



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS Y FORESTALES
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA
OPCIÓN TERMINAL ACUÍCOLA



*EFFECTO DE LA RELACIÓN PROTEÍNA - LÍPIDOS EN LA DIETA SOBRE EL
CRECIMIENTO Y LA COMPOSICIÓN CORPORAL DE LA RANA TORO
(Lithobates catesbeianus)*



Tesis que para obtener el grado de
Maestra en Producción Agropecuaria

Presenta

MVZ. Themis Sofía Andrade López

Director: Dr. Jorge Fonseca Madrigal.

ABRIL 2018
Morelia, Michoacán

CONTENIDO

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
ANTECEDENTES	6
Características biológicas y de cultivo de la rana toro	6
Producción en México	10
Producción y consumo de las diferentes carnes en el mundo y en México	11
Investigaciones previas	14
OBJETIVOS	18
OBJETIVO GENERAL	18
OBJETIVOS PARTICULARES	18
HIPÓTESIS	18
MATERIALES Y MÉTODOS	19
Características del cultivo experimental	19
Obtención de los organismos	21
Procedimiento experimental	21
Dietas experimentales	22
Evaluación de parámetros de desempeño en el cultivo	24
Estimación de la ración alimenticia con relación al peso	26
Proceso de sacrificio de las ranas	27
Determinación de la composición proximal de las ranas y alimentos	28
Análisis del perfil de ácidos grasos	30
Análisis Estadísticos	31

RESULTADOS	32
Desempeño en cultivo	32
Incremento de Peso	35
Talla Final	36
Distribución de frecuencia de las tallas en los tratamientos	36
Composición proximal de las ranas experimentales	39
Contenido de proteína en músculo	41
Contenido de Lípidos en Músculo e Hígado	41
Efecto de las dietas sobre el perfil de ácidos grasos del músculo	42
Efecto de las dietas sobre el perfil de ácidos grasos del hígado	44
DISCUSIÓN	47
CONCLUSIONES	61
RECOMENDACIONES	62
BIBLIOGRAFÍA	63
ANEXOS	73
Biometrías de peso en el periodo experimental	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo biológico de la rana	6
Figura 2. Rana macho (izquierda) y hembra (derecha)	8
Figura 3. Producción mundial de rana.....	10
Figura 4. Origen y Producción de carne de rana toro en México en 2014	11
Figura 5. Sistema experimental de cultivo de rana toro.	20
Figura 6. Características de tamaño, forma y color de las dietas experimentales.....	27
Figura 7. Curva de crecimiento en peso (g) de las ranas durante los 70 días de experimentación.	35
Figura 8. Distribución de tallas de las ranas sometidas a los en los tratamientos... ..	37
Figura 9. Fotografía de las ranas al inicio (a y b) y final (c y d) del periodo experimental.....	39

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características de cultivo, mercado y desafíos en la producción de la rana toro.	13
Tabla 2. Formulación y composición bromatológica de las dietas experimentales ...	23
Tabla 3. Ración alimenticia ofrecida durante el experimento.	26
Tabla 4. Resultados de desempeño en cultivo de la rana toro con el uso de dietas experimentales con diferentes niveles de proteína y lípidos.	34
Tabla 5. Talla Final (cm) de las ranas alimentadas con las dietas experimentales en un periodo de 70 días.....	36
Tabla 6. Composición proximal corporal de la rana toro sin piel al inicio y al final del experimento.....	40
Tabla 7. Contenido de lípidos en músculo e hígado y proteína en músculo de las ranas al inicio y al final del experimento.	41
Tabla 8. Contenido de ácidos grasos (%) en el músculo de las ranas toro sometidas a los diferentes tratamientos.	43
Tabla 9. Contenido de ácidos grasos (%) en el hígado de las ranas toro sometidas a los diferentes tratamientos.	46
Tabla 10. Contenido de ácidos grasos en diferentes especies en el músculo (% de los lípidos totales).....	58
Tabla 11. Costos de producción (pesos mexicanos) vs rendimiento en kg.	60
Tabla 12. Peso en el periodo experimental.	73

EFFECTO DE LA RELACIÓN PROTEÍNA – LÍPIDOS EN LA DIETA SOBRE EL CRECIMIENTO Y COMPOSICIÓN CORPORAL DE LA RANA TORO (*Lithobates catesbeianus*)

RESUMEN

La creciente demanda mundial de Rana Toro (*Lithobates catesbeianus*) representa una alternativa de mercado acuícola en México. La gran limitante para lograr incrementar la producción de rana es el hecho de que no existe un alimento específico desarrollado para la especie, por lo que se utiliza alimento balanceado para trucha, entre otros. Por ello, se investigó la relación más adecuada de proteína - lípidos en la dieta para la engorda de ésta especie. Se fabricaron nueve dietas balanceadas, evaluando tres niveles de proteína diferentes (30, 40 y 50%) y tres niveles de lípidos (5, 10 y 20%). También se probó una dieta de referencia (alimento comercial de trucha) durante el experimento. Los resultados de la prueba de alimentación mostraron que todas las dietas experimentales contribuyeron a un mejor crecimiento, factor de conversión alimenticia y mayor peso de anca, que el obtenido con el uso de la dieta de referencia. También es notable que con el uso de la dieta P50/20L (50% de proteína y 20% de lípidos) las ranas ganaron el doble de peso que el obtenido con la dieta de referencia. Considerando el costo de producción de los alimentos, a nivel experimental, las dietas con 40% y 50% de proteína reflejaron un costo/beneficio mayor que la dieta de referencia (alimento comercial de trucha). Finalmente, para lograr mejores resultados y reducir los costos de producción de engorde de Rana Toro se recomienda una dieta que contenga 40% de proteína y 5% de lípidos.

Palabras clave: nutrición, desempeño, dieta, proteínico y lipídico.

ABSTRACT

An increasing worldwide demand of Bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) makes its production an aquaculture market alternative for México. The biggest limitation in order to increase bullfrog production is the fact that there are no specific balanced feeds developed for the species, so commercial trout feeds, among others, are used instead. Consequently, the most appropriate protein - lipid relation in the diet, for the fattening of this species was investigated. Nine balanced diets were made, evaluating three different protein levels (30, 40 and 50%) and three different lipid levels (5, 10 and 20%). A reference diet (commercial trout feed) was also tested during the experiment. The results of the feeding trial showed that all the experimental diets contributed to a better growth, feed conversion factor and greater frog leg weight than the obtained with the use of the reference diet. It is also notable that with the use of the P50/20L diet (50% protein and 20% lipids) the frogs obtained twice the weight as the reference diet. Considering the cost of production of the feeds, at a experimental level, diets with 40% and 50% protein resulted in a higher cost / benefit than the reference diet (commercial trout feed). Finally, in order to achieve better results and reducing costs of production of bullfrog fattening it is recommended a diet containing 40% protein and 5% lipids.

INTRODUCCIÓN

La rana toro (*Lithobates catesbeianus*) es nativa de Norte América (Zhang *et al.*, 2015). Su distribución geográfica natural se extiende por el norte desde la provincia sureste canadiense hacia el sur en Estados Unidos de América (EUA). Los primeros intentos documentados para cultivar rana toro se remontan hacia finales del siglo XIX en los EUA (Pillay, 2004); de ahí, fue trasladada a Japón, Cuba, Brasil y México (Díaz, 1999). En México fue introducida y cultivada a principios de 1960; la primera granja se estableció con el objetivo de satisfacer la demanda creciente de ranas vivas como material didáctico en las escuelas de los EUA (Casas *et al.*, 2001). Actualmente el objetivo principal de su cultivo es el consumo de su carne (Afonso, 2015).

La carne de rana toro se utiliza en diversos estilos de cocina y se ha convertido en manjares de la gastronomía internacional por lo que ha aumentado el consumo en todo el mundo (Pasteris *et al.*, 2006). La exportación de ancas de rana toro en el mundo occidental ha ido en aumento en los últimos años (Fioranelli *et al.*, 2004), sin embargo, la formulación del alimento y la tecnología para su cultivo está todavía sin desarrollarse (Zhang *et al.*, 2015).

En nuestro país se ha hablado incontables veces de la situación que priva a miles de personas de alimentos nutritivos, padeciendo hambre y pobreza afectando en forma directa a algunos sectores de la población, en especial a aquellos que se encuentran en las áreas rurales (CONEVAL, 2017). La ranicultura es una actividad pecuaria que recientemente ha cobrado importancia en algunos países, en donde ésta actividad cumple objetivos muy importantes como son la producción de alimento y generación de empleos (Díaz, 1999).

En los últimos años, la Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca (CONAPESCA) ha impulsado programas en la producción de rana, con la justificación de que este producto representa una alternativa de mercado, pues además de su carne se obtienen otros subproductos como piel, harina, aceite e hígado, los cuales presentan

cada vez mayor demanda en México y en el extranjero (CONAPESCA, 2015), debido principalmente a su carne tierna, un rápido crecimiento, excelente adaptabilidad, eficiente conversión alimenticia y el valor en el mercado (Huang *et al.*, 2014). En la Carta Nacional Acuícola (2012) se menciona que el mercado de los productos y subproductos de la rana toro no está cubierto, a pesar de ser nacional e internacional, puesto que no se cubre la demanda interna con la producción actual.

El éxito del correcto desarrollo en el cultivo de cualquier especie acuícola, se debe principalmente a la alimentación y a las técnicas de manejo utilizadas. El alimento representa aproximadamente el 60% de los costos de producción, por lo que un mal manejo del alimento, o un programa inadecuado de alimentación disminuye la rentabilidad de la producción considerablemente (Flores, 2013; De Castro *et al.*, 2014).

Una gran limitante para obtener una mayor producción anual de rana toro es que en México no existe un alimento específico para la especie, por lo que se utiliza alimento balanceado para trucha (Carta Nacional Acuícola, 2012).

Si en el cultivo de rana no se cuida y atiende la alimentación con dietas y combinaciones alimenticias específicas y solo se suministran alimentos diseñados para otras especies, se presentan problemas nutricionales que derivan en malformaciones como colas torcidas en renacuajos (Dominguez *et al.*, 2005). Para el productor esto representa un gasto probablemente innecesario, debido a que el alimento para trucha es uno de los más caros en el mercado. Se ha mencionado que en las ranas de engorda es típico que se desarrolle hígado graso, probablemente debido a la dieta comercial administrada, puesto que contiene niveles de nutrientes que no son específicos para la especie, y que también puede generar problemas de digestión y obstrucción del sistema digestivo y provocar mortalidad por trastornos asociados a la alimentación (Afonso, 2015).

Los problemas relacionados con los nutrientes y la energía en ranas, tanto en la fase de agua y en la fase post- metamórfica, resultan por falta de estandarización de metodologías para la obtención de datos consistentes y la poca información

encontrada en la literatura, en particular para la rana toro (Vaz, 2007; Secco *et al.*, 2005). Por esta razón, la formulación de raciones compatibles con las exigencias nutricionales de estos animales en diferentes etapas de cultivo no ha sido posible (Lima *et al.*, 1999).

ANTECEDENTES

Características biológicas y de cultivo de la rana toro

Los anfibios son animales que poseen una fase de vida larvaria, que en su mayoría de tiempo es acuática totalmente (Cribb *et al.*, 2013). La rana toro comienza su vida como renacuajo, que vive en este estadio un promedio de tres a siete meses, dependiendo de las condiciones climáticas. Esta etapa de vida finaliza con la metamorfosis (Figura 1) con la transformación de los renacuajos a imago o rana juvenil (Díaz, 1999).

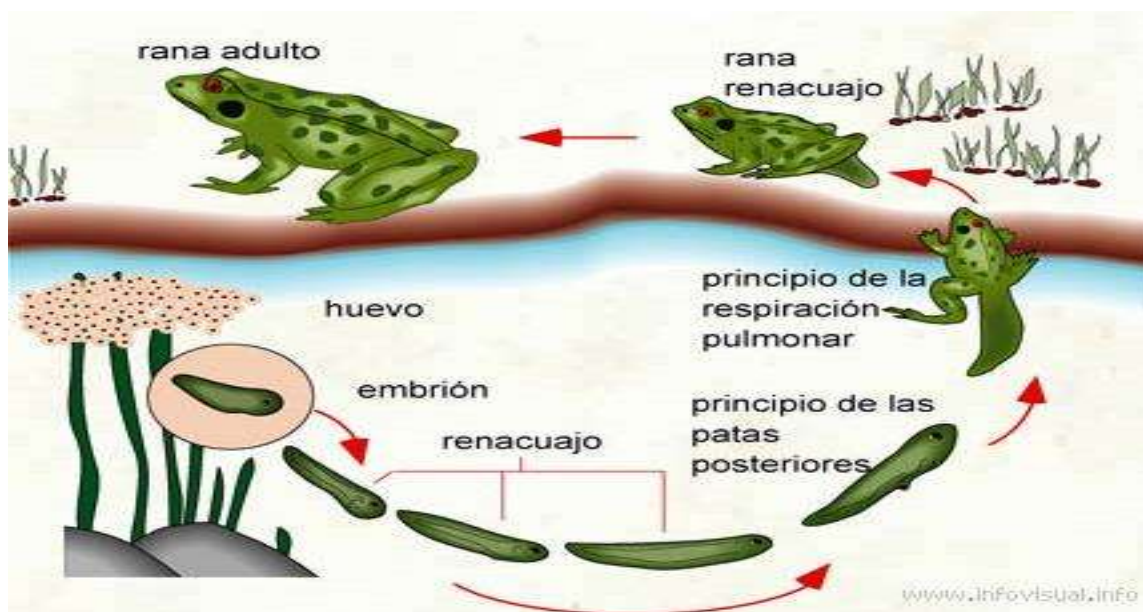


Figura 1. Ciclo biológico de la rana
(Flores, 2013).

Su hábitat natural corresponde a cuerpos de agua permanentes como lagos y pantanos, preferiblemente de aguas someras, tranquilas y cálidas, pero se adaptan bien a ambientes antropizados (Hillis y Wilcox, 2005).

A pesar de que los anfibios poseen ciertos rasgos adaptativos para su alimentación, se consideran animales oportunistas que se alimentan de lo que pueden y no tanto de lo que ellos elijan (Batista, 2002). Por lo tanto, bajo condiciones tropicales, las ranas toro más aptas pueden alcanzar tamaño comercial (>180 g) en tres meses después de la metamorfosis (Cribb *et al.*, 2013). Las ranas toro son depredadores (Schwalbe y Rosen, 1988) y sus hábitos de alimentación son similares a los peces carnívoros.

Morfología

La rana es un anfibio anuro de coloración verde claro u oliva a café cobrizo o amarillento; presenta manchas irregulares de color más oscuro en el dorso y las extremidades. Los machos presentan un color amarillo intenso en el pecho que los diferencia de las hembras (Mazzoni, 2015), así como el diámetro del tímpano que es de dos a tres veces mayor que el tamaño de su ojo y presenta el callo nupcial en las manos. Por su parte, las hembras tienen el tímpano del mismo tamaño que su ojo y la coloración en la garganta es blanco (Afonso, 2015) (Figura 2). Es una rana de gran tamaño, la más grande de Norteamérica, mide de 10 a 17.5 cm, pudiendo llegar a medir hasta 46 cm y alcanzar hasta 1 kg de peso (Hillis y Wilcox, 2005).

El crecimiento dependerá del medio en el que se desarrollen, puesto que los factores ambientales como: fotoperiodo, temperatura, humedad y disponibilidad de alimento influyen y determinan el crecimiento y la madurez sexual. Por lo general las hembras alcanzan la madurez en dos o tres años y los machos en uno o dos; se tiene registro que en hábitats fríos, la rana toro alcanza la madurez de dos a cuatro años, mientras que en climas cálidos se alcanza en uno (Lu y Sopory, 2010). Las extremidades posteriores son robustas y largas representando hasta el 50% de la longitud total del cuerpo y hasta 40% del peso total.



Figura 2. Rana macho (izquierda) y hembra (derecha)

(Howe, 2004)

Son animales ectotérmicos, por lo que su temperatura y metabolismo varían con la del ambiente y son especialmente dependientes del agua para poder vivir y reproducirse, así como para realizar el equilibrio hidro-electrolítico, para eliminar excreciones, eliminar descamaciones de piel e incluso respirar, puesto que presentan respiración bucofaríngea, pulmonar y cutánea (Cribb *et al.*, 2013).

Esta especie se ha introducido en distintos territorios por todo el mundo, principalmente para su explotación en granjas, gracias a su gran capacidad para adaptarse a prácticamente cualquier cuerpo de agua y su resistencia al manejo humano. El periodo tan corto de engorda y su fecundidad es lo que la diferencia de otros anuros. Estas características la ha posicionado como la especie de rana mayormente explotada a nivel mundial (Tokur *et al.*, 2008).

Alimentación en medio natural

En fase de renacuajo son fitófagos, en la etapa de rana son carnívoros e insectívoros y activos depredadores oportunistas voraces, comiendo desde pequeños vertebrados, como serpientes, peces, pájaros, roedores, otras ranas, renacuajos, murciélagos, lombrices, insectos y crustáceos. En ranas adultas se ha reportado el consumo ocasional de animales muertos (Casas *et al.*, 2001). El canibalismo está

bien documentado, y sus congéneres pueden comprender hasta el 80% de la dieta (Margaret *et al.*, 1972).

Es predominantemente de hábitos nocturnos, por no poder resistir el calor seco así como para librarse de sus predadores. También es activa durante el día cuando el ambiente es adecuado (Díaz, 1999). De acuerdo con la cantidad de alimento disponible las ranas regulan su actividad, si es abundante se mostrarán activas, inquietas y croando muy fuerte, pero si el alimento es escaso se verán pasivas y croando débilmente (Díaz, 1999).

Alimentación en cautiverio: Al no existir alimento específico para la especie, se alimentan con alimento para trucha (Carta Nacional Acuícola, 2012), tilapia e incluso bagre y algunas veces se complementa con larvas de mosca (*Musca domestica*) y tenebrios (*Tenebrio molitor*), especialmente cuando se encuentra en etapa de imago, esto sucede en el continente americano (Ramírez, 2017). Pero en algunos países asiáticos se utiliza alimento específico para ranas (FAO, 2017)

Distribución: Durante el último siglo se ha introducido en más de 40 países y cuatro continentes; tal es el caso de México, Argentina, Bélgica, Brasil, China, Colombia, Cuba, República Dominicana, Ecuador, Francia, Alemania, Grecia, Indonesia, Italia, Jamaica, Japón, Malasia, Países Bajos, Perú, Filipinas, Puerto Rico, Singapur, España, Taiwán, Tailandia, Reino Unido, Uruguay, Republica Boliviana y Venezuela, (Lu y Sopory, 2010).

