

Efecto de variación de proteínas y lípidos en dietas para *Macrobrachium tenellum*, respecto a indicadores reproductivos

Effect of protein and lipid variation in diets for *Macrobrachium tenellum*, with respect to reproductive indicators

Omar Alejandro Peña-Almaraz^{1,2} ,
Fernando Vega-Villasante² ,
Alí Francisco Espinosa-Magaña² ,
Saúl Rogelio Guerrero-Galván² ,
Manuel Alejandro Vargas-Ceballos^{2,*} 

¹Programa de Doctorado BE-MARENA, Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de la Costa. Puerto Vallarta, Jalisco, México.

²Laboratorio de Calidad de Agua y Acuicultura Experimental, Universidad de Guadalajara. Av. Universidad 203, Delegación Ixtapa. CP. 48280. Puerto Vallarta, Jalisco. México.

*Autor de correspondencia: m.alejandrovargas.cebaldos@gmail.com

Artículo científico

Recibido: 16 de octubre 2022

Aceptado: 18 de febrero 2023

Como citar: Peña-Almaraz OA, Vega-Villasante F, Espinosa-Magaña AF, Guerrero-Galván SR, Vargas-Ceballos MA (2023) Efecto de variación de proteínas y lípidos en dietas para *Macrobrachium tenellum*, respecto a indicadores reproductivos. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 10(1): e3512. DOI: 10.19136/era.a10n1.3512

RESUMEN. El objetivo de este estudio fue determinar la maduración gonadal, calidad de los huevos y larvas de hembras de *Macrobrachium tenellum* alimentadas con dietas con diferentes niveles de proteínas y lípidos, utilizando indicadores morfológicos y pruebas de estrés. Se capturaron reproductores de *M. tenellum* en el río Ameca, Jalisco-Nayarit. Se probaron ocho dietas experimentales con cuatro niveles de proteína (30, 35, 40 y 45% P) y dos niveles de lípidos (4 y 12% L), se evaluó la fecundidad (FC), esfuerzo reproductivo (ER), la tasa de eclosión (TE), índice gonadosomático (IGS), índice hepatosomático (IHS), y pruebas de estrés en larvas: supervivencia en inanición y tolerancia a salinidad alta (45 ups). Los resultados muestran que las interacciones entre proteínas y lípidos tienen efectos diferentes en la calidad de huevos y las pruebas de estrés en larvas. La dieta que presentó el promedio más alto en FC, ER y TE fue P30L12, a su vez, la dieta P30L4 obtuvo los promedios más bajos en dichos parámetros. Los IGS e IHS fueron independientes de los tratamientos dietarios y no se encontraron diferencias haciendo comparaciones entre ambos índices. La dieta P30L4 no es la mejor opción para reproductoras de la especie y se recomienda la dieta P35L4 ya que garantiza una calidad de huevos y larvas similar a la mayoría de las dietas evaluadas.

Palabras clave: Alimentación, proteínas, langostino, lípidos, reproductores.

ABSTRACT. This work aimed to determine the gonadal maturation, egg and larval quality of *Macrobrachium tenellum* females fed diets with different protein and lipid levels, using morphological indicators and stress tests. *M. tenellum* broodstock were captured in the Ameca River, Jalisco-Nayarit. Eight experimental diets with four protein levels (30, 35, 40 and 45% P) and two lipid levels (4 and 12% L) were tested. Fecundity (FC), reproductive effort (RE), hatching rate (HT), Gonadosomatic Index (GSI), Hepatosomatic Index (HSI), and larval tests: starvation survival and tolerance to high salinity (45 psu), were evaluated. The results show that protein-lipid interactions have different effects on egg quality and larval stress tests. The diet with the highest mean in FC, RE and HT was P30L12, while the P30L4 diet obtained the lowest averages in these parameters. The GSI and HSI were independent of the dietary treatments and no differences were found when comparing the two indexes. The present study showed that the P30L4 diet is not the best option for broodstock of the species and the P35L4 diet is recommended since it guarantees egg and larval quality similar to most of the diets evaluated.

Key words: Feeding, proteins, prawns, lipids, broodstock.

INTRODUCCIÓN

El langostino anfídromo *Macrobrachium tenellum* es una especie con gran potencial de producción en acuicultura, debido a su gran abundancia en la naturaleza, su amplia tolerancia a intervalos fisicoquímicos del agua y su manipulación es relativamente más sencilla comparado con especies de mayor tamaño del mismo género (García-Guerrero *et al.* 2013). Pero una limitante de su producción en acuicultura comercial es la falta de estudios sobre la reproducción y la nutrición de los reproductores (Sui *et al.* 2011).

Entre los principales factores que influyen la capacidad reproductiva de los decápodos se encuentra la alimentación; la cual es esencial, ya que debe satisfacer los requerimientos nutricionales que promuevan la maduración sexual e influyen en la condición fisiológica y morfológica de los gametos, así como la calidad del huevo y desove (Cheng *et al.* 2000, Millamena y Quintino 2000, Pérez-Rodríguez *et al.* 2019). La mayoría de los estudios sobre requerimientos nutricionales para una maduración sexual óptima en camarones carídeos marinos y dulceacuícolas están enfocados en las hembras, por tener un mayor grado de importancia en la reproducción, debido a que son las encargadas de la producción de huevos y transferencia de reservas energéticas a las larvas (Wouters *et al.* 2001, Racotta *et al.* 2003).

La especie más estudiada en aspectos de cultivo y dietas destinadas a reproductores de ambos sexos dentro del género *Macrobrachium* es *Macrobrachium rosenbergii* (Cavalli *et al.* 1999, New y Wagner 2008, Nhan *et al.* 2009). Diferentes estudios han demostrado que el uso de distintos niveles de proteínas y lípidos en dietas para reproductoras mejoran la calidad del huevo, fecundidad y calidad de larvas en condiciones controladas (Kangpanich *et al.* 2016). Al respecto, Benítez-Mandujano y Ponce-Palafox (2014), evaluaron dietas experimentales con varios niveles de proteína y lípidos en reproductores de *M. carcinus*, reportando un crecimiento mayor en dietas con 13% de lípidos; además de que los mayores niveles de proteína en la dieta (40 a 45%)

favorecieron el incremento de la proteína muscular. Mientras que para *M. tenellum* García-Ulloa *et al.* (2004) sugieren un requerimiento de proteína por debajo del 35% para su maduración, desarrollo gonadal y desove.

