamientos aplicados a el alimento, con respecto a la dieta comercial.

Con lo anterior, se pudo comprobar que la Arginina, además de ser fácilmente detectable, actúa como atractante y como incitante alimenticio, tal y como lo demuestran los resultados obtenidos en los bioensayos de Quimiodetección y Quimioatracción. Estos resultados coinciden con lo

observado por Farmanfarmaian y Lauterio (1979), quienes al utilizar la Arginina con esta especie, observaron su potencial attractante y un mayor consumo de la dieta a la cual se había adicionado este aminoácido.

En lo que respecta a las aminas biogénicas utilizadas en esta investigación, la Cadaverina fue la que ofreció mejores resultados, ya que evocó un efecto attractante sobre esta especie. Además, destaca el hecho de que en el Bioensayo de Quimioatracción, esta molécula haya sido detectada en menor tiempo que la Putrescina, a pesar de no haberse presentado diferencias significativas. En este sentido, las observaciones anteriores corroboran lo reportado por Mendoza *et al.*, (1997) quienes encontraron que la Cadaverina resulta ser attractante e incitante para el langostino. Cabe destacar que por cuestiones de logística, en las pruebas de campo, solo se utilizó esta amina biogénica.

Analizando, las combinaciones utilizadas en el Bioensayo de Campo, las mezclas de C-H y C-P-A no provocaron un mayor consumo del alimento al ser comparadas con el *Langobuds*® (T+), pero sí con respecto a la dieta comercial. Esto debido posiblemente a que en condiciones de grandes volúmenes de agua en movimiento, las diferentes moléculas no presentan la misma solubilidad, repercutiendo así en su facilidad de detección. Sobre este aspecto, es necesario considerar que las moléculas se incluyeron a diferentes concentraciones equimolares al mezclarlas, lo cual sin duda se traduce en variaciones en los resultados al utilizar las moléculas individuales. Esta consideración se puede ver confirmada con los resultados del bioensayo de Quimioatracción. Observándose, que todas las variaciones en los resultados podrían atribuirse a que la concentración molar de cada elemento se ve disminuida al elaborarse la mezcla en una proporción 1:1 (peso). Esto, tomando en cuenta que cada una de las moléculas utilizadas tienen un peso molecular distinto, ocasionando que

el número de moléculas presentes en cada combinación varíe de acuerdo al aminoácido o amina biogénica que se evalúe, probocando consecuentemente deferentes niveles de excitación. De aquí, que resulte conveniente que en investigaciones subsecuentes se lleven a cabo las mismas pruebas utilizando diferentes proporciones y/o concentraciones molares equivalentes de cada uno de los elementos de la mezcla. Aún así, el consumo de C-H (240%) y C-P-A (280%) resultó mayor que el del alimento comercial. Asimismo, se observó que estos tratamientos, además de ser atractantes e incitantes, resultaron ser estimulantes, ya que propiciaron que el animal continuara alimentándose.

Con lo expuesto anteriormente, se comprueban los resultados favorables tanto para la Cadaverina como para la Arginina, presentados a lo largo de todas las fases experimentales, ya que en el bioensayo de **Quimioatracción** se observó que estos tratamientos eran detectados en menor tiempo que la Histidina o la Putrescina, resultando ser atractantes e incitantes. Igualmente, las observaciones anteriores corroboran lo reportado por Mendoza *et al.*, (1997) y Harpaz *et al.*, (1987).

Contrariamente a lo que se esperaba, la mezcla C-H, a pesar de resultar detectable para el langostino, no evocó un efecto como incitante, ya que solo provocó que el animal detectara y arribara al alimento, pero este no fue ingerido dentro del tiempo de experimentación.

En cuanto a los extractos acuosos de pescado en descomposición, únicamente el *ExA 20* fue detectado en corto tiempo, debido aparentemente a la presencia de aminoácidos como Arginina, Histidina y Lisina, los que aparecen a partir de las 24 hrs de descomposición (Klausen y Lund 1986), y posteriormente se transforman en las aminas biogénicas Putrescina, Histamina y Cadaverina, respectivamente, tal y como lo mencionan diversos autores

(Carr, 1978; Aksnes y Brekken, 1988). Además de la presencia de otros elementos como el TMA, la hipoxantina y otras moléculas de bajo peso molecular, las cuales contribuyen en gran parte a su fácil detección, tal y como lo mencionan Carr (1978) y Veciana *et al.*, (1990).

Los resultados obtenidos en el bioensayo de **Quimiodetección** muestran que esta especie es más sensible a las moléculas cuando éstas se presentan en forma individual (Arginina y Cadaverina), ya que su exposición provocó los valores más altos de excitación en comparación con cualquiera de sus posibles combinaciones. Lo anterior, coincide con lo observado por Carr *et al.*, (1989) quienes encontraron que el AMP utilizado individualmente tenía un mayor potencial attractante que cuando era combinado con aminoácidos. La utilización de aminoácidos en forma individual ha dado resultados probados en términos de excitación con varias especies de crustáceos *c.f.* Tabla 2. En el caso específico de *M. rosenbergii* destaca la sensibilidad de esta especie a la Arginina, como lo mencionan Derby y Harpaz (1988) y Montemayor (2000).

En cuanto a las combinaciones de dos elementos, al mezclar la Arginina o la Cadaverina con cualquiera de los demás componentes, el valor de excitación disminuye, con respecto al valor obtenido en forma individual, siendo únicamente la combinación C-H la que presenta un valor de excitación alto con respecto al resto de las combinaciones.

Así mismo, en aquellas combinaciones que comprenden tres elementos, el valor de excitación es generalmente bajo, observándose que la única mezcla que ofrece resultados aceptables es aquella en donde están presentes la C-P-A.

En función de lo anterior, la Cadaverina podría considerarse el elemento más fácilmente detectable para *Macrobrachium*, debido a los resultados

obtenidos al encontrarse en forma individual como en combinación con la Histidina en una mezcla de dos moléculas, como con las aminas biogénicas, en la mezcla de tres elementos (C-P-A). Sin embargo, no deben dejar de considerarse los excelentes resultados obtenidos con la Arginina y su poder de excitación al exponerse en forma individual o en mezclas, e.g. C-P-A.