Producción Mundial

Las cifras de producción de rana toro se basan en las estadísticas nacionales enviadas a la FAO para la producción de acuicultura de esta especie (Figura 3). Casi todo corresponde a Taiwán (1,551 toneladas en 2002), así como una producción anual muy pequeña informada por Uruguay. Otras producciones de acuicultura de ranas no se identifican por especies, siendo informadas simplemente como “ranas spp”; dicha categoría contiene indudablemente producción de *Lithobates*

catesbeianus, pero su proporción se desconoce. Sin embargo, se sabe que hay una producción substancial de esta especie en Brasil, México, Ecuador y Guatemala.

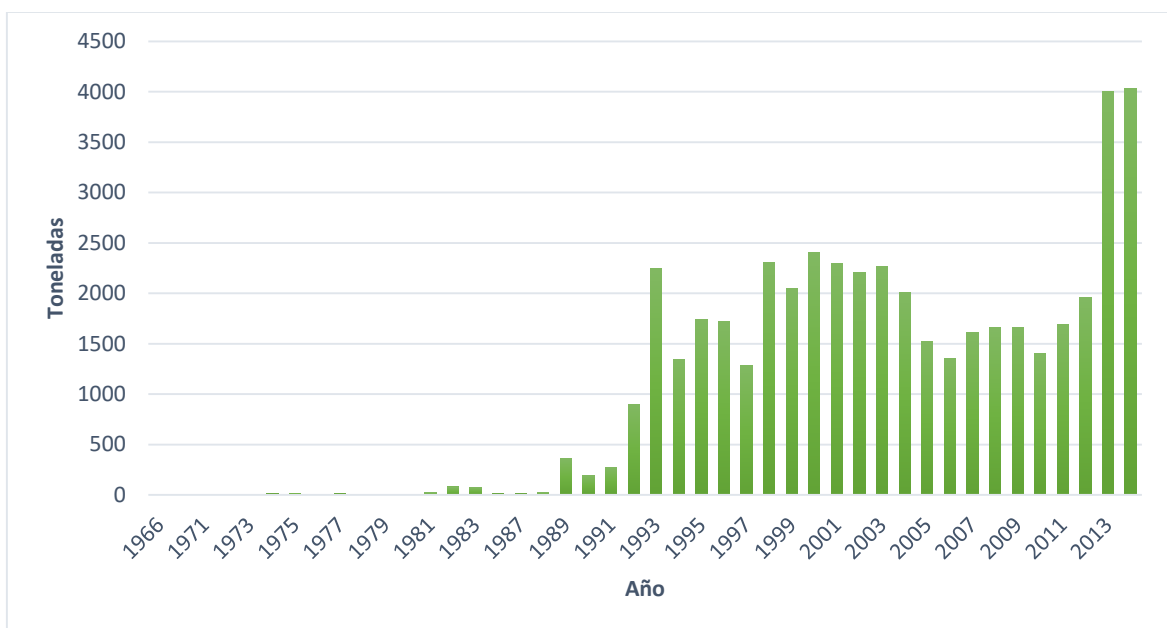


Figura 3. Producción mundial de rana
(FAO, 2017)

Producción en México

Las estadísticas nacionales muestran que la producción de carne de rana toro nacional en canal durante el año 2014 fue de 294.13 t, de las cuales, 228.80 t procedían del cultivo y el resto de captura, aportando un valor de \$10'666,925.45 pesos mexicanos. La producción proviene principalmente de los Estados de Michoacán, Guanajuato, Hidalgo, México, Morelos, Querétaro y Sinaloa. Michoacán destaca como primer lugar en producción nacional, contribuyendo con 202.35 t y con un valor monetario de \$6'817,843.18 pesos. De este total, 133.93 t fueron producidas a través de su cultivo con un aporte económico de \$6'143,566.95 pesos, lo que equivale a más de dos veces que lo reportado en peso y nueve veces más en valor

económico en comparación a los animales capturados en el Estado (CONAPESCA, 2015) (Figura 4).

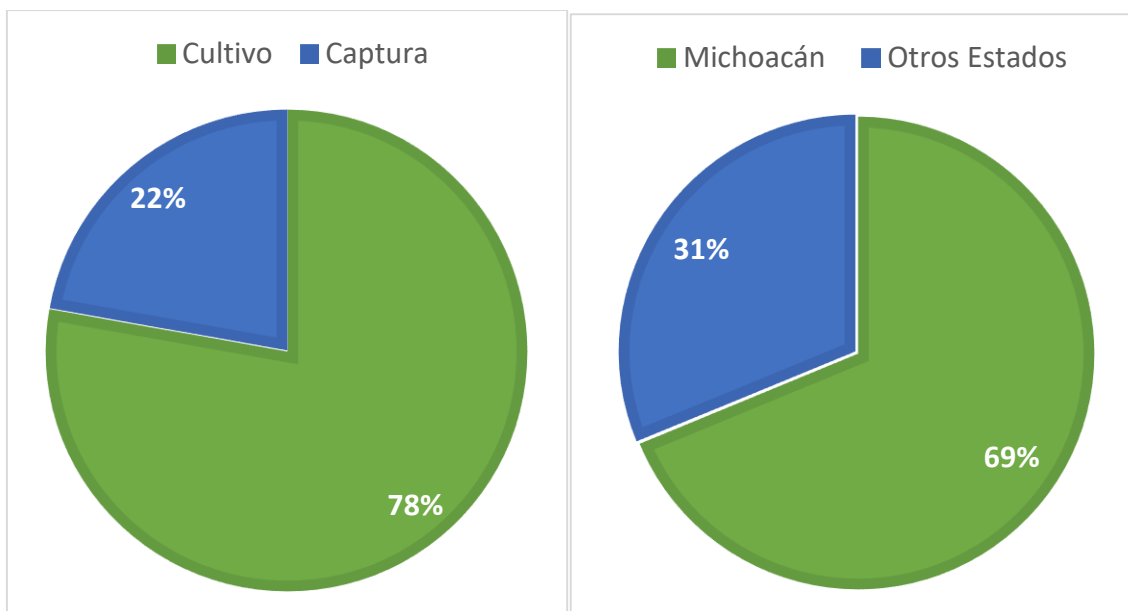


Figura 4. Origen y Producción de carne de rana toro en México en 2014
(CONAPESCA, 2015)

Producción y consumo de las diferentes carnes en el mundo y en México

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, el consumo de carne *per cápita* a nivel mundial experimentó cambios importantes en las últimas décadas, pasando de una media de 26 kg en 1970 a 41 kg en los últimos años. Por su parte México en 2011 fue el cuarto productor mundial de carne de ave (2.8 millones de toneladas), sexto de carne de bovino (1.8 millones) y décimo séptimo de carne de cerdo (1.2 millones), se observa que en el país se ha incrementado el consumo de carne por persona, (res, cerdo, ave, ovina y caprina en conjunto), ya que en 1970 era de 23 kg, para 1990 fue de 34 y actualmente es de 63kg, lo que significa que en las últimas décadas registró un incremento de 84.5% (29 kg), lo anterior supone, un aumento en el consumo en los próximos años. (SAGARPA, 2012).

En contraste el consumo de pescado a nivel mundial para el 2014 fue de 20.1 kg por persona, en el mismo año en que la producción de los organismos provenientes del cultivo supero a la de aquellos que provenían de la pesca (FAO, 2014). La producción mundial total de la pesca y la acuacultura en ese año fue de 167.2 millones de toneladas (FAO, 2016). En México durante el año 2012, el consumo anual por persona era de 8.9 kilos, actualmente el consumo es de 12 kg por persona (SAGARPA, 2016). Con la perspectiva anterior, la producción y consumo de rana es mínima en comparación a las especies ya mencionadas, pero el consumo mundial de rana está aumentando y es considerada un manjar en muchos países (Pasteris *et al.*, 2006).

Características de cultivo

Existen numerosos manuales de cría de rana toro con especificaciones diversas sobre las condiciones óptimas de manejo, teniendo en cuenta que esta especie es totalmente dependiente del clima y la calidad del alimento proporcionado para su crecimiento. En la Tabla 1 se describen las características de cultivo y mercado en nuestro país. Barbosa *et al.* (2005) mencionan que las necesidades de cultivo pueden cambiar conforme a la región e incluso con la época del año.

Tabla 1. Características de cultivo, mercado y desafíos en la producción de la rana toro.

Concepto	Descripción
Sistemas de cultivo	Semi intensivo, intensivo e hiperintensivo
Densidad de siembra renacuajo	500 – 1000 org/m ³
Densidad de siembra ranas	50 - 70 org/m ²
Supervivencia (%)	75%
Tiempo de cultivo	cinco meses y en sistemas hiperintensivo cuatro meses
Insumos para el cultivo	Nacionales
Temperatura (°C)	mínima 15, máxima 30 y óptima 25
pH	Mínimo 6, máximo 8.5 y óptimo 7
Oxígeno disuelto (renacuajo)	Mínimo 3, máximo 12 y óptimo 6
Peso de cosecha	180 – 230 gr
Mercado	Nacional y extranjero
Presentación del producto	Ancas de rana congeladas y empaquetadas
Valor agregado	Pieles, harinas de alto valor nutricional, paté de hígado, cosméticos, mascotas, organismos para investigación biomédica y académica

(Carta Nacional Acuícola, 2012)

Etapas de engorda durante la producción

El crecimiento y desarrollo larval presenta una de las fases más importantes para la ranicultura. En esta etapa se define la producción, puesto que los animales que no crecen o se desarrollan conforme a lo esperado, representan pérdidas económicas significativas, por los altos índices de mortalidad en la metamorfosis y en la engorda (Cribb *et al.*, 2013).

Investigaciones previas

Con la perspectiva anterior y por el interés de incursionar en la nutrición de la rana toro, se han realizado algunas investigaciones para determinar algunos de sus requerimientos alimenticios y nutricionales.

Se reportó que el nivel óptimo de proteína en la dieta para ranas juveniles es de 40%, pudiendo incluso consumir en la dieta hasta 55% de proteína cruda (PC), sin haber diferencias significativas en el crecimiento y desarrollo de las ranas (Olvera-Novoa *et al.*, 2007).

La rana toro puede alimentarse con diversos insumos con alto valor proteico, que han mostrado buena digestibilidad. Los más destacados son la harina de pescado (52% PC), harina de carne y huesos (38% PC) y harina de soya (44% PC) (Carvalho *et al.*, 2001). La harina de pescado tiene una alta demanda como ingrediente en alimentos acuícolas, debido principalmente a su perfil completo de aminoácidos y a otras propiedades nutricionales (Tibbetts *et al.*, 2006).

En un estudio realizado sobre el efecto del uso de diferentes ingredientes proteínicos (harina de pescado café y blanca, harina de carne y huesos de porcino, harina de subproductos de ave de corral, harina de plumas, harina de soya, harina de cacahuete y harina de semilla de algodón), en dietas para rana toro, se encontró que aquellas ranas alimentadas con harina de pescado, mostraron los mejores crecimientos seguidas con harina de pollo, dentro de los peores crecimientos se encontraron las ranas alimentadas con harina de plumas. Se observó que dentro de las harinas vegetales, la de soya provocó mejores crecimientos y los peores resultados fueron para aquellas ranas que consumieron harina de cacahuete y harina de algodón (Zhang *et al.*, 2015).

La proteína es el elemento más caro en los alimentos acuícolas y un alto contenido de proteína en los alimentos se asocia a menudo a un alto costo de alimentación y pérdidas en la utilización de la proteína dietética (Moreira *et al.*, 2008). Por lo tanto, es preferible maximizar la utilización de proteínas por los animales. Desde la

perspectiva económica y también ambiental, numerosos estudios han demostrado el potencial de ahorro de proteínas al utilizar fuentes de energía no proteicas (lípidos y carbohidratos) en las dietas para organismos acuáticos (Watanabe, 2002; Wu *et al.*, 2015).

El mecanismo de ahorro de proteínas se logra al minimizar su utilización destinada a producción de energía y maximizando el crecimiento. Los lípidos son reconocidos como los principales macronutrientes energéticos, porque son densos en energía y fácilmente metabolizados por los animales (Li-Na *et al.*, 2014). Por otro lado, los lípidos de la dieta juegan un papel importante en la nutrición de los animales acuáticos para proporcionar además de energía, ácidos grasos esenciales (AGE) fosfolípidos, esteroides y vitaminas liposolubles a la estructura biológica y función normal de las membranas celulares (Watanabe, 1982; Sargent *et al.*, 2002; Guo *et al.*, 2015).

El aceite de pescado es la fuente de lípidos más importante utilizada en los alimentos acuícolas, puesto que es rico en ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (PUFA n-3) y por lo general un atrayente del alimento (Tacon y Metian, 2008). Experimentalmente se observó que las fuentes de lípidos podrían afectar el metabolismo de los lípidos hepáticos de rana toro, con dietas que contenían manteca de cerdo y grasa de ave, disminuyendo así la actividad de enzimas relacionadas con el metabolismo lipídico (Zhang *et al.*, 2016a).

Ha sido reportado en varias especies de animales que los lípidos de la dieta sobrepasando el límite superior a menudo conducen deposición indeseada en el hígado, referido como hígado graso, induciendo anomalías del metabolismo e incluso la muerte (Moyes y Schulte, 2007).

En comparación a los lípidos, los carbohidratos son relativamente baratos y de fácil disponibilidad y también son fuente de energía (Cho y Young, 1987), pero en organismos acuáticos, especialmente en peces un exceso de carbohidratos en la dieta pueden deprimir el crecimiento, deteriorar funciones biológicas, etc. (Watanabe, 2002). Zhang *et al.* (2016b) observaron que la relación óptima de carbohidratos –

lípidos en la dieta de la rana toro es de 1.82 (21 y 11.57% respectivamente), mientras que con una relación mayor de carbohidratos y mucho menor de lípidos, de 12.11 (39% carbohidratos y 3.22% lípidos) las ranas tuvieron los peores crecimientos, menor supervivencia y energía disponible en el organismo. Los autores concluyeron que tanto los lípidos como los carbohidratos tienen un efecto de ahorro de energía proteínica, también que el aumento de peso fue mayor en las ranas alimentadas con dietas que contenían tanto carbohidratos como lípidos, que en las ranas que recibieron mayormente lípidos como fuente de energía dietética no proteica. Además se ha reportado también que la rana toro tiende a utilizar la energía disponible en productos animales mejor que la de los vegetales (Cho *et al.*, 1982; Sullivan y Reigh, 1995).

En otros estudios realizados en diversas especies animales tanto terrestres como acuáticas, se ha demostrado que la relación proteína-energía es importante, puesto que el requerimiento de proteína está directamente involucrado con la cantidad de energía consumida. Es posible disminuir el requerimiento de proteína con relación al nivel de energía en la dieta, obteniendo como resultado, animales con el mismo o mejor crecimiento, desarrollo en tiempo y con menor costo de producción (Hernández *et al.*, 2010).

El suministro de un balance óptimo de energía y proteína en la dieta es importante, por cuanto, un exceso o deficiencia, resulta en un retraso en la tasa de crecimiento. Si la dieta es deficiente en energía, se usará la proteína con fines energéticos, más que para la síntesis de tejidos. Los animales primero cubren sus necesidades energéticas así que desconocer la relación proteína-energía puede provocar efectos adversos en el desempeño de cultivo de una especie. (Cowey *et al.*, 1975).

Por otro lado, si la dieta contiene un exceso de energía, el animal puede satisfacer su apetito antes de ingerir una cantidad suficiente de proteína, para satisfacer las necesidades derivadas de tasas máximas de síntesis proteica y crecimiento (Cho y Young, 1987).

En algunos peces, la estrategia nutricional de aumentar la cantidad de energía no proteica en las dietas, mejora la eficiencia en la utilización de proteínas. Las fuentes de energía no proteicas contribuyen al gasto energético de los peces, de esta manera la proteína disponible se utiliza para el crecimiento y desarrollo del pez (Guo *et al.*, 2015). En diferentes estudios el objetivo ha sido identificar la mínima cantidad necesaria para que el organismo pueda crecer y ser productivo (Borin *et al.*, 2002).

El incremento en el costo de las fuentes de proteína se presenta como un obstáculo permanente para el sostenimiento de una tecnología rentable. Es por esta razón que es importante determinar el nivel mínimo de proteína, que permita obtener rendimientos biológicos y económicos favorables al productor (Cruz *et al.*, 2000). Es necesario mencionar que la mejoría en la calidad de los alimentos incrementará el rendimiento de la producción por unidad de área, logrando aumentar la producción animal con los sistemas ya existentes (Akiyama, 1991).

La ciencia de la nutrición en acuicultura solo se ha desarrollado desde los años 60 y directamente en algunas especies, mayormente en peces. Aunado a esto, el nivel de conocimiento no es tan alto como en el caso de mamíferos, quedando mucho por investigar y desarrollar al respecto (Brown, 2000).

Debido a la creciente demanda y producción de rana toro en México y a la ausencia de un alimento balanceado específico, es importante investigar la relación proteína/lípidos requerida en una dieta para la especie, que coadyuve en el conocimiento de un balance de nutrientes adecuado.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Determinar la mejor relación proteína/lípidos dietéticos para la engorda de rana toro.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar el efecto de variaciones en la relación proteína/lípidos en la dieta sobre el crecimiento y supervivencia de la rana toro en la etapa de engorda.
- Evaluar el efecto de la relación proteína/lípidos en la composición proximal y de ácidos grasos de la rana toro en la etapa de engorda.

HIPÓTESIS

El incremento de lípidos como nutrientes energéticos en una dieta para rana toro, disminuirá los requerimientos de proteína para su engorda comercial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Características del cultivo experimental

Se realizó un experimento de alimentación para determinar la relación óptima de proteína/lípidos en la alimentación de la rana toro durante la etapa de engorda. Dicho experimento se llevó a cabo en el “Ranario Experimental Nicolaita”, ubicado en el Laboratorio de Biología Acuática de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH). La manufactura de los alimentos experimentales y el análisis de muestras se realizaron en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF).

El ranario está ubicado en la ciudad de Morelia, Michoacán, cuenta con mosquitero, cortinas térmicas, así como un sistema de bioseguridad para evitar el ingreso de patógenos. Se utilizaron 30 tinas de plástico (73 cm de largo x 40 cm de ancho x 33 cm de alto) cada una con toma y salida de agua con capacidad de 100L y con una inclinación de las tinas de 15° (Figura 5).

