

Evaluación de la sustitución de harina de pescado por la de *Spirulina subsalsa* Oersted ex Gomont 1892, en el crecimiento del caracol manzana *Pomacea bridgesii* (Reeve, 1856) en un sistema de recirculación y bajo condiciones de laboratorio

Evaluation of the substitution of fish meal by flour of *Spirulina subsalsa* Oersted ex Gomont 1892, in the growth of the Spiketop applesnail *Pomacea bridgesii* (Reeve, 1856) in a recirculating system and under laboratory conditions

Alejandra Torres Ariño ^{1,2*}, Luis Gabriel Vivaldo Patraca ^{1,2,3}, Saúl Jaime Serrano Guzmán ¹,

¹Instituto de Industrias, ²Laboratorio de Biotecnología de Microalgas, ³Programa Educativo de la Licenciatura en Ingeniería en Acuicultura. Universidad del Mar, Puerto Ángel, San Pedro Pochutla, Oaxaca, México

Correspondencia: Alejandra Torres Ariño **E-mail:** cyanodarla@gmail.com

Original article | Artículo original

Palabras clave

Alimento balanceado, cianobacteria, cultivo, Gastropoda, Ampullariidae, nutrición, proteína, costo de producción.

RESUMEN | Se evaluó el efecto en la nutrición de la sustitución de la harina de pescado por la de cianobacteria *S. subsalsa* en un cultivo de caracol manzana *Pomacea bridgesii*, donde se utilizaron 60 organismos a los cuales se les suministraron dos dietas (A y B) de alimento balanceado: una adicionada con harina de *S. subsalsa* (A) y la otra sin *S. subsalsa* con harina de pescado (B). El cultivo se realizó en un sistema de recirculación conformado por seis unidades de cultivo, durante un periodo de diez semanas. Para evaluar la eficiencia de las dietas se utilizó la tasa de crecimiento absoluta (TAC), con un valor de $0,168 \pm 0,011$ para A y $0,162 \pm 0,009$ para B, la tasa de crecimiento específica (TEC), con un valor de $1,417 \pm 0,013$ para A y $1,416 \pm 0,065$ para B, en cuanto al factor de conversión alimenticia (FCA), se obtuvo un valor de $1,52 \pm 0,11$ para A y $1,33 \pm 0,08$ para B. Se realizó un análisis de varianza para la TAC y TEC, entre los tratamientos A y B, sin encontrar diferencias significativas. El análisis de medidas repetidas para peso y talla, entre los tratamientos A y B, no mostró diferencias significativas, con esto se puede decir que, en la dieta (dieta A) en la que se sustituyó una porción de harina de pescado por harina de *S. subsalsa*, ofreció los mismos resultados que la dieta elaborada con harina de pescado (dieta B) como principal fuente de proteína. Por lo que se podría reducir el uso de la harina de pescado en la formulación de alimentos acuícolas al menos para esta especie de caracol.

Keywords

Dry feed, cyanobacteria, culture, Gastropoda, Ampullariidae, nutrition, protein, production cost.

ABSTRACT | The effect on nutrition of replacing the fish meal by flour of the cyanobacteria *S. subsalsa* was evaluated in a culture of the apple snail *Pomacea bridgesii*, where 60 organisms were used, which were supplied with two diets (A and B) of balanced food: one added with *S. subsalsa* meal (A) and the other without *S. subsalsa* with fishmeal (B). The culture was carried out in a recirculation system made up of six cultivation units, for a period of ten weeks. To evaluate the efficiency of the diets, the absolute growth rate (AGR) was used, with a value of 0.168 ± 0.011 for A and 0.162 ± 0.009 for B, the specific growth rate (TCE), with a value of 1.417 ± 0.013 for A and 1.416 ± 0.065 for B, in terms of the feed conversion factor (FCA), a value of 1.52 ± 0.11 was obtained for A and 1.33 ± 0.08 for B. An analysis of variance was performed for the TCA and TCE, between treatments A and B, without finding significant differences. An analysis of repeated measures for weight and height was carried out between treatments A and B, where no significant differences were found either, with this it can be said that, in the diet (diet A) in which a portion of flour of fish by *Spirulina* meal, offered the same results as the diet made with fishmeal (diet B) as the main source of protein. Therefore, the use of fishmeal in the formulation of aquaculture feeds could be reduced, at least for this species of snail.

INTRODUCCIÓN

En la actividad acuícola se buscan alternativas para encontrar nuevas fuentes de alimentos o materias primas para varios sectores productivos (FAO, 2016). Los moluscos forman una parte esencial y están estrechamente relacionados a la forma de vida de los pobladores que se encuentran en las riberas de los cuerpos de aguas (Castillo-Capitán *et al.*, 2020). Dentro de los moluscos, están los gasterópodos, algunos de

los cuales son apreciados por el hombre desde la prehistoria por los diversos usos dados a través del tiempo. La primera forma de aprovechamiento de los caracoles por el hombre fue como fuente de alimentación directa, la cual sigue vigente hasta hoy (Iriarte y Mendoza, 2007; Pérez-López, 2019), así como para alimento acuícola del camarón (Bombeo-Tuburán *et al.* (1995). Otros de los usos de las conchas fueron como materia prima para la fabricación de símbolos religiosos en ceremonias, instrumentos musicales, como moneda, objetos de arte y joyería (Vázquez-Silva *et al.*, 2011).

En México, alrededor de la Laguna de Catemaco, Veracruz, existe un mercado local bien establecido de caracoles cultivados. Los caracoles son ricos en proteínas y aminoácidos esenciales y, bajo condiciones controladas, es posible evitar enfermedades o parásitos que pueden ser transmitidos al humano a partir de organismos silvestres (Iriarte y Mendoza, 2007; Souza *et al.*, 2012; Naranjo-García, 2014; Pérez-López, 2019; Castillo-Capitán *et al.*, 2020).

Si bien son consumidos, algunos de estos gasterópodos del género *Pomacea* son considerados plaga, en ambos casos poco es lo que se conoce del tamaño de sus poblaciones y de su cultivo (Castillo-Capitán *et al.*, 2020). Son candidatos acuícolas, al presentar distintas ventajas adaptativas para desarrollarse en condiciones de confinamiento, su naturaleza anfibia les permite tolerar aguas con bajo contenido de oxígeno, son prolíficos, tienen una tasa de crecimiento rápida y se reproducen todo el año en ambientes tropicales, su fecundidad es alta, tienen elevado porcentaje de eclosión, baja mortalidad, tiempo de desarrollo corto y un estado de eclosión avanzado (presentan huevos lecito-tróficos). Además, al ser herbívoros, son eficientes convertidores de energía, pueden ser manejados en combinación con otras especies y soportar un amplio intervalo de condiciones ambientales (García-Ulloa *et al.*, 2008), lo que aumenta sus perspectivas para su cultivo (Lum-Kong y Kenny, 1989).

Los caracoles del género *Pomacea* presentan anatómicamente tres estructuras básicas: la concha, el opérculo y la masa visceral (Fig. 1). La primera es un caparazón calcáreo sub globoso, con una espiral enrollada hacia la derecha (dextrógiro), de coloración amarilla, parda o marrón. El opérculo es una estructura dura, córnea y delgada que se localiza en la parte posterior del pie y cuya función fundamental es de protección, lo que les permite permanecer fuera del agua por largos periodos. Por último, la masa visceral contiene el complejo cabeza-pie, el aparato excretor presenta un solo riñón de forma alargada, donde el producto de excreción es el amonio, un aparato digestivo y un aparato reproductor (Rangel-Ruíz *et al.*, 2003; Benavides *et al.*, 2017).

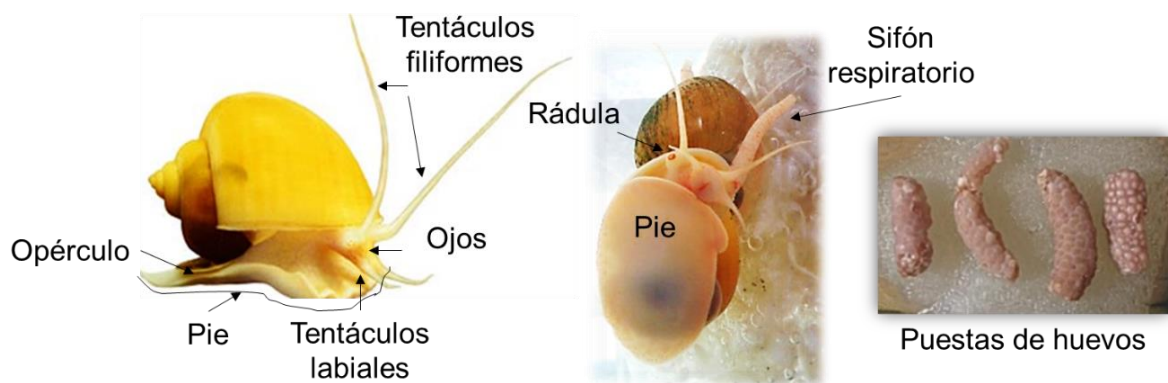


Figura 1. Morfología externa característica del Caracol manzana (*P. bridgesii*) y su puesta de huevos en racimo.

Estos gasterópodos presentan un par de tentáculos grandes y filiformes que actúan como un órgano de percepción, en cuya base se encuentran los ojos (Fig. 1). Cuentan con una rádula que cumple con la función de raspar y triturar el alimento. El pie es un músculo grande y carnoso, ligeramente espatulado. Tienen un sifón para llevar a cabo su actividad respiratoria aérea cuando las condiciones de oxígeno en el agua no son las óptimas, dicho tubo funciona mediante una cavidad pulmonar; de igual manera, tienen una branquia monopectinada que les permite respirar dentro del agua (Rangel-Ruíz *et al.*, 2003; Benavidez *et al.*, 2017).

La especie *Pomacea bridgesii* (Reeve, 1856) es un gasterópodo de la familia Ampullariidae, nativo de Florida, E.U. que habita en las zonas bajas marginales de los ríos, lagos y charcas. Se le ha considerado una plaga y especie exótica invasora en Sudamérica y Valencia, España (Anónimo, 2022). Su alta tasa de reproducción lo hace candidato al cultivo, como una fuente proteica de alta calidad para el hombre, y para otros animales como camarón y peces (Lum-Kong y Kenny, 1989; Bombeo-Tuburan *et al.*, 1995; Aguilera, 1996; Souza *et al.*, 2012; Pérez-López, 2019). La posibilidad de permanecer largos periodos fuera del agua impulsa la producción de estos organismos (Burky, 1974), permitiendo un mejor manejo y transportación al mercado, ocasionando baja mortalidad, por lo que puede implicar una reducción considerable en los costos operativos.

Ante los aspectos positivos de su biología, es necesario empezar a proponerlo como una especie para cultivo, de ahí que es preciso abordar un aspecto básico y fundamental de producción bajo condiciones controladas, como es su alimentación ya que la información con la que se cuenta sobre las preferencias nutricionales o dietas específicas para su cultivo bajo dichas condiciones es escasa (Iriarte y Mendoza, 2007; Souza *et al.*, 2012; Naranjo-García, 2014; Pérez-López, 2019).

En la alimentación de organismos acuícolas se recurre al suministro de alimentos balanceados, que contribuyen al incremento de los resultados productivos y las utilidades en los cultivos comerciales. Sin embargo, dichos alimentos son costosos y pueden variar entre el 50 y el 70% del total de gastos de operación de la producción (Tacon, 1996; Díaz-Salgado y López-Blanco, 2000; Pokniak, 2007; FAO, 2016; Pérez-López, 2019). Estos alimentos son importantes en el incremento del crecimiento de los organismos a los que se les suministra y en los beneficios económicos que se pueden obtener al mejorar los procesos productivos. Se distinguen por su practicidad operacional (transporte, almacenamiento, suministro) y por mejorar los índices de productividad, tras suministrar un alimento homogéneo en términos de su calidad física (flotabilidad, tamaño, dureza, textura, color, olor, estabilidad), química (balance de proteínas, carbohidratos, lípidos, cenizas, etc.) y nutricional (cantidad de energía suministrada y calidad de nutrimentos esenciales y no esenciales) (Tacon, 1989).