En lo que respecta a los resultados obtenidos en esta fase, al aplicar los extractos acuosos de pescado se observó, que a pesar de que la cantidad de proteína aumentaba con respecto al tiempo de descomposición, el valor de excitación permanecía estable, lo que parece indicar que los componentes de cada uno de las muestras eran diferentes. Esto a su vez indicaría que resulta más importante el tipo de moléculas generadas a los diferentes tiempos de descomposición que la cantidad de las mismas.

Cabe mencionar, que los valores de excitación observados con los tratamientos seleccionados en este bionsayo, sobrepasan los valores obtenidos por Pittet *et al.*, (1996), en su investigación, lo cual confirma el poder de excitación de cada una de las moléculas individuales y sus combinaciones, así como de los extractos acuosos de pescado.

*L. vannamei*

Del total de los tratamientos utilizados en la serie experimental, los que presentaron mejores resultados de manera general fueron la Cadaverina, la Arginina y la mezcla de C-H-P-A.

En el tercer tiempo de la fase del **Bioensayo de Campo** (80 minutos) las moléculas individuales y la combinación de los cuatro elementos (C-H-P-A), ofrecieron resultados favorables permitiendo registrar un mayor consumo de pellets, que el atractante comercial. El resto de los tratamientos (H-P-A, C-P-H y *Exa 44*) ofrecieron resultados equivalentes al testigo positivo (*Langobuds*®) y resultaron superiores al alimento comercial utilizado en la granja. A pesar de las condiciones climáticas adversas (temperatura del agua de 19-21°C), el camarón presentó un aceptable consumo de la dieta, reflejado en un consumo ascendente por parte de la mayoría de los tratamientos en los tres tiempos, confirmándose así los resultados obtenidos en los bioensayos de Quimiodetección y Quimioatracción.

La constancia y superioridad de los resultados obtenidos con los elementos individuales (Arginina y Cadaverina), con respecto a las combinaciones de dos y tres elementos se puede deber a que la concentración molar es mayor. Otra causa de la efectividad de estos tratamientos puede ser la similitud estructural de las moléculas, las cuales presentan un grupo amino similar y una carga positiva, lo cual coincide con lo reportado por Hatt (1984), quien menciona que para que las moléculas puedan asociarse con los quimiorreceptores, los aminoácidos deben de presentar un grupo amino, además de portar carga, sin importar la presencia del grupo carboxilo. Cabe considerar que estas condiciones también son cumplidas por las aminas biogénicas. Estas características permitieron que estos tratamientos,

funcionaran como atractantes, incitantes y estimulantes provocando que los camarones continuaran su alimentación durante el tiempo de experimentación.

En el caso de esta especie, algunos tratamientos que se mencionan a continuación (A-H, C-H, P-H, C-A, *ExA 8*, *ExA 20* y *ExA 32*) mostraron valores de excitación bajos o no resultaron atractantes, como se esperaba, por lo cual no fueron seleccionados para la fase de Campo.

Resultados similares fueron obtenidos en la fase de **Quimioatracción** en donde las moléculas individuales que provocaron un arribo e ingestión de los pellets en un lapso de tiempo significativamente menor con respecto al resto de los tratamientos fueron: la Cadaverina y la Arginina. Asimismo, se observó que las combinaciones que más destacaron fueron aquellas en donde se encontraba presente la mezcla P-H en combinación tanto con Arginina como con Cadaverina o ambas (C-P-H, H-P-A, y C-H-P-A), originando una mayor velocidad en las fases de comportamiento al ser probadas como atractantes, ya que el tiempo que se tardó el camarón en localizar y consumir el alimento aspersado con estos tratamientos, fue significativamente menor que el del resto de las combinaciones. Sin embargo, la mezcla P-H como tal y la Histidina como molécula individual no ofrecieron los resultados esperados, ya que a pesar de ser detectadas fácilmente y ser atractantes, no resultaron incitantes, esto se puede deber a que la solubilidad de estos tratamientos no es igual y a que en el caso de la combinación P-H, la concentración molar no es la misma que presentan estas moléculas en forma individual. Igualmente, cuando se experimentó con la combinación de los cuatro elementos (C-H-P-A), el tiempo registrado hasta ingestión, fue menor que el presentado por las combinaciones de dos elementos, por lo que se consideró su utilización en la fase de campo.

De los extractos acuosos probados, el único que presentó resultados interesantes en esta fase fue el *ExA 44*, debido al corto tiempo registrado desde la detección hasta la ingestión del alimento al cual se le adicionó el extracto acuoso. Esto hace suponer que posiblemente en esta muestra se encuentren moléculas similares a aquellas que resultan atractantes para los camarones, como es el caso de Cadaverina, Putrescina, Histidina y Arginina, ya que como lo reportan Susuki *et al.*, (1994), las aminas Cadaverina y Putrescina se presentan desde el primer día de descomposición y llegan a su punto máximo al tercer y cuarto día, respectivamente. Así mismo, Klausen y Lund (1986), reportan que estas mismas aminas biogénicas se encuentran presentes después de 24 horas de descomposición.

Al analizar las combinaciones de dos y tres componentes en los bioensayos de **Quimiodetección**, aquellas en las cuales se encontraba presente la Histidina resultaron mas eficaces en términos de excitación para esta especie, independientemente del elemento con el cuál se combinase. En contraste, al probar el resto de las combinaciones de dos elementos, (A-P, C-A y C-P), provocaron niveles menores de excitación.

Así, tenemos que la Histidina ofrece un mayor valor de excitación que la Cadaverina, la Putrescina y las combinaciones de dos y tres elementos. Igualmente, en la fase de quimiodetección esta ofreció resultados satisfactorios en términos de atractabilidad, pero la falta de ingestión por parte del camarón no permitió utilizar este aminoácido en el bioensayo de campo.