El sistema de cultivo fue semi inundado (40% área inundada y 60% área seca). Cada tina fue cubierta en la parte superior con malla con abertura de 4.5mm para evitar escapes de organismos y permitir la entrada de luz natural, así como para evitar el ingreso de insectos.

Previo a realizar el trabajo de investigación se lavó el material, instalaciones y equipo a utilizar en el ranario, (tinas, cubetas, cepillos, redes, mangueras, etc). Se empleó cloruro de benzalconio en solución jabonosa (jabón quirúrgico Antibenzil).



Figura 5. Sistema experimental de cultivo de rana toro.

Calidad del agua: El agua utilizada en el cultivo era previamente filtrada y pasada por una lámpara UV marca BOYU®, modelo UVC-18W, esto para mantener el agua limpia, eliminando posibles microorganismos, además existía un flujo de entrada y salida de agua constante de 0.5ml/seg lo que permitía realizar recambio de agua continuamente en las tinas.

Obtención de los organismos

Los organismos experimentales de rana toro (*Lithobates catesbeianus*) fueron donadas por el Sistema Producto Rana Michoacán.

Procedimiento experimental

El trabajo se realizó mediante la evaluación de 10 dietas, nueve de ellas experimentales, con tres niveles de proteína y tres de lípidos, y una dieta de referencia, (alimento comercial para trucha, marca “El Pedregal”). En el invernadero, se mantuvieron condiciones ambientales naturales, la temperatura registrada durante el periodo experimental fueron: ambiental $26.9 \pm 3.5^{\circ}\text{C}$ y del agua $32.9 \pm 4.4^{\circ}\text{C}$, con un fotoperiodo de 14h luz y 10h oscuridad. El experimento de alimentación tuvo una duración de 10 semanas.

Previo al experimento se aclimataron 700 ranas juveniles (de una semana posterior a la metamorfosis) al sistema experimental durante 15 días ofreciendo alimento comercial para trucha. Al concluir el periodo de aclimatación, las ranas permanecieron en ayuno por 24 horas y posteriormente se determinó el peso inicial (PI) y se midieron desde el extremo de la boca hasta la cloaca dorsalmente para obtener la talla inicial (TI). Las ranas que tuvieron el peso y talla deseado ($10.78 \pm 1\text{g}$ y $3.73 \pm 0.46\text{cm}$) fueron seleccionadas para el experimento y distribuidas de manera aleatoria en el sistema experimental. El experimento constó entonces de 10 tratamientos con tres replicas cada uno, utilizando 10 organismos por réplica ($n=30$ por tratamiento). Al inicio del experimento, 30 ranas fueron sacrificadas y analizadas para determinar su composición bromatológica.

Dietas experimentales

Nueve dietas experimentales fueron formuladas y elaboradas con harina de pescado, aislado de proteína de soya, harina de soya, aceite de pescado y aceite de soya como fuentes de proteína y lípidos, formuladas con 30%, 40% y 50% de proteína y 5%, 10% y 20% de lípidos (Tabla 2), a saber:

30/5 = 30% de proteína y 5% de lípidos,

30/10= 30% de proteína y 10% de lípidos,

30/20= 30% de proteína y 20% de lípidos,

40/5= 40% de proteína y 5% de lípidos,

40/10= 40% de proteína y 10% de lípidos,

40/20= 40% de proteína y 20% de lípidos,

50/5= 50% de proteína y 5% de lípidos,

50/10= 50% de proteína y 10% de lípidos y

50/20= 50% de proteína y 20% de lípidos.

Para la elaboración de los alimentos, las harinas fueron finamente molidas agregando posteriormente la premezcla de vitaminas y minerales; después fueron agregados los aglutinantes, agua y aceite hasta formar una pasta uniforme con la textura correcta para formar el pellet, utilizando una pelletizadora semiindustrial. Los pellets fueron trasladados a un secador de aire a 35°C durante 24 h. Tanto las dietas experimentales, como el alimento para de referencia, fueron analizados para conocer su composición proximal (Tabla 2). Al final del proceso el alimento fue almacenado a – 6°C hasta su utilización.

Tabla 2. Formulación y composición bromatológica de las dietas experimentales

Dietas										
Ingredientes (%)	30/5	30/10	30/20	40/5	40/10	40/20	50/5	50/10	50/20	Referencia
Ingrediente proteico 1	36	36	36	48	48	48	60	60	60	
Ingrediente proteico 2	5	5	5	6	6	6	8	8	8	
Ingrediente proteico 3	4	4	4	5	5	5	6	6	6	
Aceite de pescado	0	0.78	3	0	0.2	2	0	0	2	
Aceite de soya	2	5	10	1	5	10	0.42	4	10	
Almidón	48	44	34	34	29	19	19	15	5	
BHT	0.05	0.05	0.005	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	
Tierra de diatomeas	0	0	0	1	1	1	2	2	2	
Premezcla de vitaminas	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Vitamina C	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
Alginato	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
Colina	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
Premezcla de microminerales	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Premezcla de macrominerales	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
Composición proximal (%) base seca en las dietas										
Humedad	2.2	2.7	1.7	1.8	0.3	1.9	5.0	1.8	4.8	4
Cenizas	12.6	12.2	12.1	14.9	16.1	15.3	19.6	18.8	15.7	7.1
Lípidos	5.6	10.1	19.8	5.7	10.0	19.4	5.6	10.3	19.8	10.2
Proteínas	31.2	31.5	31.1	42.4	41.4	41	50.2	52	50.6	43.2
Cenizas	12.6	12.2	12.1	14.9	16.1	15.3	19.6	18.8	15.7	7.1
Proteína/lípidos	6.2	3.1	1.6	8.4	4.1	2.2	10	5.2	2.6	4.3

Metodología de Trabajo

Al comienzo de cada día se extrajo el alimento no consumido y colocado en bolsas de plástico de 5 cm x 15 cm previamente identificadas, y congelado para posteriormente secarlo y pesarlo. Diariamente al alcanzar la temperatura ambiental de 27°C dentro del invernadero se elevaban las cortinas del ranario para que circulara el aire y se realizaba un recambio total del agua de cada tina. Las tinas eran secadas con una esponja de manera manual para extraer toda la materia orgánica, y nuevamente inundada. El alimento se proporcionó dos veces al día (10:00h y 18:00h), ajustando la ración de alimento al peso promedio de las ranas cada siete días (Tabla 3). La temperatura ambiental y del agua se midió dos veces al día (termómetro de mercurio para el agua y un termómetro ambiental), a las 14:00h (32.9 ± 4.4) que era la hora más calurosa y a las 18:00h, momento de la última alimentación del día. Al finalizar se bajaban nuevamente las cortinas del invernadero para mantener calor durante la noche.

Al inicio y durante el experimento se pesaron todos los organismos experimentales cada 14 días con una balanza digital (marca dhaus YS Series) y se limpiaron todas las tinas con jabón quirúrgico. Al finalizar el periodo experimental, las ranas fueron sometidas a 24h de inanición y posteriormente se pesaron y midieron. 15 organismos de cada tratamiento (150 en total) fueron sacrificados para evaluar su desempeño en cultivo, composición bromatológica de la rana completa (seis ranas por tratamiento), composición de lípidos en hígado y músculo y contenido de proteína en músculo (tres ranas por tratamiento), de ácidos grasos (tres ranas por tratamiento).

Evaluación de parámetros de desempeño en el cultivo

Para evaluar el efecto de los tratamientos dietéticos a los que fueron sometidos los grupos de rana toro, se evaluaron los siguientes parámetros:

Supervivencia (%)

Sup= (Número de ranas vivas /Número inicial de ranas)*100.

Peso ganado (PG).

(PG)= Peso final (g) - peso inicial (g).

Peso ganado (%).

PG%= (Peso ganado x 100)/ peso inicial.

Factor de conversión de alimento (FCA). Definido como los gramos de alimento consumido, por cada gramo de peso corporal ganado.

FCA = Alimento ingerido*/ peso ganado**

*Como alimento seco suministrado.

** Peso fresco o húmedo ganado.

Tasa de eficiencia proteínica (PER). Definida como los gramos de peso ganado, por gramo de proteína consumida

TEP = Peso ganado*/ proteína consumida.

* Con este método no se considera la utilización de la proteína para el mantenimiento, ya que el método presupone que toda la proteína es utilizada para el crecimiento.

Índice viscerosomático (IVS). Definida como la proporción del peso de las vísceras con respecto al peso corporal total.

VSI= 100*(peso vísceras/peso cuerpo total).

Índice hepatosomático (IHS). Definido como la proporción del peso del hígado con respecto al peso corporal total

HSI= 100*(peso hígado/peso cuerpo total).

Peso de anca (PA). Definido como el peso de las ancas de la rana

(Watanabe, 1988)

Estimación de la ración alimenticia con relación al peso

La ración alimenticia fue modificada durante el experimento dependiendo del tamaño que alcanzaban, comenzando por una tasa de alimentación del 12% en los primeros días hasta llegar a proporcionar 5% del peso corporal en alimento, siguiendo el criterio propuesto por Lima y Agostinho (1989) (Tabla 3). Dicha ración fue ofrecida en dos partes iguales, una en la mañana y otra en la tarde.

Tabla 3. Ración alimenticia ofrecida durante el experimento.

Consumo de alimento diario					
Peso corporal (g)		Proporción		Cantidad (g)	
Fase	Mínimo	Máximo	%	Mínima	Máxima
Inicial	2	10	12	0.2	1.2
	10	20	11	1.2	2.2
	20	30	10	2.2	3.0
Crecimiento	30	50	9	3.0	4.5
	50	65	8	4.5	5.2
	65	90	7	5.2	6.3
Finalización	90	110	6	6.3	6.6
	110	150	5	6.6	7.5
	150	-	<5	7.5	-

(Lima y Agostinho, 1989)

Los alimentos terminados presentaron buen, olor, textura y dureza; el color de ellos vario según la cantidad de lípidos incluidos en la formulación (Figura 6).

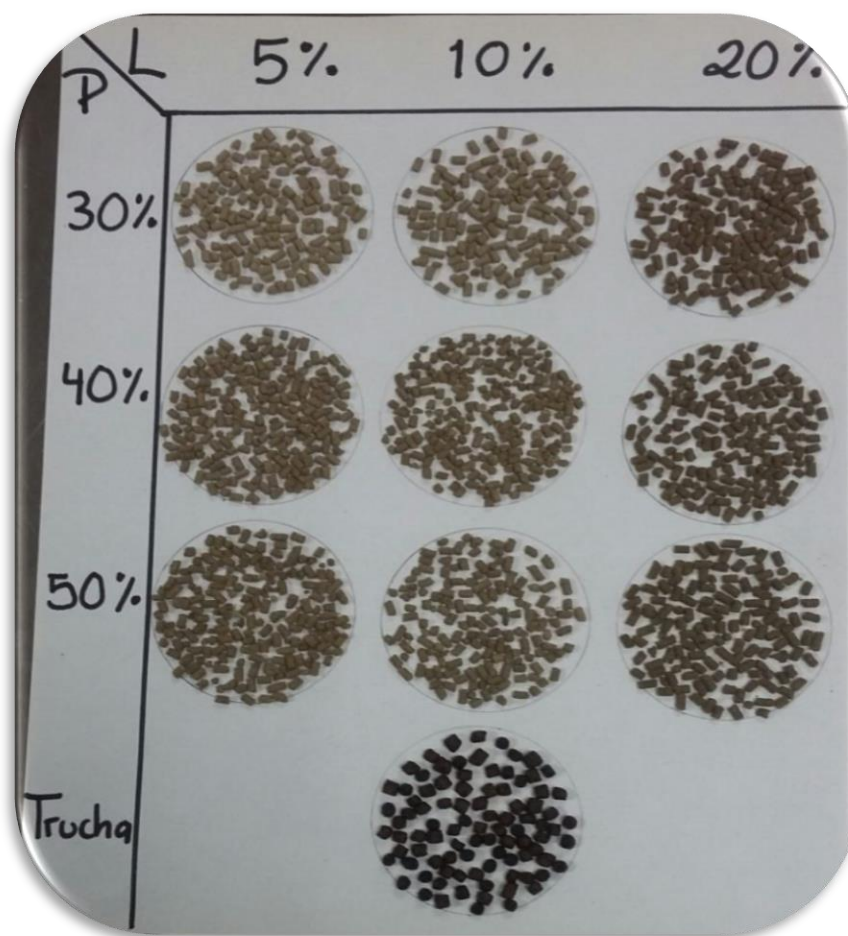


Figura 6. Características de tamaño, forma y color de las dietas experimentales.
P= contenido de proteína y L = contenido de lípidos en la dietas

Proceso de sacrificio de las ranas

Antes del procedimiento de sacrificio, las ranas fueron sometidas al ayuno por 24 horas, posteriormente se insensibilizaron a *frígore*, sumergiéndolas en agua con hielo durante 60 minutos. Luego fueron “desmeduladas” mediante una punción cefálica con una aguja de jeringa. El peso vivo de cada ejemplar se obtuvo con una balanza electrónica digital (marca dhaus YS Series) (Fioranelli *et al.*, 2004).

Posteriormente, se determinó el índice viscerosómico y hepatosomático, por lo cual se procedió a disectar cada órgano en trozos de 5 cm (para evitar que éstos estallaran dentro de la estufa) y la ranas junto con sus órganos se secaron a 110°C durante 48 horas en una estufa eléctrica (Fisher Scientific modelo 750-F) (A.O.A.C., 2000, al finalizar se pesaron los tejidos para obtener el contenido humedad. Posteriormente fue secado los órganos y el cuerpo de la rana en conjunto o por separado según correspondiera al análisis a realizar y se molió la biomasa seca para determinar su composición proximal.

Determinación de la composición proximal de las ranas y alimentos

Se determinó la composición proximal de las ranas y de las dietas experimentales para determinar posibles cambios como consecuencia de la alimentación. El análisis de composición proximal se analizó por triplicado mediante el método Weende: Se determinó el contenido de cenizas, humedad, proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda y extracto libre de nitrógeno (A.O.A.C., 2000).

Humedad: Se utilizaron crisoles de porcelana que fueron identificados y pesados cada uno por triplicado por espacio de 10 min, se obtuvo un peso promedio y después se agregó 1g de muestra por crisol, el contenido de humedad se determinó por medio de la deshidratación de las muestras en una estufa de secado a 105°C durante 24h, y fueron retiradas de la estufa pasando a un desecador por 5h para posteriormente obtener el peso final. El cálculo del contenido de humedad se obtuvo por método gravimétrico, con la diferencia de pesos entre la muestra de antes y después de ser secados (Egan *et al.*, 1993; A.O.A.C., 2000). Se utilizaron los siguientes cálculos.

$$\text{Contenido de humedad (\%)} = 100 * \left(\frac{(B-A)-(C-A)}{B-A} \right)$$

Dónde:

A= Peso del recipiente seco y limpio (g).

B= Peso del recipiente + muestra húmeda (g).

C= Peso del recipiente + muestra seca (g).

Proteína cruda: Las muestras, fueron previamente deshidratadas, pesadas con aproximadamente 0.1000g en capsulas de estaño para su análisis. Se determinó con la ayuda de un autoanalizador (LECO – DUMAS FP528) previamente calibrado con el estándar EDTA, este equipo utiliza Helio, Oxígeno y Aire comprimido por medio de la técnica de conductividad de gases de Dumas, utilizando helio como referencia y multiplicando el resultado del análisis por el factor 6.25 (se asume que en 100 g de proteína existen 6.25 g de nitrógeno) (A.O.A.C., 2000).

Contenido de proteína (%)= Valor N muestra * 6.25

Extracto Etéreo: Se utilizaron tubos de aluminio previamente identificados y pesados cada uno por triplicado para obtener un peso promedio, posteriormente se agregó 1g de muestra y se llevó a cabo el análisis de lípidos mediante el método Soxhlet con ayuda de un equipo Soxhlet Avanti Tecator (2050), el cual utiliza éter de petróleo como solvente para la extracción de grasa. A continuación se pasó a la estufa por 30 minutos a 105°C para que se evapore el solvente del tubo, se retiró a un desecador por 5h y se obtuvo el peso final y se determinó el contenido de lípidos por el porcentaje del peso (A.O.A.C., 2000; Olvera-Novoa, *et al.*, 1993).

Cálculos

Contenido de extracto etéreo (%)= $100 \left(\frac{B-A}{C} \right)$

Dónde:

A=Peso del crisol limpio y seco (g).

B=Peso del crisol con grasa (g).

C=Peso de la muestra (g).

Cenizas: La ceniza se considera como el contenido de minerales totales o material inorgánico de la muestra, se utilizaron crisoles de porcelana previamente identificados y pesados cada uno por triplicado, obteniendo así un peso promedio, a continuación se adiciono 0.5g de muestra por crisol y se realizó la calcinación total de la muestra en una mufla a 550°C por 4 horas. El cálculo del contenido de ceniza se

realizó por el método gravimétrico. Se utilizaron los siguientes cálculos (A.O.A.C., 2000).

Cálculos

$$\text{Contenido de ceniza (\%)} = 100 \left(\frac{A-B}{C} \right)$$

Dónde:

A=Peso del crisol con muestra (g).

B=Peso del crisol con ceniza (g).

C=Peso de la muestra (g).

Análisis del perfil de ácidos grasos

Se analizó el perfil de ácidos grasos a el hígado y el músculo de las ranas de los tratamientos: P30/5L, P30/20L, P40/5L, P50/5, P50/20 y referencia, debido a que estos tratamientos en el análisis de extracto etéreo (hígado y músculo) mostraron los resultados más representativos, así como en desempeño en cultivo.

Se utilizó la técnica establecida de Christie y Han (2003) para realizar la extracción de grasa, y posterior determinación del contenido de ácidos grasos. La extracción de ácidos grasos se llevó a cabo utilizando la técnica de "Derivatización de lípidos totales. El análisis de las muestras se inició colocando las muestras en viales de vidrio, (50 mg) y se les agregó 6 ml de solución Folch (cloroformo: metanol 2:1 v/v), agregando además 10µl de BHT (Butil hidroxí, tolueno) como antioxidante, se mantuvo por 24 horas a -20 °C.

Posteriormente la muestra fue trasladada a un sonicador (Fisher Scientific, Modelo FS140H) durante 15 minutos para disgregar el tejido en agua con hielo. Utilizado una micropipeta se separaron y filtraron 3 ml de la muestra en un tubo de ensayo previamente identificado, los 3 ml restantes se almacenaron a -20°C para tener un respaldo de muestra (Back up).