Entre los diferentes métodos para la formulación de dietas (Mixit, WinFed, ZMix, Sizirac), el de Pearson, es un método de prueba y error, que permite mezclar dos alimentos que tienen concentraciones nutricionales diferentes para obtener como resultado una mezcla que tiene la concentración deseada (proteína, energía), donde solo se ingresan como datos los porcentajes de nutrimentos necesarios e ingredientes de forma programada para facilitar la obtención de resultados (Halver y Hardy, 2002; Cerdas-Ramírez, 2013). Es importante encontrar los ingredientes que aporten la energía necesaria para el desarrollo y crecimiento óptimo de los organismos, que sea relativamente económico de producir y que su elaboración no impacte drásticamente al medio ambiente. Además, debe elegirse cuidadosamente el ingrediente que conformará la base proteica del alimento balanceado (Tacon, 1996; Cerdas-Ramírez, 2013).

Para evaluar el crecimiento en diferentes especies del género *Pomacea*, se ha empleado lechuga deshidratada y alimento para peces al 30% (Mendoza *et al.*, 1999) o bien alimento balanceado con diferente porcentaje de proteína, para Tilapia (32%), para pollo (20%), chaya fresca (8.3%), y en estos casos el crecimiento fue mayor en donde se empleó la mayor cantidad de proteína. También se ha empleado la harina de moringa, ya que contiene un nivel de proteína en las hojas secas de entre 27% y 30% y un buen contenido de aminoácidos esenciales, además de calcio, hierro y fósforo, así como vitaminas (Pérez-López, 2019), las cuales se compararon con hojas de espinaca acuática (*Ipomoea aquatica*), hojas de lechuga (*Lactuca sativa*) y hojas de chaya (*Cnidoscolus chayamansa*), en donde se obtuvieron resultados similares (Pérez-López, 2019).

Dentro de las cianobacterias (microorganismos procariotas con fotosíntesis oxigénica) existe una con mayor potencial de explotación para consumo humano denominada *Arthrospira maxima* Setchell & N.L. Gardner in N.L. Gardner 1917 y conocida comercialmente como "Spirulina" o Espirulina (Fig. 2A), pertenece a la familia Spirulinaceae y su empleo se ha dado desde épocas prehispánicas en México (Habib *et al.*, 2008; Cisneros-Morales, 2016). El beneficio de incluir dichas cianobacterias en los alimentos se basa en su

composición en fibra dietética, carotenoides, atrayentes químicos, fuentes de vitaminas y minerales, entre otros (Mustafa *et al.*, 1997; Pokniak, 2007; Ponce-López, 2013; Ochoa-Galarza y Moyano-Calero, 2022).

Estudios nutricionales han demostrado que esta cianobacteria es una de las mejores fuentes de proteínas de alta calidad, de fácil digestibilidad y absorción, ya que contiene un alto porcentaje de proteínas (50 a 70%) así como todos los aminoácidos esenciales (Vázquez-Pérez *et al.* 2016) y numerosas moléculas biológicamente activas, como ácidos grasos poliinsaturados, ficobiliproteínas, β -caroteno, provitaminas y compuestos fenólicos que se sabe tienen actividad antioxidante. Pequeñas cantidades de *Spirulina* en la dieta de peces producen efectos significativos sobre el crecimiento, utilización del alimento, condición fisiológica, respuesta al estrés, resistencia a enfermedades, así como una mejora en la calidad de la carne en cuanto a contenido de grasa y coloración (Ribeiro *et al.*, 2011; Rincón Rodríguez *et al.*, 2013; Rajishamol *et al.*, 2016; Romero-Maza *et al.*, 2017).

Taxonómicamente, se distinguen dos géneros (*Spirulina* – fuertemente espiralado y *Arthrospira* – menos enrollada y con mayor separación en sus crestas y valles) a partir de las cuales, se puede generar biomasa (pulverizada o en pellets) para la realización de estudios a base de dietas para organismos en cultivo (Fig. 2). La cianobacteria *Spirulina subsalsa* (Fig. 2B) del orden Spirulinales, habita en ambientes salinos, marinos y dulceacuicolas o estuarinos, forma generalmente tapetes microbianos, de color azul-verde (Krienitz *et al.*, 2003), presenta una buena composición de metabolitos y bajo ciertas circunstancias ambientales adquiere un color fucsia o vino tinto en fondos marinos (Szubert *et al.*, 2018; Torres-Ariño *et al.*, 2021).

A esta cianobacteria se le han atribuido efectos nocivos en flamencos y en el camarón azul. Sin embargo, Lightner (1978) no identificó el agente responsable de la enteritis hemorrágica de los camarones azules, atribuyéndolo después a otra cianobacteria filamentosa (*Lyngbya majuscula*). Por su parte, Torres-Ariño (2001), Krienitz *et al.* (2003), Ballot *et al.* (2004), Torres-Ariño y Mora-Heredia (2010), no encontraron evidencia alguna de que produzca efectos similares a las toxinas asociadas a otras cianobacterias y en sus bioensayos resultaron inocuas, mientras que Torres-Ariño (2001 y 2004) encontraron que produce sustancias antibióticas. Por otra parte, en una revisión realizada por Ochoa-Galarza y Moyano-Calero (2022) coinciden en que su consumo es seguro en las dosis correctas y no se han descrito efectos adversos.

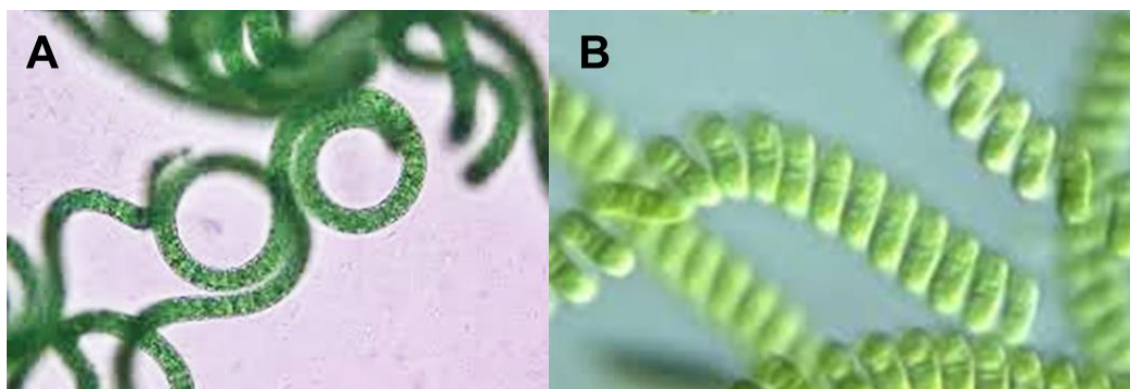


Figura 2. Microfotografía de los géneros de cianobacterias. A) *Arthrospira maxima* y B) *Spirulina subsalsa*.

Para cubrir las necesidades de proteína en el cultivo de los organismos, se emplean la harina y el aceite de pescado, ya que proporcionan una cantidad equilibrada de aminoácidos esenciales, ácidos grasos, vitaminas y minerales (Gatlin *et al.*, 2007; Crab *et al.*, 2010; Crab *et al.*, 2012; Pérez-López, 2019). Sin embargo, son productos altamente comercializados y de gran importancia para el sector acuícola y por tanto con una demanda en crecimiento (Oliva-Rivera *et al.*, 2016), lo que ha forzado a disminuir su uso en la formulación de dietas acuícolas y buscar alternativas de los ingredientes empleados (Pérez-López, 2019; Escudero-Campos, 2021)

El empleo de *Spirulina* sp. como componente de la dieta de caracoles, mostró un crecimiento significativo al inicio, siendo su mayor efecto el promover la reproducción y el desove (Benavides, 1994), mientras que al usar *Calothrix* sp. se observó una ganancia de peso con un contenido de proteína de 22.8%, mostrando que

las cianobacterias pueden emplearse como fuente alterna de proteínas en la formulación de dietas para el caracol *Pomacea patula catemacensis* (Ruiz-Ramírez *et al.*, 2005). Asimismo, las harinas o pellets de cianobacterias (Fig. 5) y algunas microalgas, han sido empleadas como aditivos en los alimentos para promover el crecimiento, la eficiencia alimenticia, los constituyentes corporales, la calidad de la carne, las características fisiológicas, la respuesta al estrés y la resistencia a enfermedades en varias especies de peces (Nakagawa, 1985; Mustafa y Nakagawa, 1995; Escudero-Campos, 2021).

Para este trabajo, se seleccionó a *Spirulina subsalsa* (Figura 2A), ya que es común encontrarla en diferentes reservorios acuáticos tanto dulceacuícolas como marinos, y no hay información acerca de esta especie en la rama de la nutrición acuícola, por lo que al evaluar y comparar el crecimiento del caracol manzana en un sistema de recirculación suministrando dos dietas artificiales, usando o no *S. subsalsa*, proporcionará información como un posible candidato como fuente proteica en los cultivos acuícolas, que permita sustituir el empleo de la harina de pescado comúnmente empleada en el desarrollo de los alimentos balanceados y, con lo anterior, evaluar el costo de producción del caracol manzana ante dicha proteína y condiciones de cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se muestra el diagrama de flujo (Fig. 3) a seguir para el desarrollo del experimento para evaluar el cambio de la harina de la cianobacteria *S. subsalsa* en el crecimiento del caracol manzana *P. bridgesii* (Reeve, 1856):

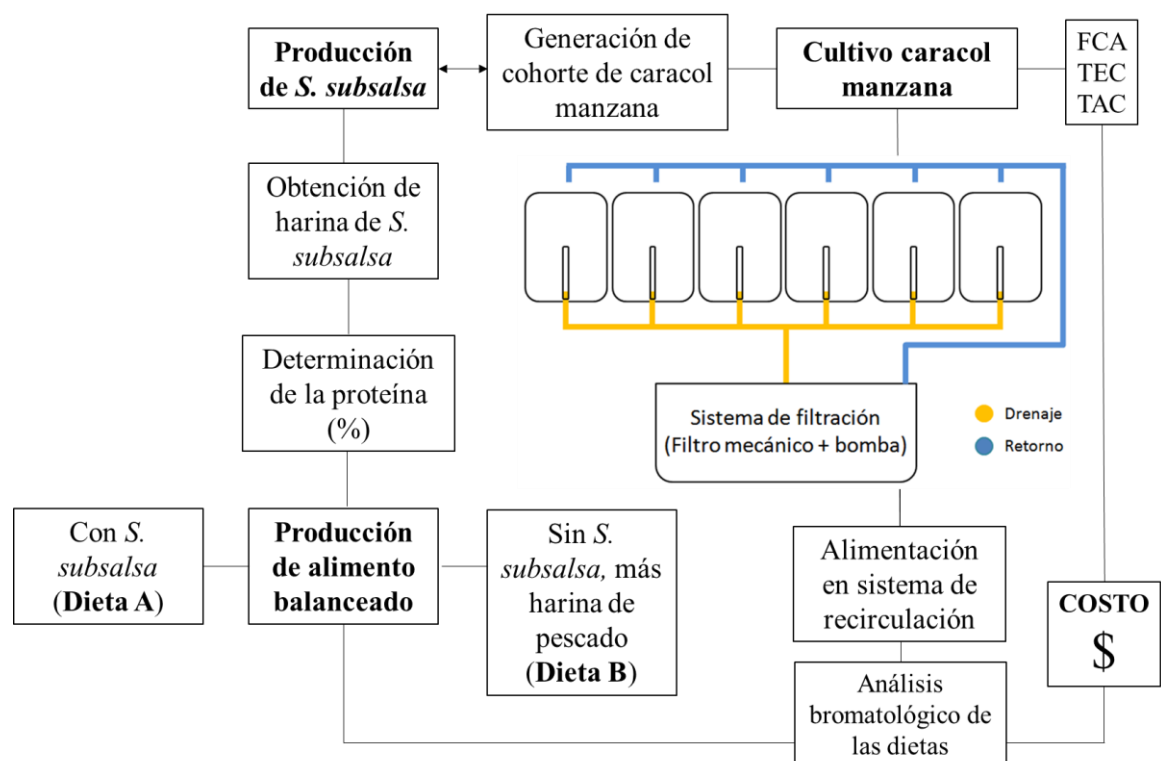


Figura 3. Diagrama de flujo para evaluar el uso de la harina de *S. subsalsa* en el crecimiento del caracol manzana (*P. bridgesii*) en un sistema de recirculación dentro del Cepario y Experimentación del Laboratorio de Biotecnología de Microalgas de la Universidad del Mar campus Puerto Ángel, Oaxaca, México.