Por otra parte, la Arginina y la Cadaverina, fueron las moléculas que funcionaron mejor, ya que son las que se mantienen más constantes en las combinaciones, igualmente, son las que en forma individual registraron el valor de excitación más alto. Lo anterior indica que esta especie es sensible al

sinergismo de ciertas moléculas. Esto coincide con las investigaciones de Zimmer-Faust (1987) quién señala que entre mayor sea el número de elementos presentes en una mezcla, mayor será su poder attractante.

En lo que respecta a los extractos acuosos de pescado, la mayoría de las muestras que destacaron (*ExA 8, ExA 20, ExA 32, ExA 44*) sugieren que en los tiempos en que se obtuvieron, estas contenían aminoácidos, aminas biogénicas y otros compuestos de bajo peso molecular que son fácilmente detectables por esta especie. De aquí, que la diferencia en los valores de excitación, pudiera ser la cantidad o presencia de moléculas propias de la descomposición, ya que como lo mencionan Klausen y Lund (1986), a partir de las 24 horas, la Cadaverina y la Histamina se presentan en organismos en descomposición, así como otras moléculas distintas a los aminoácidos y aminas biogénicas (Betaína, Compuestos Cuaternarios, Nucleósidos, etc.), las cuales han dado resultados probados como attractantes en diversas investigaciones (Carr, 1987; Carr y Derby 1986a y b; Carr *et al.*, 1984; Lee y Meyers, 1996b y Guerin, 1998).

Considerando lo anterior, es importante realizar diversos análisis que permitan identificar los elementos que se encuentran en los extractos acuosos de pescado en descomposición, en los tiempos en los que se obtuvieron los mejores resultados, lo que permitiría la identificación de las moléculas potencialmente attractantes.

## Especies

Un aspecto notable durante esta investigación es que las especies utilizadas en las diferentes series experimentales, a pesar de poseer diferentes hábitos alimenticios, fueron atraídas en diferentes grados por moléculas similares de bajo peso molecular, tales como aminoácidos y aminos biogénicas, lo que coincide con lo mencionado por Lindstedt (1971), al referirse que los crustáceos carnívoros y omnívoros generalmente responden a pequeñas moléculas con amplia distribución en tejidos de plantas y animales.

En la fase de Quimiodetección, tanto *L. vannamei* como *M. rosenbergii* presentaron un comportamiento similar, basado principalmente en movimientos de antenas y anténulas. En el caso del camarón blanco, el tratamiento que evocó un mayor grado de excitación con respecto a la escala de Pittet fue la mezcla de aminoácidos y aminos biogénicas, contrariamente a lo observado en el langostino, que presenta preferencia por moléculas individuales.

Sin embargo, en los Bioensayos de Quimioatracción, existió una similitud en los resultados entre los tratamientos utilizados, ya que tanto para el langostino como para el camarón, las mismas moléculas individuales (Arginina y Cadaverina), ofrecieron un potencial attractante e incitante, lo cual indicaría que los crustáceos son susceptibles a ser atraídos por moléculas similares de bajo peso molecular (Carr y Derby, 1986; Derby y Atema, 1982; Hatt, 1984; Derby y Atema, 1988 y Corotto *et al.*, 1992). Con relación al resto de los tratamientos, en el caso del camarón blanco, este fue atraído más fuertemente por la mezcla de aminoácidos y aminos biogénicas, mientras que el langostino fue atraído por los extractos acuosos de pescado, lo cual puede

ser debido a las diferencias en los hábitos alimenticios que presenta cada especie.

Finalmente, en lo que respecta a los extractos acuosos de pescado en descomposición, éstos resultaron ser más estimulantes para los langostinos que para los camarones, esto quizás debido a los hábitos alimenticios de *M. rosenbergii*, como lo menciona Ling (1969), New (1990) y Holtschmit (1988a), ya que entre su preferéndum alimenticio destacan los cadáveres de peces y cualquier tipo de materia orgánica viva o muerta.

En cuanto a los resultados de los Bioensayos de Campo, se observó que *M. rosenbergii* resultó fuertemente atraído por la Arginina, ya que se obtuvieron mejores resultados al utilizar este aminoácido en forma individual, que al ser combinado en una proporción de 1:1 con otras moléculas. Por el contrario, *L. vannamei* fue más susceptible a la Cadaverina, así como a la combinación de los cuatro elementos, lo que revela la sensibilidad de esta especie al sinergismo entre las moléculas.

## **Metodología**

Uno de los criterios experimentales tomados en cuenta a lo largo de la serie de bioensayos fue, la utilización de organismos completos, es decir, sin carencia de apéndices, ya que es en estos órganos donde se encuentran las estructuras receptoras y la ausencia de estos hubiera podido afectar los resultados (Derby y Atema, 1982).

En el caso de la fase de Quimiodetección, es importante señalar la realización de curvas dosis-respuesta, las cuales son imprescindibles, ya que cuando la dosis aplicada en los alimentos rebasa los valores óptimos, ésta puede modificar la influencia que se pretende tener en el comportamiento del

organismo, logrando como consecuencia una sobresaturación de los receptores, tal y como fue observado por Carr y Derby (1986b). Sobre este mismo aspecto, se consideró adecuado utilizar únicamente aquellos tratamientos con valores mayores a 3, de acuerdo a la escala de Pittet, *et al.*, (1996), ya que estos permitieron observar mejor el comportamiento de cada una de las especies.

La utilización del método propuesto por Costero y Meyers (1993), para los bioensayos de Quimioatracción, provee ventajas tales como la evaluación experimental del comportamiento individual hacia un estímulo, lo que permite observar si el estímulo tiene un efecto realmente atractante e incitante para el crustáceo. En lo que respecta al comportamiento alimenticio, observamos que existen diferencias en el umbral de detección para cada especie, tal y como lo mencionan Costero y Meyers (*op. cit.*) y Harpaz *et al.*, (1987). Así, en la fase de movimiento, el camarón generalmente presentaba un desplazamiento hacia el estímulo ya fuera nadando o caminando, lo que permite suponer que aquellos tratamientos (Cadaverina y C-P-H-A) con los que se presentó este comportamiento (nado) ejercieron un alto potencial atractante. En cuanto a el langostino solo se observó un movimiento ambulatorio, probablemente debido a la constitución del mismo, ya que su exoesqueleto es mas queratinizado y el tamaño es mayor, lo que provocó que siempre sus movimientos fueran más lentos que en el camarón.