Uno de los principales problemas para implementar de forma exitosa la acuicultura de langostinos dulceacuícolas, es el bajo porcentaje de supervivencia de las larvas en condiciones de cultivo (Yamasaki-Granados *et al.* 2013). Por lo tanto, se requieren investigaciones que analicen el efecto de la dieta de los reproductores en la calidad del huevo y larva; dicha información ayudará a la identificación de los requerimientos nutricionales específicos que conllevará a la elaboración de dietas que cubran las demandas energéticas de los reproductores y su descendencia; lo cual coadyuvará a desarrollar las biotecnologías que permitan el manejo de especies nativas potencialmente cultivables. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de dietas con diferentes niveles de proteínas y lípidos suministradas a hembras de *M. tenellum*, en relación con la maduración ovárica y calidad de los huevos y larvas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Organismos experimentales

Entre mayo y agosto del 2020 se capturaron reproductores de *M. tenellum* (> 1.8 g y 4.0 cm) de poblaciones silvestres en el río Ameca, Jalisco, Nayarit (20° 41' 10.2" LN, 105° 16' 11.5" LO). La captura se realizó con distintos artes de pesca. Posteriormente los organismos se aclimataron a las condiciones del Laboratorio de Calidad de Agua y Acuicultura Experimental (LACUIC) del Centro Universitario de la Costa (CUC-UDG).

Formulación y fabricación de alimentos para bioensayos

Se evaluaron ocho dietas con diferentes niveles de proteína (30, 35, 40 y 45% P), con dos niveles de lípidos (4 y 12% L) cada una. Para formular las dietas se utilizó: harina y aceite de pescado, harina de maíz, grenetina, mezcla de vitaminas y

minerales, vitamina C, benzoato de sodio, α -Tocoferol y fécula de maíz (Tabla 1). Se utilizaron la harina de pescado y el aceite de pescado en mayor y menor proporción para obtener los niveles adecuados de proteína y lípidos para cada dieta experimental. Para la fabricación del alimento balanceado peletizado se pesaron los ingredientes en una balanza analítica Nimbus[®] (ADAM[®] NBL:254 d = 0.0001 g) y posteriormente a eso se mezclaron en un procesador de alimentos KitchenAid[®] durante 15 minutos hasta lograr la consistencia deseada. Después, la mezcla se procesó en un molino de carne KitchenAid[®] para formar pellets de 5 mm de diámetro y se dejaron secar en un horno Novatech[®] (max. 320 °C) a 65 °C durante 24 h. El alimento se retiró del horno y se dejó 2 h a temperatura ambiente, posteriormente se colocó en envases de plástico en un congelador a una temperatura de -5 °C para su conservación hasta su uso.

La determinación proximal de los alimentos se realizó de acuerdo con los protocolos de la AOAC (1995). El contenido de proteínas totales se determinó con el método de micro Kjeldahl y se multiplicó por el factor de 6.25. El contenido de lípidos totales se determinó con el método de Soxhlet y se utilizó hexano como solución acarreadora. Las cenizas se determinaron mediante la calcinación de una muestra a 550 °C por 6 h en una mufla. El extracto libre de nitrógeno se calculó por la diferencia de la materia seca con la fórmula $ELN = 100 - (\% \text{ proteína cruda} + \% \text{ lípidos totales} + \% \text{ de cenizas})$.

Evaluación de la calidad de los huevos

Las ocho dietas experimentales se evaluaron por triplicado colocando ocho hembras por replica en reservorios de agua aforados a 200 L (capacidad máxima 600 L) y se mantuvieron machos separados de las hembras bajo las mismas condiciones. Se realizaron biometrías iniciales (peso total y longitud de la base del pedúnculo ocular a la punta del telson) a las hembras y machos. La alimentación se llevó a cabo a las 16:00 h con el 5% de la biomasa de cada reservorio.

Durante el periodo del bioensayo (120 días) se retiró todos los días el alimento sobrante y se

realizó recambio de agua del 30% cada dos días. Transcurridos los 30 días de alimentación se colocaron a los machos en una relación de cuatro hembras por un macho (4H:1M) en cada reservorio para propiciar la cópula. Cada dos días se registró el número de hembras ovígeras en cada tanque. Siete días después de la fertilización, las hembras se extrajeron del tanque experimental (con las precauciones debidas para no dañar la masa ovígera), se registró el peso y talla, y se colectó la totalidad de la masa ovígera con unas pinzas de disección. De la masa ovígera se separaron dos submuestras y los huevos se contaron con ayuda de un microscopio-estereoscopio (AmScope[®]). Las dos submuestras, junto con los huevos restantes, se pesaron y se secaron en un horno a 60 °C durante 48 h. Se utilizó una balanza analítica Nimbus[®] (ADAM[®] NBL:254 d = 0.0001 g) para determinar el peso húmedo y el peso seco promedio de cada huevo (PSH). El PSH y la fecundidad (FC) se calcularon de acuerdo a las ecuaciones propuestas por Hernáez y Wehrtmann (2011), adaptadas por Vargas-Ceballos *et al.* (2018a):

$$H = MH/NH$$

Donde: MH = peso húmedo de la muestra, NH = número de huevos en la muestra, H = peso húmedo del huevo.

$$PSH = MS/NH$$

Donde: MS = peso seco de la muestra, NH = número de huevos en la muestra y PSH = peso seco del huevo.

$$FC = (PMH/H)/PTH$$

Donde: PMH = peso húmedo de la masa total de huevos, H = peso húmedo del huevo, PTH = peso total de la hembra y FC (fecundidad) = número total de huevos por gramo de hembra.

El esfuerzo reproductivo (ER) fue estimado para cada hembra individual, como el porcentaje del peso de la masa ovígera en relación con el peso total de cada hembra (Kangpanich *et al.* 2016).

En las submuestras de huevos se midió el diá-

Tabla 1. Ingredientes y composición proximal de las ocho dietas experimentales que contienen cuatro niveles de proteína (30, 35, 40 y 45% P) y dos niveles de lípidos (4 y 12% L) que se utilizaron en los bioensayos de evaluación de la maduración gonadal, calidad de huevos y larvas de *Macrobrachium tenellum*.