Obtención y cultivo de la cianobacteria

La cianobacteria fue obtenida de la colección de cianobacterias y microalgas de Laboratorio de Biotecnología de Microalgas de la Universidad del Mar campus Puerto Ángel, Oaxaca, México. En la colección se mantiene en tres medios de cultivo: Jordan, Zarrouk y ME, este último consta de una fuente de carbono, nitrógeno, magnesio y sal, desarrollándose mediante prueba y error para la producción de cianobacterias (Cisneros-Morales, 2019), bajo condiciones de laboratorio a $24 \pm 1^\circ\text{C}$. El cultivo estático se

llevó a cabo por el método de escalamiento secuencial. Para esto se utilizaron ocho garrafrones de vidrio de 17 L c/u y columnas de fibra de vidrio de 70 L (Fig. 3) donde los inóculos fueron de 2 L c/u y 15 L, respectivamente.



Figura 4. Cultivo de *S. subsalsa* a diferentes niveles. A) 5 L, B) Garrafrón de 17 L y C) Columna cilíndrica de 70 L. Foto: Torres-Ariño, A.

Con el sistema de cultivo fue tipo Batch en medio ME, se realizaron diferentes cosechas de biomasa, la primera a los 20 días y así tres cosechas más con el mismo tiempo de cultivo, sin renovar el medio de cultivo, es decir, sin agregar más sales nutritivas. La biomasa se obtuvo a partir del filtrado del agua con un tamiz de acero inoxidable de 20 cm de diámetro y 30 μm de luz de malla. La biomasa filtrada se enjuagó con agua potable y luego se colocó en recipientes de acero inoxidable (Fig. 4A-B), que se introdujeron a un horno de convección Felisa precalentado a 60 °C por 24 h (Figura 4C). Posteriormente, se despegó la biomasa seca de los recipientes, separándola con la ayuda de una espátula de acero inoxidable y se pesó en una balanza analítica OHAUS Adventurer AX4202/E con precisión de 0,01 g. Toda la biomasa se juntó, se pulverizó y homogeneizó para los posteriores análisis (Fig. 4D).

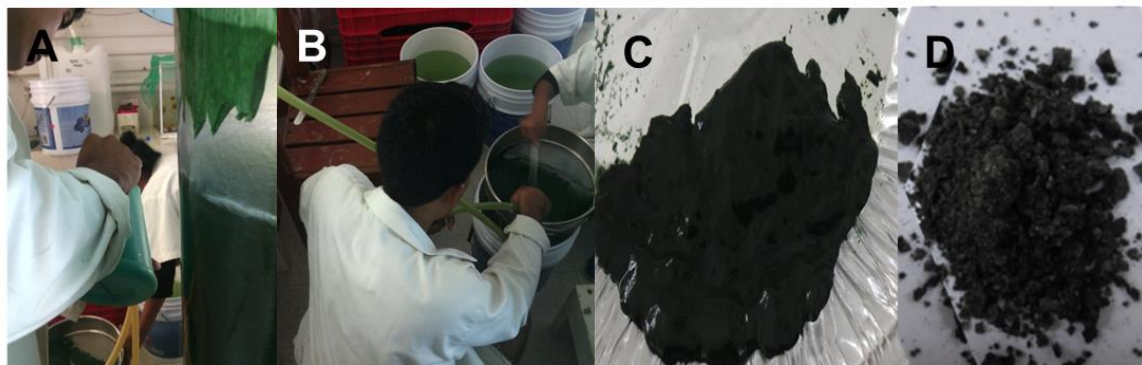


Figura 5. Pasos para la obtención de biomasa de *S. subsalsa*. A-B) Cosecha por filtración utilizando un tamiz de acero inoxidable de 20 cm \varnothing x 53 μm , B) Después del lavado se coloca en un recipiente de acero inoxidable, C) Biomasa húmeda previo a secarse durante 24 h en estufa a 60 °, D) Biomasa seca y pulverizada. Foto: Torres-Ariño, A.

Para la elaboración de las dietas experimentales, es necesario conocer la concentración de proteína de *S. subsalsa*, por lo que se determinó este parámetro mediante el método de Lowry *et al.* (1951), que consiste en la determinación espectrofotométrica de la intensidad de color obtenido con el reactivo de Folin-Ciocalteu (FMT, ácido fosfomolibdico-tungstico), después de la hidrólisis alcalina de una muestra de cianobacterias mediante NaOH 0.5 N a 100°C por 1 h (Arredondo-Vega *et al.*, 2017; Torres-Ariño, 2019). El porcentaje de proteína se determinó a partir del procesamiento de las muestras deshidratadas por triplicado.

Como parte del diseño experimental, el cultivo de caracol manzana duró diez semanas dentro del Cepario y Experimentación del Laboratorio de Biotecnología de Microalgas de la Universidad del Mar, campus Puerto Ángel. Se utilizaron sesenta caracoles manzana juveniles (*P. bridgesii*) obtenidos de la misma cohorte, provenientes del centro de producción acuícola ‘El Jarocho’, en el estado de Veracruz. Los caracoles se midieron con un Vernier (precisión de 0.01 mm), para obtener el largo del caparazón (de la espiral al otro extremo de la concha, Fig.6) y se pesaron en una balanza analítica marca OHAUS Adventurer.

Los caracoles presentaron una longitud promedio inicial de $L_0=1,73 \pm 0,06$ cm y un peso promedio inicial de $P_0=1,30 \pm 0,09$ g. Se decidió trabajar con organismos de esta talla y peso, porque debajo de estos valores, es muy fácil lastimarlos durante su manipulación. Se efectuó un diseño por lotes subdivididos (6 cubetas de 20 L con 10 caracoles c/u), asignando aleatoriamente a cada una los 60 caracoles, con dos tratamientos (dieta A: harina de *S. subsalsa* y B: harina de pescado).

Se instaló un sistema de recirculación para extraer la materia orgánica en suspensión dentro de cada una de las unidades experimentales (cubetas) y así reducir el manejo de los organismos. El sistema de recirculación (Fig. 2) ocupó seis cubetas de plástico de 20 L de capacidad, asignando tres por tratamiento y con un volumen de trabajo de 10 L. Para este sistema únicamente se monitoreó la temperatura. Para retener los sólidos suspendidos se utilizó un recipiente con capacidad de 60 L donde se colocó un filtro mecánico conformado por grava (media cubeta), tiras de rafia (diez metros de rafia deshilachada), yute (un metro cuadrado) y manguera corrugada en trozos (4 metros de manguera cortada en pedazos de 1"). Para llevar el agua filtrada de vuelta a las unidades se utilizó una bomba marca Rotoplas de ½ HP.

El alimento balanceado se preparó con los siguientes ingredientes: aceite de canola 123, harina de trigo marca San Blas, harina de maíz marca Maseca nixtamalizado, harina de pescado con 50% de proteína, mezcla de vitaminas marca Vitafort-A, mezcla de minerales Fosforysal 70 C y Grenetina sin sabor marca Duche® (Tabla 1).

Para la formulación de las dietas (A: alimento con *Spirulina*, B: alimento sin *Spirulina*), se utilizó el programa WinFed 2.8, en donde se ingresa el valor máximo y mínimo de proteína requerida, como se requiere un porcentaje exacto, se fijó como valor mínimo y máximo el 25%, para cubrir los requerimientos de proteína (20 y 30%) para *P. bridgesii* y crecer adecuadamente (Aguilera, 1996). Así mismo, se incorporaron el resto de los valores como vitaminas (1%), minerales (1%) y lípidos (14%) para hacer que cuadre el balance, obteniendo así la cantidad necesaria en porcentaje de cada ingrediente. Con los porcentajes establecidos, se pesaron los ingredientes, como se observa en la Tabla 1.

Tabla 1. Porciones usadas para elaborar las dietas: A) con harina de *S. subsalsa* y B) sin harina de *S. subsalsa* pero con harina de pescado.

Dieta A		Dieta B		
Ingredientes	(%)	(g)	(%)	(g)
H. <i>Spirulina</i> ¹	20	240	0	0
H. Pescado ²	23,7	284,4	43,5	522
H. Maíz ³	19,4	232,8	19,8	237,6
H. Trigo ⁴	19,9	238,8	19,7	236,4
Aceite canola ⁵	14	168	14	168
Vitaminas ⁶	1	12	1	12
Minerales ⁷	1	12	1	12
Grenetina ⁸	1	12	1	12
	100	1200	100	1200

¹ Harina de *S. subsalsa* (26% de proteína)

² Harina de pescado (56% de proteína)

³ Harina de maíz nixtamalizado Maseca, Grupo Industrial Maseca, S.A. de C.V., Nuevo León, México.

⁴ Harina de trigo San Blas, Molino Harinero San Blas, S.A. de C.V., Puebla, Pue., México.

⁵ Aceite 1-2-3 de canola, Fabrica de Jabón La Corona, S.A. de C.V., Ecatepec, Estado de México.

⁶ Multivitamínico Vitafort®-A, Parfarm, S.A., México, D.F. Cada 100 g contiene: B1, 100 mg; B2, 90 mg; B6, 50 mg; B12 500 mcg; ácido fólico, 3 mg; A, 125,000 UI; D3 41,000 UI; E, 40 UI; C, 100 mg; K, 100 mg; ácido pantoténico, 100 mg; nicotina-mida, 400 mg.

⁷ Fosforysal 70C, Agribrands Purina, México, S.A. de C.V., México, D.F. Análisis de garantía (g(Kg): Fósforo, 70 (mínimo); zinc, 4 (mínimo); hierro, 15 (mínimo); cobre, 0.45 (mínimo); iodo, 0.010 (mínimo); calcio, 140 (mínimo); magnesio, 10 (mínimo); manganeso, 4 (mínimo); cobalto 0.020 (mínimo); Sal 300 (máximo).

⁸ Grenetina sin sabor Duche®, Coloidales Duché, S.A. de C.V., México, D.F.

La mezcla de las harinas se realizó en instrumentos de plástico limpios y desinfectados con los ingredientes en orden ascendente, a partir de los cuales se generó una pasta consistente, la cual fue pasada por un molino de carne marca Torrey para obtener tiras de la mezcla, que luego fueron introducidas en un

horno FELISA por 8 horas a 60 °C. Este procedimiento se aplicó igual para ambas dietas, obteniendo pellets de c/u (Fig. 5).

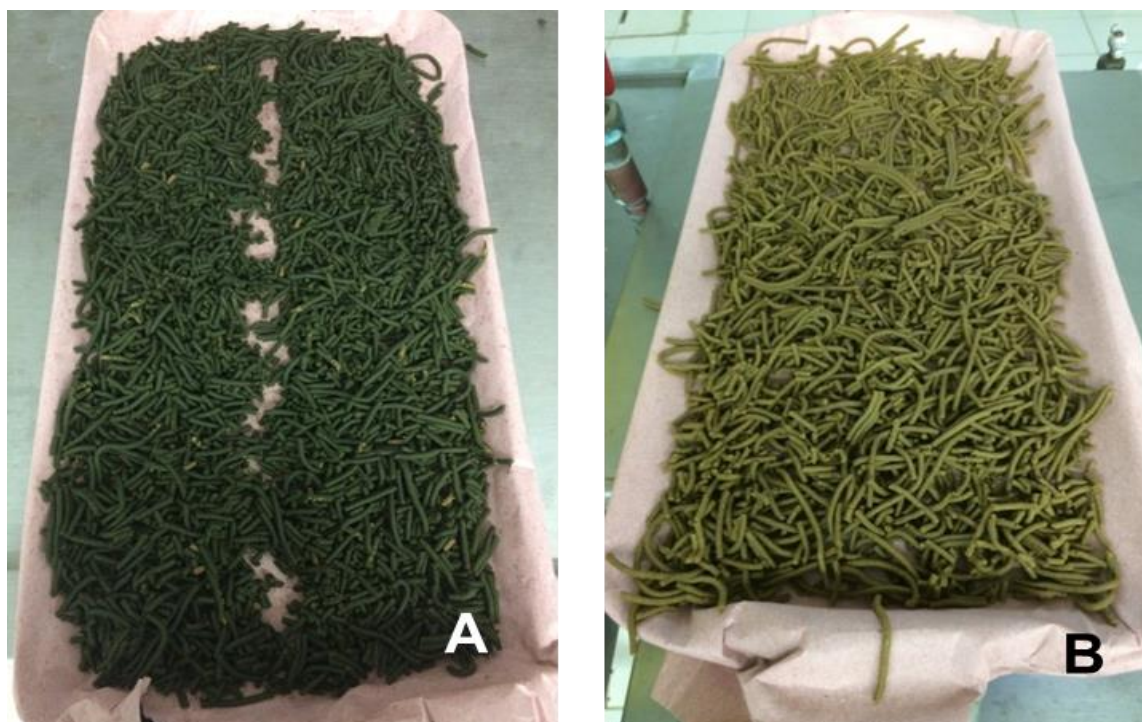


Figura 5. Pellets obtenidos para el experimento de alimentación del caracol manzana (*P. bridgesii*), A: alimento con harina de *S. subsalsa* y harían de pescado; B: alimento sin *S. subsalsa* y solo con harina de pescado.