En este trabajo se utilizó el método de campo propuesto por Mendoza *et al.*, (1997), con el propósito de observar el efecto de los atractantes sobre la ingestión del alimento, en condiciones lo más cercanamente posible a las características de cultivo. A este respecto, en las jaulas se utilizaron varios ejemplares al mismo tiempo, como lo recomiendan Lee y Meyers (1996a), quienes mencionan que el empleo de un solo animal resulta adecuado solo en

condiciones de laboratorio, sin embargo, en pruebas de validación experimental en condiciones de campo, es necesario manejar un número mayor de animales, con la finalidad de evaluar de manera más precisa la aplicación práctica de los atractantes y obtener resultados objetivos. Asimismo, la aplicación de los atractantes por aspersión sobre el alimento, resulto satisfactoria tal y como se había determinado en bioensayos previos. En efecto, esta resulta ser la forma más efectiva de aplicación, ya que permite el contacto inmediato de los atractantes con el agua y su distribución en el alimento es más homogénea.

De aquí, que esta serie experimental le confiera mayor validez a la presente investigación ya que a pesar de existir numerosas publicaciones científicas sobre quimiorrecepción, aún es escasa la información que se ha desarrollado a niveles comerciales, tal como lo reportan Lee y Meyers (1996b), quienes han estimado que menos del 5% de estos trabajos, se han enfocado a la importancia comercial de los cultivos.

### ***Relación Costo-Beneficio***

Considerando los resultados obtenidos en los bioensayos de ingestión en condiciones comerciales de cultivo, podemos inferir que la aplicación de Arginina incrementa el consumo del alimento en un 480% en el caso de *M. rosenbergii* y de 725% en el caso de *L. vannamei*. De manera similar, se observó un aumento en el consumo al adicionar la Cadaverina como attractante en un 360% para *M. rosenbergii* y un 925% en *L. vannamei*. Igualmente se acrecenta la ingestión de la dieta al aplicar C-P-H-A en un 800% en el caso de *L. vannamei*, por lo que su utilización conllevaría a un beneficio significativo al traducirse en una disminución en los costos de producción, considerando principalmente el ahorro en los gastos de alimentación.

Analizando los resultados obtenidos tanto con la Arginina como con la Cadaverina, es posible su utilización en condiciones comerciales a través de un ciclo completo de cultivo. Así, hipotéticamente tendríamos que un kilogramo de cualquiera de estas moléculas, tomando en cuenta la dosis óptima estimada, se podría aplicar a aproximadamente 450 kg de alimento, el cual, al ser consumido en una proporción mayor al 300% con respecto al alimento comercial, equivaldría a utilizar 1,350 kg, lo que representaría un ahorro en el costo del alimento. De esta forma, se evitaría una inversión extra en el mantenimiento de una buena calidad del agua y se podría evitar enfermedades provocadas por acumulación de materia orgánica.

Por otra parte, se recomendaría que en el caso del camarón, se utilizara la mezcla de los cuatro elementos, ya que la concentración molar de esta combinación, permitiría optimizar las moléculas (aminoácidos y aminos) y de esta forma reducir el costo del attractante en relación a la utilización de las moléculas individuales.

De igual manera, en el caso del camarón y de el langostino se podrían utilizar los extractos acuosos de pescado (*ExA 44* y *ExA 20* respectivamente), ya que mostraron un resultado comparable a las moléculas individuales, con la ventaja de ser obtenidos fácilmente y a un costo mínimo, si se considera que se pueden adquirir como subproducto de plantas harineras de pescado.

Tomando en cuenta los resultados observados en este trabajo y aquellos reportados en la literatura citada, el uso de attractantes es un elemento definitivo para incrementar la palatabilidad de los alimentos estimulando su consumo, por lo que pueden ser utilizados en dietas elaboradas en base a ingredientes antipalatables pero de buena calidad proteica, como el caso de la soya y la canola (Tacon *et al.*, 1998).

Por último, además de la utilización de atractantes en las dietas para obtener las mayores ventajas posibles en su consumo, se debe de establecer un programa de manejo alimenticio en el cual se determine la proporción del alimento, la frecuencia de alimentación, cantidad de alimento por evento, tiempo de alimentación y método de presentación. Todo lo anterior permitirá aumentar la rentabilidad de los cultivos, tal y como lo mencionan Lee y Lawrence (1999).

## VIII.- CONCLUSIONES

La secuencia lógica de tamizaje y selección que se llevó a cabo a través de las diferentes fases de experimentación, condujo a la elección adecuada de moléculas atractantes, estimulantes e incitantes para cada especie.

Algunos de los tratamientos seleccionados (Cadaverina, Arginina y ExA 20 para langostino y C-H-P-A, Arginina, Cadaverina, H-P-A y ExA 44 para el camarón) resultaron ser mejores que el attractante comercial en términos de estimulación. Igualmente, éstos tratamientos provocaron mayores niveles de ingestión al ser agregados en dietas comerciales que ya contenían atractantes.

Este estudio reveló diferencias en cuanto a la percepción de los estímulos, ya que *Macrobrachium* es más sensible a moléculas individuales (Cadaverina y Arginina) y *Litopenaeus* resulta más sensible a las combinaciones de éstas moléculas (C-H-P-A).

Algunas combinaciones como C-H y C-P-A, no llegaron a provocar los niveles de ingestión esperados, presumiblemente por las cantidades equimolares que se manejaron.

La Histidina resulta ser incitante, pero no llega a ser estimulante. Sin embargo, en combinación con moléculas como la Arginina, que resultó ser estimulante, permitió la obtención de resultados favorables.