Ingredientes (g Kg ⁻¹)	Tratamientos experimentales							
	P30L4	P35L4	P40L4	P45L4	P30L12	P35L12	P40L12	P45L12
Harina de pescado ¹	356.3	431.9	507.5	583.7	356.3	431.9	507.4	583.1
Harina de maíz	55.0	55.0	55.0	55.0	55.0	55.0	55.0	55.0
Aceite de pescado ¹	12.6	6.8	1.0	0.0	92.6	86.8	81.0	75.2
Almidón de maíz	478.7	408.9	339.2	264.6	398.7	328.9	259.2	189.4
Gelatina	60.0	60.0	60.0	60.0	60.0	60.0	60.0	60.0
Mezcla de vitaminas y minerales ²	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
Vitamina C ²	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Benzoato de sodio	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3
Cloruro de colina ²	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9
α-Tocoferol	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Composición proximal (% base en materia seca) *								
Proteínas	30.2 ± 1.5	35.0 ± 1.1	39.9 ± 0.3	44.9 ± 1.1	30.2 ± 1.2	35.6 ± 0.5	41.1 ± 0.5	45.5 ± 1.6
Lípidos	3.9 ± 0.1	3.9 ± 0.1	4.0 ± 0.1	3.8 ± 0.1	11.8 ± 0.5	12.7 ± 0.5	12.5 ± 0.3	12.7 ± 0.4
Cenizas	10.5 ± 0.2	13.0 ± 0.5	13.3 ± 0.2	15.4 ± 0.1	10.6 ± 0.2	12.3 ± 0.2	14.0 ± 0.2	15.7 ± 0.2
Extracto libre de nitrógeno**	55.3	48.0	42.6	35.8	47.4	39.3	32.3	26.0

¹Proteínas Marinas y Agropecuarias, S.A. de CV, Guadalajara, Jalisco, México. ²Sistemas en Zootecnia S.A. de C.V., Tlajomulco de Zuñiga, Jalisco, México. * Los valores se expresan como media y (±) desviación estándar (n = 3), no existen diferencias significativas entre los valores de porcentajes proximales en los niveles de lípidos equivalentes y proteínas equivalentes entre las dietas (p > 0.05). ** Extracto Libre de Nitrógeno = 100 - (Proteínas + Lípidos + Cenizas).

metro mayor (L) y menor (l) por medio de un microscopio-estereoscopio (AmScope®) equipado con ocular micrométrico (1 = 0.4 mm), posteriormente se hizo la conversión de su escala a mm para determinar el volumen (mm³) de los huevos según la siguiente ecuación (Bazán *et al.* 2009):

$$V = (\pi)(L)(l^2/6)$$

Se realizó un sistema tipo incubadora para la eclosión de los huevos. Este sistema consistió en un contenedor plástico rectangular con la temperatura controlada a 28 °C por medio de un calentador eléctrico de inmersión de 100W (Boyu HT® - 2200), una bomba de agua de flujo continuo para recirculación y una cubierta plástica para evitar pérdida de calor. Conforme las hembras fueron fecundadas, en este sistema se colocaron en recipientes plásticos de 200 mL, tres submuestras de al menos 5 hembras de cada tratamiento (una submuestra por recipiente) cada hembra con 30 huevos en estadio III (Wehrtmann 1990) a punto de eclosionar y se determinó la tasa de eclosión (en porcentaje) mediante la diferencia de huevos eclosionados/no eclosionados.

Evaluación de calidad de las larvas

Se seleccionaron, al azar, al menos cinco hem-

bras ovígeras con huevos en estadio III a punto de eclosionar de cada tratamiento, que se aislaron individualmente en peceras de 30 L hasta la eclosión de los huevos y obtención de las larvas. Una vez eclosionadas se seleccionaron 60 larvas al azar de cada hembra, para registrar la Longitud total (LTL), además de muestras de larvas para aplicar las pruebas de estrés de supervivencia larval en inanición (SLI) y supervivencia larval a 45 ups (SL45). En ambas evaluaciones se colocaron larvas recién eclosionadas en recipientes plásticos de 200 mL sumergidos parcialmente en el sistema tipo incubadora descrito anteriormente.

La SLI se evaluó durante cuatro días, con 20 larvas seleccionadas aleatoriamente de cada hembra por triplicado. La salinidad para esta prueba se ajustó a 10 ups, diluyendo agua marina con agua purificada, las larvas no se alimentaron y no se renovó el agua en el transcurso del experimento. Para luego realizar observaciones cada 12 h; las larvas que no presentaron movimiento de apéndices y no respondieron a estímulos mecánicos fueron consideradas muertas. La SL45 se realizó por triplicado con 15 larvas aleatorias de cada hembra y a una concentración salina de 45 ups. Este bioensayo tuvo una duración de una hora y se monitoreó la mortalidad cada 5 min (Cavalli *et al.*

2000). Las larvas que no presentaron movimiento de apéndices y no respondieron a estímulos mecánicos fueron consideradas muertas

Evaluación del Índice Gonadosomático (IGS) y Hepatosomático (IHS)

Al finalizar los bioensayos con las dietas experimentales, se separaron los machos de los tanques y una vez que las gónadas de las hembras no fecundadas estuvieran completamente maduras (ovario visible de color verde oscuro que ocupa la mayor porción dorsal del cefalotórax, abulta el exoesqueleto en esa región), se sacrificaron siete hembras por tratamiento y se obtuvieron las gónadas y hepatopáncreas por disección, y se registró su peso en una balanza analítica Nimbus[®] (ADAM[®] NBL:254 d = 0.0001g). Los índices IGS e IHS se calcularon como el porcentaje de gónada y hepatopáncreas respecto al peso corporal total, respectivamente (Cavalli *et al.* 2000).

Análisis estadísticos

Para determinar diferencias de los parámetros de calidad de los huevos y larvas entre los distintos tratamientos se realizaron pruebas ANOVA de una vía ($p < 0.05$). En el caso de diferencias se aplicó una prueba de Tukey ($p < 0.05$) para esclarecer dichas diferencias. Se probó la normalidad y homocedasticidad de los datos mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente, los datos que no cumplieron con los supuestos de normalidad y homocedasticidad se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis de una vía ($p < 0.05$). Para evaluar si las interacciones entre las distintas variables dependientes y los factores (Lípidos x Proteínas) de los parámetros de calidad de los huevos y larvas son significativas, se realizó un análisis de varianza de dos vías. Los valores porcentuales (TE, SL45 y SLI) se transformaron con la función arcoseno antes de realizar los análisis (Zar 1996). En el caso del IGS-IHS se realizaron ANOVAS para determinar diferencias entre cada índice y comparaciones por pares, pruebas U de Mann-Whitney, para comparar ambos índices. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software IBM SPSS Statistics[®].

RESULTADOS

Calidad de los huevos

La FC varió entre los distintos tratamientos, entre 880 y 1 407 huevos $\cdot g^{-1}$ hembra (Tabla 2). Los resultados indican que los langostinos alimentados con las dietas P35L4, P40L4, P30L12 y P35L12 obtuvieron los valores significativamente más altos en FC, con rango de 1 276 a 1 407 huevos $\cdot g^{-1}$ hembra y los valores más bajos se encontraron en las dietas P30L4 y P45L12 (855 a 880 huevos $g^{-1} \cdot hembra$). Respecto al ER, los promedios más altos (masa ovígera $g^{-1} \cdot hembra g^{-1}$) en general, se obtuvieron con las dietas L12, no obstante, los análisis estadísticos demostraron que existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la dieta P30L4 (7.68 masa ovígera $g^{-1} \cdot hembra g^{-1}$) comparada con las dietas P35L4, P30L12 y P35L12 (con rango de 11.03 a 12.09 masa ovígera $g^{-1} \cdot hembra g^{-1}$).