La muestra filtrada se evaporó a sequedad en una campana por medio de centrifugación al vacío y oxígeno a presión. Posteriormente se agregaron 2.5ml de una solución metanol:ácido clorhídrico (95:5), y se trasladaron a un termobañó a una temperatura de 85°C durante 2.5 h. Posteriormente con la muestra a temperatura ambiente, se agregó 1ml de hexano, se mezcló con un vortex y se centrifugó a 200 rpm a una temperatura de 5°C durante 5 minutos. Al terminar se extrajo la fase metanol (inferior) y se adicionaron 2ml de agua destilada. Nuevamente se mezcló con un vortex y regresó a la centrifuga para realizar el mismo proceso ya descrito. Finalmente la muestra se mezcló con un vortex y se almacenó en un congelador a -20°C durante 24h, para congelar el agua y extraer la muestra. Ésta fue depositada en un vial ámbar y de ahí, 80µl fueron aplicados en un inserto para su posterior inyección en un cromatógrafo de gases.

Los ácidos grasos se analizaron por medio de un cromatógrafo de gases (Agilent 6850); se utilizó una columna capilar de sílice fundida de 30 m de longitud por 0.25 µm (espesor de película) x 0.25 mm (diámetro interno), fase de poli-etilen-glicol con helio como gas acarreador a un flujo de 0.7 ml/min y una rampa de temperatura de 110-220 °C.

La identificación de los ácidos grasos se realizó comparando el tiempo de retención de la muestra con el de estándares conocidos (37 Component FAME Mix de Supelco). El cálculo de los porcentajes del área bajo la curva de cada ácido graso se determinó con la siguiente formula:

$$\text{Ácido graso (\%)} = A/B*100$$

Donde:

A= Área total del ácido graso obtenido de la muestra.

B= Sumatorias de todas las áreas de los ácidos grasos.

Análisis Estadísticos

Los resultados de supervivencia, índice viscerosomático, índice hepatosomático, factor de conversión alimenticia, tasa de eficiencia proteínica, peso de anca, peso final, ganancia de peso, ganancia diaria de peso, composición proximal de las ranas

y contenido de ácidos grasos se evaluaron mediante un análisis de varianza (ANOVA). Al observar diferencias significativas entre las variables ($p < 0.05$) se realizaron pruebas a posteriori de Tukey. Los análisis se realizaron con el software GraphPad Prism 6.

RESULTADOS

Desempeño en cultivo

No se presentaron diferencias significativas en la supervivencia (S) de las ranas entre todos los tratamientos ($p > 0.05$), siendo en todos los casos mayor a 93%. El índice viscerosomático fue mayor en las ranas alimentadas con dietas que contenían: 10 y 20% de lípidos con 30 y 40% de proteína, así como en el tratamiento de referencia; por su parte los tratamientos P50/5L y P50/10L presentaron los índices más bajos, similares a P50/20L, P40/5L y P30/5L. El índice hepatosomático mayor se obtuvo con el tratamiento de referencia y los resultados con menor índice fueron P50/10L, P50/20L y P40/20L.

El factor de conversión alimenticia (FCA) fue mejor (0.9) con el tratamiento P50/20L, y no se encontraron diferencias significativas con los resultados encontrados en los tratamientos con 40 y 50% de proteína con cualquier nivel de lípidos y con el tratamiento P30/10L. Los tratamientos con la peor conversión alimenticia fueron P30/5L y P30/20L y el de referencia. En cuanto a la tasa de eficiencia proteínica (PER), no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, encontrando el mayor promedio (2.5) con el tratamiento P30/10L.

Las ancas de mayor peso se obtuvieron con los tratamientos P30/5L y en todos aquellos que contenían en la dieta 40 y 50% de proteína. El peso más bajo de ancas se obtuvo con el tratamiento P30/20L y el de referencia.

Se distingue que el peso final (PF) de los organismos en 70 días fue de entre 50 y 100g. El peso promedio más alto (100g) corresponde al tratamiento P50/20L, sin embargo no fue diferente a los tratamientos con 50% y 40% proteína con cualquier nivel de lípidos. El peso final de las ranas pertenecientes al tratamiento P50/20L fue significativamente más alto que el de aquellas alimentadas con las dietas con 30% de proteína y con el tratamiento de referencia, ambos con el menor peso final promedio. La ganancia de peso (GP%) fue igual para los tratamientos con 40% y 50% de proteína, obteniendo los mayores rendimientos de hasta 824% de incremento del peso; los tratamientos P30/5L y P30/10L sólo fueron diferentes a P50/20L y el tratamiento de referencia. P30/20L y el tratamiento de referencia por su parte, reflejaron las ganancias de peso más bajas. Esta relación se observó para la ganancia diaria de peso (GDP g), en donde la mayor ganancia, se obtuvo en los tratamientos con 40 y 50% de proteína en la dieta, logrando hasta un 1.3 g de ganancia diaria (P50/20L), la menor ganancia por día se obtuvo con los tratamientos P30/20L y el de referencia, con 0.7 y 0.4 g respectivamente (Tabla 4).

Tabla 4. Resultados de desempeño en cultivo de la rana toro con el uso de dietas experimentales con diferentes niveles de proteína y lípidos.

Tratamiento	S (%)	IVS (%)	IHS (%)	FCA	PER	PA(g)	PF (g)	GP (%)	GDP (g)
P30/5L	96.7	17.3 ± 1.5 ^{cd}	5 ± 0.5 ^b	1.7 ± 0.8 ^a	2.3 ± 0.8	31.9 ± 10.2 ^{ab}	77 ± 27.4 ^b	599 ± 263 ^{bc}	1 ± 0.4 ^b
P30/10L	100	18.2 ± 1.8 ^{abc}	4.4 ± 0.4 ^{bc}	1.5 ± 0.7 ^b	2.5 ± 0.6	29.4 ± 7.9 ^b	77.9 ± 22.3 ^b	609 ± 218 ^{bc}	1 ± 0.4 ^b
P30/20L	96.7	20.3 ± 2.8 ^a	4.1 ± 0.7 ^{cd}	1.9 ± 0.6 ^a	1.9 ± 0.8	20.3 ± 5.9 ^c	59.7 ± 20.1 ^{bc}	441 ± 197 ^{cd}	0.7 ± 0.3 ^{bc}
P40/5L	100	17.2 ± 2 ^{cd}	4.3 ± 0.7 ^{bd}	1.2 ± 0.5 ^b	2.1 ± 0.7	36.1 ± 9.8 ^{ab}	91.2 ± 24.1 ^{ab}	726 ± 247 ^{ab}	1.2 ± 0.4 ^{ab}
P40/10L	93.3	18 ± 2.2 ^{abc}	4.1 ± 0.6 ^{cd}	1.1 ± 0.1 ^b	2.2 ± 0.4	33.4 ± 8.2 ^{ab}	89 ± 22.2 ^{ab}	712 ± 215 ^{ab}	1.1 ± 0.3 ^{ab}
P40/20L	96.7	18.4 ± 1.6 ^{abc}	3.3 ± 0.3 ^{ef}	1.2 ± 0.3 ^b	2 ± 0.4	31.8 ± 6.8 ^{ab}	86.9 ± 19.8 ^{ab}	692 ± 196 ^{ab}	1.1 ± 0.3 ^{ab}
P50/5L	96.7	15.3 ± 2.4 ^d	3.6 ± 0.6 ^{de}	1.2 ± 0.3 ^b	1.7 ± 0.5	33.6 ± 10.8 ^{ab}	95.2 ± 31.1 ^{ab}	766 ± 300 ^{ab}	1.2 ± 0.5 ^a
P50/10L	100	15.2 ± 2.3 ^d	3.2 ± 0.7 ^{ef}	1 ± 0.3 ^b	1.7 ± 0.3	36.9 ± 7.1 ^{ab}	94.1 ± 22.8 ^{ab}	755 ± 232 ^{ab}	1.2 ± 0.4 ^{ab}
P50/20L	93.3	17.6 ± 2.6 ^{bcd}	2.8 ± 0.5 ^f	0.9 ± 0.1 ^b	2.1 ± 0.3	39.3 ± 6 ^a	100.9 ± 19.5 ^a	824 ± 188 ^a	1.3 ± 0.3 ^a
Referencia	93.3	20.1 ± 1.7 ^{ab}	6 ± 0.5 ^a	2.4 ± 0.2 ^a	0.9 ± 0.2	18.5 ± 4.9 ^c	50.6 ± 15.2 ^c	253 ± 141 ^d	0.4 ± 0.2 ^c

Los valores con el mismo superíndice en la misma columna no son significativamente diferentes ($P \geq 0.05$).

S= Supervivencia, IVS = Índice viscerosomático, Índice = hepatosomático, FCA = Factor de Conversión Alimenticia, PER = Tasa de eficiencia proteínica, PA = peso de anca, PF = peso final, GP = ganancia de peso y GDP = ganancia diaria de peso.

Incremento de Peso

En la Figura 7 se muestra la curva de incremento de peso de las ranas alimentadas con las dietas experimentales. Como se puede observar del día 0 al día 14, el peso incrementó entre 7.7 y 3.2 g (P30/5L y el de referencia respectivamente); del día 14 al día 28, el incremento de peso fue entre 17.6 y 5.2 g (P50/10L y referencia respectivamente); para el día 42, el aumento de peso alcanzó los 24g en el tratamiento P50/20L y 8g en el tratamiento de referencia, a partir de ese día para los tratamientos P50/20L, P30/5L y P40/20L el incremento de peso decreció, mientras que para los tratamientos P50/5L, P50/10L, P40/5L, P40/10L, P30/10L, P30/20L y el de referencia siguió incrementándose hasta el día 56. Para todos los tratamientos el incremento de peso decreció considerablemente entre el día 56 y el 70.

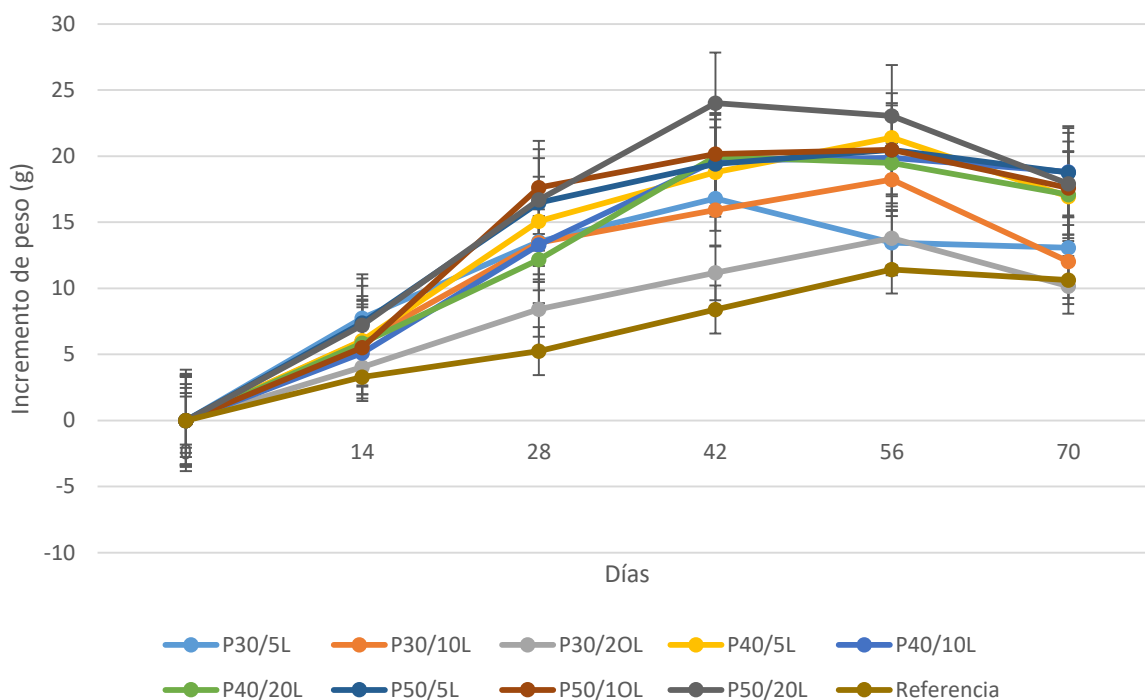


Figura 7. Curva de Incremento de peso (g) de las ranas durante los 70 días de experimentación.

Talla Final

Los tratamientos que reflejaron las tallas mayores al final del experimento fueron los que contenían en la dieta 40% y 50% de proteína con cualquier nivel de lípidos; resultados similares se obtuvieron con 30% de proteína y 5% de lípidos. La talla final promedio menor fue obtenida con el tratamiento P30/20L y con el tratamiento de referencia (Tabla 5).

Tabla 5. Talla Final (cm) de las ranas alimentadas con las dietas experimentales en un periodo de 70 días.

Tratamiento	Talla cm
30P/5L	9.10 ± 1.43 ^{ab}
30P/10L	8.83 ± 1.17 ^{bcd}
30P/20L	8.17 ± 1.01 ^{cdf}
40P/5L	9.58 ± 1.12 ^{ab}
40P/10L	9.59 ± 0.91 ^{ab}
40P/20L	9.41 ± 0.73 ^{ab}
50P/5L	9.77 ± 1.21 ^a
50P/10L	9.80 ± 0.80 ^a
50P/20L	9.93 ± 0.73 ^a
Referencia	7.63 ± 0.81 ^f

Los valores con el mismo superíndice no son significativamente diferentes ($P \geq 0.01$).

Distribución de frecuencia de las tallas en los tratamientos

Debido a las diferencias observadas en las tallas de las ranas sometidas a los distintos tratamientos, se realizó una distribución de las mismas. En general se pudieron distinguir cuatro cohortes de tallas, la primera de 6 a 7.5cm, la segunda de 7.6 a 9cm, la tercera de 9.1 a 10.5cm y la última de 10.6 a 12cm.

En la dieta P30/5L (Fig. 8a) la mayoría de los organismos se distribuyeron en las primeras 3 cohortes y pocos en la talla más grande. Con el mismo nivel de proteína (30%) pero incrementando la grasa a 10% (Fig. 8b) la mayoría de los organismos permanecieron en la segunda cohorte de tallas.

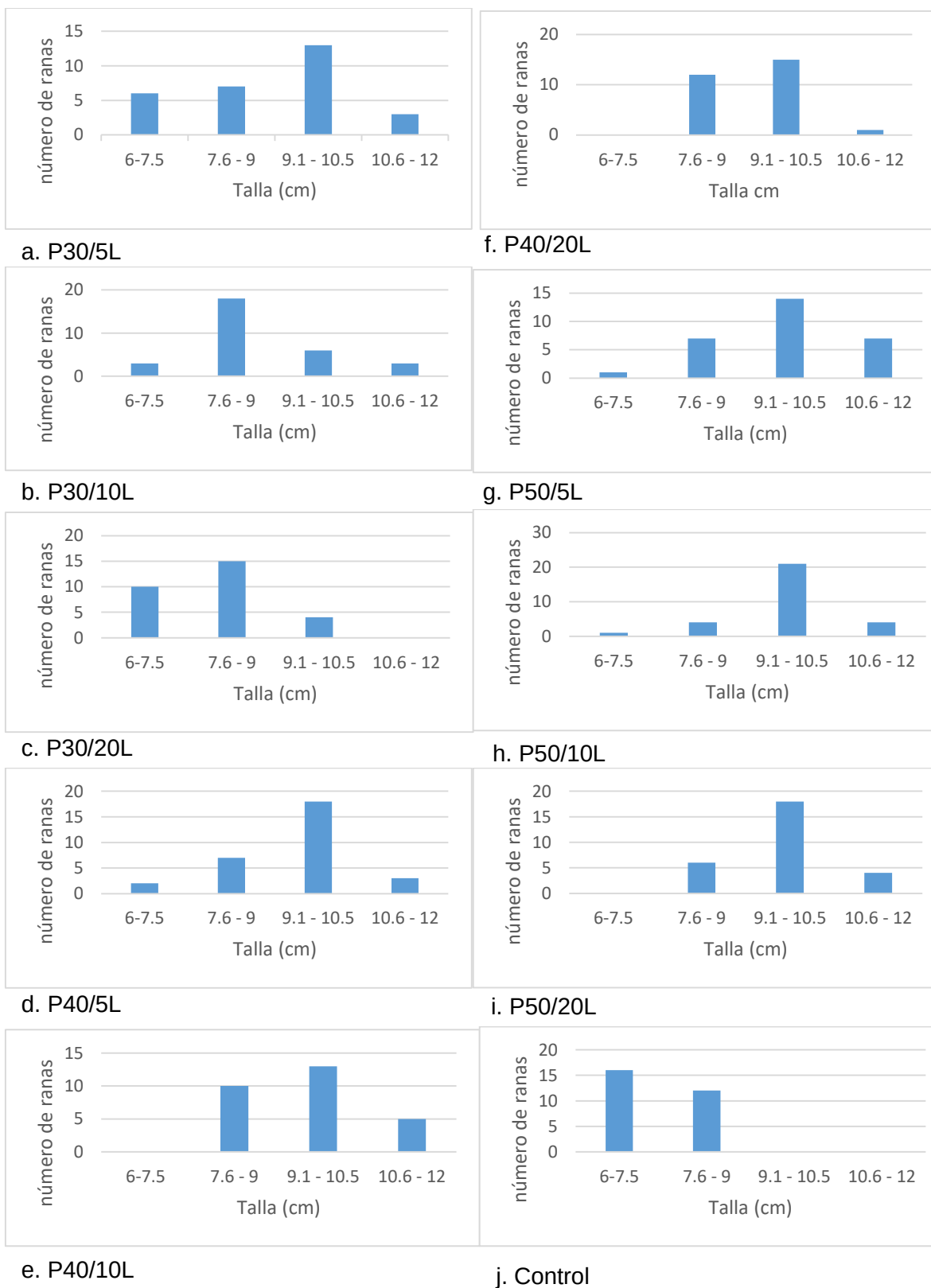


Figura 8. Distribución de tallas de las ranas sometidas a los en los tratamientos.

Con el mismo contenido de proteína pero con un contenido de grasa de 20% (Fig. 8c) los organismos simplemente no alcanzaron la cohorte de las tallas mayores. Esto es diferente a lo que se observa con las dietas de 40% de proteína, ya que al aumentar la grasa a un 10% (Fig. 8e) los organismos obtuvieron tallas mayores que con 5% de grasa (Fig. 8d), incluso no se registraron organismos dentro del cohorte de tallas más pequeña; sin embargo al incrementar la grasa al 20% (Fig. 8f), disminuye el número de organismos en el último cohorte de tallas, y aumenta en los dos intermedios.