La determinación de la dosis óptima para cada uno de los tratamientos juega un papel importante, ya que los resultados pueden afectar negativamente si se reduce o se aumenta esta dosis.

El consumo del alimento fue propiciado a pesar de las bajas temperaturas a las que se realizó el experimento, lo cual abre nuevas perspectivas en cuanto a las estrategias de alimentación.

Con el uso de atractantes se muestra una interesante y viable opción para reducir los gastos de operación de una granja comercial de crustáceos, al promover una rápida detección del alimento y estimular su consumo, elevando de esta forma la rentabilidad de la misma. En particular, destaca el buen desempeño observado en base a los resultados obtenidos con los extractos acuosos de pescado, en términos de ingestión, por lo que dentro de este contexto resultan prometedores por su bajo costo.

## IX.- LITERATURA CITADA

- AYALA G.R. y V.N. VALENCIA (1987) Engorda del camarón en estanquería rústica. *Acuavisión Revista Mexicana de Acuicultura* Año II, No. 8, pp. 30-31
- ADLER H.M. MARGOSHES, I. SNYDER & C. SPITZER (1977) Rapid Chromatographic method to determine polyamines in urine and whole blood. *J. of Chromatography. Biomed. Appl.* 143:125-136
- BOHINSKI (1991) *Bioquímica*, 5ta. Ed., Addison-Wesley Iberoamericana, U.S.A., pág. 675
- BOYD C. & C. TUCKER (1995) Sustainability of channel catfish farming. *World Aquaculture.* 26(3):45-53.
- BROWN S.B. & T.J. HARA (1982) Biochemical aspects of Amino Acid Receptors in Olfaction and Taste. In: *Chemoreception in Fishes*. (Toshiaki J. Hara ed.). Elsevier Scientific Publishing Company. Cap. 9, pp. 159-180.
- CARR W.E.S. (1978) Chemoreception in the shrimp, *Palaemonetes pugio*: The role of amino acids and betaine in elicitation of a feeding response by extracts. *Comp. Biochem. Physiol.* 61 A:127- 131
- CARR W.E.S. (1988) The molecular nature of chemical stimuli in the aquatic environment, *Sensory Biology of Aquatic Animals*, pp. 3-27
- CARR W.E.S. & T. CHANEY (1976) Chemical Stimulation of Feeding Behavior in the Pinfish, *Lagodon rhomboides*: Characterization and Identification of Stimulatory Substances Extracted from Shrimp. *Comp. Biochem. Physiol.* 54 A :437-441
- CARR W.E.S. & H.W. THOMPSON (1983) Adenosine 5'-monophosphate, an internal regulatory agent, is a potent chemoattractant for a marine shrimp. *J Comp. Physiol.* 153:47-53
- CARR W.E.S. & C. DERBY (1986a) Behavioral chemoattractants for the prawn, *Palaemonetes pugio*: identification of active components in food extracts and evidence of synergistic mixture interactions. *Chemical Senses* . 11: 49-64.
- CARR W.E.S & C. DERBY (1986b) Chemically Stimulated Feeding Behavior in Marine Animals, Importance of Chemical Mixture and Involvement of Mixture Interactions. *Journal of Chemical Ecology*, 12(5): 989-1011
- CARR W.E.S., NETHERTON III J.C. & M.L. MILSTEAD (1984) Chemoattractants of the shrimp *Palaemonetes pugio*: variability in responsiveness and the stimulatory capacity of mixtures containing amino acids, quaternary ammonium compounds, purines and other substances. *Comp. Biochem. Physiol.* 77A(3):469-474
- CARR, W.E., H.G. TRAPIDO-ROSENTHAL & R.A. GLEESON (1989) Stimulants of feeding behaviour in marine organisms: receptor and perireceptor events provide insight into mechanisms of mixture interactions. *Academic Press. Australia*, 2:27-45
- CARTER, J.A. & D.H. STEELE (1982) Attraction to and selection of prey by immature lobster (*Homarus americanus*). *Canadian Journal of Zoology*, 60:326-336

- CASTRO CAMPOS E. (1992) Calidad Nutricional y Biotoxicológica de Harinas de Pescado. Avances analíticos y pruebas biológicas en aves. *Tecnología Avípecuaria, Nutrición*, Año 5, No. 48, pp. 12-13
- COHEN S.S., S. MORGAN & STREIBEL (1969) Content of the t-RNA, *Proc. Natl. Acad. Sci*, 61:699-676
- COMAN G.J., H.Z. SARAC, D. FIELDER & M. THORNE (1996) Evaluation of Crystalline Amino Acids, Betaine and AMP as Food Attractants of giant Tiger Prawn (*Penaeus monodon*). *Comp. Biochem. Physiol.* 113 A (3): 247-253
- COROTTO F., R. VOIGT & J. ATEMA (1992) Spectral Turning of Chemoreceptor cell of the third maxilliped of the lobster, (*Homarus americanus*) *Biol. Bull.* 183:456-462
- COSTA-PIERCE B.A. & E.A. LAWS (1985) Chemotactically-active feed additive for prawns (*Macrobrachium rosenbergii*). *The Progressive Fish Culturist*, 47(1): 59-61
- COSTERO M.C. & S.P. MEYERS (1993a) Evaluation of chemoreception by *Penaeus vannamei* under experimental conditions. *The Progressive Fish Culturist*. 55:157-162.
- COSTERO M. & S.P. MEYERS (1993b) Application of an agar disk bioassay for chemoreception by *Penaeus vannamei* Boone. *The Progressive Fish Culturist*. pp.1-11
- COWEY C.B. & C. Y. CHO (1992) Failure of Dietary Putrescine to Enhance the Growth of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, Vol. 49, pp. 2469-2473
- DERBY C.D. & J. ATEMA (1982) Chemosensitivity of walking legs of the lobster *Homarus americanus*: neurophysiological response spectrum and thresholds. *J. Exp. Biol.* 98:303-315.
- DERBY C.D. & J. ATEMA (1988) Chemoreceptor cells in aquatic invertebrates: Peripheral mechanisms of chemical signal processing in decapod crustaceans, *Sensory Biology of Aquatic Animals*. Springer – Verlag, Nueva York, N.Y., pp. 365- 385
- DERBY C.D. & S. HARPAZ (1988) Physiology of chemoreceptor cells in the leg of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Comp. Biochem. Physiol.* 90A (1): 85-91
- DERBY C.D., M.N. GIRARDOT, P.C. DANIEL & B. FINE-LEVY (1989) Olfactory discrimination of mixtures: behavioral, electrophysiological and theoretical studies using the spiny lobster *Panulirus argus*. *Academic Press. Australia*, 4:65-81
- DIAZ-LUNA, CESAR y LORAN NUÑEZ, ROSA M. (2000) Aprovechamiento de especies nativas de Langostino en el estado de Veracruz. Instituto Nacional de Pesca, Dirección General de Investigación en Acuicultura. Reunión Nacional de Redes de Investigación en la Acuicultura; Pachuca, Hidalgo 6 y 7 de Julio del 2000, pág. 7
- FRAZIER W.C. & WESTHOFF (1987) Microbiología de los Alimentos, Ed. Acribia, S.A. México, pp. 229-246
- FONSECA E. B. (1980) Recursos Bióticos. INIREB Informa, Comunicado No. 37 sobre recursos bióticos potenciales del país, Instituto Nacional de Investigación sobre Recursos Bióticos, México D.F., pág. 1
- FUJITA K. T., NAGATSU & K. SHINPO (1980) Assay methods for polyamines. *In Methods in Biogenic Amine Research*. Edited by S. Parvez, T. Nagatsu, S. H. Parvez, Cap. 32, pp.