Los porcentajes de la TE (Tabla 2) indican que existen diferencias significativas entre las dietas P30L4 y P40L4, donde se obtuvieron los menores valores (88.40 a 88.73%), en comparación con las dietas restantes. El VH que se obtuvo en todos los tratamientos varió de 0.054 a 0.059 mm^3 y el PSH mostró variaciones de 35.01 a 47.76 μg ; pero no se detectaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos en estos dos indicadores.

El ANOVA de dos vías sugirió que en el caso de la FC existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los niveles de proteína, independiente del porcentaje de lípidos, y también hay diferencias significativas en las interacciones entre proteína y lípido; no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) solo comparando los niveles de lípidos. El ER y VH solo tuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las interacciones de proteína. En el caso de la TE, se observó que existen diferencias en los niveles de proteínas y lípidos, pero no existen diferencias significativas entre las interacciones. No se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en las comparaciones de los factores proteína, lípido y su interacción en el PSH.

Tabla 2. Efectos de las ocho dietas experimentales que contienen cuatro niveles de proteína (30, 35, 40 y 45% P) y dos niveles de lípidos (4 y 12 L), respecto a la fecundidad, esfuerzo reproductivo, calidad del huevo, pruebas de estrés larval y longitud total larval de reproductoras de *Macrobrachium tenellum*. Los superíndices con letras distintas dentro de las mismas columnas indican diferencias estadísticas ($p < 0.05$). ANOVA de dos vías ($p < 0.05$).

Dieta	Peso hembra (g)	Longitud hembra (cm)	Fecundidad (huevos/g hembra)	Esfuerzo reproductivo (masa ovígera g/hembra g)	Volumen huevo (mm ³)
P30L4	2.37 ± 0.50	4.63 ± 0.28	880 ± 57 ^a	7.68 ± 1.56 ^a	0.059 ± 0.003
P35L4	2.38 ± 0.51	4.70 ± 0.35	1276 ± 110 ^{bc}	11.30 ± 1.75 ^b	0.058 ± 0.003
P40L4	2.34 ± 0.45	4.74 ± 0.37	1312 ± 159 ^{bc}	9.79 ± 0.81 ^{ab}	0.058 ± 0.005
P45L4	2.30 ± 0.49	4.64 ± 0.37	1099 ± 183 ^{ab}	9.77 ± 1.31 ^{ab}	0.056 ± 0.005
P30L12	2.40 ± 0.48	4.65 ± 0.42	1407 ± 195 ^c	11.03 ± 1.54 ^b	0.054 ± 0.004
P35L12	2.37 ± 0.50	4.69 ± 0.35	1281 ± 188 ^{bc}	12.09 ± 1.25 ^b	0.058 ± 0.006
P40L12	2.38 ± 0.50	4.76 ± 0.13	1080 ± 177 ^{ab}	10.50 ± 0.70 ^{ab}	0.056 ± 0.003
P45L12	2.42 ± 0.54	4.71 ± 0.39	855 ± 109 ^a	9.99 ± 1.27 ^{ab}	0.055 ± 0.004
ANOVA de dos vías (valor p)					
Proteína			<0.0001	<0.0001	0.479
Lípido			0.747	0.006	0.029
Proteína x lípido			<0.0001	0.062	0.255

Tabla 2. Continuación.

Dieta	Peso seco huevo (mg)	Tasa de eclosión (%)	Longitud total larval (mm)	Supervivencia larval a 45 ups 20 min (%)	Supervivencia larval inanición 84 h (%)
P30L4	0.045 ± 0.018	88.40 ± 6.94 ^a	1.68 ± 0.04	41.91 ± 15.73 ^{abc}	24.29 ± 13.37 ^d
P35L4	0.037 ± 0.010	93.97 ± 5.44 ^b	1.69 ± 0.03	55.24 ± 9.20 ^{ab}	91.18 ± 6.97 ^{ab}
P40L4	0.038 ± 0.012	88.73 ± 5.21 ^a	1.66 ± 0.04	44.00 ± 15.89 ^{abc}	70.00 ± 31.30 ^c
P45L4	0.036 ± 0.006	95.56 ± 4.24 ^b	1.68 ± 0.02	31.67 ± 12.53 ^c	91.88 ± 8.84 ^{ab}
P30L12	0.042 ± 0.009	96.67 ± 3.12 ^b	1.69 ± 0.04	50.00 ± 9.19 ^{ab}	88.22 ± 9.53 ^{ab}
P35L12	0.035 ± 0.013	95.69 ± 4.34 ^b	1.60 ± 0.05	59.05 ± 4.60 ^a	82.92 ± 11.77 ^{bc}
P40L12	0.047 ± 0.009	93.85 ± 6.00 ^b	1.66 ± 0.04	37.30 ± 4.96 ^{bc}	96.67 ± 4.50 ^a
P45L12	0.042 ± 0.009	96.11 ± 3.33 ^b	1.67 ± 0.04	52.38 ± 2.52 ^{ab}	90.84 ± 5.58 ^{ab}
ANOVA de dos vías (valor p)					
Proteína	0.077	<0.0001	0.684	0.001	<0.0001
Lípido	0.334	<0.0001	0.383	0.026	<0.0001
Proteína x lípido	0.214	0.002	0.360	0.005	<0.0001

Calidad de las larvas

Los resultados de la SL45 muestran porcentajes que van de 31.67 a 59.05%, el valor más alto se obtuvo en la dieta P35L12, seguido de P35L4 y el valor más bajo en P45L4; y fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$). La SLI durante 84 h presentó porcentajes variados, la dieta con el promedio de SLI más alto fue P40L12 (96.67%) seguida de P45L4 (91.88%) y después P35L4 (91.18%), el promedio más bajo fue para la dieta P30L4 (24.29%), en dichas dietas se encontraron diferencias significativas.

La LTL no presentó mucha variación, con promedios de 1.60 a 1.69 mm. Con respecto, a las interacciones entre los factores proteína y lípido, se observaron diferencias significativas en las interacciones de todos los factores probados (pro-

teína, lípido, proteína x lípido) en la SLI. Además de diferencias significativas en las interacciones de la SL45, pero solo con las interacciones de los porcentajes de proteína.

Índice gonadosomático (IGS) y hepatosomático (IHS)

Los IGS e IHS no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$) en los distintos tratamientos (Figura 1) y tampoco se encontraron diferencias al comparar el IGS e IHS para cada dieta probada; aunque se observó una ligera tendencia a que las dietas que contenían L12 de lípidos fueron más altas en IHS y bajas en IGS. Los valores del IGS no tuvieron mucha variación en las dietas con L4 y L12, respectivamente; caso similar ocurrió con el IHS.