Por el contrario, la distribución de las tallas de las dietas con 50% de proteína, registra un incremento en el número de organismos en las cohortes mayores con el incremento de la grasa y mostrando pocos organismos en los cohortes de tallas más pequeñas (Fig. 8g, 8h y 8i).

El tratamiento de referencia que contiene 43% de proteína y 10% de grasa, presenta la mayoría de sus organismos en las cohortes de las tallas más bajas, incluso con resultados menores que la dieta con 30% de proteína. Estos organismos permanecieron en las primeros dos cohortes de tallas, sin alcanzar la tercera o cuarta cohorte (Fig. 8j).

En la Figura 9 se observa físicamente el tamaño de los organismos experimentales al inicio y al final del mismo.



a. Inicio del experimento vista dorsal



b. Inicio del experimento vista lateral



c. Fin del experimento vista dorsal



d. Fin del experimento vista lateral

Figura 9. Fotografía de las ranas al inicio (a y b) y final (c y d) del periodo experimental.

La moneda tiene un diámetro de 21.0 mm

Composición proximal de las ranas experimentales

Los resultados de composición proximal de las ranas reflejan la composición de dieta ofrecida. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a la composición de humedad en las ranas entre tratamientos, solo se registró mayor humedad en el muestreo inicial. La composición de cenizas fue únicamente diferente en los tratamientos P30/20L, P40/20L y el de referencia que registraron valores menores al resto ($p \geq 0.05$). El tratamiento con el mayor contenido de lípidos corporales fue el tratamiento P30/20L, seguido de P40/20L y P50/20L; por el contrario, P50/5L fue el

tratamiento con el que las ranas presentaron menos grasa corporal. El contenido de proteína corporal fue mayor en los tratamientos P50/5L y P50/10L y los menores niveles de observaron en el tratamiento P30/20L (Tabla 6).

Tabla 6. Composición proximal corporal de la rana toro I al inicio y al final del experimento.

Tratamiento	Humedad (%)	Ceniza (%)	Lípidos (%)	Proteína (%)
Inicio	81.5 ± 0.1 ^a	14.4 ± 0.04 ^a	14.5 ± 0.05 ^e	67.40 ± 0.2 ^{ab}
P30/5L	77.6 ± 1 ^{cde}	14.2 ± 0.2 ^{ab}	15.8 ± 0.2 ^{de}	60.39 ± 3.5 ^{deg}
P30/10L	76.8 ± 0.5 ^{bcd}	13.3 ± 0.3 ^{abc}	20.7 ± 0.3 ^c	60.04 ± 0.3 ^{deg}
P30/20L	74.5 ± 3.5 ^{fh}	12.8 ± 0.4 ^{bc}	27.5 ± 1 ^a	53.35 ± 0.5 ^h
P40/5L	78.4 ± 0.8 ^{ac}	14 ± 0.3 ^{ab}	16.2 ± 0.6 ^d	63.74 ± 1.6 ^{bde}
P40/10L	77.8 ± 0.7 ^{ad}	13.4 ± 0.7 ^{abc}	16.3 ± 0.3 ^d	65.67 ± 0.5 ^{bcd}
P40/20L	76.7 ± 1.2 ^{cdgh}	12 ± 0.7 ^c	24.2 ± 0.1 ^b	58.74 ± 2.2 ^g
P50/5L	79.9 ± 1 ^{ae}	14.5 ± 0.4 ^a	12.3 ± 0.2 ^f	70.23 ± 1.4 ^a
P50/10L	79.4 ± 1.3 ^{abeg}	13.7 ± 0.6 ^{ab}	14.8 ± 0.2 ^{de}	68.19 ± 1.2 ^{ab}
P50P/20L	76.4 ± 0.6 ^{cd}	13.4 ± 0.4 ^{abc}	22.8 ± 0.9 ^b	61.81 ± 1.2 ^{cefg}
Referencia	76.6 ± 1.5 ^{bcdh}	10.5 ± 0.3 ^d	19.6 ± 0.9 ^c	60.66 ± 1.1 ^{eg}

Los valores con el mismo superíndice en la misma columna no son significativamente diferentes ($P \geq 0.05$).

Contenido de proteína en músculo

No hubo diferencias significativas en cuanto al contenido de proteína en el músculo de las ranas, excepto con el tratamiento de referencia en comparación con las ranas alimentadas con la dieta P50/20L (Tabla 7).

Tabla 7. Contenido de lípidos en músculo e hígado y proteína en músculo de las ranas al inicio y al final del experimento.

Tratamiento	Proteína (%)	Contenido de Lípidos (%)	
	Músculo	Músculo	Hígado
Inicio	91.06 ± 0.27 ^{ab}	3.67 ± 0.29 ^a	7.06 ± 0.82 ^f
P30/5L	91.99 ± 0.62 ^{ab}	1.50 ± 0.05 ^{de}	5.04 ± 0.36 ^g
P30/10L	91.63 ± 0.31 ^{ab}	2.28 ± 0.16 ^b	10.61 ± 0.45 ^c
P30/20L	91.96 ± 0.40 ^{ab}	3.54 ± 0.05 ^a	18.23 ± 0.04 ^a
P40/5L	94.65 ± 0.62 ^{ab}	1.41 ± 0.18 ^{de}	7.88 ± 0.04 ^{ef}
P40/10L	93.16 ± 1.08 ^{ab}	1.88 ± 0.11 ^{bc}	9.86 ± 0.31 ^c
40P/20L	94.63 ± 1.02 ^{ab}	1.89 ± 0.11 ^{bc}	15.66 ± 0.54 ^b
P50/5L	94.44 ± 0.11 ^{ab}	1.21 ± 0.07 ^e	8.54 ± 0.23 ^{de}
P50/10L	96.56 ± 2.98 ^{ab}	1.58 ± 0.06 ^{cd}	10.16 ± 0.02 ^c
P50/20L	96 ± 0.33 ^a	1.55 ± 0.12 ^{cd}	9.45 ± 0.59 ^{cd}
Referencia	90.58 ± 0.14 ^b	2.12 ± 0.17 ^b	17.64 ± 0.15 ^a

Los valores con el mismo superíndice en la misma columna no son significativamente diferentes ($P \geq 0.05$).

Contenido de Lípidos en Músculo e Hígado

Al inicio del experimento las ranas contenían un mayor nivel de grasa muscular que al finalizar; el tratamiento P30/20L fue significativamente similar al encontrado en las ranas iniciales. En todos los tratamientos con 5% de lípidos el contenido de grasa en el tejido muscular fue menor que aquellos que tenían 10 y 20% de lípidos. En el hígado sucede algo similar, los tratamientos con 5% de grasa en la dieta fueron los que presentaron los niveles lipídicos más bajos, similar al encontrado en las ranas

iniciales. También se puede observar que en los tratamientos con el menor nivel de grasa (5%) pero con un incremento de la proteína en la dieta aumentó la deposición de lípidos en hígado y a la inversa sucede con los tratamientos con mayor contenido de grasa (20%) e incrementando la proteína, la deposición de lípidos en este órganos disminuye; los contenidos más altos de lípidos fueron para los tratamientos P30/20L y el de referencia (Tabla 7).

Efecto de las dietas sobre el perfil de ácidos grasos del músculo

En la Tabla 8 se presenta el perfil de ácidos grasos en el músculo de las ranas alimentadas con diferentes dietas experimentales. Se observa que menos de la mitad de los ácidos grasos mostraron diferencias significativas entre tratamientos. Tal es el caso del ácido palmítico (16:0) en donde los tratamientos que tuvieron los contenidos lipídicos más bajos (5%) y el tratamiento de referencia fueron los que reflejaron los contenidos más altos de éste ácido graso.

Por su parte el tratamiento P50/20L fue el que menor contenido de ácido palmitoleico (16:1n-7) presentó, en contraste con el tratamiento P30/5L. Los demás tratamientos no presentaron diferencias significativas entre ellos; el ácido oleico (18:1n-9) fue encontrado en concentraciones más bajas en los tratamientos P50/5L y P40/5L. El ácido vaccénico (18:1n-7) estuvo presente en cantidades similares en casi todos los tratamientos, con excepción de las muestras provenientes del tratamiento P30/20L, que fue menor que el tratamiento de referencia.

De los ácidos grasos poliinsaturados n-6, solo hubo diferencias significativas en el ácido linoleico (18:2 n-6) donde el tratamiento de referencia y P30/20L mostraron el mayor contenido y los tratamientos P50/5L y P40/5L el menor. En cuanto a los ácidos grasos poliinsaturados n-3 la evidencia muestra que las ranas alimentadas con la dieta de referencia fueron las menos enriquecidas, tanto con EPA (20:5 n-3) como con DHA (22:6 n-3). Contrario a este comportamiento, el tratamiento de referencia fue uno de los que presentó en mayor concentración el ácido eicosatetraenoico (20:4 n-3) en el músculo.

Tabla 8. Contenido de ácidos grasos (%) en el músculo de las ranas toro sometidas a los diferentes tratamientos.

Ácido graso	P30/5L	P30/20L	P40/5L	P50/5L	P50/20L	Referencia
14:0	1.0	0.7	0.8	0.7	0.2	0.5
15:0	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2
16:0	22.6 ^a	14.2 ^c	20.2 ^{ab}	18.5 ^{abc}	17.7 ^{bc}	20.1 ^{ab}
18:0	9.2	9.3	10.9	11.0	9.2	9.8
20:0	0.4	0.5	0.3	0.6	0.3	0.5
16:1n-7	5.2 ^a	1.3 ^{ab}	3.0 ^{ab}	1.5 ^{ab}	0.7 ^b	2.8 ^{ab}
18:1n-9	19.5 ^{abc}	26.9 ^a	16.5 ^{bc}	12.4 ^c	19.5 ^{abc}	20.5 ^{ab}
18:1n-7	5.3 ^{ab}	3.0 ^b	4.6 ^{ab}	4.2 ^{ab}	3.8 ^{ab}	5.9 ^a
20:1n-9 n-11	0.9	1.8	1.4	2.2	1.7	0.9
22:1n-9n-11	3.7 ^b	11.9 ^{ab}	12.3 ^{ab}	19.0 ^a	13.7 ^{ab}	9.3 ^{ab}
18:2n-6	7.8 ^{bc}	10.2 ^{ab}	6.0 ^{cd}	3.4 ^d	8.1 ^{bc}	14.0 ^a
18:3n-6	0.7	0.5	0.3	0.4	0.2	0.2
20:2n-6	0.8	0.6	0.4	0.5	0.2	0.7
20:3n-6	0.7	0.5	0.4	0.5	0.3	1.2
20:4n-6 ARA	2.5	1.7	2.6	2.5	2.4	2.0
18:3n-3	1.2	1.6	0.9	0.9	1.3	0.6
18:4n-3	0.6	0.5	0.3	0.5	0.2	0.2
20:4n-3	0.6 ^a	0.4 ^{ab}	0.5 ^{ab}	0.5 ^{ab}	0.2 ^b	0.2 ^{ab}
20:5n-3 (EPA)	5.3 ^a	4.5 ^{ab}	5.8 ^a	6.2 ^a	5.7 ^a	2.5 ^b
22:5n-3	2.7	2.2	2.8	3.1	2.5	2.0
22:6n-3 (DHA)	9.0 ^{abc}	7.3 ^{bc}	9.8 ^{abc}	11.0 ^{ab}	11.9 ^a	5.9 ^c
SFA	33.5 ^a	25.1 ^b	32.4 ^a	31.0 ^{ab}	27.6 ^{ab}	31.1 ^{ab}
MUFA	34.6	44.9	37.8	39.4	39.3	39.3
PUFA	31.9	30.1	29.8	29.6	33.0	29.6
PUFA n-6	12.6 ^{abcd}	13.5 ^{ab}	9.6 ^{bd}	7.4 ^d	11.2 ^{bcd}	18.1 ^a
PUFA n-3	19.3 ^a	16.6 ^{ab}	20.2 ^a	22.2 ^a	21.8 ^a	11.5 ^b
DHA / EPA	1.7 ^{ab}	1.6 ^b	1.7 ^{ab}	1.8 ^{ab}	2.1 ^{ab}	2.3 ^a
DHA + EPA	14.2 ^{ab}	11.8 ^{ab}	15.6 ^a	17.2 ^a	17.7 ^a	8.4 ^b

Los valores con el mismo superíndice en la misma fila no son significativamente diferentes ($P \geq 0.05$). SFA= ácidos grasos saturados, MUFA = ácidos grasos monoinsaturados, PUFA = ácidos grasos poliinsaturados, n-3 = omega 3 y n6 = omega 6

Los ácidos grasos saturados (SFA) se encontraron en concentraciones similares con todos los tratamientos, excepto con P30/20L que reflejó niveles menores que los encontrados con los tratamientos P30/5L y P40/5L. De manera general no hubo diferencias para el contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), pero si en cuanto a su tipo de insaturación ($n6 - n3$), observándose un mayor contenido de omega 6 en los tratamientos P30/5L, P30/20L y con el de referencia, mientras que el tratamiento con menor contenido de omega 3 fue el obtenido con el tratamiento de referencia. La sumatoria de DHA y EPA fue similar en todos los tratamientos, con excepción del obtenido con el tratamiento de referencia, que fue el más bajo.

Al considerar el grado de insaturación de los lípidos totales en el músculo, se observó que las ranas contienen mayormente MUFA con todos los tratamientos, posteriormente almacenan en mayor cantidad SFA que PUFA en los tratamientos 30/5, 40/5, 50/5 y en el de referencia, mientras que para los tratamientos 30/20 y 50/20 se encontraron porcentajes más altos de PUFA, siendo mayores que SFA.

Efecto de las dietas sobre el perfil de ácidos grasos del hígado

Los hígados de las ranas pertenecientes al tratamiento P30/20L presentaron el nivel más bajo de ácido palmítico (16:0). En cuanto al ácido palmitoleico (16:1 $n-7$), todos los tratamientos registraron cantidades similares, excepto P50/20L, que fue más bajo que P30/5L y el tratamiento de referencia. El ácido oleico (18:1 $n-9$) se distingue por tener niveles altos, arriba de 20%, con excepción de P50/5L que presentó cerca del 18% de este ácido graso. Se observó una relación en el contenido del ácido linoleico (18:2 $n-6$) con aquellos tratamientos que tuvieron mayor contenido de grasa (20%) y el tratamiento de referencia, siendo estos mayores promedios a los encontrados con el uso de las demás dietas.

En el hígado también se observaron diferencias estadísticas en el ácido araquidónico (ARA), siendo P40/5L, P50/5L y P50/20L los que mayor contenido de éste ácido graso presentaron; el más bajo fue P30/20L. Los niveles de ácido α -Linolénico (18:3 $n-3$) fueron más altos en los dos tratamientos con más grasa incluida en la dieta (P30/20L y P50/20L), y en los demás tratamientos se encontraron contenidos más bajos pero similares entre ellos.

En cuanto a EPA, destaca el tratamiento de referencia, que presentó el nivel más bajo de todos; en contraste P50/20L, P50/5L y P40/5L presentaron los resultados más altos de éste PUFA n-3. Algo similar sucedió con el DHA, pues los únicos tratamientos diferentes fueron P30/20L y el de referencia, que registraron los niveles más bajos de todos.

En el caso de los SFA totales, los niveles encontrados con el tratamiento P30/20L fueron los más bajos; este mismo tratamiento, junto con el de referencia fueron los más altos en el contenido de MUFA totales; P40/5L, P50/5L y P50/20L presentaron los niveles más bajos. Sin embargo, estos últimos tres tratamientos, a su vez, fueron los que más PUFA registraron. La distribución de los ácidos grasos agrupados por su nivel de insaturación varía significativamente en el tratamiento P50/20L que está compuesto principalmente por PUFA; subsecuentemente está compuesto por MUFA y por último, en menor cantidad se registraron los SFA. Para el resto de los tratamientos, la distribución de los grupos de los ácidos grasos fue la siguiente: MUFA $\geq$ SFA $\geq$ PUFA.

También hay diferencias notables entre el contenido de PUFA n-3 y n-6, los PUFA n-6 estuvieron presentes en mayores concentraciones en el tratamiento P50/20L, posteriormente en P30/20L y por último con el tratamiento de referencia; los tratamientos con los niveles más bajos fueron aquellos tratamientos que contenían 5% de lípidos en la dieta. Los PUFA n-3 se depositaron de forma diferente en el tejido sin relacionarse con el contenido de grasa en las dietas, pues los niveles más altos encontrados fueron para los tratamientos P50/20L, P50/5L y P40/5L, siendo el tratamiento de referencia el más bajo.

Ahora bien, la relación de PUFA n-6/n-3 es interesante pues los PUFA n-3 son más altos que los n-6; en los tratamientos P50/20L, P50/5L, P40/5L y P30/5L, pero no en el tratamiento de referencia y P30/20L.

La relación DHA/EPA, no mostró diferencias estadísticas significativas, pero en todos los casos fue mayor que 1, llegando incluso a ser de 5.4 en el tratamiento de referencia. En la sumatoria de DHA + EPA, se registró un mayor contenido de estos

ácidos grasos en los tratamientos P50/20L, P50/5L y P40/5L, el doble de lo encontrado en P30/5L y P30/20L y más del triple de lo encontrado en el tratamiento de referencia (Tabla 9).

Tabla 9. Contenido de ácidos grasos (%) en el hígado de las ranas toro sometidas a los diferentes tratamientos.