Análisis bromatológico de las dietas elaboradas

Los análisis bromatológicos de cada dieta (promedio de tres réplicas) se realizaron según A.O.A.C. (1999) explicada en Torres-Ariño y Vivaldo-Patracá (2023). Para las **proteínas** se usó el método de Microkjeldahl (Kirk, 2002; Mendoza-Gualito, 2016); **Cenizas** mediante la calcinación de la muestra en una mufla entre 450-500 °C. Las **Grasas** fueron determinadas por el método gravimétrico de extracción Soxhlet, haciendo cartuchos cónicos de papel filtro Whatman N° 1, deshidratados a 100 °C por dos horas, para obtener un peso constante. **Humedad**, basada en la deshidratación directa de una muestra de cada dieta en un horno de convección de aire marca Felisa a 100 °C hasta alcanzar un peso constante.

Dietas

Las dietas (A y B) se proporcionaron dos veces al día (08:00 y 13:00 h) en raciones iguales, durante las diez semanas de cultivo. La tasa de alimentación fue del 6% de la biomasa de los organismos durante las primeras siete semanas, ya que se ha demostrado que se obtiene un buen incremento de la talla bajo este régimen de alimentación (Aguilera, 1996) y del 3% las últimas tres semanas, debido a que ya no consumían todo el alimento que se suministraba a la tasa inicial.

Se hicieron morfometrías (mediciones de longitud de la concha y peso total) de todos los organismos ($n=10$) de cada una de las unidades experimentales (6) semanalmente ($n=60$ caracoles en total). De acuerdo con la biomasa promedio obtenida en las morfometrías y con base a la tasa de alimentación, se pesó y asignó la cantidad de alimento para cada una de las unidades experimentales hasta el final del cultivo.

Calidad del agua

Se trabajó con agua dulce filtrada por un tamiz de 20 μm . La temperatura se monitoreó con un termómetro de alcohol teniendo un promedio de $25 \pm 0,5$ °C durante todo el experimento. Se realizó un sifoneo semanal

con el fin de remover las partículas más pesadas que no podían salir de las unidades experimentales. La tasa de recambio de cada unidad experimental fue del 40% por hora, semanalmente se realizó un recambio total del agua del sistema, así como la limpieza total del filtro.

Análisis del crecimiento

Las morfometrías de los organismos se realizaron semanalmente, pesándolos en una balanza analítica OHAUS Adventure® y se midieron las conchas desde la punta de la espiral hasta el otro extremo con un Vernier de precisión 0,1 mm (Fig. 6).



Figura 6. Registro morfométrico semanal. A: Longitud del caracol manzana *P. bridgesii*, con un vernier, B: Pesado de organismos utilizando la balanza analítica OHAUS Adventurer®.

Evaluación del crecimiento

Para evaluar la eficiencia de las dietas suministradas durante el cultivo de *P. bridgesii* se estimó el ajuste (r^2) de la tendencia de crecimiento (lineal o exponencial) a lo largo del cultivo, para los valores registrados (de longitud y peso) para así conocer el grado o nivel de ajuste de la ecuación que mejor se acoplara y describiera en términos prácticos una 'tasa' o cambio (Hopkins, 1992). Se graficaron los valores de longitud y peso contra el tiempo de cultivo transcurrido, ajustando una ecuación de regresión, donde se calcularon los valores de r^2 tanto para una tendencia lineal como exponencial. (Tabla 2).

Tabla 2. Valores del coeficiente de determinación (r^2) obtenidos para corroborar la tendencia lineal o exponencial del crecimiento de *P. bridgesii* en los tratamientos utilizados en términos de peso y talla vs tiempo.

Tratamientos	Tendencia Lineal		Tendencia Exponencial	
	Peso	Talla	Peso	Talla
A	0,9709	0,9816	0,9632	0,9500
B	0,9484	0,9936	0,9857	0,9844

Los datos recopilados presentaron una tendencia lineal y exponencial, por lo que se calculó la tasa de crecimiento absoluta y la tasa de crecimiento específica, respectivamente. Estas tasas funcionan como indicadores del rendimiento o desempeño de los caracoles durante su cultivo, ayudando a buscar estrategias para mejorar el crecimiento de los organismos, en términos prácticos las tasas se calculan de la siguiente manera:

Tasa absoluta de crecimiento (TCA)

$$TAC = (\text{Peso final} - \text{Peso inicial} / \text{días de cultivo})$$

Tasa específica de crecimiento (TCE)

$$TEC (\%/día) = ((\text{Ln} (\text{Biomasa final}) - \text{Ln} (\text{Biomasa inicial})) / \text{Días de cultivo}) * 100$$

Factor de conversión alimenticia (FCA)

Para evaluar el aprovechamiento del alimento suministrado a los caracoles se usó el factor de conversión alimenticio, que permite saber por cada unidad de alimento suministrado cuánto se transforma a biomasa, un valor cercano a 1 es lo más idóneo, traduciéndose en que si se suministra 1 kg de alimento se obtendría 1 kg de biomasa. Usualmente en Acuicultura, el valor ideal fluctúa entre 1,2 y 1,8 (Guillaume *et al.*, 2004). La ecuación para calcular el factor de conversión alimenticia (Carberry y Hanley, 1997; Zafra-Telles *et al.* 2018) es:

$$FCA = \frac{\text{Total de alimento suministrado}}{\text{Biomasa final} - \text{Biomasa inicial}}$$

Costo de producción

Para calcular el costo de producción del caracol manzana primero se realizó el cálculo para el cultivo de la *Spirulina*, la cual fue la primera fase del experimento y consistió en contemplar los insumos empleados como agua, luz, medio de cultivo y mano de obra (Tabla 10). Tras conocer el costo de producción de la biomasa de la cianobacteria producida, se procedió a calcular el costo de cada una de las dietas. Para esto se sumó el precio de cada uno de los ingredientes utilizados, los cuales se muestran en Tabla 11. Posteriormente se obtuvo el costo del alimento elaborado y el suministrado (Tabla 12) durante el experimento.

Análisis estadístico

Se corroboró previamente la normalidad y homocedasticidad de los datos para después realizar un análisis de regresión tanto lineal como exponencial para identificar la tendencia de los valores de longitud y peso. Los datos se realizaron con el paquete STATISTICA 7.

Los análisis proximales fueron comparados mediante ANdeVAs de un solo factor, para determinar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos, con un nivel de significancia, $\alpha = 0,05$.

Para conocer si hubo o no diferencias significativas entre los tratamientos (Dietas: A vs B) después de registrar la longitud y el peso durante el experimento por lotes aleatorios subdivididos se realizaron análisis de medias repetidas y comparaciones planeadas, utilizando un nivel de significancia, $\alpha = 0,05$.

RESULTADOS

Cosecha y cultivo estático de *Spirulina subsalsa*

En el cultivo estático sin recambio de medio de cultivo al final del experimento (97 días), se realizaron cuatro cosechas: la primera de 112,2 g, la segunda con 72,440 g, la tercera de 58,885 g y para a cuarta de 46,306 g, con una disminución de biomasa del 58.72% de la primera a la última cosecha. La biomasa obtenida y seca total fue de 289,831 g con un rendimiento promedio de 414,01 mg/L de biomasa seca. En la Tabla 3

se muestran las cantidades de biomasa obtenida en cada cosecha (cada 20 días del cultivo) y su respectivo rendimiento.

Tabla 3. Biomasa seca y rendimiento por cosecha de *S. subsalsa*

Cosecha	Peso seco (g)	Rendimiento en Peso seco (mg/L)
1	112,200	641,00
2	72,440	413,94
3	58,885	336,48
4	46,306	264,61
Total	289,831	414,01 ± 163,20

El porcentaje de proteínas obtenidas a partir de tres muestras deshidratadas de *S. subsalsa* fue de 26% ± 0,4%.

En el análisis bromatológico de los componentes de las dietas elaboradas, se obtuvieron los valores promedio ± error de estimación ($\bar{Y} \pm S_{\bar{Y}}$) de la composición de ambas dietas, que se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Valores promedio ($\bar{Y} \pm S_{\bar{Y}}$) del análisis bromatológico de las dietas elaboradas para el cultivo de *P. bridgesii*.

	Con <i>S. subsalsa</i>	Sin <i>S. subsalsa</i>
Humedad	6,31±0,13	7,07±0,05
Proteína	24,26±0,31	24,1±0,47
Grasas	14,18±0,15	14,49±0,23
Cenizas	9,21±0,06	7,32±0,10
E.L.N.	46,04±0,05	47,02±0,09

*Extracto libre de nitrógeno (E.L.N.)

Crecimiento del caracol manzana

Para evaluar el crecimiento del caracol manzana se partió del análisis de la eficiencia de las dietas suministradas. Se determinó la tasa absoluta de crecimiento (g/día) y la tasa específica de crecimiento (%/día) de cada uno de los tratamientos: Dieta **A**) alimento con harina de *S. subsalsa* y dieta **B**) alimento sin harina de *S. subsalsa*, con harina de pescado, a partir de los datos de peso. En la tabla 5 se presentan los valores obtenidos tras el cálculo de la TAC y la TEC. El análisis de varianza de una vía no mostró diferencias significativas entre ambas dietas.

Tabla 5. Valores de la tasa absoluta de crecimiento (TAC) y específica (TEC) de las tres réplicas utilizadas en el experimento. Dieta A, con harina de *S. subsalsa* más harina de pescado; Dieta B, sin *S. subsalsa*, más harina de pescado.

Dieta →	A		B	
Réplicas	TAC (g/día)	TEC (%/día)	TAC (g/día)	TEC (%/día)
1	0,157	1,429	0,152	1,358
2	0,179	1,404	0,166	1,404
3	0,167	1,417	0,168	1,486
Media ($\bar{Y} \pm S_{\bar{Y}}$)	0,168_a ± 0,011	1,417_b ± 0,013	0,162_a ± 0,009	1,416_b ± 0,065

_{a, b} Subíndices iguales, evidencian ausencia de diferencias significativas.

El factor FCA tampoco tuvo diferencias significativas ($F_{(1)}=5.985$, $P=0.0707$) (Tabla 6).

Tabla 6. Factor de conversión alimenticia (FCA) para los tratamientos: A) alimento con *S. subsalsa* y harían de epsacdo; B) alimento sin *S. subsalsa* con harina de pesacdo, utilizados para evaluar el crecimiento de *P. bridgesii*.

Réplica	(A)	(B)
1	1,57	1,42
2	1,40	1,32
3	1,60	1,27
Media ($\bar{Y} \pm S_{\bar{Y}}$)	1,52_a ± 0,1	1,33_a ± 0,08

_{a, b} Subíndices iguales, evidencian ausencia de diferencias significativas.

Al realizar un análisis de varianza para contrastar los factores de conversión alimenticia de los tratamientos A vs B, no se encontraron diferencias significativas.