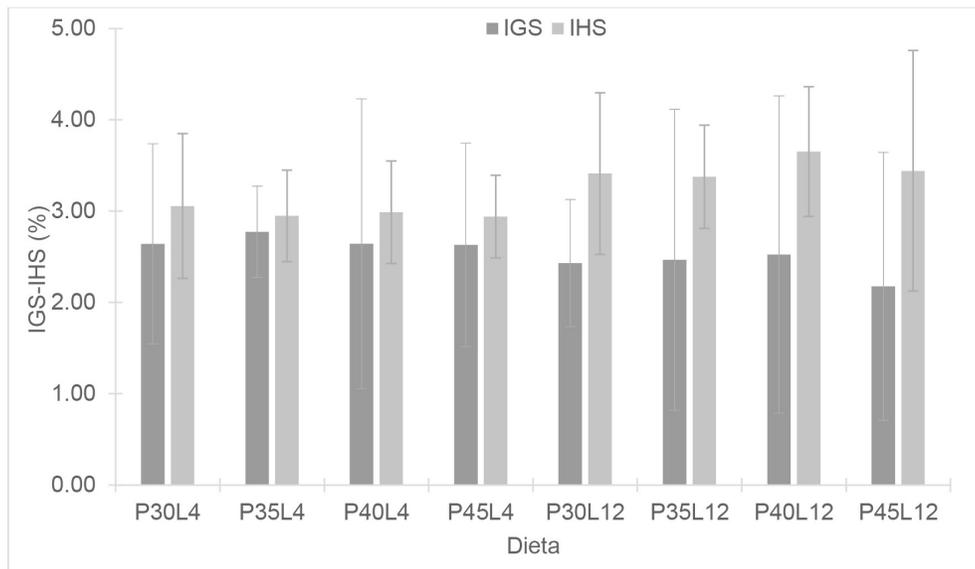


Figura 1. Índice Gonadosomático (IGS) e Índice Hepatosomático (IHS) de hembras de *Macrobrachium tenellum* con la gónada completamente madura, alimentadas con dietas experimentales que contienen cuatro niveles de proteína (30, 35, 40 y 45% P) y dos niveles de lípidos (4 y 12% L). No se encontraron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre índices ni entre dietas.

DISCUSIÓN

Calidad de los huevos

En los crustáceos la calidad de huevos generalmente depende de la dieta proporcionada a los reproductores (Harrison 1997); por lo que su estado nutricional puede afectar la maduración ovárica, rendimiento reproductivo, así como la calidad de su descendencia (Wouters *et al.* 2001, González-Ferriol *et al.* 2018). En el proceso de la maduración ovárica es vital la síntesis de proteínas y lípidos que se obtienen a partir de los alimentos consumidos (García-Ulloa 2000). Por lo que, el suministro adecuado de estos componentes dietarios garantizan un correcto desempeño en la etapa reproductiva de camarones y langostinos. En el presente estudio se evidenció que las proteínas y lípidos en las dietas suministradas interactúan de manera distinta dependiendo de su nivel de inclusión y combinación, y además se comprobó que dichos efectos se ven reflejados en la FC, ER y parámetros analizados de calidad de huevo y larva de *M. tenellum*.

Los estudios de fecundidad son fundamentales para evaluar la capacidad de aprovechar langostinos

dulceacuícolas como un recurso vivo sostenible (Vargas-Ceballos *et al.* 2018a). El término fecundidad (FC) hace referencia al número de huevos producidos por desove (Bertini y Baeza 2014) o el número de huevos que las hembras de algunos crustáceos cargan en su cámara abdominal (Valenti *et al.* 1989). En el presente estudio se demostró que la FC es un parámetro que varía en función de la cantidad de lípidos y proteínas incluidos en las dietas, aunque no se detectó una tendencia clara. Sobre lo mismo, Das *et al.* (1996) evaluaron dietas con distintos niveles de proteína y lípidos en *M. rosenbergii*, y encontraron los valores más altos en las dietas con P40L10 y P40L3 y los más bajos a P30L3 y P30L5, lo que coincide parcialmente con los resultados encontrados, ya que una de las dietas con los mayores promedios fue P40L4 y una de las dietas con los promedios más bajos fue P30L4. No obstante, una mayor FC podría ser atribuida al tamaño y peso de las hembras utilizadas, ya que el valor más alto encontrado con la dieta P30L12, fue inferior a lo reportado por Cavalli *et al.* (1999), en hembras de *M. rosenbergii* (especie que supera en longitud y peso a *M. tenellum*) alimentadas con dietas P45L9. Al respecto,

Hernández-Abad *et al.* (2018), probaron varios niveles ascendentes de lípidos, entre 10 a 20%, en dietas para reproductoras de *M. acanthurus*; encontrando resultados que sugieren que el número de huevos por hembra incrementa, cuando el nivel de lípidos aumenta. Al respecto tal tendencia no se observó en la FC, pero se observó que el nivel de proteína si tiene un efecto significativo en este parámetro.

En lo que respecta al efecto de las dietas en el ER, al igual que en otros parámetros evaluados en el presente estudio, no hay una significancia clara. Las hembras de *M. tenellum* evaluadas invirtieron entre el 7.0 y 12.0% de su peso corporal en producción de huevos, los porcentajes de ER reportados para hembras silvestres de tamaño y origen similar van de 4.1 - 16.0% (Vargas-Ceballos *et al.* 2018a), lo que sugiere que el ER no se ve afectado por el tipo de alimento o nivel de proteína y lípidos en la dieta. Por otro lado, Kangpanich *et al.* (2016), reportan para hembras de *M. rosenbergii* en cautiverio alimentadas con dietas P42L9, un esfuerzo reproductivo mayor (13-16%) que el del actual estudio, lo que puede deberse a que los huevos de *M. rosenbergii* son más grandes (Cavalli *et al.* 2000, Cavalli *et al.* 2003) y la energía para producirlos, por ende, podría ser mayor.