Ácido graso	P30/5L	P30/20L	P40/5L	P50/5L	P50/20L	Referencia
14:0	1.2	1.6	1.8	1.7	0.8	1.2
15:0	0.1	0.4	0.3	0.5	0.2	0.1
16:0	20.7 ^{ab}	15.0 ^b	24.7 ^a	24.0 ^a	20.8 ^{ab}	21.1 ^{ab}
18:0	7.1	5.6	7.4	8.5	9.0	7.2
20:0	0.4	0.6	0.6	0.5	0.6	0.6
16:1n-7	13.4 ^a	5.1 ^{ab}	11.6 ^{ab}	8.2 ^{ab}	3.2 ^b	14.8 ^a
18:1n-9	30.8 ^{ab}	42.5 ^a	24.8 ^{bc}	17.9 ^c	21.6 ^{bc}	33.3 ^{ab}
18:1n-7	4.0	3.0	3.2	4.0	3.5	3.9
20:1n-9 n-11	1.4	2.1	0.8	1.3	1.8	1.1
22:1n-9n-11	7.1 ^a	4.3 ^{ab}	1.5 ^b	9.5 ^{ab}	1.6 ^{ab}	2.9 ^{ab}
18:2n-6	3.7 ^b	9.7 ^a	3.6 ^b	2.9 ^b	11.1 ^a	8.5 ^a
18:3n-6	0.3	0.2	0.2	0.4	0.4	0.5
20:2n-6	0.2	0.4	0.2	0.2	0.4	0.3
20:3n-6	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.1
20:4n-6 ARA	1.4 ^{bcd}	0.7 ^d	2.7 ^{ab}	2.3 ^{abc}	3.6 ^a	1.0 ^{cd}
18:3n-3	0.9 ^b	2.4 ^a	0.7 ^b	0.8 ^b	2.5 ^a	0.8 ^b
18:4n-3	0.2	0.2	0.5	0.2	0.2	0.2
20:4n-3	0.1	0.1	0.2	0.1	0.3	0.4
20:5n-3 (EPA)	2.0 ^b	1.9 ^b	4.2 ^{ab}	5.1 ^a	6.9 ^a	0.3 ^c
22:5n-3	0.9 ^{ab}	1.0 ^{ab}	1.8 ^a	2.9 ^a	2.3 ^a	0.2 ^b
22:6n-3 (DHA)	4.0 ^{ab}	3.1 ^b	9.2 ^a	8.9 ^a	8.9 ^a	1.6 ^b
SFA	29.6 ^{ab}	23.2 ^b	34.8 ^a	35.2 ^a	31.4 ^a	30.2 ^a
MUFA	56.7 ^a	57.0 ^a	41.8 ^b	40.8 ^b	31.8 ^b	56.0 ^a
PUFA	13.8 ^b	19.8 ^b	23.4 ^{ab}	24.0 ^{ab}	36.9 ^a	13.8 ^b
PUFA n-6	5.7 ^c	11.2 ^b	6.9 ^c	6.0 ^c	15.7 ^a	10.3 ^b
PUFA n-3	8.1 ^{cd}	8.6 ^{bcd}	16.5 ^{abc}	18.0 ^{ab}	21.1 ^a	3.5 ^d
DHA / EPA	2.0	1.6	2.2	1.7	1.3	5.4
DHA + EPA	6.0 ^b	4.9 ^b	13.4 ^a	13.9 ^a	15.8 ^a	1.9 ^b

Los valores con el mismo superíndice en la misma fila no son significativamente diferentes ($P \geq 0.05$).). SFA= ácidos grasos saturados, MUFA = ácidos grasos monoinsaturados,

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se planteó como objetivo determinar la relación proteína y lípidos en la dieta para un mejor crecimiento y desempeño en cultivo en la engorda de la rana toro. El objetivo fue cumplido y se observó el mayor crecimiento con el tratamiento P50/20L, aunque éste no mostró diferencias significativas a los tratamientos con 40% y 50% de proteína. Este resultado concuerda con una investigación realizada anteriormente sobre el nivel óptimo de proteína para la rana juvenil (Olvera-Novoa *et al.*, 2007), en donde utilizaron seis niveles diferentes de proteína en la dieta (20%, 28%, 34%, 42%, 50% y 55%). En dicha publicación se obtuvieron los mejores resultados con 55% de proteína, pero no fueron estadísticamente diferentes a aquellos con 42% y 50% de proteína, además concluyeron que los animales alimentados con dietas por debajo de 40% de proteína presentaban tasas de crecimiento bajas, menor ingesta, baja conversión alimenticia y eran muy vulnerables a las enfermedades oportunistas microbianas (Olvera-Novoa *et al.*, 2007). En el presente trabajo se encontraron resultados similares con las dietas con 30% de proteína, contrastando con las de 40% y 50%.

En este trabajo se formularon las dietas para que al menos el 50% de lípidos dietéticos fueran de origen animal (aceite de pescado), esto es relevante, ya que se ha reportado que los ingredientes proteicos de origen animal proporcionan mayor cantidad de grasa y presentan los mayores coeficientes de digestibilidad, siendo mejor la utilización de este insumo por la rana (Mansano *et al.*, 2017b). Este hallazgo puede ser atribuido a la gran capacidad de la rana toro para secretar lipasa, especialmente durante las fases de crecimiento y finalización (Braga *et al.*, 2006).

En el presente trabajo el factor de conversión alimenticia (FCA) en las dietas experimentales fue de 0.9 a 1.9 (P50/20L y P30/20L respectivamente), y para la dieta de referencia el factor fue el menos favorecedor con 2.4. Estos resultados concuerdan con los de Olvera-Novoa *et al.* (2007), quienes reportaron un FCA más

bajo de 0.99 en una dieta con 55% de proteína, y el más alto de 1.52, en una dieta con 20% de proteína. Otra investigación publicada reporta un FCA diferente, por debajo de todos los ya mencionados y las variaciones van de 0.65 al 0.81, en dicha investigación utilizaron seis diferentes dietas con 40% de proteína y 5% de lípidos, (Zhang *et al.*, 2016c). Estos resultados tan desiguales pudieran deberse a que el autor utilizó diferentes concentraciones de metionina, y concluye que el nivel óptimo de metionina dietética para la rana toro estaba entre 1.53% y 1.62%, y cuando se está por encima o debajo de este valor resulta en un crecimiento lento y una pobre eficiencia alimenticia (Zhang *et al.*, 2016c). En el presente trabajo se desconoce el contenido de metionina en las dietas, sin embargo en el trabajo de Olvera-Novoa *et al.* (2007) ninguna de las dietas evaluadas estuvo dentro del intervalo recomendado de metionina para la rana toro.

El índice viscerosomático (IVS) es un indicador de desempeño en cultivo, pues este muestra el tamaño de las vísceras con relación al cuerpo, entonces, si un animal gana peso, pero el 40% del peso lo representan las vísceras, realmente no está utilizando el alimento para transformarlo en carne, sino que es almacenado en forma de grasa en las vísceras. En el presente trabajo el IVS fue mayor en las ranas alimentadas con dietas que contenían niveles bajos en proteína (30 y 40%) y altos en grasa (10 y 20%), sin embargo no sucedió lo mismo en los tratamientos con más proteína (50%) y grasa (10 y 20%), indicando que la rana toro utiliza mejor la proteína que los lípidos y que al ser bajo el contenido de proteína en la dieta, no puede ser reemplazado por los lípidos y en consecuencia éstos son almacenados.

El índice hepatosomático (IHS) tiene el mismo principio que el IVS, ya que no es deseable tener un peso elevado de tejido hepático, pues está relacionado con problemas de salud como el hígado graso y otras patologías. En este trabajo el IHS fue menor en aquellas ranas alimentadas con dietas con mayor contenido proteico y lipídico (P50/20L, P50/10L y P40/20); incluso con el mismo contenido de grasa (5%) en la dieta pero incrementando el nivel de proteína (30 a 50%) el IHS fue menor, esto muestra que para almacenar lípidos en el hígado la rana es afectada mayormente

por una cantidad baja de proteína en la dieta, más que por niveles elevados de grasa.

Se observó que en parámetros evaluados como son: peso de anca (PA), peso final (PF), ganancia de peso (GP), ganancia diaria de peso (GDP), factor de conversión alimenticia (FCA) y talla final, los tratamientos con 40 y 50% de proteína mostraron resultados similares, presentando los mejores valores de rendimiento en cultivo. Cabe mencionar que con el tratamiento de referencia, que es el alimento que se usa para la engorda comercial de rana, se obtuvieron los resultados menos favorables y más bajos.

Los peces son capaces de digerir las grasas y las proteínas sin mayor problema, pero se encuentran pobremente adaptados para digerir carbohidratos (Miyasaka, 2015). En contraparte, la rana toro requiere de ambos; Zhang *et al.* (2016b) observaron que la relación óptima de carbohidratos – lípidos en la dieta de la rana toro, es de 1.82 (21% y 11.57% respectivamente), mientras que con una ingesta mayor de carbohidratos y mucho menor de lípidos, las ranas tuvieron los peores crecimientos, menor supervivencia y energía disponible en el organismo. El autor concluyó que tanto los lípidos como los carbohidratos tienen un efecto de ahorro de energía proteica, y que el aumento de peso fue mayor en las ranas alimentadas con dietas que contienen tanto carbohidratos y lípidos, que las que reciben lípidos mayormente como fuente de energía dietética no proteica. Esto podría explicar lo observado en el presente trabajo, pues no se consideró la relación carbohidratos-lípidos y en ninguna de las dietas se logró disminuir la proteína aumentando los lípidos ya que no hubo un mayor crecimiento o desempeño en cultivo.

Olvera-Novoa *et al.* (2007) mencionan que el contenido de humedad en las ranas al inicio del experimento fue mayor que al finalizar, en el presente trabajo se obtuvieron resultados similares, pues en ambos casos la humedad corporal en tallas iniciales fue mayor que la encontrada en tallas finales. Esto podría explicarse debido a que existen variaciones en la composición corporal de los animales de acuerdo a la edad y al estado nutricional, pues se muestra un gran decremento en el contenido de

humedad de los animales conforme estos crecen y se desarrollan (Maynard *et al.*, 1981).

Para la proteína corporal el escenario es parecido al de Olvera-Novoa *et al.* (2007), ellos observaron que al iniciar el experimento la rana tenía menos proteína que al finalizar, teniendo variaciones en los tratamientos del 14 al 13% en base húmeda. Esos resultados se repitieron en el presente trabajo, probablemente indicando que estos niveles son los habituales en la especie.

Es importante señalar que en el presente trabajo las ranas mostraron una composición proximal corporal muy similar a la de las dietas con las que fueron alimentadas; el contenido de ceniza en la dieta de referencia fue el más bajo de todas las dietas, así como en el contenido de ceniza en las ranas pertenecientes a este tratamiento; el contenido más alto de ceniza fue registrado en la dieta P50/5L y también sucedió en las ranas alimentadas con esa dieta. La rana también acumula mayor cantidad de lípidos en el cuerpo conforme se incrementa la cantidad de este componente en la dieta. Con el mismo nivel de lípidos pero con mayor contenido de proteína se produjo una reducción de los lípidos en el cuerpo, esto es muy claro al observar que el tratamiento con más proteína y menos grasa (P50/5L) fue el que proporcionó menos lípidos corporales, ésto no ocurrió en tratamientos con el mismo contenido de lípidos (5%) y menos proteína (30 y 40%); lo opuesto sucedió con respecto a la proteína corporal, pues con dietas con el mismo nivel de proteína, pero incrementando el contenido de lípidos, el contenido de proteína en el cuerpo disminuyó, con excepción de la dieta P40/10L, demostrando así la importancia de la calidad y tipo de dieta sobre el organismo que la consume.

También esto se refleja en la composición del músculo, pues conforme se incrementa los lípidos en la dieta, se manifiesta un mayor contenido de lípidos en músculo, aunque esto fue más evidente con las dietas con 30% de proteína. Además se observa que con el mismo nivel de lípidos pero incrementando el contenido de proteína dietética disminuye el contenido de lípidos en músculo esto para los tratamientos P30/10L vs P50/10L y P30/20L vs P40/20L. Esto podría ser debido a que la rana deposita mayormente proteína en el músculo y no tanto la grasa. Cuando

la proteína en la dieta no es suficiente, la rana no puede formar músculo eficientemente, generando que los lípidos incrementen por ausencia de proteína en músculo. El nivel de proteína en una especie pareciera siempre ser constante, pero puede modificarse si la calidad de la proteína en la dieta, o la digestibilidad de la misma es baja (Miyasaka, 2015).

Con los análisis realizados en el presente trabajo se puede observar que la composición proximal del hígado fue también un reflejo de las dietas experimentales. El nivel de lípidos en este órgano aumentó conforme aumentó en su dieta; nuevamente se observó que este efecto es mucho más marcado cuando la dieta contiene menos proteína. Es relevante considerar que la acumulación de lípidos en los órganos es un factor determinante para el desempeño de los animales, ya que puede ser un indicador de la salud del organismo en general, así como la utilización de los mismos por dichos órganos. Con el uso de las dietas P30/20L y el alimento de referencia se obtuvieron los contenidos más altos de lípidos en el hígado. Con los niveles más altos de lípidos en la dieta, el hígado no incrementa su tamaño, pero si la acumulación de éstos en todo el cuerpo; el tratamiento de referencia registró el índice hepatosomático mayor, mientras que en el tratamiento P50/20L se presentó el valor más bajo, con un nivel intermedio de lípidos en el hígado. Esto pudiera deberse a la utilización de los lípidos más eficiente, porque no se acumulan en el hígado de manera excesiva. En estudios previos (Zhang *et al.*, 2016a), se ha demostrado que las fuentes de lípidos pueden afectar el metabolismo de los lípidos hepáticos de rana toro. En el mencionado estudio evaluaron dietas que contenían diferentes fuentes de lípidos, como la manteca de cerdo y grasa de ave que disminuyen la actividad de enzimas relacionadas con el metabolismo lipídico, mientras que con aceite de pescado como fuente de grasa ocurre lo opuesto. Esto sugiere que la rana toro utiliza mejor las fuentes lipídicas ricas en ácidos grasos insaturados.

El tratamiento que arrojó los resultados más interesantes fue el de referencia. El desempeño en cultivo de las ranas con este alimento, que tiene un contenido de proteína de 43% y 10% de lípidos, no fue similar al encontrado con la dieta P40/10L, en ninguna de las evaluaciones realizadas. Incluso comparando este tratamiento con

las dietas P30/5L, P30/10L y P30/20L el crecimiento fue menor. Esto pudiera ser debido a la calidad de los ingredientes con los que fueron elaborados estos tipos de dietas; su digestibilidad, absorción y utilización, pues la digestibilidad de un alimento depende principalmente de su composición química y la capacidad digestiva de la especie a la que se alimenta (McGoogan y Reigh, 1996). Se ha reportado que la digestibilidad de ingredientes por la rana toro se modifica según la naturaleza de los mismos (Secco *et al.*, 2005). En otra investigación (Mansano *et al.*, 2017a) se describe que la rana toro tiene un mayor coeficiente de digestibilidad de aminoácidos (>70%) de insumos a base de proteína animal. Esto cobra importancia porque las dietas experimentales tenían mayor contenido de proteína animal que vegetal, en contraste con el alimento comercial, que al juzgar por la etiqueta del producto, se mencionan más de cuatro insumos de origen vegetal, por mencionar algunos: pasta de soya, trigo, subproductos de trigo entre otros.

Es interesante el resultado de crecimiento en diferentes periodos del experimento. Se evidenció que en un inicio, y hasta los primeros 14 días, los organismos crecieron mejor con la dieta P30/5L. Posteriormente a partir del día 14 en adelante, la dieta que mejor resultado ofreció fue P50/20L. Esto probablemente se deba a la madurez intestinal del organismo en las primeras etapas de su vida. En los primeros días, recién terminada la metamorfosis pasa de ser un animal herbívoro a carnívoro (Hill, 1980), esta etapa se caracteriza por varios cambios fisiológicos, entre los cuales están los digestivos (Cribb *et al.*, 2013), muy probablemente su aparato digestivo está ajustándose a la nueva dieta, y un alto contenido en proteína pudiera no ser bien digerida y absorbida.

Esto se corrobora con investigaciones en la especie, pues en renacuajos se probaron diferentes ingredientes proteicos de origen animal y vegetal, y el coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína vegetal (soya) fue mucho mejor que la proteína animal (harina de pescado) (Secco *et al.*, 2005). En comparación, la rana utiliza y tiene un mayor coeficiente de digestibilidad de aminoácidos de insumos a base de proteína animal (Mansano *et al.*, 2017a), lo que coincide sobre la utilización de los

nutrientes depende no solo del mismo nutriente, sino de la fisiología del organismo (McGoogan y Reigh. 1996).

Además se ha observado que no solo la calidad de los nutrientes o la fisiología de la rana toro influyen en la utilización y aprovechamiento de un insumo, pues también interviene la etapa de crecimiento aun después de la metamorfosis. Mansano *et al.* (2017b). encontraron que el coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína cruda fue diferente para un mismo ingrediente en las fases de desarrollo, siendo más alto al del inicio, disminuyendo en el crecimiento y decreciendo aún más durante la terminación en cultivo. Esto demuestra que la capacidad de las ranas para digerir los nutrientes de la dieta cambia con el crecimiento, tal y como se refleja en incremento de peso en el presente trabajo, pues al inicio y hasta el día 42 va en aumento, para posteriormente decrecer el incremento de peso.

De manera global la carne de mayor consumo es la de cerdo, con un 36 % de la ingesta mundial, seguida de la carne de aves de corral y de vacuno, con aproximadamente un 35% y un 22%, respectivamente (FAO, 2018). Esto es relevante debido a que éstas representan competencia directa para la rana toro y sus productos. Es importante señalar que el consumo mundial de rana está aumentando (Pasteris *et al.*, 2006), por lo que es importante tener un panorama general del consumo de carne de dichos animales.

Además de los animales ya mencionados se consume en menor medida, los búfalos, ovejas y cabras, En algunas regiones se consume también carne procedente de camellos, yaks, caballos, avestruces y animales de caza y en medida limitada, la carne procede también de animales exóticos como los cocodrilos, las serpientes y los lagartos (FAO, 2018). Si bien son importantes estas especies en algunos países, en México no cobran relevancia. Por su parte la carne de rana tiene algunas peculiaridades, en comparación con el cerdo completo tiene un mayor contenido de proteína (13.7% vs 11.2%) (FAO, 2018), pero está por debajo de la res y el pollo (cuerpo completo) (16.5% y 19.8% respectivamente) (FAO, 2018; Villaverde *et al.*, 2005). En cuanto a los lípidos, la rana tiene un bajo contenido corporal (3.4%) en

comparación con el pollo (12.5%) (Villaverde *et al.*, 2005), la res (28%) y el cerdo (47%) (FAO, 2018).

Pero si se considera únicamente el músculo, el contenido en cada especie cambia considerablemente. La rana toro en este estudio registró 20.6% de proteína en base seca (tratamiento P40/5L), superando a un corte Rib 16.8% (Oh *et al.*, 2016), y muy cercano al 20.8% de la tilapia (Córser *et al.*, 2000), pero por debajo del atún aleta amarilla 23% (Al-Busaidi *et al.*, 2015) y del cerdo con 23.1 (Gatta *et al.*, 2013). Y para todos los casos mencionados en cuanto el contenido de lípidos, la rana no llega 1% (0.3%), mientras que la res alcanza 17.1% (Oh *et al.*, 2016). El atún está muy por debajo de la res a pesar de ser un pescado graso, teniendo 3.3% (Al-Busaidi *et al.*, 2015), el cerdo, que tiene corporalmente el contenido mayor corporal pero en el músculo apenas llega al 1.97% (Gatta *et al.*, 2013) y la tilapia 1.5% (Córser *et al.*, 2000).