Incremento en peso de *P. bridgesii*

El método de medidas repetidas se empleó en el análisis del crecimiento en biomasa (peso, g), donde se contrastaron entre ambas dietas: A y B, encontrándose diferencias significativas ($F_{(1)}=32,464$, $p=0,004$). En la Figura 7 se muestra la tendencia entre ambas dietas, contra el tiempo.

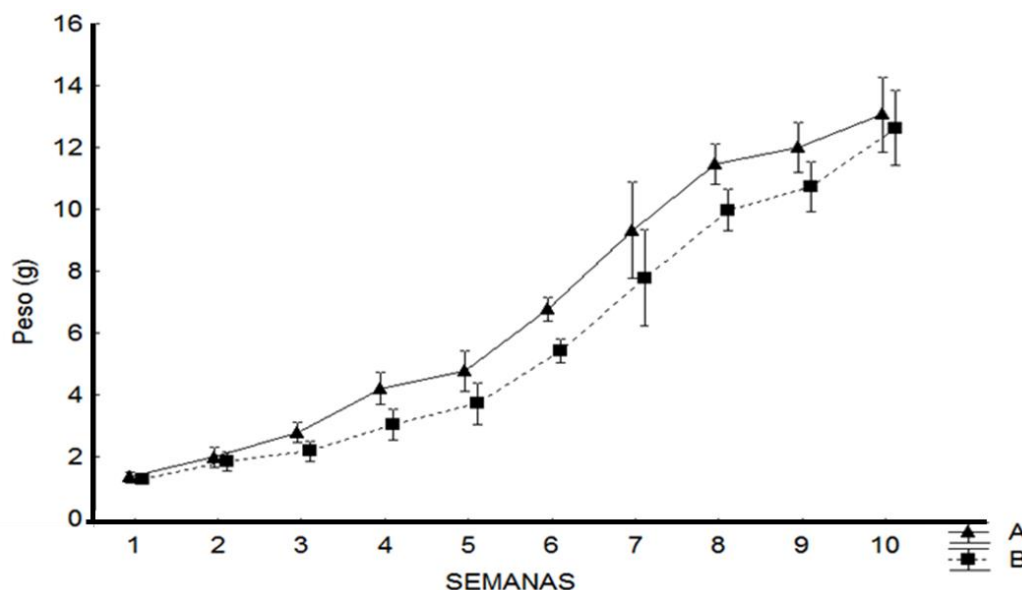


Figura 7. Tendencia semanal del peso del caracol manzana (*P. bridgesii*) según las dietas A) con *S. subsalsa* y harina de pescado; B) sin *S. subsalsa* más harina de pescado.

Para observar mejor las diferencias de peso entre cada semana y entre los tratamientos se realizó una serie de pruebas de comparaciones planeadas donde se generaron los resultados que aparecen en la Tabla 7.

Tabla 7. Pruebas de comparaciones planeadas (g.l. = 1) entre los pesos (g) del caracol manzana (*P. bridgesii*) entre las dietas con *S. subsalsa* y B) sin *S. subsalsa* más harina de pescado.

Semana de cultivo	Dieta A ($\bar{Y} \pm S_p$)	Dieta B ($\bar{Y} \pm S_p$)	F*	Valor P**
1	1,33±0,12	1,29±0,10	0,2373	0,6516
2	1,98±0,16	1,84±0,23	0,8386	0,4115
3	2,78±0,09	2,18±0,28	12,449	0,0242*
4	4,21±0,35	3,04±0,29	20,4595	0,0106*
5	4,77±0,47	3,72±0,35	9,6607	0,0359*
6	6,76±0,30	5,42±0,16	45,9058	0,0024*
7	9,33±1,31	7,78±0,40	3,8039	0,1229
8	11,47±0,50	9,98±0,29	19,7551	0,0112*
9	12,01±0,20	10,72±0,68	9,9879	0,0341*
10	13,07±0,90	12,63±0,57	0,4989	0,5189

*Valor de Fisher y de ** probabilidad

Incremento en talla del caracol manzana

Para el análisis del crecimiento en términos de longitud (largo, cm) se utilizó el método de medidas repetidas, contrastando ambas dietas: A y B, encontrándose diferencias significativas ($F_{(1)}=8,98$, $P=0,040$). En la Figura 8 se muestra la tendencia entre ambas dietas contra el tiempo de cultivo.

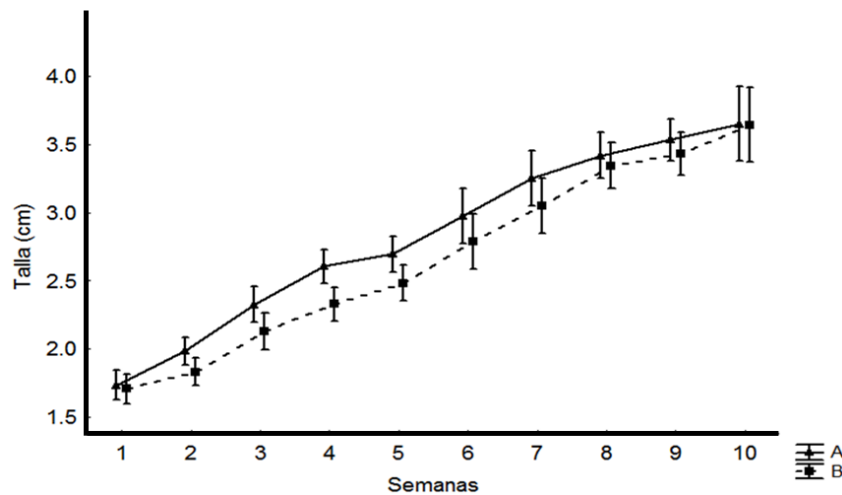


Figura 8. Tendencia semanal de longitud (largo, cm) del caracol manzana (*P. bridgesii*) para ambas dietas: A) con *S. subsalsa* y B) sin *S. subsalsa* más harina de pescado.

Las diferencias en longitud (largo, cm) entre cada semana, para ambas dietas: A y B, generaron los resultados que aparecen en la Tabla 8.

Tabla 8. Pruebas de comparaciones planeadas (g.l. = 1) entre el largo (cm) del caracol manzana (*P. bridgesii*) entre las dietas: A) con *S. subsalsa* y B) sin *S. subsalsa* más harina de pescado.

Semana	Dieta A ($\bar{Y} \pm S_f$)	Dieta B ($\bar{Y} \pm S_f$)	F*	Valor p**
1	1,74±0,06	1,71±0,07	0,2398	0,6499
2	1,98±0,06	1,83±0,07	8,562	0,0429*
3	2,33±0,08	2,13±0,08	8,371	0,0444*
4	2,61±0,09	2,33±0,05	19,8032	0,0112*
5	2,70±0,09	2,48±0,07	9,8594	0,0348*
6	2,98±0,18	2,79±0,01	3,3066	0,1431
7	3,25±0,16	3,05±0,07	3,7625	0,1244
8	3,42±0,11	3,34±0,10	0,7539	0,4342
9	3,53±0,05	3,43±0,13	1,7321	0,2584
10	3,65±0,02	3,64±0,24	0,0027	0,9606

*Valor de Fisher y de ** probabilidad

Costo de producción de la biomasa producida

En la Tabla 9 se muestra el costo de todos los insumos necesarios para la producción de la biomasa de la cianobacteria *S. subsalsa*.

Tabla 9. Costos de los insumos utilizados para la producción de la biomasa de *Spirulina subsalsa*.

Insumos	Cantidad	Unidad	Precio unitario	Importe total
Agua	90,9	Litros	\$ 0,11	\$ 10,00
Luz	120	Días	\$ 14,40	\$ 1.728,00
Medio cultivo	276	Litros	\$ 1,84	\$ 507,84
Mano de obra	50	Horas	\$ 50,00	\$ 1.250,00
Sumatoria				\$ 3.495,84

El costo de producción de la biomasa de la cianobacteria producida fue de \$ 3.495,84 pesos mexicanos (298,83 g), en donde los costos mayoritarios se debieron al gasto de luz y mano de obra. Por su parte, el costo de las dietas se muestra en la Tabla 10, donde se observa que el costo de producción de la biomasa con *Spirulina* supera por \$ 2.877,25 pesos a la que no se le adicionó biomasa de *Spirulina*.

Tabla 10. Costo de elaboración de las dietas preparadas con base a los ingredientes utilizados.

		<i>c/S. subsalsa</i>	<i>s/S. subsalsa</i>
	\$/Kg	\$/g utilizados	\$/g utilizados
Harina trigo	12,00	2,86	2,83
Harina maíz	15,00	3,49	3,56
Harina <i>S. subsalsa</i>	11.698,42	2.895,11	-
Harina de pescado	75,00	21,33	39,15
Vitaminas	1.000,00	12,00	12,00
Aceite	30,00	0,36	0,36
Minerales	20,00	0,24	0,24
Grenetina	428,57	5,14	5,14
Sumatoria	\$13.278,99	\$2.940,53	\$63,28

Finalmente, se obtuvo el costo del alimento elaborado y el suministrado (Tabla 11) durante el experimento, donde se observa claramente que el adicionar biomasa de *Spirulina* eleva el costo de producción.

Tabla 11. Costos de las dietas suministradas durante el experimento de alimentación del caracol manzana (*P. bridgesii*).

Dietas	<u>Alim. Elaborado</u>	Costos	<u>Alim. Suministrado</u>	Costos
	(g)		(g)	
<i>c/S. subsalsa</i>	1200	\$ 2.895,11	533,84	\$ 1.287,93
<i>s/S. subsalsa</i>	1200	\$ 63,28	452,91	\$ 23,88
Total		\$ 2.958,39		\$ 1.311,81

En la Tabla 12 se presentan los costos del proceso de engorda del caracol manzana clasificándolos por dietas (A y B).

Tabla 12. Costos de producción para las dietas A) con *S. subsalsa* y B) sin *S. subsalsa* suministrados en el presente trabajo.

Insumos	A	B
Agua	\$ 48,00	\$ 48,00
Luz	\$ 504,00	\$ 504,00
Mano de obra	\$ 1.250,00	\$ 1.250,00
Dieta	\$ 1.287,93	\$ 23,88
Sumatoria	\$ 3.089,93	\$ 1.825,88

Por otra parte, en la Tabla 13, se muestra el alimento suministrado para tener una idea de la cantidad de alimento que se convirtió en carne. Los datos obtenidos no mostraron diferencias significativas entre ambas dietas.

Tabla 13. Biomasa total obtenida y alimento suministrado, durante el cultivo de *P. bridgesii*.

Dieta	Peso fresco (g)	Peso de concha (g)	Peso carne cocida (g)	Alimento suministrado (g)
A	392	98,82	227,7	534
B	379	92,4	218,3	453

DISCUSIÓN

Porcentaje de proteína y rendimiento de *S. subsalsa*

Se encontró que *S. subsalsa* tiene $26 \pm 0,4\%$ de proteína y que el rendimiento fluctuó entre 641 mg/L y 46,31 mg/L, en la primera y última cosecha, respectivamente; el valor promedio de rendimiento fue de 414 mg/L.

Vázquez-Pérez et al. (2016) reportaron un porcentaje de proteína entre 40 y 70%, además de un rendimiento que fluctuaba entre 1.343 mg/L y 45 mg/L para *Arthrospira maxima* cultivada en biorreactores, utilizando el medio Jordan. Es evidente que el porcentaje de proteína de *S. subsalsa* en su primera cosecha

fue la mitad (641 g/1343 g=0,477 g) del obtenido con *A. maxima* y similar en su última cosecha (45 g/46,31 g=0.972 g).

Artiles *et al.* (2001) y Cisneros-Morales (2016), refieren que las proteínas tienden a desnaturalizarse cuando se someten a una temperatura a 65°C. Por este motivo, se decidió deshidratar a 60 °C, por lo que la temperatura no fue un factor que afectó el porcentaje de proteína de la biomasa de *S. subsalsa*. Es indispensable mencionar y considerar la influencia de otros factores como, por ejemplo: el tipo de medio de cultivo utilizado, si se realizó una renovación de este después de cada cosecha o en algún momento determinado y la fase del cultivo en la que se cosechó.