Desde hace algunos años, el volumen del huevo (VH) se ha considerado un indicador del contenido de energía para el desarrollo del embrión (Levitan 1996, Nazari *et al.* 2003) y es utilizado en estudios de biología reproductiva, calidad reproductiva y fecundidad en decápodos (Paschoal *et al.* 2019, Rodrigues *et al.* 2022). Sin embargo, algunos estudios han evidenciado que, a pesar de la inclusión de lípidos y proteínas en las dietas experimentales, el VH no varía, como lo demostraron Cavalli *et al.* (2000) con *M. rosenbergii*, Villafuerte-Mojica *et al.* (2016) y Hernández-Abad *et al.* (2018), con *M. acanthurus*, y García-Guerrero *et al.* (2021) y el presente estudio con *M. tenellum*. Por su parte, García-Ulloa *et al.* (2004) probaron dietas con distintos niveles de proteínas y lípidos en hembras de *M. tenellum* con un peso mayor; los resultados de VH fueron similares, pero el PSH fue menor. Por otro lado, el VH de hembras silvestres en estadio II de desarrollo embrionario es de 0.059 mm³ (Vargas-Ceballos *et al.* 2018a). Tal

parece que el VH no varía en hembras silvestres o confinadas de *M. tenellum* y aparentemente no está ligado al alimento consumido, no obstante, el PSH si pudiera ser un indicador inicial de su calidad, pero son necesarios más estudios para corroborar dicha información.

La TE de hembras de *M. tenellum* fue mayor a lo reportado por Das *et al.* (1996) y Cavalli *et al.* (2000) en hembras de *M. rosenbergii*, pero tales diferencias en el último estudio no se pueden atribuir completamente al tipo de dieta, si no que pueden deberse a que las muestras de huevos se incubaron *in vitro* durante 11 días y en el actual estudio se evaluó la tasa de eclosión con huevos en estadio III a unas 24 - 36 horas antes de su eclosión. Por su parte, Cavalli *et al.* (2001) reportan para hembras de esta última especie alimentadas con dietas P44L9 un porcentaje de 82.4 - 97.7%, similar a lo encontrado en el presente estudio.

Calidad de las larvas

El término calidad, en acuicultura, suele utilizarse para definir aspectos reproductivos y condiciones fisiológicas de huevos y larvas de crustáceos (García-Ulloa *et al.* 2004). Dentro de lo relacionado con el desarrollo embrionario, este término se usa para establecer criterios de longitud, peso, diámetro del huevo, eclosión, sobrevivencia, entre otros; ya que estos son indicadores biológicos esenciales en las primeras etapas del ciclo de vida (Lavens y Sorgeloos 1991). La LTL de larvas recién eclosionadas no varió en función de los diferentes niveles de proteínas y lípidos usados en las dietas de las hembras. Al respecto, Cavalli *et al.* (2003) y Kangpanich *et al.* (2016) obtuvieron resultados similares al probar dietas con diferentes fuentes de lípidos, e inclusiones de P45L9 y P42L9, respectivamente. En función de estos resultados se puede inferir que, los niveles de proteínas y lípidos probados en ambos estudios no influyeron en la LTL.

Las pruebas de estrés se basan en el supuesto de que la condición fisiológica de los organismos acuáticos determina su capacidad para sobrevivir a condiciones ambientales adversas (MacNiven y Little 2001). Distintos autores han propuesto métodos para

estimar la calidad de las larvas, principalmente en camarones peneidos; estos consisten esencialmente en exponer a las larvas a un estrés ambiental breve pero extremo, como son: bajas o altas salinidades y temperaturas, altas concentraciones de amoníaco, periodos de inanición, entre otras (Racotta *et al.* 2003). Al respecto, Anger (2001), menciona que la salinidad es uno de los parámetros ambientales con mayor influencia en los animales acuáticos que viven en estuarios, como es el caso de *M. tenellum*, debido a la gran variación de la salinidad que ahí se presenta. A pesar de que este langostino es eurihalino, Vargas-Ceballos *et al.* (2018b) reportan que en concentraciones salinas mayores a los 30 ups los embriones no eclosionan y las larvas mantenidas en agua dulce (0 ups) mueren en menos de 96 horas. Los promedios más bajos de SL45 (20 min) se encontraron en dietas con L4, sin embargo, esta tendencia no fue significativa. En este sentido, las reservas energéticas que los progenitores transfieren a sus larvas podrían ayudarles a hacer frente a condiciones extremas de salinidad, pero, se requieren estudios más puntuales para esclarecerlo.

Durante la fase inicial del desarrollo larval, las larvas de *M. amazonicum* usan sus reservas de grasa en ausencia de alimento, y a 10 ups sobreviven hasta 14 días sin consumir alimento externo (Anger y Hayd 2009). También existe evidencia de que las larvas de *M. rosenbergii* pueden permanecer al menos dos días sin alimentarse exógenamente después de la eclosión, ya que toma su energía de su saco vitelino (Barros y Valenti 2003, Araujo y Valenti 2007). Para el caso de *M. tenellum*, Vargas-Ceballos *et al.* (2018b) reportan que a 10 ups la supervivencia de las larvas es del 98% a 7 días (168 h) post eclosión, en larvas sin ser alimentadas. Mientras que Vargas-Ceballos *et al.* (2020) reportan que la larva (zoea I) de esta misma especie tiene algunas reservas lipídicas en la región cefalotorácica que le permiten crecer a la siguiente etapa sin alimentación exógena. Dado que los nutrientes de las hembras se transfieren a los huevos en la ovogénesis a través del hepatopáncreas, un alimento que provea más nutrientes asimilables a la hembra puede dar mayores reservas energéticas a las larvas, y, por

ende, una resistencia mayor a la inanición. En el presente estudio se observaron diferencias estadísticas en la SLI, los valores más altos se encontraron en el grupo de dietas con L12, lo que podría indicar que los nutrientes que las madres transfieren a los embriones están afectando su respuesta ante la falta de alimento.

Índice gonadosomático (IGS) y hepatosomático (IHS)

Los IGS e IHS son indicadores de movilización de reservas energéticas del hepatopáncreas hacia las gónadas para la maduración de estas, en crustáceos decápodos (Rodríguez-González *et al.* 2006, Zara *et al.* 2012, Revathi *et al.* 2012). Diversos estudios en especies del género *Macrobrachium* evidenciaron el uso de reservas nutricionales del hepatopáncreas para la maduración ovárica, ya que se han observado relaciones inversas entre IGS e IHS (Cavalli *et al.* 2001, Revathi *et al.* 2012, Magalhães *et al.* 2012). Los resultados evidenciaron una tendencia inversa (no significativa) en hembras con la gónada madura respecto al IGS-IHS y el nivel de lípidos en las dietas evaluadas, ya que se encontraron los porcentajes más altos de IHS en las dietas con L12 y de igual manera los valores de IGS más bajos en las mismas dietas. En relación con esto, Cavalli *et al.* (2003) reportan lo contrario en hembras de *M. rosenbergii* maduras, valores más altos para el IGS y más bajos para el IHS, lo mismo ocurre con Cavalli *et al.* (2000), aunque estos últimos autores encontraron valores más altos que en el presente estudio para el IGS y similares para IHS; cabe resaltar que tanto Cavalli *et al.* (2003) como Cavalli *et al.* (2000), utilizaron un porcentaje de proteínas del 45% en las dietas suministradas a las hembras, igual al porcentaje de proteínas mayor evaluado en las dietas del presente estudio, en el que el incremento del nivel de proteínas no tuvo ningún efecto para el IGS e IHS. No obstante, el enriquecimiento con ácido araquidónico en distintas proporciones en dietas suministradas a hembras de *M. rosenbergii* tuvo un efecto significativo en el porcentaje de IGS e IHS (Kangpanich *et al.* 2016), lo que sugiere que estos índices pueden ser afectados por los nutrientes

de los alimentos que consumen los reproductores.