La carne es considerada uno de los alimentos más nutritivos para consumo humano, debido a que proveen una excelente fuente de calorías a través del contenido de ácidos grasos esenciales y grasas de alto valor biológico. La proporción de éstos en la dieta es muy importante en relación con la salud de los consumidores, debido a que un desequilibrio podría aumentar el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Cañeque *et al.*, 2005). En este contexto, el contenido de grasa y la composición de ácidos grasos (AG), son de principal interés por los posibles efectos adversos sobre la salud (Brugiapaglia *et al.*, 2014).

En el presente trabajo, fue considerado relevante el análisis de ácidos grasos, tanto en la dieta como en el músculo e hígado de la rana, puesto que se pretende saber acerca del metabolismo de lípidos de esta especie y así tener conocimiento útil para la formulación de alimentos balanceados específicos para rana toro. En esta investigación de manera general, los ácidos grasos saturados (SFA) fueron constantes en todos los tratamientos en el músculo, con los niveles más bajos en el tratamiento P30/20L. No hubo diferencias entre los tratamientos en los ácidos monoinsaturados para los monoinsaturados y poliinsaturados totales. El mayor contenido de ácidos grasos n-6 fue registrado en músculos de ranas alimentadas con

la dieta de referencia; en contraparte el mismo tratamiento fue el que menor contenido de n-3 tuvo. También este tratamiento presentó la relación DHA/EPA más alta, sin embargo ésta no fue diferente a los demás tratamientos con excepción de P30/20L, siendo la relación más baja de todos los tratamientos.

El perfil de ácidos grasos en la rana toro prácticamente no ha sido investigado. Existe solamente una publicación que habla acerca del perfil de ácidos grasos cuando los organismos fueron alimentados con la misma cantidad de grasa, comparando diferentes fuentes de la misma (Zhang *et al.*, 2016a).

En el trabajo de Zhang *et al.* (2016a) se encontraron diferencias en la composición de ácidos grasos, sobetodo cuando los lípidos provienen de diferentes orígenes tal es el caso del aceite de pescado. Al igual que en el presente estudio la influencia de los lípidos dietéticos se vio reflejada en el perfil corporal de las ranas.

Es ampliamente conocido que la fuente más rica y quizá la más abundante de ácidos grasos poliinsaturados omega 3 es el aceite de pescado (Turchini *et al.*, 2010) y aunque el origen de este puede ser variado, el que se encuentra comercialmente disponible normalmente se obtiene de anchoveta, arenque o sardina (Valenzuela *et al.*, 2012).

Haciendo un comparativo entre los resultados descritos por Zhang *et al.* (2016c) y los encontrados en este estudio, se observan ciertas similitudes que ponen al descubierto la influencia del alimento sobre el perfil de las ranas. Aunque con este tipo de experimentación no es posible saber si las ranas tienen o no actividad biosintética de ácidos grasos esenciales, se puede conjeturar que de tenerla, ésta debe ser muy limitada, ya que su contenido de DHA y EPA es sumamente cambiante en relación a lo ofrecido en las dietas. Sin embargo, inclusive en los casos con los menores niveles, existen cantidades mínimas de DHA y EPA que es de suponerse, indican los niveles basales y esenciales para la especie.

En el estudio de Zhang *et al.* (2016c), no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos con diferentes fuentes de lípidos, en el contenido de EPA (2.6%); sin embargo en el presente trabajo se observa que este ácido graso está

mayormente presente en los tratamientos P30/5L, P40/5L, P50/5L e incluso en P50/20L, llegando a ser más del doble en estos los casos en comparación con los resultados de esos autores. En cuanto a DHA, el referido estudio describe al tratamiento alimentado con aceite de pescado con el más alto contenido, 9.4%, mientras que en el tratamiento P50/20L del presente trabajo, el contenido de este ácido graso llega a ser de 11.9%. Un resultado semejante al encontrado por Zhang *et al.* (2016c), es el obtenido con la dieta P40/5L de 9.8% de DHA, probablemente se deba a que Zhang *et al.* (2016c) también utilizaron ese contenido de proteína y grasa en sus dietas. Cabe señalar que el tratamiento de referencia arrojó los resultados más bajos del DHA y EPA en el músculo de las ranas, probablemente debido contenido de aceite de pescado en ella.

Los contenidos de SFA en las ranas fueron más bajos que los reportados en la única referencia publicada (Zhang *et al.*, 2016c). En el mencionado trabajo encontraron que la cantidad de SFA era mayor que los MUFA mientras que en el presente estudio esa relación resultó inversa ($MUFA > SFA$).

Los PUFA por su parte fueron más altos que los reportados anteriormente (Zhang *et al.*, 2016c), en dicho trabajo la proporción de PUFA n-6 fue mayor que los PUFA n-3, no así en el presente estudio en donde ocurrió lo inverso ($PUFA\ n-6 < PUFA\ n-3$), excepto con el tratamiento de referencia en el músculo y en hígado los tratamientos P30/20L y de referencia.

El metabolismo de los lípidos en la rana, como en muchos otros organismos, se da principalmente en el hígado. Básicamente, la acumulación excesiva de grasa en hígado puede ser consecuencia de un aporte elevado de grasa, aumento de la síntesis de la misma, oxidación reducida, y/o reducción de su salida en forma de lipoproteínas de baja densidad (Postic y Girard, 2008). De manera específica, los hepatocitos desarrollan hígado graso, con un agrandamiento progresivo y masivo del hígado, debido al acúmulo en los hepatocitos de colesterol y triglicéridos (Shimano *et al.*, 1996). Al parecer, el caso de la rana toro es parecido a aquellos donde existe acumulación de grasa saturada en el hígado, y se puede inferir que es debido a la grasa proveniente de las dietas. Algunas especies que se han reportado con hígado

graso son: el humano (Van Steenberghe y Lanckmans, 1995), ratones (Pelleymounter *et al.*, 1995), aves de consumo (Cherian y Goeger, 2004) y el bacalao (Hammann *et al.*, 2015).

Los factores que promueven el desarrollo de hígado graso pueden ser: la dieta, el metabolismo, la herencia genérica, el estrés oxidativo, toxinas, inhibición hormonal e incluso el cautiverio. Estos factores pueden promover la esteatosis hepática independientemente de la edad de los organismos (Ayala *et al.*, 2008).

Esa es la razón por la que se encuentra un mayor contenido de grasas en hígado que en músculo, y que su proporción de EPA + DHA sea mayor en músculo, donde no existe una acumulación de grasas saturadas como sucede en el hígado.

De acuerdo a varias investigaciones realizadas desde los años 90, las relaciones entre la dieta y la salud son cada vez más sustanciales, en particular con respecto a las enfermedades crónicas más prominentes en los países desarrollados, es decir las cardiovasculares y el cáncer (Fernández *et al.*, 2011). Además, los consumidores esperan que los productos alimenticios sean saludables, sabrosos y funcionales. Esto tiene peso en la industria de alimentos para buscar oportunidades para mejorar los productos existentes, así como desarrollar nuevos productos alimenticios que pueden contribuir a una dieta sana y equilibrada (Verschuren, 1997). Tomando esto como referencia, es importante conocer la situación de la rana toro y sus productos al comparar sus propiedades con los animales mayormente consumidos (Tabla 10).

La tilapia encabeza la lista en el contenido de SFA en músculo, seguida de los rumiantes, el atún y la trucha; la rana se ubica por encima solamente del pollo. Los MUFA, están mayormente presentes en la rana, con contenidos parecidos a los ovinos, seguido de la res, pollo y la tilapia y con niveles similares pero en menor cantidad a los ya mencionados son el atún y la trucha. Continuando con los PUFA, la trucha, el atún y el pollo son los más abundantes, seguidos por la rana, la tilapia y al final los rumiantes.

Tabla 10. Contenido de ácidos grasos en diferentes especies en el músculo (% de los lípidos totales).

Especie	SFA	MUFA	PUFA	EPA	DHA	Referencia
Ovino	49	37	14	0	0	Cruz-González <i>et al.</i> (2007)
Res	49.2	35.6	15	0.1	0.3	Brugiapaglia <i>et al.</i> (2014)
Pollo (pierna sin piel)	27.8	29.1	42.9	1.6	0.5	Rymer <i>et al.</i> (2011)
Tilapia	56.7	23.4	19.8	0.1	0.02	Peñuela (2016)
Trucha	38.2	15.1	46.6	3.4	21.2	Kayhan <i>et al.</i> (2014)
Atún aleta amarilla	39.3	16.9	43.6	5.8	29.6	Al-Busaidi <i>et al.</i> (2015)
Rana toro 40/5	32.4	37.8	29.8	5.8	9.8	Este estudio

Se comparó con la dieta 40/5.

Estas diferencias están claramente dadas por las fuentes de alimento a las que acceden estos animales, tomando en cuenta que los animales terrestres y peces de agua dulce, cuentan y consumen mayormente fuentes de ácidos grasos saturados, a diferencia de los peces marinos que disponen de fuentes importantes de MUFA y PUFA en su dieta. Es interesante el resultado encontrado en la rana, pues en cuanto a los SFA y PUFA, se comporta de una forma intermedia entre los peces y los animales terrestres, aunque la cantidad de MUFA está por encima de las demás especies. En el caso particular de la carne de ovino y res, que fueron los que menores contenidos de PUFA registraron en los trabajos reportados (Tabla 12), no

hubo registros de EPA en el ovino, y la res contiene menos de 0.5%. La carne de rana tiene un contenido importante de EPA (5.8%) muy parecido a lo encontrado en la carne de atún.

El DHA y EPA en los animales terrestres son escasos. Los organismos acuáticos en especial los peces marinos tienen un mayor contenido de estos dos importantes ácidos grasos. En la trucha y el atún, por ejemplo, contienen alrededor de 21% y 29% de DHA respectivamente. El contenido de éste ácido graso en la rana, que fue de 9.8% resulta importante para catalogar a este organismo con un metabolismo lipídico más semejante al de los organismos acuáticos que al de los terrestres, sin omitir que es un animal terrestre que vive en el agua.

Costo del alimento vs rendimiento

En los últimos años el desarrollo de la cría de ranas en todo el mundo, ha llevado a un aumento en el número de estudios diseñados para elaborar una alimentación nutricionalmente adecuada, con una mejor relación costo/beneficio (Tokur *et al.*, 2008). Aunque el objetivo del presente trabajo no fue formular un alimento balanceado para rana toro, que sea más eficiente y económico que el usado comúnmente en la industria (el alimento para trucha), se realizó un ejercicio de análisis de costos de la elaboración del alimento experimental usado en esta investigación. Los resultados indican que el alimento de referencia fue el más económico pero no el más rentable. De acuerdo al FCA obtenido en este trabajo las ranas necesitan consumir más alimento para trucha para ganar el mismo peso que con la dieta P50/20L. El análisis de costo/beneficio (Tabla 11) muestra que la mayoría de las dietas experimentales fueron más convenientes económicamente que la dieta de referencia. Basados en los costos de elaboración a nivel experimental y los FCA de cada tratamiento. La dieta con el mejor costo/beneficio fue la dieta P50/20L y las dietas P30/10L, P40/5L, P40/10L, P40/20L, P50/5L, P50/10L fueron más rentables que el alimento de referencia. En contraparte las dietas P30/5L y P30/20L resultaron ser no muy favorables para el crecimiento de la rana y por lo tanto, el costo por kilogramo de rana producida con ellas son altos, aún más que el mismo alimento de referencia.

Tabla 11. Costos de producción (pesos mexicanos) vs rendimiento en kg.

Dieta	Costo/kg dieta	FCA	Costo producción/kg de rana
30/5	31.1	1.7	52.90
30/10	32.4	1.5	48.59
30/20	35.9	1.9	68.29
40/5	36.2	1.2	43.45
40/10	37.0	1.1	40.72
40/20	40.6	1.2	48.68
50/5	41.3	1.2	49.57
50/10	41.9	1	41.94
50/20	45.2	0.9	40.67
Referencia	20.8	2.4	49.92

FCA= Factor de conversión alimenticia

Costo de producción/kg de rana = Costo/kg de dieta x FCA

CONCLUSIONES

La dieta con 50% de proteína y 20% de lípidos fue el tratamiento con el mayor crecimiento y desempeño en cultivo, sin embargo, no fue estadísticamente diferente a las demás dietas con 50% y 40% de proteína, y con cualquier nivel de lípidos, se identificó a la dieta P40/5L como aquella con la mínima cantidad necesaria de proteína y lípidos para que la rana toro pueda crecer y ser productiva. Cabe mencionar que los resultados de crecimiento con el alimento comercial de trucha o tratamiento de referencia fueron los más bajos, tanto en peso ganado como en desempeño en cultivo.

El incremento de lípidos como nutrientes energéticos en la dieta para la rana toro no disminuye los requerimientos de proteína para su engorda.

El perfil de ácidos grasos en la carne de rana toro, a pesar de tener poco nivel de grasa, aporta cantidades importantes de DHA y EPA necesarios, para la salud humana. Es importante también establecer que su perfil de ácidos grasos es más parecido al de organismos acuáticos que al de terrestres.

Es necesario realizar más investigaciones para poder obtener una dieta específica para la especie, que promueva mejores resultados en crecimiento, desarrollo, salud y bienestar en sus diversas fases de crecimiento.

RECOMENDACIONES

Es evidente que el costo de las dietas pudiera reducirse a escala industrial, es por ello que se recomienda hacer más ensayos con la dieta P40/5L, ya que se obtienen los mismos resultados en peso, crecimiento y conversión alimenticia que la dieta con mejor costo/beneficio (P50/20L).

Es importante no sólo tomar en cuenta el nivel de la proteína en las dietas para rana toro. Es innegable que la relación Proteína/Lípidos afecta directamente el crecimiento y desempeño en cultivo de esta especie.

Es necesario realizar más investigaciones orientadas a desarrollar una dieta específica para la especie, que promueva mejores resultados en crecimiento, desarrollo, salud y bienestar en sus diversas fases de crecimiento.

BIBLIOGRAFÍA

- A.O.A.C. 2000. Official Methods of Analysis of the Association Official Analytical Chemists, 17th ed. E.U.A., Washington, DC, 1018 pp.
- Afonso A. M. 2015. Manual de adiestramiento práctico en ranicultura para productores. Alvaro Obregón, Michoacán. Gobierno del Estado de Micoacán. Morelia, 40 pp.
- Akiyama D. M. 1991. Future considerations for the aquaculture feed industry. In: Proceedings of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop, Thailand and Indonesia: American Soybean Association, 5-9 pp.
- Al-Busaidi M., Poulouse Y., Al-Rabhi W., Al-Harthy K., Al-Waili A., Al-Mazrooei N. y Al-Habsi S. 2015. Fatty acid profile and selected chemical contaminants in yellowfin tuna from the Arabian Sea. International Journal of Food Properties, 35:215-223.
- Ayala I., Cámara P., Fernández-Pardo J., Flores I., Cascales A.I., Panizo C., Gutiérrez A., Valdés M., Castells M.T. y Pérez B. 2008. Experimental animal models of fatty liver disease and metabolic syndrome. Anales de Veterinaria de Murcia, 24: 5-16.
- Barbosa J. M., Silveira A. M. y Gomide C. A. 2005. Crescimento heterogêneo de girinos de rã-touro alimentados com diferentes rações. Pesquisa agropecuária brasileira, 40:1015-1019.
- Batista C. 2002. *Rana catesbeiana* (American Bullfrog). Effects on native anuran community. Herpetological Review, 33(2):1-13.

- Borin K., Ogle B., y Lindberg J. E. 2002. Methods and techniques for the determination of amino acid digestibility. *Livestock Research for Rural Development*, 14 (51): 30-35
- Braga L., Oliveira M., Lima W. y Euclides R. 2006. Enzymatic activity of lipase in postmetamorphic phase bullfrogs. *Science in Agriculture*, 68: 439-443.
- Brown L. 2000. Nutrición en acuicultura. En: L. Brown, ed. *Acuicultura para Veterinarios: Producción y clínica de peces*. ACRIBIA, S.A., España, 437pp.
- Brugiapaglia A., Lussiana C. y Destefanis G. 2014. Fatty acid profile and cholesterol content of beef at retail of Piemontese Limousin and Friesian breeds. *Meat Science*, 96:568-573.
- Cañeque V, Díaz M.T., Álvarez I., Lauzurica S., Pérez C., Fuente J.D.L. 2005. The influences of carcass weight and depot on the fatty acid composition of fats of suckling Manchego lambs. *Meat Science*, 70:373-379.
- Carta Nacional Acuícola. 2012. Acuerdo mediante el cual se aprueba la actualización de la Carta Nacional Acuícola en el Diario Oficial de la Federación. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/153371/Carta_Nacional_Acu_cola_2012.PDF (Accesado el 22 Noviembre, 2015).
- Carvalho J. C., Silva D. A. V. D. y Santos R. B. 2001. Valor Nutritivo de Algunos Alimentos para Rãs. *Zootecnia*, 3(30): 1-6.
- Casas A. G., Aguilar M. X. y Aviña R. C. 2001. La introducción y el cultivo de la rana toro (*Rana catesbeiana*). ¿Un atentado a la biodiversidad de México?. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*, 35(4) 1-8.
- Cherian G. y Goeger M. P. 2004. Hepatic Lipid Characteristics and Histopathology of Laying Hens Fed CLA or n-3 Fatty Acids. *Lipids*, 39: 31-36.
- Cho C., Slinger S. y Bayley H. 1982. Bioenergetics of salmonid species: energy intake expenditure and productivity. *Comparative Biochemistry*, 73(1): 25-41.

- Cho y Young, C. 1987. Nutrición en Acuicultura II. Plan de Formación de Técnicos Superiores en Acuicultura. Madrid, España, Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica, 318 pp.
- Christie W. y Han X. 2003. Chromatographic Separation and Analysis of Individual Lipid Classes. En: Structural Analysis of Fatty Acids. 3rd ed. U.K.: W.P, 69 -158pp.
- Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca (CONAPESCA). 2015. Estadística Pesquera y Acuícola de México. Disponible en: http://www.conapesca.gob.mx/wb/cona/informacion_estadistica_por_especie_y_entidad (Accesado el 5 Diciembre, 2015).
- Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social (CONEVAL). 2017. Pobreza en México 2008 – 2016. Disponible en: https://www.coneval.org.mx/Medicion/Paginas/Pobreza_2008-2016.aspx (Accesado el 8 de Noviembre, 2016).
- Córser P.I., Ferrari G.T., Martínez Y.B., Salas E.M. y Cagnasso M.A. 2000. Análisis proximal, perfil de ácidos grasos, aminoácidos esenciales y contenido de minerales en doce especies de pescado de importancia comercial en Venezuela. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 50(2): 187-194.
- Cowey C. B., Adron J. W., Brown D. A. y Shanks A. M. 1975. Studies on the nutrition of marine flatfish. The metabolism of glucose by plaice (*Pleuronectes platessa*) and the effect of dietary energy source on protein utilization in plaice. British Journal of Nutrition, 33: 219-231.
- Cribb, A. Y., Afonso A. M. y Monastério C. M. F. 2013. Manual Técnico de Ranicultura.: Epresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria (EMBRAPA). Brasilia, DF, 73 pp.
- Cruz-González M.I., Sánchez-Machado D.I., Munguia-Xochihua J.A., Molina-Barrios R.M., Rivera-Acuña F. y Hernández-Chávez J.F. 2007.. Caracterización del perfil de ácidos grasos en carne de borrego de engorda utilizando cromatografía de gases. Nacameh, 8(1): 39-49.