- GALLAGHER J. G. (1998) A Review of World Shrimp farming in 1998. *Aquaculture Magazine*, 28<sup>th</sup> Annual Buyer's Guide, p. 48
- GALLEGILLOS A. (1993) Aminas Biogénicas: Nuevos Indicadores Químicos utilizados como criterios de calidad en harina de pescado. FAO. I Curso Regional de Capacitación en Control de Insumos y Dietas Acuicolas para Latinoamerica, Santiago de Chile Sep. 20-Oct. 8, pp.1-6
- GOUYGOU J-P., C. MARTIN, C. SINQUIN & P. DURAND (1989) Determination of biogenic amines in fish, *Océanis*, 15(4): 599-604
- GUERIN M. (1998) Use of Betaine in Aquafeeds: Attractant, Osmo-regulant or Lipotropic Metabolite?, *IV Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*, La Paz, B. C. 1988, parte I, pp. 3-5
- HAALAND H, E. ARNESEN & L.R. NJAA (1990) Amino Acids composition of whole mackerel (*Scomber scombrus*) stored anaerobically at 20°C and at 2°C. *International Journal of Food and Technology* 25, 82-87
- HALL G.M. (1997) Fish Processing Technology, second edition, *Blackie Academic & Professional*. An imprint of Chapman & Hall, London, page 25
- HAINEN J. M. (1980) Chemoreception in decapod Crustacea and chemical feeding stimulants as potential feed additives. *Proc. World Maricul. Soc.* 11: 319-334
- HARADA K., T.MIYASAKI & Y.TAMURA (1994) Chemoatraction effects of sugar and their related compounds on black abalone *Halotis discus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 109 A (1): 111-115
- HATT H. (1984) Structural requirements of amino acids and related compounds for stimulation of receptors in crayfish walking leg *J. Comp. Physiol. A.* 155:219-231
- HARPAZ. S. & J. E. STEINER (1990) Analysis of Betaine-induced feeding behavior in the prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) (Decapoda, Caridae). *Crustaceana* 58(2) 175-185.
- HARPAZ S., D. KAHAN, R. GALUN & I. MOORE (1987) Responses of freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, to chemical attractants. *Journal of Chemical Ecology*, 13(9):1957-1965.
- HARTATI R. & R.P. BRIGGS (1993) Effect of feeding attractants on the behavior and performance of juvenile *Penaeus monodon* Fabricius. *Aquaculture and Fisheries Management*, 24: 613-624
- HILL J. & J. WASSENBERG (1987) Feeding behaviour of adult Tiger Prawns, *Penaeus sculentus*, under Laboratory Conditions. *Aust. J. Mar. Freshw. Res.* 38:183-190.
- HINDLEY J.P.R. (1975) The detection, location and recognition of food by juvenile banana prawns, *Penaeus merguensis* de Man. *Marine Behaviour and Physiology*. 3: 193-210
- HODGSON E.S. (1958) Electrophysiological studies of arthropod chemoreception. III Chemoreception of terrestrial and freshwater arthropods. *Biol. Bull.* 115: 114-125