Los cultivos de *Spirulina* suelen realizarse en agua dulce y con medios de cultivo costosos debido a la inclusión de un gran número de sales de grado analítico como el Zarrouk y el BG-11 (Zarrouk, 1966; Rippka, 1988; Romero-Maza *et al.*, 2017). Esta situación ha propiciado la búsqueda del empleo de menos reactivos o bien encontrar fuentes alternativas de medios de cultivos que incluyan el uso de aguamarina, con el fin de posibilitar la obtención de altos rendimientos de biomasa a bajo costo.

Vázquez-Pérez *et al.* (2016) utilizaron el medio Jordan, que originalmente se creó para el cultivo de *Spirulina* sp. y contiene una proporción de cal, solución de hierro y sal de mar, entre otras sales, por lo que es muy probable que este medio aportara nutrientes que favorecieron el crecimiento de *A. subsalsa*, así como el medio empleado (ME), el cual consta de una fuente de carbono, nitrógeno, magnesio y sal (Cisneros-Morales 2019).

La renovación del medio de cultivo es determinante en la producción y calidad de la biomasa, es importante considerar que en este trabajo nunca se renovó el medio de cultivo, porque fue un cultivo estático donde los nutrientes se fueron agotando progresivamente después de cada cosecha, limitando poco a poco la producción de biomasa conforme pasa el tiempo.

Vázquez-Pérez *et al.* (2016) no mencionan si realizaban renovación del medio, aunque usaron biorreactores para alcanzar cifras tan altas de proteína y rendimiento, acción que hay que considerar al momento de valorar el costo de producción, contra la biomasa obtenida.

La fase del cultivo bajo la cual se realizan las cosechas es otro punto para considerar, ya que hay fases donde se observa una mayor producción de biomasa y por ende la calidad de esta, la cual dependerá del metabolito que se busque (fase exponencial). Si bien en el presente trabajo no se monitorearon las fases del cultivo para efectuar las cosechas, se cosechaba cada 20 días porque se conocía que el cultivo estaba en la fase exponencial cercana a la estacionaria en ese momento (Gouveia *et al.*, 1996; Cisneros-Morales, 2016; Torres-Ariño, *com per.* 2023).

Eficiencia de las dietas suministradas

Para dejar claro el papel que juegan las tasas de crecimiento es importante recordar qué expresan: la TAC muestra el incremento de peso en g/día, mientras que la TEC describe el incremento del peso en %/día. Para medir la eficiencia de las dos dietas utilizadas, se calculó la tasa de crecimiento absoluta (TAC) y la tasa de crecimiento específica (TEC) a partir de los originales (A₁, B₁) y réplicas (A₂, A₃ y B₂, B₃) de ambas dietas. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en el crecimiento de *P. bridgesii* entre las dietas.

Al analizar la formulación de las dietas, se utilizó harina de *S. subsalsa* y harina de pescado como las principales fuentes de proteína. En la dieta A se reemplazó aproximadamente el 50% de la de harina de pescado por harina de la cianobacteria. Se puede decir que la porción de harina de *S. subsalsa* de la dieta 'A', produjo los mismos resultados comparada con la dieta 'B', elaborada con harina de pescado como fuente principal de proteína. Por lo tanto, es viable reemplazar el 50% de la harina de pescado con harina de la cianobacteria (*S. subsalsa*), reduciendo el uso de harina de pescado, la cual a veces es difícil de obtener pues se obtiene directamente de la pesca (Pérez-López, 2019).

Para tener una idea del desempeño de las dietas utilizadas en el presente trabajo, es importante contrastar los resultados obtenidos con los de otros autores a pesar de que las condiciones fueron distintas. En la Tabla 14 se pueden apreciar los valores de TAC y TEC obtenidos en este trabajo y de otros autores. Los valores de la TAC y TEC del presente trabajo son menores, respecto de otros autores citados. Esta diferencia puede deberse a diversos factores como, por ejemplo, la proteína suministrada, la talla inicial, el tiempo de cultivo, la densidad de siembra y la tasa de alimentación, entre otros.

Tabla 14. Valores para la TAC y TEC del presente trabajo y de la literatura consultada.

Autores (% proteína)	TEC		TAC	
	A	B	A	B
Presente trabajo (24%)	1,417	1,416	0,168	0,162
Souza <i>et al.</i> (2012) (35%)	<i>P. bridgesii</i> 1,72 <i>P. lineata</i> 1,66		<i>P. bridgesii</i> 0,268 <i>P. lineata</i> 0,172	
Iriarte-Rodríguez y Mendoza-Carranza (2007)	No calcularon TEC		A. Com. Tilapia (32%) 0.187 A. Com. Pollo (20%) 0.173 Chaya fresca (8,3%) 0.095	
Mendoza <i>et al.</i> (1999)	Lechuga (15%) Prot. 4,71 Alim. Comercial (35%) Prot. 9,49		No calcularon TAC	
Benavides (1994)	<i>Spirulina</i> sp. (30%) Prot. 3,22 Bagrina (30%) Prot. 3,59			

En este trabajo se usaron dietas con 24% de proteína, ya que se consideró que podría ser la cantidad mínima necesaria para promover un crecimiento aceptable. Según Tacon (1989) y Mendoza *et al.* (2002), los requerimientos de proteína para juveniles de caracol manzana se encuentran entre el 20 y 30% de la dieta. Antes de comparar los resultados obtenidos por Souza *et al.* (2012), Mendoza *et al.* (1999) y Benavides (1994), es importante considerar que las condiciones y la calidad del alimento suministrado fueron distintos en todos los trabajos consultados y en ninguno se puede corroborar con exactitud la procedencia de sus dietas.

En cuanto a Mendoza *et al.* (1999), decidieron utilizar una densidad de 0,32 org/L, bajo una tasa de alimentación del 6% al 3%, por 28 días, con talla inicial de 7,5 mm y dos dietas de 15% y 35% de proteína, mientras que en este trabajo se utilizó una densidad de 1 org/L, con una talla inicial de 17mm, una dieta de 26% de proteína y por 70 días de cultivo.

Comparando las condiciones de los cultivos antes mencionadas, Mendoza *et al.* (1999) obtuvieron un resultado 3,32 veces mayor para la dieta con lechuga y 6,69 veces mayor para la dieta con alimento comercial. A primera instancia parecen exagerados, pero los factores clave de este crecimiento tan acelerado fueron la talla inicial de los juveniles de caracol, así como la baja densidad y el corto periodo de cultivo.

De acuerdo con Tacon (1989), es normal encontrar que los organismos crecen a ritmos muy acelerados en las primeras semanas de cultivo y más si cuentan con suficiente alimento y espacio. Con base en lo anterior y que en el experimento del presente trabajo se utilizaron organismos dos veces más grandes, con menor porcentaje de proteína y mayor densidad de cultivo que los de Mendoza *et al.* (1999), se puede decir que es aceptable una diferencia tan grande entre los resultados de ambos trabajos.

En el caso de Iriarte-Rodríguez y Mendoza-Carranza (2007) la dieta con la TAC más parecida a la del presente trabajo fue la de alimento para pollo, a pesar de que esta dieta tenía 4% menos de proteína que las dietas aquí utilizadas. Esa compensación proteica por parte de Iriarte-Rodríguez y Mendoza-Carranza (2007), se puede atribuir a la baja densidad de cultivo y su elevada tasa de alimentación inicial que fue 100% más alta que la utilizada en este trabajo.

En cuanto a la dieta, la condición más cercana fue la de Benavides (1994) quien también usó *Spirulina* sp., con una tasa de alimentación que varió entre 8% y 2%, una talla inicial de 8 mm y una duración de 126 días. Por otra parte, es notable la diferencia en las tasas de crecimiento de Mendoza *et al.* (1999) con tan solo incrementar el porcentaje de proteína, contrastándolo con Benavides (1994), que a pesar de ofrecer una tasa de alimentación mayor no tuvo buenas tasas de crecimiento. La comparación anterior representa lo importante que es la calidad y cantidad de proteína que se suministra en la dieta.

Comparando los resultados obtenidos contra los de Souza *et al.* (2012) se puede observar que a pesar de haber utilizado un sistema con recirculación y suministrar un alimento con 35% de proteína bajo una tasa de alimentación inicial de 15%, no obtuvieron resultados tan favorables como Mendoza *et al.* (1999). El caso anterior es un claro ejemplo de la respuesta biológica que se da tras un suministro excesivo de alimento, ya que un organismo sobrealimentado gasta mucha energía en el proceso de digestión y no aprovecha todos los nutrimentos. Además, tiende a generar pseudoheces, que incrementan el aporte de materia orgánica al sistema y que a su vez contribuye a un consumo acelerado del oxígeno por parte de bacterias nitrificantes, limitando la concentración de oxígeno disuelto y el crecimiento de los caracoles.

En este trabajo no se observó esta respuesta fisiológica, ya que a pesar de que se proporcionaron dietas con un menor contenido proteico y bajo una tasa de alimentación inicial menor, las tasas de crecimiento obtenidas fueron semejantes a las de Souza *et al.* (2012).

Otro indicador de eficiencia alimenticia crucial para la toma de decisiones es el factor de conversión alimenticia (FCA), que sirve para saber cuánto de alimento suministrado se convirtió en biomasa. Los valores de FCA obtenidos fueron aceptables (Tabla 15), ya que un valor muy cercano a uno, indica que por cada gramo de alimento suministrado se obtuvo uno de biomasa.

Tabla 15. Valores de FCA del presente trabajo y de la literatura consultada.

Autores	FCA		
Presente trabajo	A	B	
	Con <i>S. subsalsa</i>	Sin <i>S. subsalsa</i>	
	1,52	1,33	
Benavides (1994)	Soya	<i>Spirulina</i> sp.	Levadura
	1,18	1,25	1,34
Mendoza <i>et al.</i> (1999)	Lechuga	Alim. Comercial	
	1,58	0,70	
Souza <i>et al.</i> (2012)	<i>P. bridgesii</i>	<i>P. lineata</i>	
	Alim.Com.Camarón	Alim.Com.Camarón	
	0,76	0,84	
Iriarte-Rodríguez y Mendoza-Carranza (2007)	Alim. Tilapia	Alim. Pollo	Hojas de Chaya
	1,3	2,8	5,8

Si se comparan los resultados obtenidos con los del trabajo de Benavides (1994), se puede apreciar que el 5% adicional de proteína que manejó en sus dietas mejoró un poco los valores del FCA, al menos para la dieta de *Spirulina* sp. y soya, donde el aprovechamiento fue ligeramente mayor, se podría considerar el suministrar dietas con 30% de proteína para mejorar el FCA. Puede observarse que las dietas ricas en proteínas promueven un mejor crecimiento y más si se trata de un alimento balanceado como es el caso del empleado por Mendoza *et al.* (1999), Iriarte-Rodríguez & Mendoza-Carranza (2007) y Souza *et al.* (2012) que utilizaron alimentos tanto elaborados como comerciales.

Aun así, Mendoza *et al.* (1999) mencionan que es importante contemplar la fuente proteica (vegetal/animal) ya que dependiendo de ella será el resultado obtenido, por lo que en las dietas donde se combinaron ambas fuentes (25% proteína animal y 75% proteína vegetal), los organismos evaluados presentaron mejor desempeño. Por otro lado, observaron un menor desempeño al utilizar exclusivamente fuentes animales o vegetales de proteína, lo que estaría siendo similar para lo encontrado en otros gasterópodos (*Lymnaea stagnalis*), los cuales, a pesar de ser considerados como típicamente herbívoros, alcanzaron un mayor crecimiento con una combinación de proteína animal y vegetal.

A pesar de no haber habido diferencias significativas, el hecho de haber presentado buen crecimiento con ambas dietas hace referencia sobre la amplitud trófica de estos animales, además de su hervíboria generalizada se han observado hábitos carnívoros de caracoles del género *Pomacea* en condiciones de cautiverio (Mendoza *et al.*, 2002; Vivaldo-Patracá, 2019).

Análisis del incremento en peso

En las Figuras 8 y 7, no se apreció claramente que existieran diferencias entre el crecimiento de los caracoles *P. bridgesii* entre ambas dietas. Sin embargo, tras analizar los datos obtenidos, en la Tabla 7, se observan diferencias significativas en las semanas 3, 4, 5, 6, 8 y 9.