- Cruz-Suárez L.E., Antimo-Pérez J. S., Luna-Mendoza N., Tapia-Salazar M., Guajardo-Barbosa C. y Ricque-Marie D. 2000. Relaciones proteína/energía y proteína vegetal/animal optimas en alimentos de engorda para *Litopenaeus vannamei* y *L. stylirostris*. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Mérida, Yucatán, 20 pp.
- De Castro C. S., Argentim D., Novelli P. K., Costa J. M., Menezeres C. S. M., Neto A. C., Vieia J. C. de S., Padiha P. de M. y Agostinho C. A. 2014. Feed digestibility and productive performance of bullfrogs raised in cages and fed in different periods and high frequency. *Aquaculture*, 433:1-5
- Díaz A. M. 1999. La rana Biología y Cultivo. A.G.T Editor. México, 31 pp.
- Dominguez A. E., Ibarria C. H., Hernandez M. C. y Ojeda E. D. 2005. Manual para el cultivo de Rana Toro (*Rana Catesbeiana*). Gobierno del Estado de Nayarit, Secretaria de Desarrollo Rural, Dirección de pesca. Tepic, Nayarit, México 39 pp.
- Egan H., Sawyer R. S. K. y Sawyer R. 1993. Métodos químicos generales. Análisis Químico de Alimentos de Pearson. Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V., México, 50 pp.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 2014. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. © FAO, Roma, 253 pp.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 2016. El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura. © FAO, Roma, 213 pp.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 2017. FishStat Plus - Programa informático universal para series cronológicas de estadísticas pesqueras. Disponible en: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Rana_catesbeiana/es (Accesado el 5 de Enero, 2018).
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 2018. Producción y sanidad animal. Disponible en:

[http://www.fao.org/search/es/?cx=018170620143701104933%3Aqvqwrhqq&q=pro
ducci%C3%B3n+y+sanidad+animal&x=0&y=0&cof=FORID%3A9](http://www.fao.org/search/es/?cx=018170620143701104933%3Aqvqwrhqq&q=pro
ducci%C3%B3n+y+sanidad+animal&x=0&y=0&cof=FORID%3A9) (Accesado el 8 de
Enero, 2018).

- Fernández L. C., Serra J., Álvarez D., Martínez J.R., Alberichd R., Jiménez s. y. Pérez F. 2011. Grasas de la dieta y salud cardiovascular. *Anales de pediatría*, 74(3): 192.e1-192.e16. pp.
- Fioranelli S. A., Bernardis A. C., Barboza N. N., Mussart N. B. y Coppo J. A. 2004. Efecto de diferentes dietas sobre composición química de la carne de rana toro. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*, 14: 1-3.
- Flores Y. 2013. Proceso de cultivo de ranas y su importancia económica y social. Disponible en: https://www.academia.edu/5161745/Trabajo_ranicultura_FINAL (Accesado el 21 Noviembre, 2015).
- Gatta D., Russo C., Giuliotti L., Mannari C., Picciarelli P., Lombardi L., Giovannini L., Ceccarelli N. y Mariotti L, 2013. Influence of partial replacement of soya bean meal by faba beans or peas in heavy pigs diet on meat quality residual anti-nutritional factors and phytoestrogen content. *Archives of Animal Nutrition*, 67(3): 235-247.
- Guo X., Xu-Fang L., Yuan L., Xiaochen Y. Z., Jin Z. y Li B. 2015. Effects of dietary non-protein energy source levels on growth performance, body composition and lipid metabolism in herbivorous grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val.). *Aquaculture*, 132(46): 1-12.
- Hammann S., Wendlinger C. y Vetter W. 2015. Analysis of intact cholesteryl esters of furan fatty acids in cod liver. *Lipids*, 50: 611-620.
- Hernández G., González J., Alfonso E., Salmero Y. y Pizzani P. 2010. Efectos de la relación energía/proteína sobre el desempeño productivo. *Zootecnia Tropical*, 28(2): 1-10.
- Hill R. W. 1980. *Comparative Physiology of Animals An Enviromental Approach*. Reverté, Michigan State University, New York, 905 pp.

- Hillis D. y Wilcox T. 2005. Phylogeny of the New True Frogs. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2(34): 1-5.
- Howe C. D. 2004. North American bullfrog (*Rana catesbeiana*). Disponible en: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:North-American-bullfrog1.jpg> (Accesado el 21 Enero, 2017).
- Huang K.K., Zhang C.X., Wang C.X., Song K., Huang F. 2014. Effect of dietary protein and lipid levels on growth of bullfrog (*Rana catesbeiana*). *J. Fish*, 38:1-10.
- Kayhan H., Bashan M. y Kaçar S. 2014. Seasonal variations in the fatty acid composition of phospholipids and triacylglycerols of brown trout. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 116: 1-7.
- Li-Na W., Wen-Bin L., Kang-Le L., Wei-Na X., Dong-Sen C., Chun-Nuan Z. y Qian Y. 2014. Effects of dietary carbohydrate/lipid ratios on non-specific immune responses, oxidative status and liver histology of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. *Aquaculture*, 426: 41 -48.
- Lima S., Cruz T. y Moura O. 1999. *Ranicultura: Análise da Cadeia Produtiva*. Folha de Viçosa, Brasil, 172 pp.
- Lima S. L. y Agostinho C. A. 1989. *A criação de Rãs*. Editora Globo, Rio de Janeiro, 187 pp.
- Lu C. y Sopory A. 2010. *Rana catesbeiana*, University of California. Disponible en: https://amphibiaweb.org/cgi/amphib_query?rel-common_name=like&where-scientific_name=rana+catesbeiana&account=amphibiaweb (Accesado el 20 de Junio, 2017).
- Mansano C.F.M., Macente B.I., Nascimento T.M.T, M.M., Pereira M. M., Takahashi L. S. y De Stéfani M. V. 2017a. Amino acid digestibility of animal protein ingredients for bullfrogs in different phases of post-metamorphic development. *Aquaculture Research*, 48(9): 4822-4835.
- Mansano C. F. M., Macente B. I., Nascimento T. M. T., Pinto D. F. H., Pererira M. M. De Stéfani M. V. 2017b. Digestibility of nutrients and energy in ingredients for bullfrogs during different phases of development. *Aquaculture Nutrition*, 23 (6): 1368-1378.

- Margaret M., Sandison, Stewart Peggy P. 1972. Comparative Food Habits of Sympatric Mink Frogs, Bullfrogs, and Green Frogs. *Journal of Herpetology*, 6 (3/4): 241-244.
- Maynard L. A., Loosli J. K., Hintz H. F. y Warner R. G. 1981. *Nutrición Animal*. cuarta ed. McGRAW-HILL, México, 640 pp.
- Mazzoni R. 2015. *Manual de Adiestramiento en Ranicultura para Técnicos*. Morelia, Michoacán. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Sistema Producto Rana A.C. y Universidad de Panama 39 pp.
- McGoogan B. B. y Reigh R. C. 1996. Apparent digestibility of selected ingredients in red drum (*Sciaenops ocellatus*) diets. *Aquaculture*, 141(3/4): 233-244.
- Miyasaka A. S. 2015. *Nutrición Animal*. tercera ed. Trillas, México 544 pp.
- Moreira I.S., Peres H., Couto A., Enes P. y Oliva-Teles A. 2008. Temperature and dietary carbohydrate level effects on performance and metabolic utilisation of diets in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture*, 274(1): 153 -160.
- Moyes C. D. y Schulte P. M. 2007. *Principios de fisiología animal*. Madrid: PEARSON EDUCACIÓN. Madrid, 765 pp.
- Oh M., Eun-Kyung K., Byong-Tae J., Yujiao T., Kim M. S., Hye-Jin S. y Sang-Ho M. 2016. Chemical compositions, free amino acid contents and antioxidant activities of Hanwoo (*Bos taurus coreanae*) beef by cut. *Meat Science*, 119: 16-21.
- Olvera-Novoa M. A., Martínez-Palacios C. A. y Real de Leon E. 1993. *Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos*. FAO Acuicultura de América Latina y el Caribe, 104 pp.
- Olvera-Novoa M.A., Ontiveros-Escutia V. M. y Flores-Nava A. 2007. Optimum protein level for growth in juvenile bullfrog (*Rana catesbeiana* shaw, 1802). *Aquaculture*, 266: 191-199.

- Pasteris S.E, Bühler M.I. y Nader-Macías M.E., 2006. Microbiological and histological studies of farmed bullfrog (*Rana catesbeiana*) tissues displaying red-leg syndrome.. Aquaculture, 251: 11-18.
- Pelleymounter M. A., Cullen M.J., Baker M.B., Hecht R., Winters D., Boone T. y Collins F., 1995. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. Science, 269(523) 540 – 543 pp.
- Peñuela M. M., 2016. Composición de ácidos grasos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) alimentada con arina de garbanzo enriquecida con chía y linaza. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Guasave, Sinaloa, México.
- Pillay T.V.R. 2004. Historia y estado actual de la acuicultura. En: Martínez J. R. (ed). Acuicultura principios y prácticas. LIMUSA. NORIEGA EDITORES. México 25-30 pp.
- Postic C. y Girard J. 2008. Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. The Journal of clinical investigation, 118(3) 829 – 838 pp.
- Ramírez M. T. R. 2017. Protocolo para la reproducción, incubación y crecimiento de rana toro americana (*Lithobates catesbeianus* SHAW 1802) en condiciones controladas en Morelia, México. Tesis de Maestría. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, México.
- Rymer C., Hartnell G. F. y Givens D. I. 2011. The effect of feeding modified soyabean oil enriched with C18 : 4n-3 to broilers on the deposition of n-3 fatty acids in chicken meat. British Journal of Nutrition, 105:866-878.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2012. Programa Nacional Pecuario. Gobierno Federal, 42 pp.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2016. México alcanza meta en consumo de pescados y mariscos. Disponible en: <https://www.gob.mx/sagarpa/articulos/mexico-alcanza-meta-en-consumo-de-pescados-y-mariscos> (Accesado el 9 Febrero, 2018).

- Sargent J.R. , D.R Tocher y J.G. Bell, 2002. The lipids 181-257 pp. En: Halver, J. E. y Hardy, R. W. (Eds.). Fish Nutrition. 3 ed.Academic. Elsevier. New York, NY.
- Schwalbe C. y Rosen, P.C. 1988. Preliminary report on effect of bullfrogs on wet-land herpetofaunas in southeastern Arizona. En: Management of Amphibians, Reptiles and Small Mammals in North America.. U.S: Department of Agriculture, Forest Service, pp. 166–173.
- Secco E. M., De Stéfani M. V. y Vldotti R. M. 2005. Apparent Digestibility of Different Ingredients in Diets for Bullfrog *Rana catesbeiana* Tadpoles. Journal of the World Aquaculture Society, 36(1): 135-140.
- Shimano H., Horton J.D., Hammer R.E., Shimomura I., Brown M.S.y Goldstein J.L. 1996. Overproduction of cholesterol and fatty acids causes massive liver enlargement in transgenic mice expressing truncated SREBP-1. The Journal of clinical investigation, 98(7): 1575-1584.
- Sullivan J. A. y Reigh, R. C. 1995. Apparent digestibility of selected feedstuffs in diets for hybrid striped bass (*Morone saxatilis*♀ x *Morone chrysops*♂). Aquaculture, 138(1-4): 313-322.
- Tacon A. G. y Metian M. 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. Aquaculture, 285(1-4): 146-158.
- Tibbetts S.M., Milley J.E. y Lall S.P., 2006. Apparent protein and energy digestibility of common and alternative feed ingredients by Atlantic cod, *Gadus morhua* (*Linnaeus* 1758). Aquaculture, 261(4): 1314 -1327.
- Tokur B., Gürbüz R. D. y Özyurt G. (2008). Nutritional composition of frog (*Rana esculanta*) waste meal. Bioresource technology, 99(5): 1332-1338.
- Turchini G. M., Wing-Keong N. y Tocher D. R. 2010 Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds. RCR Press Taylor y Francis group, Boca Raton, 533 pp.

- Valenzuela B. A., Sanhueza C. J. y Barra D. F. I. 2012. Fish oil: yesterday an industrial waste, today a product of high nutritional value. *Revista Chilena de Nutrición*, 39(2): 201 - 209.
- Van Steenberghe W. V. y Lanckmans S., 1995. Liver disturbances in obesity and diabetes mellitus. *International journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the International Association for the Study of Obesity*, 19: 27-36.
- Vaz W. P. 2007. Avaliação da sobrevivência e crescimento de duas linhagens de Rã-Touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802) alimentadas com diferentes fontes de ácidos graxos. Tesis de maestría. Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Programa de Pós-graduação em Aquicultura. Rio Grande, RS.
- Verschuren P. M. 1997. Nutritional functionality of foods. *Proceedings of the Nutrition Society*, 56(3): 841-843.
- Villaverde C., Baucells M. D., Cortinas L., Hervera M. y Barroeta A. C. 2005. Chemical composition and energy content of chickens in response to different levels of dietary polyunsaturated fatty acids. *Archives of Animal Nutrition*, 59(4): 281-292.
- Watanabe T. 1982. Lipid nutrition in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 73:3 -15.
- Watanabe T. 1988. Fish nutrition and mariculture. JICA The Textbook. Department of Aquatic Biosciences Tokyo University of Fisheries, 233 pp.
- Watanabe T. 2002. Strategies for further development of aquatic feeds. *Fisheries Science*, 68(2): 242- 252.
- Wu X., Castillo S., Rosales M., Burns A., Mendoza M. y Gatlin D.M. 2015. Relative use of dietary carbohydrate, by hybrid striped bass, *Morone chrysops* ♀ x *M. saxatilis* ♂. *Aquaculture*, 435: 116 -119.
- Zhang C. X., Huang K. K, Wang L., Song K., Zhang L. y Li P. 2015. Apparent digestibility coefficients and amino acid availability of common protein ingredients in the diets of bullfrog, *Rana (Lithobates) catesbeiana*. *Aquaculture*, 437: 38-45

- Zhang C. X., Huang K. K., Le Lu K., Wang L., Song K., Zhang L. y Li P. 2016a. Effects of different lipid sources on growth performance, body composition and lipid metabolism of bullfrog *Lithobates catesbeiana*. *Aquaculture*, 457: 104 – 108.
- Zhang C. X., Huang K. K., Wang L., Song K., Lu K. L., Zhang L. y Li P. 2016b. Optimal dietary carbohydrate to lipid ratio for bullfrog *Rana (Lithobates) catesbeiana*. *Aquaculture Research* , 47(10): 3332-3340.
- Zhang, C. X., Feng W., Wang L., Song K. y Li P. 2016c. Optimal dietary methionine requirement of bullfrog *Rana (Lithobates) catesbeiana*. *Aquaculture*, 464: 576–581.

ANEXOS

Biometrías de peso en el periodo experimental

Los resultados indican que para el día 14 el mayor peso promedio el tratamiento P30/5L, diferente únicamente a P30/20L que presentó el menor peso promedio en estos primeros 14 días y durante todo el experimento. La interacción obtenida con el ANOVA de dos vías muestra que los lípidos fueron el factor influyente en la ganancia de peso de los organismos en esos días. A los 28 días tanto los lípidos como las proteínas influyeron la ganancia de peso de las ranas. Hasta el final del experimento el mejor peso promedio fue para el tratamiento P50/20L y para los días 42, 56 y 70 la proteína fue el factor determinante en el peso de las ranas (Tabla 12).

Tabla 12. Peso en el periodo experimental.

Tratamiento	Día 14	Día 28	Día 42	Día 56	Día 70
P30/5L	18.5 ± 3.8 ^a	32 ± 7.2 ^a	48.8 ± 12.5 ^{ab}	62.2 ± 21.5 ^{bc}	77 ± 27.4 ^{bc}
P30/10L	16.7 ± 4.2 ^{ab}	30.2 ± 10.5 ^{ab}	46.1 ± 16.4 ^b	64.3 ± 20.9 ^b	77.9 ± 22.3 ^{bc}
P30/20L	14.8 ± 3.9 ^b	23.2 ± 7.4 ^c	34.3 ± 13.6 ^c	48.1 ± 17.7 ^c	59.7 ± 20.1 ^c
P40/5L	16.8 ± 3.5 ^{ab}	31.8 ± 7 ^{ab}	50.6 ± 12.6 ^{ab}	72 ± 18.9 ^{ab}	91.2 ± 24.1 ^{ab}

P40/10L	15.8 ± 3.5 ^{ab}	29.1 ± 7.7 ^{ab}	48.8 ± 12.5 ^{ab}	68.7 ± 17.3 ^{ab}	89 ± 22.2 ^{ab}
P40/20L	16.2 ± 4.4 ^{ab}	28.7 ± 8.4 ^b	48.7 ± 12 ^{ab}	68.2 ± 16.2 ^{ab}	86.9 ± 19.8 ^{ab}
P50/5L	18.1 ± 4.2 ^a	34.6 ± 7.6 ^a	54 ± 14.5 ^{ab}	74.5 ± 21.3 ^{ab}	95.2 ± 31.1 ^{ab}
P50/10L	16.2 ± 3.8 ^{ab}	33.9 ± 7.5 ^{ab}	54 ± 11.1 ^{ab}	74.5 ± 17.9 ^{ab}	94.1 ± 22.8 ^{ab}
P50/20L	17.9 ± 2.9 ^a	34.6 ± 6.4 ^a	58.6 ± 8.7 ^a	81.7 ± 12.9 ^a	100.9 ± 19.5 ^a
Interacción	Lípidos	Lípidos y Proteína	Proteína	Proteína	Proteína

Los valores con el mismo superíndice no son significativamente diferentes (P < 0.05).