CONCLUSIONES

Se detectó una tendencia a que dietas con mayor porcentaje de lípidos representan mejor calidad de huevos, pero no significativa, por lo que se sugiere probar niveles de lípidos intermedios (6 y 8%) y más altos (14%) a los que se evaluaron en el presente estudio, para determinar si su interacción con los niveles de proteínas mejora los parámetros y/o acentúan las diferencias. Se encontraron evidencias que sugieren una relación entre el índice gonadosomático-hepatosomático y los niveles de lípidos consumidos, ya que, conforme aumenta la disponibilidad de lípidos en las dietas mayor cantidad son almacenados en el hepatopáncreas, pero no se transfiere mayor cantidad a la gónada, dicha relación podría esclarecerse con análisis bioquímicos de proteínas solubles y lípidos totales en los men-

cionados tejidos. Los niveles de lípidos y proteínas probados, y su interacción, tienen diferentes efectos en los parámetros de calidad de huevo y en las pruebas de supervivencia de larvas. La dieta P30L4 tuvo los promedios más bajos en la mayoría de los parámetros evaluados, por lo que, estos niveles de proteína y lípidos se pueden descartar en la formulación dietaria para reproductores. Se sugiere utilizar la dieta P35L4 en la alimentación de reproductoras de *M. tenellum* ya que garantiza una calidad de huevos y larvas similar a la mayoría de las dietas evaluadas e implica un menor gasto monetario en la inclusión de proteínas y lípidos.

AGRADECIMIENTOS

OAPA agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para su investigación doctoral (CVU: 1069870, Núm. de apoyo: 777431).

LITERATURA CITADA

- AOAC (1995) Official Methods of Analysis. 16 th Edition. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA. 684p.
- Anger K (2001) The biology of decapodcrustacean larvae. Balkema publishers, Rotterdam, Netherlands. 420p.
- Anger K, Hayd L (2009) From lecithotrophy to planktotrophy: ontogeny of larval feeding in the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum*. Aquatic Biology 7: 19-30.
- Araujo MC, Valenti WC (2007) Feeding habit of Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum* larvae. Aquaculture 265: 187-193.
- Barros HP, Valenti WC (2003) Food intake of *Macrobrachium rosenbergii* during larval development. Aquaculture 216: 165-176.
- Bazán M, Silvia G, Reyes WE (2009) Rendimiento reproductivo de hembras de *Cryphiops caementarius* (Crustacea: Palaemonidae) mantenidas con alimento natural. Revista Peruana de Biología 16: 191-194.
- Benítez-Mandujano M, Ponce-Palafox JT (2014) Efecto de diferentes niveles dietéticos de proteína y lípidos en el crecimiento de reproductores del langostino de agua dulce (*Macrobrachium carcinus*). Revista Medicina Veterinaria y Zootecnia Córdoba 19: 3921-3929.
- Bertini G, Baeza JA (2014) Fecundity and fertility in a freshwater population of the neotropical amphidromous shrimp *Macrobrachium acanthurus* from the southeastern Atlantic. Invertebrate Reproduction & Development 58: 207-217.
- Cavalli RO, Batista FM, Lavens P, Sorgeloos P, Nelis HJ, De Leenheer AP (2003) Effect of dietary supplementation of vitamins C and E on maternal performance and larval quality of the prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture 227: 131-146.

- Cavalli RO, Lavens P, Sorgeloos P (1999) Performance of *Macrobrachium rosenbergii* broodstock fed diets with different fatty acid composition. *Aquaculture* 179: 387-402.
- Cavalli RO, Lavens P, Sorgeloos P (2001) Reproductive performance of *Macrobrachium rosenbergii* females in captivity. *Journal of the World Aquaculture Society* 32: 60-67.
- Cavalli RO, Menschaert G, Lavens P, Sorgeloos P (2000) Maturation performance, offspring quality and lipid composition of *Macrobrachium rosenbergii* females fed increasing levels of dietary phospholipids. *Aquaculture International* 8: 41-58.
- Cheng YX, Du NS, Lai W (2000) The lipid accumulation during the stages of the ovarian fast maturation and their effect on the spawning of *Eriocheir sinensis*. *Journal of Fisheries China* 24: 113-119.
- Das NN, Saad CR, Law KJ, Harmin SA (1996) Diet formulation for *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) broodstock based on essential amino acid profile of its eggs. *Aquaculture Research* 27: 543-555.
- García-Guerrero MU, Becerril-Morales F, Vega-Villasante F, Espinosa-Chaurand LD (2013) Los langostinos del género *Macrobrachium* con importancia económica y pesquera en América Latina: conocimiento actual, rol ecológico y conservación. *Latin American Journal of Aquatic Research* 41: 651-675.
- García-Guerrero MU, Mateos-Guerrero DM, Alpuche-Osorno, JJ, Santos-Romero RB (2021) External morphological stages and protein variations along with the embryonic development of the longarm river prawn *Macrobrachium tenellum* (Smith, 1871). *Latin American Journal of Aquatic Research* 49: 202-211.
- García-Ulloa GM (2000) Fundamentos de nutrición acuícola. Universidad Autónoma de Guadalajara. Jalisco, México. 221p.
- García-Ulloa M, Rodríguez H, Ogura T (2004) Calidad del huevecillo de dos especies de langostino (Palaemonidae) del género *Macrobrachium* (*M. rosenbergii*, De Man 1879, y *M. tenellum*, Smith, 1871) variando la dieta de los reproductores: índices morfométricos. *Avances en Investigación Agropecuaria* 8: 1-8.
- González-Ferriol M, Betancourt-Aguilar JL, Ramos-Trujillo L (2018) Endocrinología de la reproducción en crustáceos decápodos (crustacea: decapoda): avances científicos y perspectivas futuras. *Revista de Investigaciones Marinas* 38: 1-27.
- Harrison KE (1997) Broodstock nutrition and maturation diets. In: D'Abramo LR, Conklin DE, Akiyama, DM (eds) *Advances in world aquaculture vol. 6: Crustacean nutrition*. World Aquaculture Society. Baton Rouge, Louisiana, USA. pp: 390-408.
- Hernández-Abad GY, Hernández-Hernández LH, Fernández-Araiza MA (2018) Effects of different dietary lipids concentrations on the egg production and egg quality produced by *Macrobrachium acanthurus* females. *Latin American Journal of Aquatic Research* 46: 518-524.
- Kangpanich C, Pratoomyot J, Siranonthana N, Senanan W (2016) Effects of arachidonic acid supplementation in maturation diet on female reproductive performance and larval quality of giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). *PeerJ* 4: 2735. DOI 10.7717/peerj.2735.
- Lavens P, Sorgeloos P (1991) Variation in egg and larval quality in various fish and crustacean species. In: Lavens P, Sorgeloos P, Jaspers E, Ollevier F (eds.) *Book of short communications and abstracts*. Gent, Belgium. pp: 221-222
- Levitan D (1996) Predicting optimal and unique egg free-spawning marine invertebrates. *The American Naturalist* 148: 174-188.
- MacNiven AM, Littl, DC (2001) Development and evaluation of a stress challenge testing methodology for assessment of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linn.) fry quality. *Aquaculture Research* 12: 671-679.