En las primeras dos semanas sería normal que no se encuentren diferencias ya que es el tiempo de aclimatación de los organismos, tanto al entorno como al alimento. En la semana 7 no se dieron diferencias significativas ya que los organismos no crecieron, debido al estrés provocado por el exceso de alimentación. Cuando los organismos no ingieren todo el alimento que se suministra, este se descompone bioquímicamente, disminuyendo la concentración de oxígeno disuelto que utilizan los caracoles para su metabolismo y al no existir el oxígeno necesario se ve comprometido el crecimiento (Tacon, 1989).

Tras reducir la tasa de alimentación en las semanas 8 y 9 se reactivó el crecimiento. Curiosamente al llegar a la semana 10 el crecimiento se detuvo nuevamente. Seguramente esto ocurrió por el inicio de la maduración sexual ya que se encontraron ‘fresas’ (cúmulo de huevos) en algunas unidades experimentales y es bien sabido que en etapas reproductivas el metabolismo disminuye la asignación de energía hacia el crecimiento para dirigirlo hacia la producción de gametos (gónadas) (Carrillo-Estévez, 2009).

Análisis del incremento en talla

Durante el experimento, la dieta con *S. subsalsa* mantuvo una tendencia de crecimiento de los caracoles ligeramente mayor, encontrándose diferencias significativas entre dietas en las semanas 2, 3, 4 y 5 (Tabla 8). Sin embargo, luego de la primera mitad del cultivo, el crecimiento entre dietas se igualó durante el resto del experimento.

Si se compara la talla máxima obtenida (3.5 cm) contra la reportada por Cohelo *et al.* (2012) que fue de 3.28 cm, se podría decir que no hubo una diferencia muy notoria. Sin embargo, en el presente trabajo el experimento duró 70 días y se utilizaron organismos con 30 días de vida a partir de su eclosión, es decir, caracoles con una edad de 100 días tras finalizar el experimento, mientras que los caracoles empleados por Cohelo *et al.* (2012) tardaron 192 días en incrementar su talla, prácticamente casi el triple de tiempo ($192/70=2.74$).

Iriarte-Rodríguez & Mendoza-Carranza (2007) realizaron un cultivo de *Pomacea flagellata* bajo tres condiciones de alimentación (alimento balanceado para tilapia, alimento balanceado para pollo y chaya fresca). La dieta con mayor similitud con este trabajo es la de alimento balanceado para pollo con 20% de proteína, con la que obtuvieron caracoles de *P. flagellata* de 44,6 mm en un periodo de 91 días y una densidad de un organismo por litro.

Es de esperar que Iriarte-Rodríguez & Mendoza-Carranza (2007) obtuvieran una mayor talla final, dado que utilizaron una tasa de alimentación 100% mayor que la del presente trabajo, y alimento con mayor porcentaje de proteína (en el caso del alimento comercial para tilapia), 20 días más de cultivo y una densidad más baja (1 org/L). De manera que se podrían igualar estas condiciones, disminuyendo la densidad e incrementado el tiempo de cultivo para obtener mejores resultados.

Costo de producción

Comparando los costos de producción de cada tratamiento (Tabla 13) se observa que la dieta con *S. subsalsa* es \$ 1.264,05 más cara, lo cual es razonable dado que la harina de la cianobacteria utilizada fue un ingrediente que se produjo específicamente para este trabajo. Otro concepto que encareció su producción fue la mano de obra, a pesar de que se calculó por horas trabajadas (considerando \$25,00 la hora) y la luz eléctrica por el equipo de aireación. Sin embargo, si se escalara a una técnica de cultivo rentable para producir la *S. subsalsa* masivamente, se podrían reducir los costos de producción del alimento balanceado, cuyo objetivo sería sustituir parcialmente (50%) el uso de la harina de pescado, impulsando un nuevo sector productivo y

oportunidades de empleo, además de que toda la harina de pescado podría destinarse a otro uso, incluido el consumo humano.

CONCLUSIONES

1.- La cianobacteria *Spirulina subsalsa* en cultivo estático durante 97 días, produjo 289.831 g, con un rendimiento promedio de 414,01 mg/L de biomasa seca con $26\pm 0,4\%$ de proteína, que podría optimizarse, si se cosecha de forma semi-continua en sus etapas de crecimiento exponencial y se liofiliza, para evitar su desnaturalización.

2.- El caracol manzana *Pomacea bridgesii* mantenido en cultivo por 70 días y alimentado con dos dietas a base de: **A)** 50% harina de *S. subsalsa* y 50% harina de pescado ($24,26\pm 0,31\%$ de proteína) y **B)** harina de pescado ($24,1\pm 0,47\%$ proteína), no evidenció diferencias significativas en su crecimiento somático en talla (largo, cm) y biomasa (peso, g), como tampoco en su Tasa específica (1.42) y absoluta (0.16) de crecimiento (TEC y TAC), teniendo un Factor de Conversión Alimenticia (FCA) de 1,33 con harina de pescado y 1,52 con *S. subsalsa*. Lo que permite sustituir hasta un 50% la fuente de proteína animal, por la de *S. subsalsa*.

3.- Analizando los costos de producción del caracol manzana *P. bridgesii*, se puede decir que el experimento no fue económicamente rentable por tres factores básicos:

- 1.- La escala experimental del trabajo, que generó los indicadores de crecimiento.
- 2.- El precio de la elaboración de la dieta con *Spirulina subsalsa*
- 3.- La mano de obra.

Agradecimientos

El presente trabajo fue financiado parcialmente por el Programa al Mejoramiento del Profesorado (PROMEPE) y el proyecto interno de la Universidad del Mar (UMAR) ambos a cargo de Alejandra Torres Ariño. A Pablo Pintos Terán, Pablo Torres Hernández, José Guadalupe Gamboa, Angel Cuevas Aguirre y Alberto Montoya Márquez por sus comentarios para mejorar el escrito. A la Universidad del Mar y los laboratorios de Biotecnología de Microalgas, Tecnología de Alimentos y de Investigación por la facilidad de uso de sus instalaciones. A Alexis Luna Hernández por su apoyo técnico y a los revisores anónimos que con sus comentarios mejoraron la calidad del escrito.

REFERENCIAS

- Anónimo, 2022. Ficha No. 46 de Especies Exóticas Invasoras. Dirección General de Medio Natural y de Evaluación Ambiental. Valencia, España.
[https://agroambient.gva.es/ca/documents/91061501/166569699/Ficha nº 46 Red Alerta EEI Pomacea bridgessi feb 2022.pdf/84a2c05b-e48b-3438-2213-0422d0a0ed?t=1645442911720](https://agroambient.gva.es/ca/documents/91061501/166569699/Ficha_nº_46_Red_Alerta_EEI_Pomacea_bridgessi_feb_2022.pdf/84a2c05b-e48b-3438-2213-0422d0a0ed?t=1645442911720)
- Aguilera G.C.A. (1996). Determinación del perfil de proteasas y de los requerimientos proteicos del caracol manzana (*Pomacea* sp.) como base para el desarrollo de una dieta artificial para su cultivo comercial. Tesis de pregrado. Universidad Autónoma de Nuevo León. San Nicolás de los Garza, Monterrey, Nuevo León, México. 89 pp.
- A.O.A.C. (1999). Cap. 4. Animal Food. Pp: 1-43. In: Cunniff P. Official Methods of analysis of AOAC international. 16th edition. Vol.1. Gaithersburg, Maryland. U.S.A. 231 pp.
- Arredondo-Vega B.O., Voltolina D., Zenteno-Savín T., Arce-Montoya M., Gómez-Anduro G.A. (2017). Métodos y Herramientas Analíticas en la Evaluación de la Biomasa Microalgal. Segunda edición. Baja California Sur, México. 150 pp.

- Artiles M.A., Bárbaro J., Galindo J., Fraga I., Valentin F. (2001). Influencia de la inclusión de microalgas secas en la alimentación de protozoos de *Penaeus schmitti*. *Revista de Investigaciones Marinas*, 22(1): 45-55.
- Ballot A., Krienitz L., Kotut K., Wiegand C., Metcalf J.S., Codd G.A., Pflugmacher S. (2004). Cyanobacteria and cyanobacterial toxins in three alkaline Rift Valley lakes of Kenya-Lakes Bogoria, Nakuru and Elmenteita. *Journal of Plankton Research*, 26(8): 925-935. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbh084>.
- Benavides M.M.I. (1994). Evaluación nutricional de tres fuentes proteicas en dietas para cultivo de dos líneas de caracol manzana *Pomacea bridgesii*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León. San Nicolás de los Garza, Monterrey, Nuevo León, México. 47 pp.
- Benavides J. R., Chacón, M.A., Portillo N. Y., Ruano Iraheta, C. E., Erroa-Ramos, I.R., Ramos Sosa, R.A. (2017). Evaluación bio-económica de alojamientos y densidades de siembra para el cultivo de caracoles comestibles de agua dulce (*Pomacea flagellata* Say, 1827). *Revista MINERVA*, I(29): 29-39.
- Bombeo-Tuburan I., Fukumoto S., Rodríguez E.M. (1995). Use of the golden apple snail, cassava, and maize as feeds for the tiger shrimp, *Penaeus monodon*, in ponds. *Aquaculture*, 131:91-100. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)00329-M](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00329-M).
- Burky A.J. (1974). Growth and biomass production of an amphibious snail, *Pomacea urceus* (Müller) from the Venezuelan Savannah. *Proceeding of the Malacological Society of London*, 41:127-143. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.mollus.a065262>.
- Carberry, J., Hanley, F. (1997). Commercial intensive tilapia culture in Jamaica. IV Simposio Centroamericano de Acuicultura. Cultivo sostenible de camarón y tilapias. Tegucigalpa, Honduras. pp. 64-67.
- Carrillo-Estévez M.A. (2009). La reproducción de los peces: aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura. Fundación observatorio español de acuicultura. Madrid. 719 pp.
- Castillo-Capitán, G., Velázquez-Silvestre, M.G., De los Santos-Castillo, J. E., Hernández-Velázquez, L. (2020). Cultivo de *Pomacea patula catemacensis* como estrategia de producción piscícola para los productores acuícolas de Catemaco, Veracruz. *Revista Científica Biológico Agropecuaria Tuxpan*, 8 (2):43-51.
- Cerdas-Ramírez, R. (2013). Formulación de raciones para carne y leche. desarrollo de un módulo práctico para técnicos y estudiantes de ganadería de Guanacaste, Costa Rica. *Revista de las Sedes Regionales*, XIV(29):128-135.
- Cisneros-Morales J.A. (2019). Evaluación del efecto del medio de cultivo en la composición química de los pigmentos de *Arthrospira maxima* Setchell & N.L. Gardner in N.L. Gardner 1917. Tesis de pregrado. Licenciatura en Biología Marina. Universidad del Mar, Puerto Ángel, Oaxaca, México.
- Coehlo A.R.A., Calado G.J.P., Dinis M.T. (2012). Freshwater snail *Pomacea bridgesii* (Gastropoda: Ampullariidae); life history traits and aquaculture potential. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation. International Journal of the Bioflux Society*, 5(3):168-181. <http://www.bioflux.com.ro/docs/2012.3>.
- Crab, R., Defoirdt T., Bossier P y Verstraete W. (2012). Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges . *Aquaculture*, 356:351-356. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.04.046>