- HOLLAND K. (1985) Detection and food search thresholds of *Macrobrachium rosenbergii*, *Chem. Senses*. 10:461
- HOLSCHMIT K. (1988a) Manual Técnico para el cultivo y engorda del Langostino Malayo. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Campus Guaymas, Sonora, México. pp. 123 – 128
- HOLSCHMIT K. (1988b) Nutrición y Preparación de dietas de Langostino. *Acuavisión Revista Mexicana de Acuicultura*, Año III, No. 14, pp. 11-15
- HUSS H.H. (1988) El pescado fresco: calidad y cambios. Manual de capacitación preparado por el programa de capacitación FAO/DANIDA en *Tecnología Pesquera y Control de Calidad*. (Colección FAO: pesca, No. 29), 1-132
- INGLES D., J.F. BACK, D. GALLIMORE, R. TINDALE & K. SHAW (1985) Estimation of Biogenic Amines in Foods *J. Sci. Food Agric.* 36:402-406
- INP (2000) Estado de Salud de la Acuicultura, Dirección General de Investigación en la Acuicultura, cap. XVI y XVII, México, pág. 1-68 y 1-21
- JIMENEZ R. (1987) Panorama de la microscopia de alimentos balanceados, *Acuavisión Revista Mexicana de Acuicultura*, Año III, No. 14, pp. 25-26
- JOBLING M, A.M. ARNESEN, B.M. BAARDVIK, J.S. CHRISTIANSEN & L.H. JØRGENSEN (1995) Monitoring feeding behaviour and food intake: methods and applications *Aquaculture Nutrition* 1:131-143
- KHAJARERN, J., D. SINCHERMSIRI, A. HANBUNCHONG & U. KANTO (1987) Manual of feed microscopy and quality control. *American Soybean Association, National Renderers Ass. and us Feed Grains Council*, p 162
- KLAUSEN N. & E. LUND (1986) Formation of Biogenic Amines in Herring and Mackerel. *Z. Lebensm Unters Forsch.* Springer-Verlag 182:459-463
- KURMALY K., D.A. JONES & A.B. YULE (1990) Acceptability and digestion of diets fed to larval stages of *Homarus gammarus* and the role of dietary conditioning behaviour. *Marine Biology* 106: 181-190
- LEE P.G. & S. MEYERS (1995) Chemoattraction and feeding stimulation, *Aquaculture Nutrition*, pp. 292-357.
- LEE P.G. & S. MEYERS (1996a) Chemoattraction and feeding stimulation in crustaceans *Aquaculture Nutrition*. 2:157-164
- LEE P.G. & S. MEYERS (1996b) Chemoattraction and Feeding Stimulation. In: *Crustacean Nutrition*. D' Abramo, L., Conklin, D. and Akiyama, D. (eds.). *Advances in World Aquaculture Society Series*. pp. 292-352
- LEE P.G. & A.L. LAWRENCE (1999) Feeding strategies to optimize production efficiency on prawn forms. *Proceeding of the World Aquaculture Society*. Sidney, Australia. Pp:43
- LIM C. & W. DOMINY (1989) Evaluation of soybean meal as replacement for marine animal protein in diets for shrimps (*Penaeus vannamei*). *Draft*. pp. 20-22.
- LINDSTEDT K.J. (1971) Chemical control of feeding behavior. *Comp. Biochem. Physiol.*, 39A:

553-581.

- LING S.W. (1969) The general biology and development of *Macrobrachium rosenbergii* (Le Man). *Proceedings of the World Scientific Conference on the Biology and culture of shrimp and prawns*. Roma, Italia, pp. 589-606
- MAGALLON F. (1980) Datos sobre el cultivo del langostino asiático *Macrobrachium rosenbergii* (Le Man) en México. *Memorias del 2do. Simposium Latinoamericano de Acuicultura*. Colombia, Vol. 1: 621-639
- MC LEESE (1970) Detection of Dissolved Substances by the American Lobster (*Homarus americanus*) and Olfactory Attraction between lobster, *J. Fish Res. Bd. Can.* 27:1371-78
- MAKIE A.M. & ADRON (1978) Identification of inosine and inosine-5'-monophosphate as the gustatory feeding stimulants for the turbot (*Scophthalmus maximus*). *Comp. Biochem. Physiol.* 760 A, 79-83
- Mc TIGUE T.A. & R.J. ZIMMERMAN (1991) Carnivory vs. Herbivory in juvenile *Penaeus setiferus* (Linnaeus) and *Penaeus aztecus* (Ives), *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 151:1-16
- MENDOZA R. (1993) Métodos para evaluar la digestibilidad proteica de los alimentos para organismos acuáticos. In: L.Cruz, D. Ricque, and R. Mendoza Eds. *Memorias del Primer Simposium Internacional de Tecnología de Alimentos para Acuicultura*. Monterrey, N.L., México. pp. 155-202
- MENDOZA R., J. MONTEMAYOR & J. VERDE (1997) Use of pheromones and biogenic amines as feed attractants for the freshwater, *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture Nutrition*. 3:1-7
- MERCK INDEX (1981) Eleventh Editran Centennial Edition.
- MONTEMAYOR L. J. (1995) Uso de Feromonas y Aminoácidos Biogénicos como atrayentes en alimento para Langostino (*Macrobrachium rosenbergii*) Tesis de Maestría, F.C.B., U.A.N.L., pág. 21
- MORALES-LOA L. (1996) Análisis de la Hidrólisis digestiva del camarón blanco del Pacífico *Penaeus vannamei* y estudio del tiempo de tránsito intestinal de diferentes alimentos a base de Harina de pescado con diferente score biotóxico, Tesis de licenciatura, F.C.B., U.A.N.L. pág. 6
- MORALES-VENTURA (1987) Kuruma: especie que se cultiva en Japón (*Penaeus japonicus*). *Acuavisión Revista Mexicana de Acuicultura*, Año II, No. 8, pp. 26-27
- MILLER B. (1993) Effect of Langobuds™ as an attractant for *P. monodon*. *Aquatrends, International Aquaculture Newsletter*, 4(1): 1-4
- NEW M.B. (1990) Freshwater Prawn Culture: A Review. *Aquaculture*. 88:99-143.
- OSTLE B. (1983) Estadística Aplicada, 1a. ed, Editorial LIMUSA, México, D.F., pp. 221-357
- PÉREZ-CHI (1991) Observaciones sobre la biología del langostino *Macrobrachium americanum* en cautiverio. *An. Esc. Nac. Cienc. Biol.*, 34:123-143
- PEBBLES J. B. (1977) A rapid technique for molt staging in live *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*. 12:173-180