- Magalhães T, Mossolin E, Mantelatto F (2012) Gonadosomatic and hepatosomatic indexes of the freshwater *Macrobrachium olfersii* (Decapoda, Palaemonidae) from São Sebastião Island, Southastern Brazil. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 7: 1-9.
- Millamena OS, Quintio E (2000) The effects of diets on reproductive performance of eyestalk ablated and intact mud crab *Scylla serrata*. *Aquaculture* 181: 81-90.
- Nazari EM, Simões-Costa MS, Müller YMR, Ammar D, Dias M (2003) Comparisons of fecundity, egg size, and egg mass volume of the freshwater prawns *Macrobrachium potiuna* and *Macrobrachium olfersi* (Decapoda, Palaemonidae). *Journal of Crustacean Biology* 23: 862-868.
- New MB, Wagner CV (2008) Freshwater prawn culture: the farming of *Macrobrachium rosenbergii*. John Wiley & Sons. Blackwell Science, Ltd. 464p.
- Nhan DT, Wille M, Hung LT, Sorgeloos P (2009) Comparison of reproductive performance and offspring quality of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) broodstock from different regions. *Aquaculture* 298: 36-42.
- Paschoal LR, De Oliveira LJ, Andrioli GC, Zara FJ (2019). Reproductive biology of *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) populations with distinct phenotypes in Neotropical reservoirs during the 'El Niño' event. *Marine and Freshwater Research* 70: 1465-1479.
- Pérez-Rodríguez JC, Gómez-Gutiérrez J, López-Greco LS, Cortés-Jacinto E (2019) Spermatophore production and sperm quality of the river prawn *Macrobrachium americanum* (Spence Bate, 1868) fed with different diets. *Aquaculture Research* 50: 1-13.
- Racotta IS, Palacios E, Ibarra AM (2003) Shrimp larval quality in relation to broodstock condition. *Aquaculture* 227: 107-130.
- Revathi P, Iyapparaj P, Munuswamu N, Krishnan M (2012) Vitellogenesis during the ovarian development in freshwater female prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). *International Journal of Aquatic Science* 3: 13-27.
- Rodríguez-González H, Hernández-Llamas A, Villarreal H, Saucedo P, García-Ulloa M, Rodríguez-Jaramillo C (2006) Gonadal development and biochemical composition of female crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae) in relation to gonadosomatic index at first maturation. *Aquaculture* 254: 637-645.
- Rodrigues MM, López-Greco LS, Ferreira-De Almeida LC, Bertini G (2022) Reproductive performance of *Macrobrachium acanthurus* (Crustacea, Palaemonidae) females subjected to unilateral eyestalk ablation. *Acta Zoologica* 103: 326-334.
- Sui LY, Sun HX, Wu XG, Wille M, Cheng YX, Sorgeloos P (2011) Effect of dietary HUFA on tissue fatty acid composition and reproductive performance of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* broodstock. *Aquaculture* 19: 269-282.
- Valenti WC, Mello TC, Lobão VL (1989) Fecundidade de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegman, 1936) do Ribeira do Iguape (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). *Revista Brasileira de Zoologia* 6: 9-15.
- Vargas-Ceballos MA, Badillo-Zapata D, Chong-Carrillo O, Ponce-Palafox JT, Hernández-Hernández LH, Vega-Villasante F (2020) Intake of different food sources in the first zoeae stages of *Macrobrachium tenellum* (Decapoda: Palaemonidae). *Latin American Journal of Aquatic Research* 48: 156-161.
- Vargas-Ceballos MA, López-Uriarte E, García-Guerrero MU, Wehrtmann IS, Ríos-Jara E, Vega-Villasante F (2018a) Fecundity, egg volume and reproductive output of *Macrobrachium tenellum* (Crustacea: Palae-

- monidae) from the northern coast of Jalisco, Mexico. Latin American Journal of Aquatic Research 46: 502-511.
- Vargas-Ceballos MA, Vega-Villasante F, García-Guerrero MU, Chong-Carrillo O, Badillo-Zapata D, López-Uriarte E, Wehrtmann HS (2018b) Salinity effect on embryonic development and survival of the first zoeal stage of *Macrobrachium tenellum* (Smith, 1871) (Crustacea, Palaemonidae). Pan-American Journal of Aquatic Sciences 13: 273-281.
- Villafuerte-Mojica A, Hernández-Hernández LH, Fernández-Araiza MA, Ángeles-López O (2016) Contribución al conocimiento de los requerimientos nutricionales del langostino nativo *Macrobrachium acanthurus*. Hidrobiológica 26: 15-23.
- Wehrtmann IS (1990) Distribution and reproduction of *Ambidexter panamense* and *Palaemonetes schmittii* in Pacific Costa Rica (Crustacea, Decapoda). Revista de Biología Tropical 38: 327-329.
- Wouters R, Lavens P, Nieto J, Sorgeloos P (2001) Penaeid shrimp broodstock nutrition: an updated review on research and development. Aquaculture 202: 1-21.
- Yamasaki-Granados S, García-Guerrero MU, Vega-Villasante F, Castellanos-León F, Cavalli R, Cortes-Jacinto E (2013) Experimental culture of the river prawn *Macrobrachium americanum* larvae (Bate, 1868), with emphasis on feeding and stocking density effect on survival. Latin American Journal of Aquatic Research 41: 793-800.
- Zara F, Toyama M, Caetano F, López-Greco L (2012) Spermatogenesis, spermatophore, and seminal fluid production in the adult blue crab *Callinectes danae* (Portunidae). Journal of Crustacean Biology 32: 249-262.
- Zar JH (1996) Biostatistical Analysis, 3rd Edition. Upper Saddle River, NJ. 662p.