- Crab, R., Defoirdt T., Bossier P y Verstraete W. (2010). The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquaculture Research*, 41:559-567.
- Díaz-Salgado, J., López-Blanco, J. (2000). Evaluación del potencial para acuicultura costera de camarón en el entorno de la laguna de Mar Muerto, mediante la aplicación de técnicas de análisis multicriterio con un SIG. *Investigaciones Geográficas*, 41:62-80. <https://doi.org/10.14350/rig.59104>
- Escudero-Campos, L. (2021). Revisión del uso de la microalga *Spirulina* (*Arthosiphira* spp.) para reducir el contenido en harinas y aceite de pescado en las dietas para acuicultura. Tesis de Maestría en Acuicultura. Universitat Politècnica de València. <http://hdl.handle.net/10251/175576>.
- FAO (2016). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma. 224 pp.
- Gatlin, D. M., Barrows F. T., Brown, P. Dabrowski, K. Gaylord T. G., Hardy R. W. y Herman E. (2007). Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: A review. *Aquaculture Research*, 38:551-579.
- García-Ulloa M., Gallo-García M.C., Rodríguez-González H., Góngora-Gómez A., Ponce-Palafox J.T. (2008). Morphometric relationship of weight and length of cultured freshwater snail, *Pomacea patula* (Baker, 1922), at three different life stages. *Journal of the World Aquaculture Society*, 39(6):842-845. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2008.00222.x>.
- Guillaume J., Kaushik S., Bergot P., Métailler R. (2004). Nutrición y alimentación de peces y crustáceos. Editorial Mundi Prensa. España. 475 pp.
- Gómez-Rengifo, K.A. (2020). Aplicación de *Spirulina* en el desarrollo de alimentación humana y animal. Tesis de Maestría. Universitat Politècnica de València. <http://hdl.handle.net/10251/158039>
- Gouveia L., Veloso V., Reis A., Fernandes H., Novais J., Empis J. (1996). Evolution of pigment composition in *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, (57):157-163. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(96\)00058-2](https://doi.org/10.1016/0960-8524(96)00058-2).
- Habib M.A.B., Parvin M., Huntington T.C. & Hasan M.R. (2008). A review on culture, production, and use of *Spirulina* as food for humans and feed for domestic animals and fish. *FAO Fisheries and Aquaculture Circular*, 1034: 33.
- Halver J.E., Hardy R.W. (2002). Fish nutrition. Academic Press. Third Edition. USA. 824 pp.
- Hopkins K.D. (1992). Reporting fish growth: A review of the basics. *Journal of the World Aquaculture Society*, 23(3):173-179. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1992.tb00766.x>.
- Iriarte-Rodríguez F.V., Mendoza-Carranza M. (2007). Validación del cultivo semi-intensivo de caracol Tote (*Pomacea flagellata*), en el trópico húmedo. *AquaTIC*, (27):16-30.
- Kirk, R.S. 2002. Composición y análisis de alimentos de Pearson, 5ª edición, Ed. Compañía editorial S. A de C.V., México. D.F- pp 19-25
- Krienitz L., Ballot A., Kotut K., Wiegand C., Pütz S., Metcalf J.S., Codd G.A. & Pflugmacher S. (2003). Contribution of hot spring cyanobacteria to the mysterious deaths of lesser Flamingos at Lake Bogoria, Kenya. *FEMS Microbiology & Ecology*, 43(2):141-148. <https://doi: 10.1111/j.1574-6941.2003.tb01053.x>.

- Lightner D.V. (1978). Possible toxic effects of the marine blue-green alga, *Spirulina subsalsa*, on the blue shrimp, *Penaeus stylirostris*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 32(2):139-150. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(78\)90023-X](https://doi.org/10.1016/0022-2011(78)90023-X).
- Lum-Kong A., Kenny J.S. (1989). The reproductive biology of the ampullarid snail *Pomacea urceus* (Müller). *Journal of Molluscan Studies*, 55:53-65.
- Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biology Chemistry*, 193:265-272.
- Mendoza R., Aguilera C., Montemayor J., Rodríguez G. 1999. Utilization of artificial diets and effect of protein/energy relationship on growth performance of the apple snail *Pomacea bridgesii* (Prosobranchia: Ampullariidae). *The Veliger*, 42(1):109-119. <https://doi.org/10.29322/IJSRP.8.3.2018.p7505>.
- Mendoza R., Aguilera, C., Hernández, M., Montemayor, J. Cruz, E. (2002). Elaboración de dietas artificiales para el cultivo del caracol manzana (*Pomacea bridgesii*). *Revista AquaTIC*, 16:1-15.
- Mendoza-Gualito, E.F. (2016). Validación para la determinación de proteínas en alimentos por el método micro-Kjeldhal. Tesis de pregrado. Licenciatura en Químico Bacteriólogo Parasitólogo. Instituto Politécnico Nacional. Ciudad de México, México.
- Mustafa M.G., Nakagawa H. (1995). A review: Dietary benefits of algae as an additive in fish feed. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 47(3-4):155-162.
- Mustafa M.G., Umino T., Nakagawa H. (1997). Limited synergistic effect of dietary Spirulina on vitamin C nutrition of red sea bream, *Pagrus major*. *Journal of Marine Biotechnology*, 5:129-132.
- Nakagawa H. (1985). Usefulness of *Chlorella* extracts for improvement of the physiological condition of cultured ayu, *Plecoglossus altivelis* (Pisces). *Tethys*, 11:328-334. [https://doi.org/10.1016/S0753-3322\(97\)88053-5](https://doi.org/10.1016/S0753-3322(97)88053-5).
- Naranjo-García E., Olivera C. M.T. (2014). Moluscos dulceacuícolas introducidos e invasores, 337-345 pp. In: Mendoza, R. & Koleff, P. (Eds). Especies acuáticas invasoras en México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. 555 pp.
- Ochoa-Galarza, K., Moyano-Calero, W. (2022). Aplicaciones de la espirulina - planta marina: revisión panorámica. *Salud, Ciencia y Tecnología*, 2:174.
- Oliva, Rivera, J.J., Ocaña, F.A., Jesús-Navarrete, A., Jesús-Carrillo, R.M., Vargas-Espósitos, A. (2016). Reproducción de *Pomacea flagellata* (Mollusca: Ampullariidae) en la laguna de Bacalar, Quintana Roo, México. *Revista de Biología Tropical*. 64 (4):1643-1650.
- Pérez-López, J. (2019). Determinación del requerimiento de proteína para el crecimiento del caracol tegogolo *Pomacea patula catemacensis* (Baker, 1922). Tesis de Maestría en Ciencias en Acuicultura. Instituto Tecnológico de Boca del Río, Boca del Río, Veracruz, México.
- Pokniak R.J. 2007. Incorporación de espirulina (*Spirulina maxima*) en dietas para alevines de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). *Avances en Ciencias Veterinarias*, 22(1-2):37-41.
- Ponce-López, E. (2013). Superalimento para un mundo en crisis: Spirulina a bajo costo. *IDESIA*, 31(1):135-139.
- Rajishamol M.P., Lekshmi S., Vijayalakshmy K.C., Saramma A.V. (2016). Antioxidant activity of cyanobacteria isolated from Cochin estuary. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 45(8):974-977.

- Rangel-Ruíz, L.J., Gamboa A.J., Medina R.U. (2003). *Pomacea flagellata* (Say, 1827) Un gigante desconocido en México. *Kuxulkab, Revista de Divulgación de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco*, 9(7):5-9.
- Ribeiro A.R., Borgues R.P., Souza C.V., Gilberto Z.M., Da Silva J.J.W., Da Silva L.R., Morerira S.L. José P.L. (2011). Energy values and chemical composition of *Spirulina* (*Spirulina platensis*) evaluated with broilers. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40(5):992-996. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982011000500008>.
- Rincón-Rodríguez, D.D., Semprún-Avendaño, A.M., Dávila-Ojeda, M.J., Velásquez- Gonzalez, H.A., Morales-Avendaño, E., Hernández-Rangel, J.L. (2013). Producción de harina de *Spirulina maxima* para ser empleada como ingrediente en la elaboración de dietas para peces. *Zootecnia Tropical*, 31(3):187-191.
- Rippka, R. (1988). Isolation and purification of cyanobacteria. *Methods Enzymology*, 167:3-27.
- Romero-Maza, L., Guevara, J.M., Gómez, B., Arredondo-Vega, B.O., Roraisy-Cortez, B. L. (2017). Producción de pigmentos procedentes de *Arthrospira maxima* cultivada en fotobiorreactores. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(1):108-114.
- Ruiz-Ramírez R., Espinosa C.F., Martínez J.F. (2005). Growth and reproduction of *Pomacea patula catemacensis* Baker, 1922 (Gastropoda: Ampullariidae) when fed *Calothrix* sp. (Cyanobacteria). *Journal of the world Aquaculture Society*, 36:1
- Souza J.E., De Barros J.C.N., Paresque K., De Freitas R.R. (2012). The effect of stocking density on the growth of Apple snails native *Pomacea bridgesii* and exotic *Pomacea lineata* (Mollusca, Gastropoda). *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 85(2):753-760. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652013000200019>.
- Szubert K., Wiglusz M., Mazur-Marzec H. (2018). Bioactive metabolites produced by *Spirulina subsalsa* from the Baltic Sea. *Oceanologia*, 60:245-255. <https://doi.org/10.1016/j.oceano.2017.11.003>.
- Tacon A.G.J. (1989). Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados manual de capacitación. FAO. Brasilia. Brasil. Consultado el 29 de noviembre del 2019 en: <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB492S/AB492S00.htm>
- Tacon, A.G.J. (1996). Feed formulation and evaluation for semi-intensive culture of fishes and shrimps in the tropics, pp. 29-43. In: Santiago C.B., Coloso R.M., Millamena O.M., Borlongan E.G. (eds) Feeds for Small-Scale Aquaculture. Proceedings of the National Seminar-Workshop on Fish Nutrition and Feeds. SEAFDEC Aquaculture Department, Iloilo, Philippines.
- Torres-Ariño A. (2001). Aislamiento y caracterización de cianobacterias marinas productoras de compuestos de interés biomédico. Tesis de Maestría, CICESE, Ensenada, Baja California, México, 111 pp.
- Torres-Ariño A. (2004). Uso de cianobacterias en la producción de antibióticos. *Ciencia y Mar*, VIII 23):43-52.
- Torres-Ariño A., Mora-Heredia E. (2010). Isolation and characterization of potentially toxic or harmful cyanobacteria from Oaxaca and Chiapas, Mexico. *Journal of Experimental Science and Health Part A*, 45:1-9. <https://doi.org/10.1080/10934520903388483>.
- Torres-Ariño A., Hernández de Dios M.A., Carrasco-López G. (2021). Efecto de la irradiancia en el crecimiento y coloración de la cianobacteria marina *Spirulina subsalsa* Oersted ex Gomont, 1892. *AquaTechnica*, 3(1):25-36. <http://dx.doi.org/10.33936/at.v3i1.3483>.

- Torres-Ariño y Vivaldo-Patracca (2023). Crecimiento de caracol manzana *Pomacea bridgesii* (Reeve, 1856) utilizando dos dietas artificiales elaborados:: con y sin adición de *Spirulina subsalsa* Oersted ex Gomont 1892, como fuente proteica. *For. Ibero. Rec. Mar. Acui. 11* (en prensa)
- Vázquez-Pérez R.N., Hernández F.U., Villegas M.M., Aguilera R.M., López K.E., Pérez C.E., Arredondo B.O. (2016). Evaluación del contenido de proteínas de la biomasa de *Spirulina (Arthrospira) maxima* cultivada en condiciones ambientales en biorreactores. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1(1):333-337.
- Vázquez-Silva G., Castro-Barrera T., Castro-Mejía J. & Mendoza-Martínez G.D. (2011). Los caracoles del género *Pomacea* (Perry, 1810) y su importancia ecológica y socioeconómica. *Contactos*, 81:28-33.
- Vivaldo-Patracca, L.G. (2019). Crecimiento del caracol manzana *Pomacea bridgesii* (Reeve, 1856) utilizando dos dietas artificiales elaboradas: con y sin adición de *Spirulina subsalsa* Oersted ex Gomont 1892. Tesis de pregrado. Licenciatura en Acuicultura. Universidad del Mar, campus Puerto Ángel, Oaxaca. México.
- Zafra-Trelles, A.M., Díaz-Barboza, M.E., Dávila-Gil, Felix-Antonio, F.A., Fernández-Chumbe, R.E., Vela Alva, K.A., Guzmán-Santiago, H.H. (2019). Conversión y eficiencia alimenticia de *Oreochromis aureus* var. *suprema* (Cichlidae) con diferente alimento balanceado en sistema cerrado, Trujillo, La Libertad, Perú. *Arnaldoa*, 26(2):815-826.
- Zarrouk, C. (1966). Contribution à l'étude de la cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (Setch et Gardner) Geitler. Tesis de Doctorado. Universidad de París, Paris, Francia.