- PITTET A. O., J.C. ELLIS & P.G. LEE (1996) Methodology for the identification and quantitative measurement of chemical stimulants for penaeid shrimp. *Aquaculture Nutrition*. 2: 175-182.
- POOLE D. (1993) Las Aminas Biogénicas Pueden Afectar el Desempeño de las Aves de Corral. Memorias de Seminario Técnico sobre Nutrición Avícola. México, pp. 33-41
- RAINA A. (1963) Studies on the determination of spermidine and spermine and their metabolism in the developing chick embryo. *Acta Physiol. Scand.* 60:218-22
- REGRNSTEIN J.M. & C. REGENSTEIN (1991) Introduction to Fish Technology, *Published by Van Nostrand Reinhold*, New York, U.S.A., pp. 65-69
- RIFKIN B. & L. M. BARTOSHUK (1980) Taste synergism between monosodium glutamate and disodium 5-guanylate, *Physiol. Behav.* 24: 1169-1172
- SAMEJIMA K., M. KAWASE, S. SAKAMOTO & M. OKADA (1976) A sensitive fluorometric method for determination of aliphatic diamins and polyamines in biological materials y high-speed liquid chromatography. *Anal. Biochem.* 6:392-404
- SEVILLA M (1983) Biología Pesquera, Editorial C.E.C.S.A., México, pág. 81
- SEPESCA (1990) Anuario Estadístico de Producción Pesquera. Cifras de 1988, México, pág.428
- SEPESCA (2000) Anuario Estadístico de Producción Pesquera. Cifras de 1998, México, pág. 59
- SICK L.V. (1976) Selected studies of protein and amino acid requirements for *Macrobrachium rosenbergii* larvae fed neutral density formula diets. In: K.S. Price Jr., W.N. Shaw y K.S. Danberg, editors. *Proceedings of the First International Conference on Aquaculture Nutrition*. pp. 215-228
- SMITH T.A. (1970) The quantitative estimation of putrescine by gas chromatography. *Anal Biochem.* 33: 10-15.
- STEEL R. G y J.H. TORRIE (1980) Bioestadística. Principios y Procedimientos, 2da. Ed., McGraw-Hill, México, Capítulo 8, pág. 181-148
- SUZUKI S., K. KOBAYASHI & K. TAKAMA (1994) Occurrence of biogenic amines at different processing stages of dried herring. *Fisheries Sciences.* 60(3): 353-354.
- TIERNEY A.J. & J. ATEMA (1988) Behavioral responses of crayfish (*Orconectes virilis* and *Orconectes rusticus*) to chemical feeding stimulants. *Journal of Chemical Ecology*, 14(1): 123-133.
- VOIGT R. & J. ATEMA (1992) Tuning of chemoreceptor cells of second antenna of the American lobster (*Homarus americanus*) with a comparison of four of its other chemoreceptor organs, *J. Comp. Physiol.* 171:673-683
- WEISSBURG M.J. & ZIMMER-FAUST R. (1991) Ontogeny versus Phylogeny in Determining Patterns of Chemoreception: Initial Studies with Fiddler Crabs, *Biol. Bull.* 81:205-215
- WICKI G.A. (1998) Producción del Langostino de agua dulce o camarón gigante de Malasia (*Macrobrachium rosenbergii*), *Revista Aquatic No. 3*  
<http://aquaticunizar.es/>

- ZALDIVAR L. (1992) Criterios de clasificación de harinas de pescado. *CORPESCA*, Sep-Oct, pp. 43-47
- ZIMMER-FAUST R.K. (1987) Crustacean chemical perception: Towards a theory on optimal chemoreception. *Biol. Bull.* 172: 10-29.
- ZIMMER-FAUST, R.K. (1989) The relationship between chemoreception and foraging behavior in crustaceans. *Limnol. Oceanogr.* 34(7): 1367-1374.
- ZIMMER-FAUST R.K. (1991) Chemical signal to noise detection by spiny lobsters, *Biological Bulletin.* 181:419-426

## IX.- ANEXO

Composición de la dieta utilizada para *M. rosenbergii* en la granja del Laboratorio Vista Hermosa, Tamps.

Camaronina 35%  
Contenido Neto 25 Kg.  
PURINA, S.A. de C.V.

Humedad .....	12.00 % max	Cenizas .....	10.00 % max
Proteína .....	35.00 % min	Calcio .....	1.40 % min
Grasa .....	8.00 % min	Fósforo .....	0.90 % min
Fibra cruda .....	5.00 % max	E.L.N. ....	30.00 % P. Dif.

### Ingredientes

Proteínas animales de origen marino, harinas de origen animal, combinación de pastas de oleaginosas, cereales molidos, subproductos alimenticios agrícolas e industriales, subproductos vegetales, subproductos cereales, aceite de pescado, fosfolípidos, atrayentes naturales. Vitaminas: Vit. A, Vit. D-3, Vit. E, Vit. K, tiamina, riovoflavina, niacina , ác. Pantotenico, piridoxina, Vít. B-12, biotina, ác. folico, cloruro de colina, ác. ascorbico estabilizado (stay-C) inositol. Minerales: Carbonato de calcio, Fosfato monosodico y/o monocalcico, Cloruro de potasio, Cloruro de sodio, Sulfato de manganeso, Sulfato de magnesio y/o oxido de magnesio, Sulfato de zinc, Sulfato ferroso, Sulfato de cobre. Aditivos: antioxidante, fungicida, lisina - HCl, D - L metionina, atrayentes sinteticos.

Composición de la dieta utilizada para *L. vannamei* en la granja Camaronicola Vista Hermosa, Tamps.

Camaron "AS" 35% (Pelet 3/32")  
Contenido Neto 25 Kg.  
Acuacultora "AS", Industrias Alicon, S.A. de C.V.

Proteína cruda mínima .....	35.0 %
Grasa cruda .....	6.0 %
Fibra cruda máxima.....	4.0 %
Ceniza máxima .....	10.0 %

E. N. L. ....33.0%  
Humedad máxima .....12.0 %

### Ingredientes

Harina de pescado, Harina de calamar, Harina de camarón, Harina de trigo, Pasta de soya, Sorgo, Aceite de pescado y/o calamar, Lecitina de soya, Ortofosfato, Bentonita, Vitamina A suplemento, Vitamina D3 suplemento, Vitamina E suplemento, Vitamina C (stay-C AscorbyL-polyphosphate), Colina, Tiamina, Rivo flavina, Acido pantoténico, Acido fólico, Biotina, Inositol, Niacina, Piridoxina, B.H.T., Manganeso, Fierro, Zinc, Cobre, Yodo, Selenio y Potasio, DL-Metionina.

